



HAL
open science

Impact du taux sérique de progestérone le jour du transfert d'embryons congelés en cycle artificiel sur le taux de grossesse évolutive

Myrtille Renard

► **To cite this version:**

Myrtille Renard. Impact du taux sérique de progestérone le jour du transfert d'embryons congelés en cycle artificiel sur le taux de grossesse évolutive. Sciences du Vivant [q-bio]. 2020. dumas-03149414

HAL Id: dumas-03149414

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03149414>

Submitted on 23 Feb 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITE DE BORDEAUX
UFR DES SCIENCES MEDICALES

Année 2020

N° : 3255

Thèse pour l'obtention du

DIPLOME D'ETAT de DOCTEUR EN MÉDECINE

Spécialité Gynécologie Médicale

Présentée et soutenue publiquement

Le 17 décembre 2020

Par Myrtille RENARD

Née le 28 janvier 1991 à PESSAC (33)

**Impact du taux sérique de progestérone le jour du transfert
d'embryons congelés en cycle artificiel sur le taux de grossesse
évolutive.**

Étude de cohorte observationnelle prospective au CHU de Bordeaux
sur 365 cycles.

Directrice de thèse

Madame le Docteur Marie LAMBERT

Rapporteur de thèse

Madame le Docteur Charlotte SONIGO

Membres du jury

Monsieur le Professeur Claude HOCKE
Monsieur le Professeur Clément JIMENEZ
Monsieur le Docteur Jean Benoit CORCUFF
Madame le Docteur Sandrine FRANTZ
Madame le Docteur Marie LAMBERT

Président
Juge
Juge
Juge
Juge

UNIVERSITE DE BORDEAUX
UFR DES SCIENCES MEDICALES

Année 2020

N° : 3255

Thèse pour l'obtention du
DIPLOME D'ETAT de DOCTEUR EN MÉDECINE

Spécialité Gynécologie Médicale

Présentée et soutenue publiquement

Le 17 décembre 2020

Par Myrtille RENARD

Née le 28 janvier 1991 à PESSAC (33)

**Impact du taux sérique de progestérone le jour du transfert
d'embryons congelés en cycle artificiel sur le taux de grossesse
évolutive.**

Étude de cohorte prospective au CHU de Bordeaux sur 365 cycles.

Directrice de thèse

Madame le Docteur Marie LAMBERT

Rapporteur de thèse

Madame le Docteur Charlotte SONIGO

Membres du jury

Monsieur le Professeur Claude HOCKE
Monsieur le Professeur Clément JIMENEZ
Monsieur le Docteur Jean Benoit CORCUFF
Madame le Docteur Sandrine FRANTZ
Madame le Docteur Marie LAMBERT

Président
Juge
Juge
Juge
Juge

REMERCIEMENTS

Aux membres du jury,

A Monsieur le Professeur Claude HOCKE, président du jury

Vous me faites l'honneur de présider mon jury de thèse.

Votre rigueur et votre sens critique sont des atouts pour les internes que vous formez. Je garderai en mémoire les consultations du mardi après-midi à vos côtés, particulièrement enrichissantes.

Soyez assuré de ma sincère reconnaissance et de mon profond respect.

A Monsieur le Professeur Clément JIMENEZ

Je vous remercie d'avoir accepté de faire partie de mon jury. Malheureusement, je n'ai pas eu la chance de vous côtoyer et de pouvoir travailler dans votre service. Mais je connais votre expérience et votre ouverture d'esprit que j'admire.

Recevez aujourd'hui le témoignage de ma sincère reconnaissance.

A Monsieur le Docteur Jean-Benoît CORCUFF

Je vous remercie d'être présent pour ma soutenance de thèse. Votre soutien, votre disponibilité et votre écoute m'ont été si précieux tout au long de ce travail.

Veillez trouver ici le témoignage de ma profonde reconnaissance.

A Madame le Docteur Sandrine FRANTZ

Je vous remercie d'avoir accepté de participer à mon jury de thèse, votre expertise en gynécologie-endocrinologie rendait votre présence nécessaire.

A Madame le Docteur Marie LAMBERT, directrice de thèse

Merci Marie d'avoir accepté de diriger ce travail de thèse, de m'avoir accordé ta confiance et m'avoir accompagnée durant sa réalisation. Je te remercie pour tes conseils, ta disponibilité et le temps que tu m'as consacré. Par ailleurs, j'admire ton professionnalisme et tes qualités humaines et relationnelles avec les patientes et je suis heureuse de pouvoir travailler à tes côtés prochainement.

Au rapporteur,

A Madame le Docteur Charlotte SONIGO, rapporteur de thèse

Je vous suis sincèrement reconnaissante d'avoir accepté d'être le rapporteur de ce travail.

A toutes ces belles rencontres,

Merci à toutes les équipes qui ont participé à ma formation dans le grand sud-ouest que j'aime tant ; de Pau à Périgueux en passant par Dax et Bordeaux bien sûr. A toutes ces belles rencontres professionnelles et humaines qui ont ponctué mes quatre années d'internat.

Une pensée particulière,

Au service de Gynécologie Obstétrique de Langon, ma ville de cœur et cette équipe dans laquelle je me suis tout de suite sentie bien. Merci à vous tous et à très bientôt !

Au Docteur Hélène TISSOT, merci d'avoir toujours été présente pour moi et de m'avoir soutenue dans mes projets. Sachez que votre implication et votre dynamisme sont des qualités que j'admire

Au service de biologie de la reproduction du CHU de Nice, vous m'avez beaucoup appris et votre gentillesse et bienveillance m'ont touché.

Au service de procréation médicalement assisté du CHU de Bordeaux, dans cet antre obscur réside une super équipe toujours fidèle au poste !

Au service d'orthogénie du CHU de Bordeaux, votre bienveillance et votre bonne humeur ensoleillent notre quotidien.

A mes anciennes chefs de clinique, qui m'ont beaucoup appris et qui ont toujours été bienveillantes et disponibles en toutes circonstances ! Une pensée toute particulière pour Marie Cherbero-Grellety, merci pour ton soutien et ton écoute à toute épreuve et à très vite, je l'espère, dans notre pays basque adoré !

A tous mes co-internes rencontrés au fil des semestres, mes quatre co internes de promotion mais également Nina, Manue et Ariane pour ce semestre de cohésion que je n'oublierai pas. Un merci particulier à Tiphaine, ma toute première co interne et amie que j'admire à pleins d'égards. Merci à Zab, pour ta bonne humeur depuis toutes ces années.

A mes proches,

A mes amitiés les plus chères,

Noémie et Claire, mes deux amies de toujours. Merci d'être présentes pour moi depuis tant d'années.

Guillaume, merci de me connaître aussi bien, d'être là pour le meilleur comme pour le pire.

Ma Raph, Janou et Lulu, un soutien à tout épreuve et une amitié indestructible.

Camille, Hamès, Pierrick, merci pour ces supers années lycée, les heureux évènements de vie sont là pour nous réunir !

Clo, la distance n'y fera rien, nos retrouvailles sont toujours des moments formidables.

A ma famille, pour toutes ces valeurs que vous m'avez inculquées et tant d'amour que vous m'avez donné, vous m'avez permis de me construire et avaient participé à celle que je suis devenue aujourd'hui,

Maman, merci d'être toujours présente pour moi je sais que ce n'est pas toujours si facile... ton écoute et ta bienveillance sont exemplaires à mes yeux.

Papa, « step by step » comme tu nous le dis toujours, si tu savais comme cette phrase a raisonné tant de fois dans ma tête pendant ces longues années d'études... Merci à toi pour ton soutien, d'avoir cru en moi et d'être fière de ce que je suis.

A mes sœurs, 4 filles ce n'est pas toujours si simple... mais tant d'amour et de partage. Je sais que vous serez toujours là, et cela n'a pas de prix.

Je vous aime.

TABLE DES MATIERES

| | |
|---|-----------|
| REMERCIEMENTS | 2 |
| ABREVIATIONS..... | 7 |
| FIGURES ET ILLUSTRATIONS | 8 |
| INTRODUCTION..... | 10 |
| CONTEXTE | 11 |
| 1. Physiologie de l'implantation embryonnaire | 11 |
| 1.1 Qu'est-ce que la phase lutéale ? | 11 |
| 1.2 Rôles de la progestérone | 12 |
| 1.3 Concept de « fenêtre d'implantation »: synchronisation embryon-endomètre | 12 |
| 1.4 Enjeu du TEC | 13 |
| 1.5 Explorations de la réceptivité endométriale..... | 14 |
| 2. Place du TEC en AMP | 18 |
| 2.2 Place grandissante du TEC en AMP | 18 |
| 2.3 Pourquoi le TEC est-il de plus en plus utilisé ?..... | 19 |
| 2.4 Résultats en TEC comparables aux transferts frais ?..... | 20 |
| 2.5 Plus de complications obstétricales et périnatales en TEC qu'en transfert frais ? | 21 |
| 3. Différents protocoles de TEC..... | 22 |
| 3.1 TEC en cycle naturel | 22 |
| 3.2 TEC en cycle stimulé | 23 |
| 3.3 TEC en cycle artificiel..... | 24 |
| 3.4 Quel protocole choisir ?..... | 25 |
| 4. Soutien de la phase lutéale en TEC artificiel | 27 |
| 4.1 Début et fin de la supplémentation en progestérone..... | 27 |
| 4.2 Voies d'administration de la progestérone | 27 |
| 4.3 Dose optimale de progestérone exogène | 31 |
| 4.4 Pharmacocinétique de la progestérone par voie vaginale | 32 |
| 4.5 Mesures des taux sériques de progestérone sous progestérone vaginale | 33 |
| MATERIELS ET METHODES | 35 |
| 1. Type d'étude | 35 |
| 2. Objectifs | 35 |
| 2.1 Objectif principal | 35 |
| 2.2 Objectifs secondaires | 35 |
| 3. Critères d'éligibilité..... | 35 |
| 3.1 Critères d'inclusion..... | 35 |
| 3.2 Critères d'exclusion | 36 |
| 4. Paramètres étudiés..... | 36 |

| | | |
|-----|---|-----------|
| 5. | Protocole de TEC en cycle artificiel..... | 37 |
| 5.1 | Préparation endométriale | 37 |
| 5.2 | Transfert embryonnaire | 37 |
| 6. | Critères d'évaluation | 38 |
| 6.1 | Critère d'évaluation principal | 38 |
| 6.2 | Critères d'évaluation secondaires..... | 38 |
| 7. | Aspects statistiques | 39 |
| | RESULTATS | 40 |
| 1. | Caractéristiques de la population..... | 40 |
| 1.1 | Effectif total et prévalence d'une progestéronémie basse dans notre cohorte..... | 40 |
| 1.2 | Caractéristiques clinico-biologiques de la population et issue de grossesse dans notre cohorte | 42 |
| 1.3 | Distribution du taux de progestérone le jour du transfert dans notre cohorte | 42 |
| 1.4 | Kits utilisés pour le dosage de progestérone..... | 43 |
| 1.5 | Heure du prélèvement sanguin pour le dosage de progestérone | 44 |
| 2. | Groupes de comparaison selon un seuil de progestérone à 10 ng/ml..... | 45 |
| 2.1 | Comparabilité des groupes..... | 45 |
| 2.2 | Impact du taux de progestérone le jour du transfert avec un seuil à 10 ng/ml sur le taux de grossesse évolutive et les critères d'évaluation secondaires | 47 |
| 3. | Analyse multivariée étudiant l'impact du taux de progestérone le jour du transfert sur le taux de grossesse évolutive et les critères d'évaluation secondaires..... | 48 |
| 4. | Analyse en sous-groupes selon le kit de dosage utilisé..... | 51 |
| 5. | Analyse complémentaire : comparabilité des TEC inclus avec les TEC exclus sans dosage de progestérone le jour du transfert | 53 |
| | DISCUSSION..... | 55 |
| 1. | Résultats principaux et comparaison aux données de la littérature | 55 |
| 2. | Comment expliquer nos résultats | 58 |
| 3. | Forces et limites de l'étude..... | 59 |
| 1.1 | Forces de l'étude..... | 59 |
| 1.2 | Limites de l'étude..... | 60 |
| 4. | Extrapolation des résultats | 61 |
| 5. | Perspectives | 62 |
| | CONCLUSION | 64 |
| | BIBLIOGRAPHIE..... | 65 |
| | ANNEXES | 78 |
| | SERMENT D'HIPPOCRATE..... | 80 |

ABREVIATIONS

AMH (*Anti-Mullerian Hormone*) : Hormone anti-müllérienne

AMP : Assistance médicale à la procréation

ATCD : Antécédents

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

CJ : Corps jaune

DOR : (*Diminished Ovarian Response*) : Diminution de la réserve ovarienne

DS : Déviation standard

E2 : Œstradiol

FCS : Fausse couche spontanée

FIV : Fécondation in vitro

FSH (*Follicle Stimulating Hormone*) : Hormone folliculo-stimulante

GEU : Grossesse extra-utérine

GnRH (*Gonadotrophin-Releasing Hormone*) : Hormone gonadolibérine

hCG (*human Chorionic Gonadotropin Hormone*) : Hormone chorionique gonadotrope humaine

ICSI (*Intra Cystoplasmic Sperm Injection*) : Injection intracytoplasmique de spermatozoïdes

IM : Intra-musculaire

IMC : Index de masse corporelle

IOD : Insuffisance ovarienne débutante

J : Jour

LH (*Luteinizing Hormone*) : Hormone lutéinisante

MCI : Masse cellulaire interne

NV : Naissance vivante

OR : Odds ratio

P : Progestérone

PEC : Prise en charge

SA : Semaines d'aménorrhée

SOPK : Syndrome des ovaires polykystiques

SC : Sous-cutané

eSET : Transfert électif d'un seul embryon

TEC : Transfert d'embryons congelés

THS : Traitement hormonal substitutif

FIGURES ET ILLUSTRATIONS

| | |
|---|----|
| <u>Figure 1</u> - Concept de fenêtre d'implantation (d'après La Lettre du Gynécologue n°291 avril 2004) .. | 13 |
| <u>Figure 2</u> - Coupes histologiques d'un endomètre en phase proliférative (gauche) et en phase sécrétoire (droite) (service anatomopathologie CHU de Nice)..... | 14 |
| <u>Figure 3</u> - Épaisseur endométriale mesurée sur une coupe sagittale par échographie endo-vaginale (service gynécologie CHU de Bordeaux). | 15 |
| <u>Figure 4</u> - Concentrations plasmatiques de progestérone échantillonnées toutes les dix minutes sur 24 heures en milieu de phase lutéale d'un cycle spontané chez une femme avec des cycles réguliers. (d'après Filicori et <i>al.</i> 1984 (2)) | 16 |
| <u>Figure 5</u> - Profil d'expression des gènes à chaque étape du cycle endométrial identifié par le test ERA (Endometrial Receptivity Array). (d'après Garrido-Gomes et <i>al.</i> 2013 (31))..... | 17 |
| <u>Figure 6</u> - Nombre de transferts embryonnaires frais et congelés au CHU de Bordeaux, entre 2009 et 2019. | 18 |
| <u>Figure 7</u> - Protocole de TEC en cycle naturel (d'après l'application wistim.com)..... | 23 |
| <u>Figure 8</u> - Protocole de TEC en cycle stimulé (d'après l'application wistim.com) | 23 |
| <u>Figure 9</u> - Protocole de TEC en cycle artificiel (d'après l'application wistim.com) | 25 |
| <u>Figure 10</u> - Types de protocoles utilisés en TEC au CHU de Bordeaux, entre 2009 et 2019. | 26 |
| <u>Figure 11</u> - Mécanisme expliquant l'effet de premier passage utérin avec un système d'échange à contre-courant. (d'après Cicinelli et <i>al.</i> 1999 (119)) | 29 |
| <u>Figure 12</u> - Concentrations plasmatiques de progestérone après administration d'une dose unique de 100 mg de progestérone micronisée par voie vaginale. (d'après Nahoul et <i>al.</i> 1993 (98)) | 32 |
| <u>Figure 13</u> - Concentrations plasmatiques de progestérone après administration de doses répétées de 400 mg/jour de progestérone micronisée par voie vaginale. (d'après Wang et <i>al.</i> 2019 (137)) | 33 |
| <u>Figure 14</u> - Diagramme de flux..... | 41 |
| <u>Figure 15</u> - Répartition du taux sérique de progestérone le jour du transfert d'embryons congelés.. | 42 |
| <u>Figure 16</u> - Répartition des différents kits de dosage utilisés | 43 |
| <u>Figure 17</u> - Distribution des taux sériques de progestérone le jour du transfert, réalisés selon différents kits de dosage, en fonction de l'heure de prélèvement. | 44 |
| <u>Figure 18</u> - Probabilité des taux de grossesse évolutive, débutante, clinique et perte de grossesse avant 12 SA estimée par régression logistique pour une patiente ayant les caractéristiques moyennes de l'échantillon en fonction du taux de progestérone le jour du transfert | 50 |

Figure 19 - Odds Ratio ajustés du taux de progestérone le jour du transfert en fonction du kit de dosage utilisé selon les différents critères d'évaluations. Les p-values évaluent la différence entre les kits de dosage utilisés. 52

Tableau 1 - Caractéristiques clinico-biologiques selon le taux de progestérone le jour du transfert (considérant le seuil à 10 ng/ml). 46

Tableau 2 - Issues de grossesse dans les deux groupes selon le taux de progestérone le jour du transfert. 47

Tableau 3 - Analyse de régression logistique multivariée des facteurs liés aux taux de grossesse évolutive, débutante, clinique et perte de grossesse < 12 SA..... 49

Tableau 4 - Caractéristiques clinico-biologiques et issues de grossesse entre les TEC inclus avec dosage de progestérone et TEC exclus sans dosage de progestérone le jour du transfert. 54

INTRODUCTION

Aujourd'hui, en France, environ 10 à 15% des couples en âge de procréer consultent pour des difficultés à concevoir. Pour répondre à ce besoin, en 2018, 148 711 tentatives d'assistance médicale à la procréation (AMP) ont été recensées par l'Agence de Biomédecine. Si le volume global des activités d'AMP évolue peu depuis 2015, on note toutefois que le nombre de transferts d'embryons congelés (TEC) augmente chaque année. Ceci traduit l'évolution des pratiques avec le développement du transfert mono-embryonnaire et l'avènement de la technique de vitrification embryonnaire, l'objectif poursuivi étant de limiter le nombre de grossesses multiples (1).

L'enjeu du TEC est double ; d'une part, assurer la croissance et la transformation sécrétoire de l'endomètre et d'autre part, déterminer la date du transfert d'embryon afin d'assurer une synchronisation avec le stade de maturation endométriale. La réceptivité endométriale est donc un élément majeur à évaluer dans le TEC afin d'optimiser la synchronisation embryon-endomètre. Malheureusement, il s'agit d'un phénomène complexe et il n'existe pas, à ce jour, de critère diagnostique satisfaisant pour explorer la réceptivité endométriale. Un des critères diagnostiques biologiques serait le dosage sérique de progestérone (P) le jour du transfert embryonnaire, en considérant qu'une ovulation adéquate engendre un taux sérique de P supérieur à 10 ng/ml (2,3).

Il existe différents protocoles de soutien de la phase lutéale en TEC mais aucun n'a démontré une supériorité en termes de taux de grossesse ou de naissance vivante (NV). (4-7) Toutefois, les TEC en cycle artificiel sont largement utilisés car ils permettent de planifier le jour du transfert embryonnaire pour une meilleure organisation des centres et de contrôler très précisément les jours d'exposition à la P exogène pour tenter d'optimiser la fenêtre d'implantation. (8) Cependant, certaines études rapportent des taux de fausses couches spontanées (FCS) précoces plus élevés avec ce type de protocole (9,10).

Par ailleurs, ni la durée optimale d'exposition à la P avant le TEC (11), ni la dose et la voie d'administration de P, ni le taux de P sérique requis pour optimiser les résultats du cycle ne sont consensuels dans la communauté scientifique.

C'est pourquoi nous nous sommes demandés si une progestéronémie considérée comme basse le jour du TEC était prédictif d'un taux de grossesse plus faible.

L'objectif principal de notre étude a donc été d'évaluer l'impact du taux de P le jour du TEC en cycle artificiel sur le taux de grossesse évolutive.

CONTEXTE

1. Physiologie de l'implantation embryonnaire

L'implantation embryonnaire est un phénomène biologique complexe et unique qui nécessite un endomètre réceptif, un embryon de bonne qualité et un dialogue synchronisé entre les tissus endométriaux et embryonnaires.

1.1. Qu'est-ce que la phase lutéale ?

Elle est définie comme la période entre l'ovulation et la survenue des menstruations ou le début de la grossesse. Elle se prépare en phase folliculaire par la sécrétion d'œstradiol (E2) permettant la prolifération endométriale et l'induction des récepteurs à la P (12). La phase lutéale débute avec le pic ovulatoire d'hormone lutéinisante (LH) et est caractérisée par la formation du corps jaune (CJ) créé par la transformation des cellules de la granulosa et de la thèque en cellules lutéales. La fonction majeure du CJ est la sécrétion de P par les cellules de la granulosa sous l'effet de la LH. Le corps jaune secrète également un peu d'E2 et l'inhibine A. Ces hormones provoquent un rétrocontrôle négatif sur la production des gonadotrophines.

S'il n'y a pas de fécondation, à l'issue de la durée de vie du CJ d'environ 14 jours, on observe une chute du taux de P et d'E2 responsable des menstruations. Cette chute hormonale entraîne une ré ascension du taux d'hormone folliculo-stimulante (FSH) déclenchant ainsi une nouvelle vague de croissance de follicules ovariens et donc un nouveau cycle.

S'il y a fécondation, l'hormone chorionique gonadotrope humaine (hCG) produite par les cellules trophoblastiques dès l'implantation, prévient la régression du CJ permettant de maintenir une sécrétion de P et d'E2. A partir du 3^e mois de grossesse, le placenta prend en charge la sécrétion de ces hormones et le CJ dégénère.

La phase lutéale détermine la fenêtre d'implantation.

1.2. Rôles de la progestérone

Le principal rôle de la P est de permettre la différenciation et la maturation de l'endomètre, ce qui le rend apte à l'implantation. Les glandes deviennent tortueuses et les artères spiralées, le stroma conjonctif est le siège de transformations œdémateuses appelées décidualisation. La réceptivité de l'endomètre est déterminée par le temps d'exposition à la P après une exposition suffisante aux œstrogènes.

De plus, la P facilite l'implantation embryonnaire en stimulant la production de cytokines par les cellules utérines natural killer (uNK) responsables d'une immunosuppression et donc d'une tolérance maternelle nécessaire à l'implantation (13).

La P a aussi une action myorelaxante : elle inhibe la contractilité utérine en diminuant le nombre de récepteurs à l'ocytocine. Il existe une corrélation entre la baisse des taux de grossesse et l'augmentation des contractions utérines objectivées à l'échographie au moment du transfert embryonnaire. Une corrélation inverse est retrouvée entre la fréquence des contractions utérines et la concentration de P soulignant ainsi le bénéfice de celle-ci en fécondation in vitro (FIV) (14).

1.3. Concept de « fenêtre d'implantation » : synchronisation embryon-endomètre

L'implantation embryonnaire nécessite un dialogue synchrone entre un embryon compétent au stade blastocyste et un endomètre réceptif (15). Cette période de réceptivité endométriale optimale au cours de laquelle l'endomètre est apte à recevoir l'embryon est appelée fenêtre d'implantation. Elle est limitée dans le temps : elle dure environ 4 jours, et a lieu 6 à 10 jours après l'ovulation (16–19) soit entre le 20^e et le 24^e jour du cycle menstruel pour un cycle de 28 jours. Le début de la sécrétion de P par le CJ détermine l'ouverture de la fenêtre d'implantation et la transformation sécrétoire de l'endomètre entraîne sa fermeture. Avant cette fenêtre temporelle l'endomètre n'est pas réceptif ; après il devient réfractaire et l'implantation embryonnaire devient impossible. Toutefois, cette fenêtre d'implantation n'est pas toujours fixe ; elle peut varier dans la durée et dans le moment de son apparition d'une patiente à une autre (8). Ainsi plusieurs auteurs ont constaté un décalage de la fenêtre d'implantation chez environ une femme sur quatre (20–22).

Le phénomène de fenêtre d'implantation est schématisé sur la figure 1.

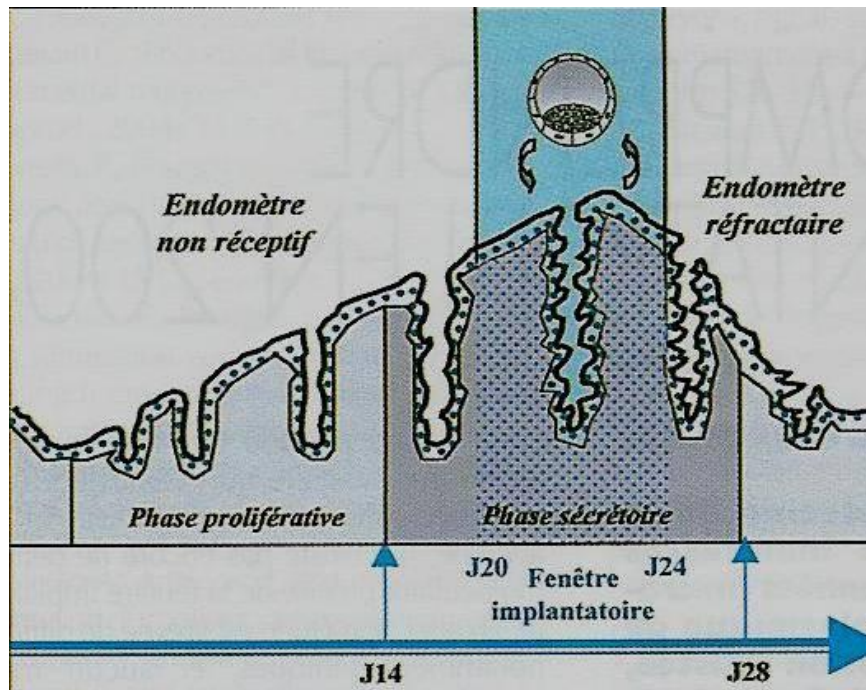


FIGURE 1 - CONCEPT DE FENÊTRE D'IMPLANTATION (D'APRES LA LETTRE DU GYNECOLOGUE N°291 AVRIL 2004)

1.4. Enjeu du TEC

Un transfert d'embryons congelés est réalisé dans différentes situations : après échec d'un transfert embryonnaire frais s'il existe des embryons surnuméraires congelés disponibles ; après succès d'un transfert embryonnaire frais afin d'obtenir une nouvelle grossesse avec les embryons congelés restants, ou encore à la suite d'une stratégie dite de freeze-all.

L'enjeu du transfert d'embryons congelés est double. D'une part, assurer la croissance endométriale puis la transformation sécrétoire de l'endomètre et d'autre part, déterminer la date du transfert embryonnaire à un stade de développement donné afin d'assurer une synchronisation avec le stade de maturation endométriale. Ceci dans un seul et unique objectif : que l'embryon arrive au stade blastocyste éclos au cours de la fenêtre d'implantation.

1.5. Explorations de la réceptivité endométriale

Dans le cadre de l'AMP, l'appréciation de la réceptivité endométriale permettrait d'optimiser le succès des transferts embryonnaires. Il s'agit d'un phénomène complexe et il n'existe malheureusement pas de critère diagnostique satisfaisant à l'heure actuelle. Toutefois, des critères biologiques imparfaits sont mis à la disposition des cliniciens pour tenter d'apprécier la réceptivité endométriale.

La réalisation d'une biopsie de l'endomètre réalisée entre J21 et J24 du cycle a longtemps été un outil simple pour **dater l'endomètre selon des critères histologiques** mis en place dans les années 1950 par Noyes et *al.* (23). Cependant, ces critères ne sont pas assez précis pour apprécier la réceptivité endométriale car l'interprétation des résultats est observateur dépendant et des variations importantes d'un cycle à l'autre et d'une femme à l'autre ont été observées (21). De plus, une étude multicentrique prospective a permis de démontrer que cet outil était peu fiable car l'évaluation histologique de l'endomètre en phase lutéale ne permettait pas de discriminer les patientes infertiles des femmes fertiles (24).

La figure 2 illustre la datation histologique de l'endomètre.

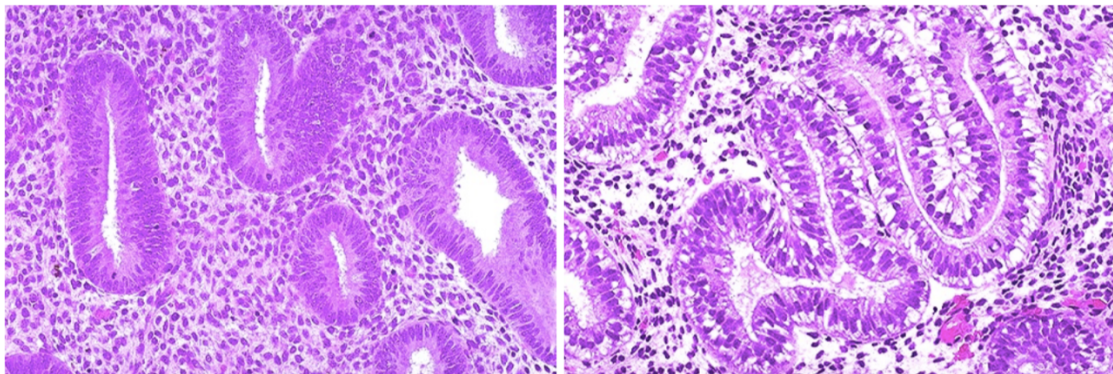


FIGURE 2 - COUPES HISTOLOGIQUES D'UN ENDOMETRE EN PHASE PROLIFERATIVE (GAUCHE) ET EN PHASE SECRETOIRE (DROITE) (SERVICE ANATOMOPATHOLOGIE CHU DE NICE)

L'accessibilité de l'endomètre par échographie endo vaginale a permis d'étudier l'aspect et l'épaisseur de l'endomètre (figure 3). Des études ont évalué qu'un défaut de la prolifération endométriale avec une épaisseur endométriale inférieure à 7 mm était associé à une réduction significative des taux de grossesse clinique (25). D'autre part, l'analyse de l'aspect de l'endomètre par la combinaison de plusieurs paramètres (volume endométrial, aspect de l'endomètre, index de pulsatilité du flux utérin, index de résistance des artères utérines, etc.) est certes indispensable à l'identification des patientes avec un très mauvais pronostic implantatoire, mais reste d'une très faible valeur pronostique dans l'appréciation même de la réceptivité endométriale (26).

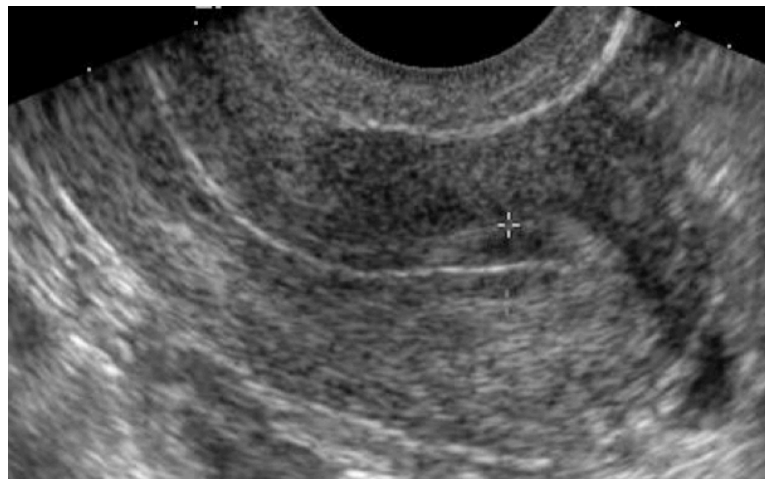


FIGURE 3 - ÉPAISSEUR ENDOMETRIALE MESUREE SUR UNE COUPE SAGITTALE PAR ECHOGRAPHIE ENDO-VAGINALE (SERVICE GYNECOLOGIE CHU DE BORDEAUX).

Le **dosage de la progestérone** peut également être un outil pour apprécier la réceptivité endométriale. La mesure de la progestéronémie en milieu de phase lutéale physiologique est difficile à interpréter car la P est sécrétée de manière pulsatile par le corps jaune (2). Cependant, il est habituel de considérer un taux sérique de progestérone supérieur à 10 ng/ml comme le reflet d'un corps jaune adéquate (2,3,27).

Ceci est illustré par le graphique figure 4.

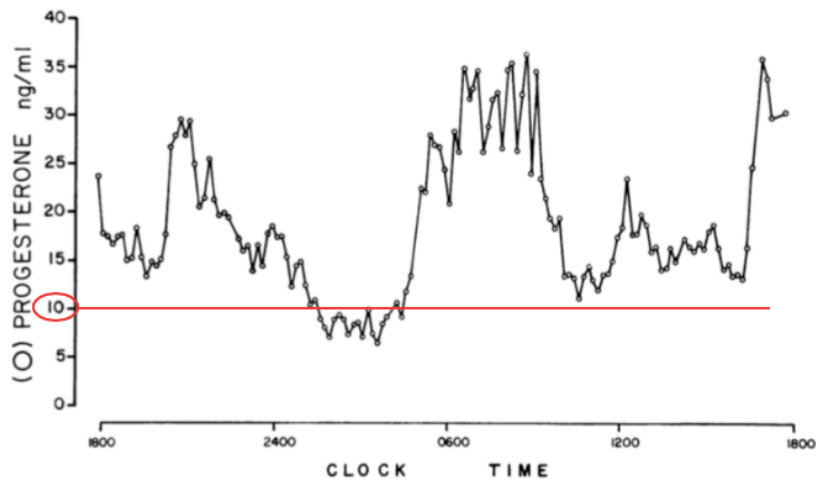


FIGURE 4 - CONCENTRATIONS PLASMATIQUES DE PROGESTERONE ECHANTILLONNEES TOUTES LES DIX MINUTES SUR 24 HEURES EN MILIEU DE PHASE LUTEALE D'UN CYCLE SPONTANE CHEZ UNE FEMME AVEC DES CYCLES REGULIERS. (D'APRES FILICORI ET AL. 1984 (2))

Grâce aux nouvelles techniques d'analyses, la biopsie endométriale bénéficie d'un regain d'intérêt. Elle permet désormais de définir **un profil immunologique utérin** en fournissant entre autres des informations sur l'expression cytokinique et sur la présence et l'activité des cellules immunitaires utérines uNK nécessaires à la future implantation (28). En effet, un défaut ou, au contraire, une activité immunitaire locale excessive peut aboutir à l'échec de l'implantation embryonnaire. Ce diagnostic permet de définir une prise en charge précise et personnalisée de l'infertilité afin de rétablir l'équilibre endométrial et favoriser ainsi l'implantation de l'embryon (29).

La biopsie endométriale permet également de réaliser une **analyse transcriptomique de la réceptivité utérine** (30,31) suggérant une nouvelle stratégie thérapeutique de transfert d'embryon personnalisée chez des patientes en échec répété d'implantation (20).

Cet outil est représenté sur la figure 5.

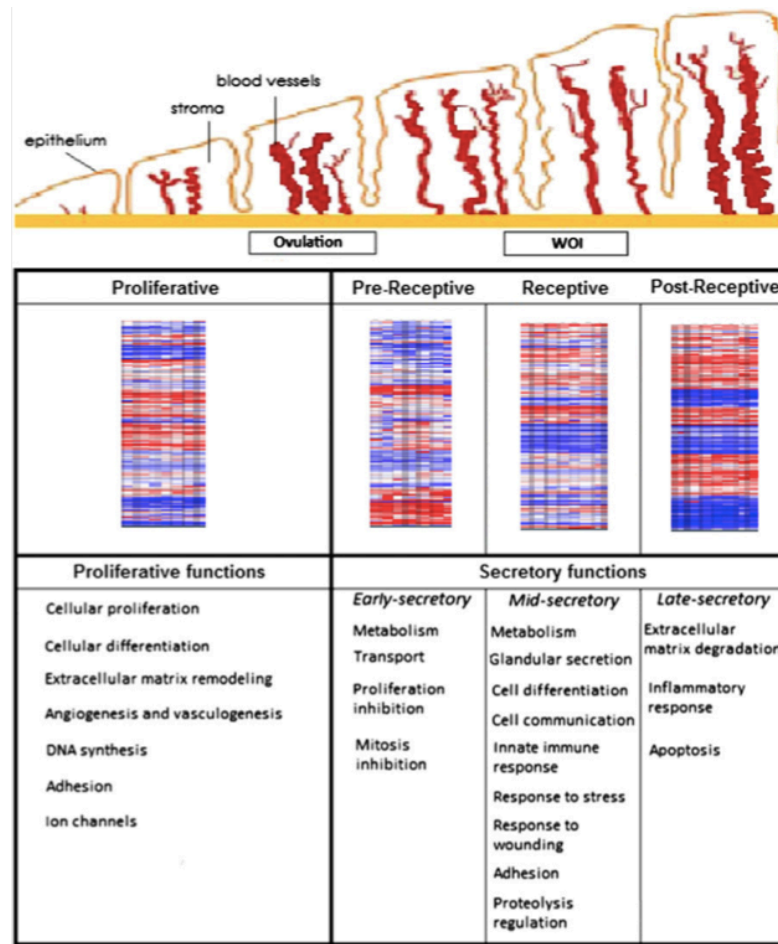


FIGURE 5 - PROFIL D'EXPRESSION DES GENES A CHAQUE ETAPE DU CYCLE ENDOMETRIAL IDENTIFIE PAR LE TEST ERA (ENDOMETRIAL RECEPTIVITY ARRAY). (D'APRES GARRIDO-GOMES ET AL. 2013 (32))

Cependant il n'existe pas, à ce jour, de marqueur fiable unique de la réceptivité utérine, en dehors de la survenue d'une grossesse clinique évolutive.

2. Place du TEC en AMP

2.1. Place grandissante du TEC en AMP

En 2018, 148 711 tentatives d'AMP ont été recensées en France, regroupant les inséminations intra-utérines, les fécondations in vitro et les décongélations d'embryons congelés avec gamètes et embryons issus ou non d'un don. Le rapport d'activité de 2018 de l'Agence de Biomédecine rapporte une augmentation du nombre de TEC pratiqué en France, passant de 30 660 en 2015 à plus de 41 165 en 2018. Cette technique représente désormais 27,7% de l'ensemble des techniques d'AMP, contre seulement 20,8% en 2015.

En accord avec les données nationales précédentes, le nombre de TEC réalisé dans le service de médecine de la reproduction au CHU de Bordeaux n'a cessé d'augmenter au cours des dix dernières années.

Ces données sont illustrées sur la figure 6.

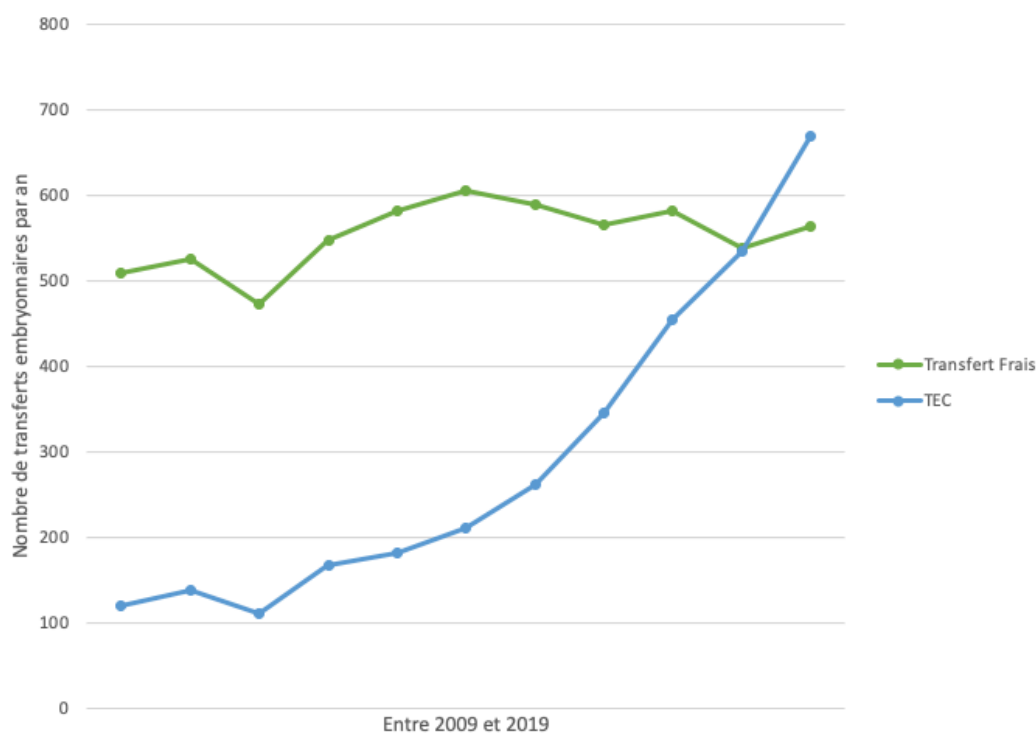


FIGURE 6 - NOMBRE DE TRANSFERTS EMBRYONNAIRES FRAIS ET CONGELÉS AU CHU DE BORDEAUX, ENTRE 2009 ET 2019.

2.2. Pourquoi le TEC est-il de plus en plus utilisé ?

Une des raisons principales est que les taux de grossesse et de naissance vivante après TEC se sont améliorés permettant d'obtenir des résultats aussi bons qu'en transfert d'embryons frais depuis **l'avènement de la technique de vitrification embryonnaire** en 2011. L'amélioration des méthodes de congélation a fait faire un bond qualitatif majeur en termes de résultats (33). Cette technique récente de vitrification ou congélation ultra rapide a remplacé la congélation lente. La vitrification empêche la formation de cristaux intracellulaires, considérée comme la première cause de mortalité cellulaire lors d'une cryopréservation. Le cristal de glace génère en effet des lésions membranaires et entraîne la destruction des structures de la cellule. Le taux de survie embryonnaire après réchauffement, mais également les taux de grossesse et de naissance vivante ont été significativement améliorés après vitrification et ce, à tous les stades du développement embryonnaire ; il s'agit donc d'un réel progrès (34–36).

Ceci permet d'expliquer le recours de plus en plus fréquent à la **technique du freeze-all pour de multiples indications** sans pour autant compromettre les chances de grossesse. Cette technique consiste en une stimulation ovarienne avec déclenchement de l'ovulation par un agoniste de l'hormone gonadolibérine (GnRH) pour prévenir le syndrome d'hyperstimulation ovarienne. Elle a pour objectif la vitrification de toute la cohorte embryonnaire sans réalisation de transfert frais mais avec transfert d'embryons congelés sur les cycles ultérieurs afin de remédier à une phase lutéale défavorable après déclenchement par agoniste (37). A l'heure actuelle, cette approche est recommandée chez les patientes présentant une forte réponse à la stimulation par gonadotrophines et donc à risque important d'hyperstimulation ovarienne (38–41), chez les couples pour lesquels un diagnostic préimplantatoire est nécessaire (40), ou encore chez les patientes présentant une élévation prématurée du taux sérique de progestérone en fin de phase folliculaire entraînant un décalage de la fenêtre d'implantation (42–45).

En effet, les taux hormonaux supra physiologiques d'E2 et de P atteints chez une patiente en fin de stimulation ovarienne pour FIV ont un impact sur la réceptivité endométriale : on observe fréquemment une avance de la maturation de l'endomètre entraînant un décalage prématuré de l'ouverture de la fenêtre d'implantation (46,47). Le degré d'avancement histologique est corrélé à une élévation prématurée de la P et à l'échec de l'implantation par un effet d'asynchronie embryon - endomètre (46,48–50). Cet effet délétère sur le transfert embryonnaire frais est d'autant plus marqué que la stimulation ovarienne est forte (51).

Par ailleurs, l'évolution des pratiques avec la recommandation préférentielle d'un **transfert électif d'un seul embryon (eSET)** pour limiter le nombre de grossesses multiples et leurs complications, a conduit à davantage d'embryons surnuméraires disponibles pour la vitrification embryonnaire et donc à l'augmentation du nombre de TEC (52).

2.3. Résultats en TEC comparables aux transferts frais ?

Certaines études ont rapporté de meilleurs résultats après TEC par rapport au transfert frais. En effet, le TEC permet de maîtriser et de synchroniser la réceptivité endométriale avec le stade embryonnaire et a donc pour avantage de s'affranchir de l'avance de maturation endométriale et du décalage d'ouverture de la fenêtre d'implantation liée à l'hyperœstrogénie lors d'une stimulation ovarienne (53–57).

Le premier essai clinique contrôlé randomisé évaluant les naissances vivantes dans les cycles de transferts frais versus congelés a été publié en 2016 et s'intéressait à une population de patientes atteintes du syndrome des ovaires polykystiques (SOPK) (58). Cette étude a mis en évidence un taux de NV après TEC significativement plus élevé chez ces patientes par rapport au transfert frais (49,3% contre 42,0%, RR : 1,17 IC 95% 1,05-1,31 ; p=0,004). Deux essais contrôlés randomisés plus récents ne retrouvent, quant à eux, aucune différence significative en termes de taux de NV entre transferts frais et TEC chez les femmes infertiles sans SOPK (59,60).

En 2019, deux méta-analyses publiées sur le sujet (40,41), incluant plus de 5000 patientes chacune, ont ainsi confirmé une augmentation significative du taux de NV après TEC uniquement chez les patientes SOPK/hyper répondeuses (RR : 1,16 IC 95% [1,05-1,28] ; RR : 1,18 IC 95% [1,06-1,31]) tout en réduisant le risque d'hyperstimulation ovarienne justifiant la stratégie du freeze-all chez ces patientes. Par contre, le taux de NV était similaire après transfert d'embryons congelés ou après transfert d'embryons frais chez les patientes normo répondeuses (RR : 1,03 IC 95% [0,91-1,17] ; RR : 1,13 IC 95% [0,90-1,41]).

2.4. Plus de complications obstétricales et périnatales en TEC qu'en transfert frais ?

L'utilisation grandissante des transferts d'embryons congelés et le nombre croissant de naissances vivantes qui en résulte obligent à examiner de façon continue les risques associés aux TEC, y compris les comparaisons de risque avec l'alternative du transfert embryonnaire frais.

La question de l'incidence des complications obstétricales et périnatales après TEC a été un élément important à évaluer pour garantir la sécurité et la prise en charge des patientes. C'est pourquoi de multiples études se sont intéressées à comparer l'incidence de ces complications après transfert d'embryons frais versus congelés.

Deux méta-analyses sur le sujet publiées en 2018 (61,62) ont montré une diminution du risque de prématurité et de grande prématurité (RR : 0,85 IC 95% [0,74-0,97] ; RR : 0,83 IC 95% [0,75-0,91]), une diminution du petit poids de naissance (RR : 0,72 IC 95% [0,76-0,77] ; RR : 0,78 IC 95% [0,73-0,84]) en TEC par rapport au transfert frais mais une augmentation du risque de macrosomie (RR : 1,85 IC 95% [1,46-2,33] ; RR : 1,58 IC 95% [1,31-1,90]) et de pathologies hypertensives (RR : 1,29 IC 95% [1,07-1,56] ; RR : 1,44 IC 95% [1,16-1,78]) au cours des grossesses issues de TEC. Il n'y avait, par contre, pas de différence significative sur le risque d'anomalies congénitales ou de mortalité périnatale.

Une étude récente a confirmé ces résultats (63) et d'autres (40,57), comme la méta-analyse de Roque et al. (40), ont retrouvé une différence significative uniquement sur le risque de pré-éclampsie qui était plus élevé lors de grossesses issues de TEC (RR : 1,79 ; IC à 95% [1,03-3,09]).

Ce sur-risque de pré-éclampsie a été décrit chez des grossesses simples mais une étude a suggéré qu'il serait limité aux grossesses gémellaires (64). Par ailleurs, il serait essentiellement représenté dans les TEC en cycle artificiel et non en cycle naturel (63,65–67) ; l'absence de CJ semblerait perturber la fonction circulatoire maternelle en début de grossesse et augmenter l'incidence de la pré-éclampsie (65). En effet, le CJ produit non seulement de la P mais également des substances vaso actives, comme la relaxine ou le facteur de croissance endothélial vasculaire, qui ont un rôle important dans la placentation initiale et qui ne sont pas remplacées lors de l'administration de P exogène (68). Cette dernière observation doit être approfondie car elle pourrait modifier de manière significative le protocole optimal pour le TEC chez les patientes ovulatoires, limitant le risque de pré-éclampsie chez ces patientes.

Le mécanisme sous-jacent du risque accru de pré-éclampsie n'est pas clair. Cependant, la cryoconservation d'embryons a été suggérée comme modifiant l'épigénétique de l'embryon in vitro (69), et une dérégulation épigénétique était, à son tour, associée à une placentation anormale et donc une augmentation du risque de pré-éclampsie (70).

Bien que l'utilisation du transfert d'embryons congelés ait régulièrement augmenté ces dernières années, cette stratégie ne doit pas être recommandée au détriment du transfert frais pour toutes les patientes à l'heure actuelle (71).

3. Différents protocoles de TEC

Il existe trois types de protocoles afin de réaliser un TEC : le cycle naturel, le cycle stimulé et le cycle artificiel.

3.1. TEC en cycle naturel

Il s'agit d'un protocole physiologique ou quasi physiologique. Le principe est de détecter le moment de l'ovulation naturelle de la patiente en repérant le pic de LH. Le soutien de la phase lutéale est alors assuré par la sécrétion physiologique de P par le CJ. Parfois, une injection d'hCG peut être administrée lorsqu'un follicule a atteint un diamètre suffisant (> 16mm), puis le transfert embryonnaire est organisé en tenant compte d'un délai de 36 à 40 heures entre l'injection d'hCG et le moment de l'ovulation (72) : il s'agit d'un TEC en cycle naturel modifié. Une supplémentation par P exogène peut également être utilisée.

L'objectif de ce protocole est uniquement de synchroniser l'endomètre et l'embryon.

Il est indiqué seulement chez les femmes ayant des cycles normo-ovulatoires prouvés (un dosage de progestérone satisfaisant en phase lutéale est nécessaire avant de proposer ce protocole).

Les inconvénients sont la nécessité de monitorages échographiques et biologiques plus fréquents, l'absence de programmation possible et le risque d'insuffisance lutéale en cas de cycles dysovulatoires.

Ce protocole est schématisé sur la figure 7.



FIGURE 7 - PROTOCOLE DE TEC EN CYCLE NATUREL (D'APRES L'APPLICATION WISTIM.COM)

3.2. TEC en cycle stimulé

Ce protocole consiste en une stimulation ovarienne avec de faibles doses de gonadotrophines pour optimiser la folliculogénèse et donc la phase lutéale. L'ovulation est déclenchée par une injection d'hCG recombinante et le soutien de la phase lutéale est assuré grâce à la production de P par le CJ. Une supplémentation par P exogène peut également être utilisée.

L'objectif de ce protocole est également de synchroniser l'endomètre et l'embryon. Il est proposé chez des patientes normo ou dysovulatoires.

Ce type de protocole est schématisé sur la figure 8.



FIGURE 8 - PROTOCOLE DE TEC EN CYCLE STIMULÉ (D'APRES L'APPLICATION WISTIM.COM)

3.3. TEC en cycle artificiel

Ce protocole consiste à recréer un cycle artificiel en préparant l'endomètre avec un traitement hormonal substitutif (THS) sans qu'il y ait besoin d'ovulation.

Le THS consiste en l'administration d'estrogènes en première partie de cycle permettant l'obtention d'un endomètre avec une épaisseur suffisante. Les E2 peuvent être administrés par voie orale avec l'inconvénient d'un premier passage hépatique qui modifie les facteurs de la coagulation constituant un facteur de risque thromboembolique, ou bien par voie per cutanée. Lorsque l'endomètre atteint une épaisseur suffisante correspondant à son seuil de réceptivité (73), la progestérone exogène est introduite afin de synchroniser l'endomètre et l'embryon en fonction de son stade de congélation. Le nombre de jours d'administration de P avant le TEC correspond au stade de développement de l'embryon transféré (74). En effet, le rôle principal de la P est l'ouverture de la fenêtre d'implantation. Le taux de P au moment du TEC semblerait influencer le taux de grossesse.

Le TEC en cycle artificiel est considéré comme un protocole anovulatoire car l'administration d'E2 à fortes doses bloque le recrutement folliculaire et l'ovulation. L'apport de P exogène est alors indispensable au soutien de la phase lutéale dans ce type de protocole qui a comme objectif de reproduire la fonction d'un CJ physiologique absent. Toutefois dans 1 à 8% des cas, on constate un échappement de l'ovulation nécessitant alors une suppression hypophysaire par ajout d'un agoniste de la GnRH (75–77).

Le TEC en cycle artificiel est indiqué initialement chez les patientes atteintes d'insuffisance ovarienne prématurée, dans les cycles anovulatoires ou dysovulatoires, chez des patientes atteintes de SOPK difficiles à stimuler ou encore dans les cas de patientes atteintes d'endométriose sous analogues de la GnRH au long cours. Le TEC avec THS est également le protocole utilisé dans le cadre du don d'ovocytes pour la préparation endométriale des receveuses.

Ce type de protocole est schématisé sur la figure 9.

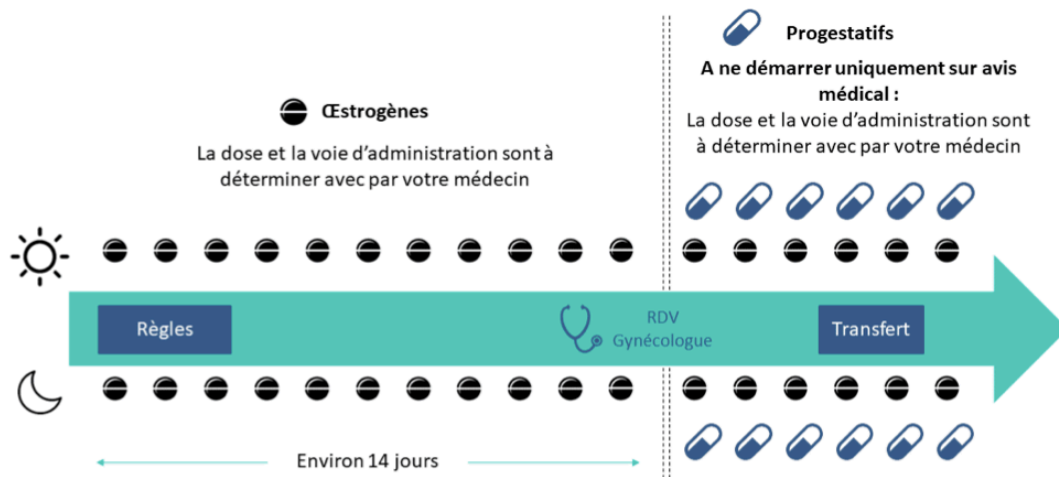


FIGURE 9 - PROTOCOLE DE TEC EN CYCLE ARTIFICIEL (D'APRES L'APPLICATION WISTIM.COM)

3.4. Quel protocole choisir ?

De nombreuses études se sont intéressées à évaluer quelle était la méthode de préparation endométriale optimale pour le transfert d'embryons congelés entre les protocoles naturel (modifié ou non) et artificiel ; les résultats différaient selon la littérature.

Des études ne retrouvaient pas de différence entre ces deux protocoles (6,9,78–82); certaines retrouvaient une supériorité du cycle naturel (83,84); d'autres une supériorité du cycle artificiel (85,86). Finalement, de nombreuses méta analyses sur le sujet (4,5,7,87,88) ont conclu qu'aucun des protocoles n'a véritablement démontré une supériorité même si le niveau de preuve reste faible car la majorité des études étaient rétrospectives avec des populations pas forcément comparables (patientes ovulatoires et anovulatoires).

Peu d'études se sont intéressées au TEC en cycle stimulé et les résultats sont discordants. Quatre études n'ont identifié aucune différence entre les protocoles stimulé et artificiel (89–92). En 2016, la méta analyse de Yarali et *al.* (4) a décrit une augmentation du taux de grossesse et de NV lors de l'utilisation du cycle stimulé par rapport au cycle artificiel, mais cette analyse comprenait des populations et des protocoles de traitement différents. Récemment, deux études françaises rétrospectives ont décrit un taux de NV plus élevé dans le groupe cycle stimulé (93,94).

A la lumière de ces résultats, le cycle stimulé pourrait être prometteur mais des essais contrôlés randomisés devraient être entrepris pour évaluer et comparer ces différents protocoles dans le TEC. A ce jour, il n'existe donc pas de supériorité constante d'une préparation endométriale pour le transfert d'embryons congelés.

Toutefois le TEC en cycle artificiel reste largement utilisé dans les centres de médecine de la reproduction du fait d'une simplicité d'administration du traitement, d'un monitoring échographique et biologique moins fréquent, et d'une meilleure flexibilité organisationnelle.

En effet, ce type de protocole permet de planifier le jour du transfert embryonnaire pour une meilleure organisation des centres. Il permet, d'autre part, de maîtriser très précisément les jours d'exposition à la P exogène et donc de contrôler la fenêtre d'implantation (8).

La figure 10 illustre l'utilisation grandissante du TEC en cycle artificiel au CHU de Bordeaux au cours des dix dernières années.

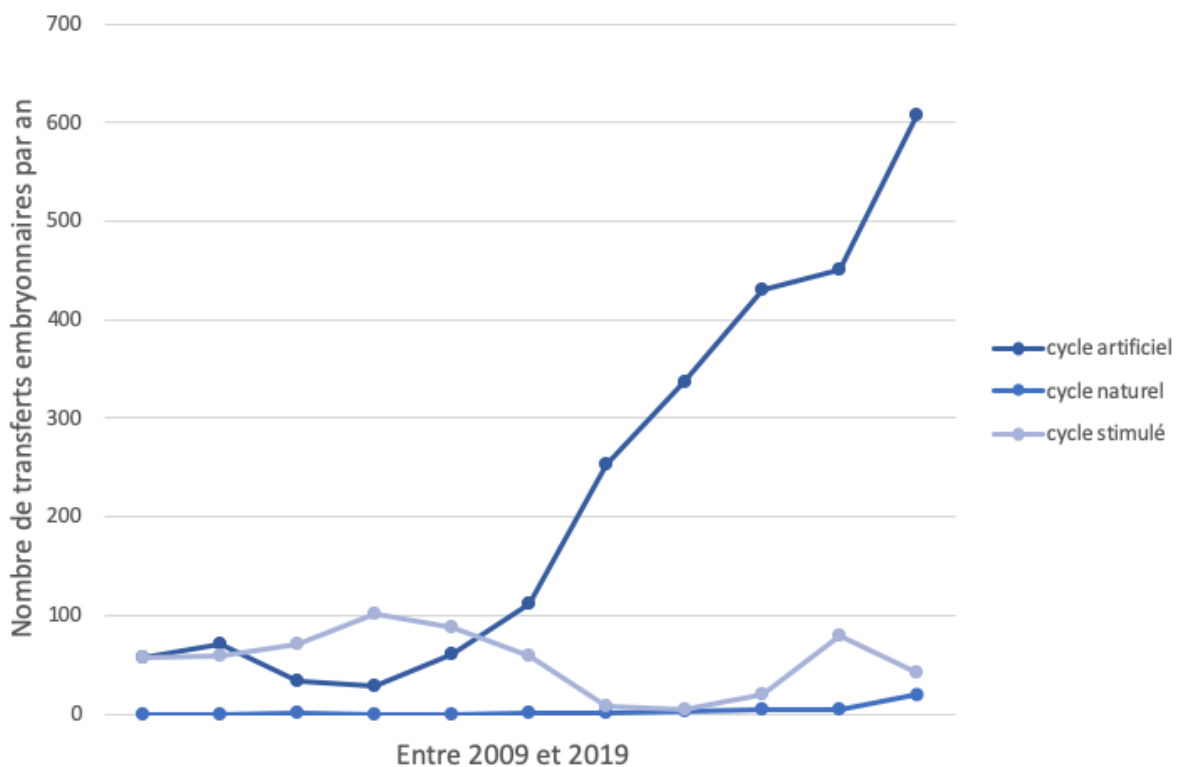


FIGURE 10 - TYPES DE PROTOCOLES UTILISES EN TEC AU CHU DE BORDEAUX, ENTRE 2009 ET 2019.

Mais certaines études rapportent des taux de FCS plus élevés avec ce type de protocole (9,10,67,78,80,95). L'explication reste incertaine mais pourrait être liée à un nombre plus important de patientes atteintes de SOPK dans le groupe bénéficiant de TEC en cycle artificiel.

4. Soutien de la phase lutéale en TEC artificiel

L'administration de progestérone exogène est obligatoire dans les TEC en cycle artificiel car il n'y a pas de production endogène de P. Ceci ne fait pas de doute, mais les dates d'introduction et de fin de la supplémentation, les voies d'administration et les doses de P sont très variables et font encore débat. Enfin le taux sérique de P requis pour optimiser les résultats du cycle reste toujours d'actualité.

4.1. Début et fin de la supplémentation en progestérone

Le moment optimal de la synchronisation embryon - endomètre n'a pas été clairement établi (96) mais le début de la supplémentation en progestérone, c'est-à-dire le nombre de jours d'administration de P avant le transfert d'embryons congelés, devrait correspondre au stade de développement de l'embryon transféré afin d'optimiser la fenêtre d'implantation (74). Une étude sur la durée optimale d'administration de progestérone avant TEC artificiel a d'ailleurs montré un taux de fausses couches précoces plus élevé lorsque la durée de supplémentation en P avant transfert était trop courte ; c'est-à-dire une durée inférieure à l'âge de l'embryon (11).

Il n'y a pas eu d'études s'intéressant à la durée nécessaire de la supplémentation en P après le TEC en cycle artificiel, mais la plupart des centres maintiennent cette supplémentation jusqu'au premier trimestre de grossesse si le test est positif.

4.2. Voies d'administration de la progestérone

Il existe plusieurs voies d'administration de la progestérone : la voie orale, vaginale, intramusculaire (IM) ou sous-cutanée (SC).

La progestérone administrée par **voie orale** est rapidement absorbée par le tractus gastro-intestinal puis métabolisée et subit l'effet de premier passage hépatique entraînant une faible biodisponibilité et une concentration élevée de métabolites ; les taux circulants de P sont alors plus faibles après administration orale qu'après voie vaginale (97–99). La P orale n'induit pas de transformation sécrétoire complète de l'endomètre et semble, de ce fait, non optimale pour le soutien de la phase lutéale (99). L'incapacité de la progestérone administrée par voie orale à induire une transformation sécrétoire adéquate de l'endomètre dans les cycles de don d'ovocytes a été confirmée par plusieurs études (98,100).

Peu d'études se sont intéressées à la comparaison entre la voie orale et les autres voies d'administration pour le soutien de la phase lutéale en TEC artificiel. Une méta analyse d'études randomisées sur la comparaison de la supplémentation par P orale (dydrogestérone) versus vaginale chez les femmes bénéficiant d'un transfert d'embryons frais ou congelés, a mis en évidence l'absence de différence sur les taux de grossesse évolutive et naissance vivante entre ces deux voies d'administration (101). Cependant l'utilisation de doses de P différentes entre les études a constitué un biais non négligeable dans l'analyse. Cette méta-analyse incluait principalement des cycles de transferts embryonnaires frais ; seulement deux études concernaient des cycles de transfert d'embryons congelés. L'une n'a pas montré de différence sur les résultats entre la P orale versus vaginale mais il s'agissait d'une étude pilote et la taille de l'échantillon dans chaque groupe n'était pas suffisante pour obtenir une puissance statistique (102). L'autre concernait un essai randomisé ayant retrouvé un taux de grossesse clinique statistiquement plus élevé après administration de P vaginale par rapport à la voie orale seule (103).

Alors que la progestérone par **voie intramusculaire** est fréquemment utilisée aux États-Unis, la voie vaginale est le mode d'administration de P privilégié en Europe. Par rapport aux injections IM, les patientes semblent préférer la voie vaginale en raison de son administration rapide, facile et indolore (104–106); et de nombreux cliniciens dans le monde préfèrent également cette voie d'administration (107). Les données de la littérature sont contradictoires concernant la comparaison de la voie IM versus vaginale sur les taux de grossesse en TEC. Deux études rétrospectives (108,109) sont en faveur de la voie IM et un récent essai américain contrôlé randomisé (110) a prouvé l'infériorité du support lutéal par 400 mg/jour de P vaginale seule par rapport à la voie IM pour le transfert d'embryons congelés au stade blastocyste. Cette dernière étude a mis en évidence une diminution du taux de grossesse évolutive après P vaginale seule en lien avec une augmentation du taux de fausses couches, mais le groupe ayant reçu la P vaginale a reçu une dose plus faible que celle utilisée en Europe. Cette différence pourrait expliquer les écarts entre les centres en termes de succès selon les voies d'administration de P, car les doses administrées sont souvent déterminées par le médecin. De plus, l'étude de Delcour et *al.* (111) menée chez des receveuses d'ovocytes indique que l'ajout de P IM à la P vaginale le soir du transfert est associé à un taux de fausses couches plus faible et à un taux de NV plus élevé par rapport à une supplémentation par P vaginale seule. Mais de nombreuses études ont, quant à elles, rapporté des issues de grossesse similaires entre ces deux voies d'administration (87,112–116). Enfin, une récente étude rétrospective menée sur plus de 3000 TEC en cycle artificiel a constaté que la P vaginale pourrait augmenter de manière significative le taux de NV tout en diminuant le taux de fausses couches par rapport aux injections IM (117). Il est important de noter que la comparaison des études sur ce sujet est difficile car elles sont hétérogènes concernant le stade

embryonnaire lors du transfert, les formes galéniques, les doses administrées et les schémas posologiques que ce soit pour la P IM ou vaginale.

La progestérone par **voie vaginale** est généralement administrée sous forme de capsule vaginale ou de gel. Son efficacité est liée à une distribution préférentielle sélective à l'utérus appelé effet de premier passage utérin. Ce phénomène résulte des particularités anatomiques des vaisseaux utérins et du tiers supérieur du vagin avec une proximité immédiate des veines et des artères et une surface d'échange étendue liée au « bobinage » des vaisseaux (118,119). L'effet de premier passage utérin explique des concentrations endométriales de progestérone étonnement élevées par rapport aux faibles concentrations plasmatiques après une administration vaginale. C'est pourquoi, la progestéronémie est plus faible et les concentrations tissulaires plus élevées après administration vaginale par rapport à la voie IM (112,118,120,121).

Le mécanisme expliquant l'effet de premier passage utérin est illustré sur la figure 11.

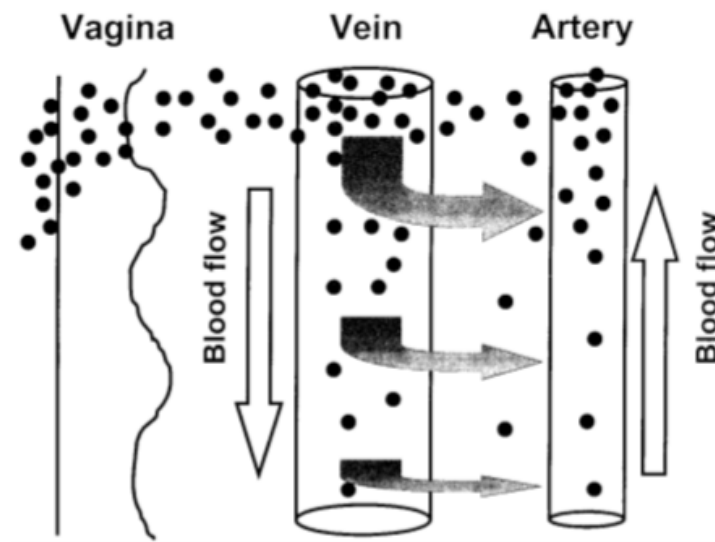


FIGURE 11 - MECANISME EXPLIQUANT L'EFFET DE PREMIER PASSAGE UTERIN AVEC UN SYSTEME D'ECHANGE A CONTRE-COURANT. (D'APRES CICINELLI ET AL. 1999 (118))

La comparaison entre P IM et vaginale a conduit à des résultats controversés en ce qui concerne la supériorité de l'une ou de l'autre voie dans l'induction de la transformation sécrétoire de l'endomètre. Mais il existe de plus en plus de preuves dans la littérature suggérant que la P vaginale pourrait être supérieure aux autres voies ; principalement en raison de l'effet de premier passage utérin qui se traduit par une meilleure biodisponibilité locale de la progestérone dans l'utérus. Cependant de grandes études prospectives randomisées sont nécessaires pour confirmer cette supériorité et détecter la dose et la formulation optimales.

Enfin l'injection de progestérone **sous-cutanée** est une voie d'administration récente qui n'est à ce jour pas remboursée par la sécurité sociale. L'auto-administration sous-cutanée de P aqueuse a toujours été considérée comme problématique en raison de la faible hydro solubilité de l'hormone ; mais cela a été modifié en améliorant la polarité grâce à l'encapsulation des molécules de P dans une cyclodextrine. Sa biodisponibilité est équivalente aux solutions huileuses pour injection IM, même si son absorption est nettement plus rapide (122). Il n'y a pas encore eu d'études comparatives concernant l'efficacité de la voie SC par rapport aux autres voies d'administration en TEC. Toutefois, il s'agit d'une voie prometteuse qui a montré son efficacité à induire la transformation sécrétoire de l'endomètre en l'absence de progestérone endogène (123). De plus, l'acceptation et la tolérance semble encore meilleure que la voie vaginale (124) et les études en FIV, sur la base de deux essais d'innocuité et d'efficacité de phase III (125,126), ont démontré la non-infériorité de la voie SC par rapport aux voies vaginales (127).

4.3. Dose optimale de progestérone exogène

La dose optimale de P pour la supplémentation en TEC artificiel n'est pas consensuelle. Dans la plupart des études, une supplémentation par P vaginale à la dose de 600 mg/j est utilisée mais la posologie peut varier de 400 à 1200 mg/j. Même si deux études rétrospectives ont conclu que le doublement de la dose de progestérone vaginale augmentait les taux de grossesse en TEC (128,129) ; il n'y a, à ce jour, pas de recommandations sur les doses de P dans le cadre de la supplémentation pour le transfert d'embryons congelés.

Par contre, concernant le soutien de la phase lutéale en FIV, l'European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE) a publié des recommandations en 2019 suggérant, de façon empirique, les posologies de P suivantes selon la voie d'administration :

- 50 mg/j de P IM
- 600 mg/j de P vaginale (capsule) ou 90 mg/j de P vaginale (gel)
- 25 mg/j de P SC

mais là encore, les conclusions ne sont pas consensuelles. En effet, une méta analyse Cochrane (130) étudiant la posologie de la P vaginale pour le soutien de la phase lutéale en FIV a conclu qu'il n'y avait pas de différence significative entre une faible dose (≤ 100 mg) et une dose élevée (≥ 100 mg) de P sur le taux de grossesse évolutive ou de naissance vivante (5 essais randomisés chez 3720 patientes ; OR : 0,97 IC 95% [0,84-1,11]).

Ces posologies de P exogène sont donc recommandées pour le soutien de la phase lutéale en FIV au cours de laquelle plusieurs CJ existent et produisent eux-mêmes de la P endogène. Mais Labarta et *al.* en 2020 (131) rappelle, tout de même, que dans les TEC en cycle artificiel, il n'existe pas de CJ et donc pas de production endogène de P et suggère donc qu'un doublement de ces doses serait nécessaire dans les cycles artificiels pour garantir une exposition suffisante à la P.

Mais il n'y a, à ce jour, pas de recommandation établie sur les doses de P dans le cadre de la supplémentation pour le TEC.

4.4. Pharmacocinétique de la progestérone par voie vaginale

La progestérone administrée par voie vaginale a une meilleure biodisponibilité que la progestérone administrée par voie orale car elle ne subit pas le premier passage hépatique.

Son absorption par la muqueuse vaginale est rapide en quelques heures ; le temps pour atteindre sa concentration plasmatique maximale (Tmax) est d'environ 6 heures après la première administration et cette concentration maximale reste en plateau pendant 24 heures (97,132,133).

Une étude randomisée a démontré que son absorption était diminuée par les rapports sexuels (134).

Par ailleurs, l'état d'équilibre c'est-à-dire le moment où les concentrations plasmatiques de P sont considérées comme étant stables dans le temps est atteint au bout de 48 heures (135). Ces données pharmacocinétiques confirment la notion selon laquelle le moment du dosage de P au cours de la journée est moins important au-delà de 48 heures après le début de la première administration de P vaginale étant donné que les concentrations sont alors considérées comme stables dans le temps.

Ces paramètres pharmacocinétiques sont illustrés dans les figures 12 et 13.

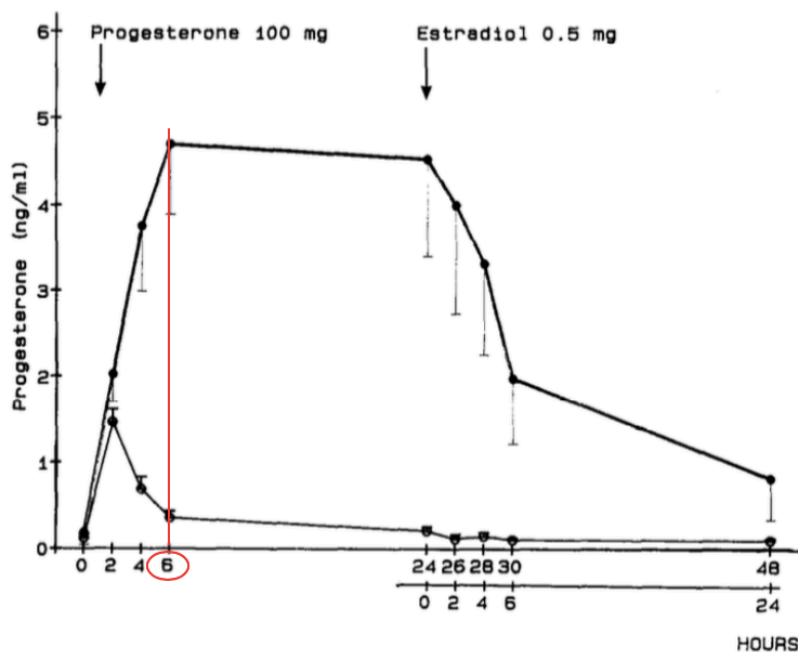


Fig. 1. Plasma levels (mean \pm S.E.M.) of progesterone after vaginal (●) and oral (○) administration of progesterone.

FIGURE 12 - CONCENTRATIONS PLASMATIQUES DE PROGESTERONE APRES ADMINISTRATION D'UNE DOSE UNIQUE DE 100 MG DE PROGESTERONE MICRONISEE PAR VOIE VAGINALE. (D'APRES NAHOUL ET AL. 1993 (97))

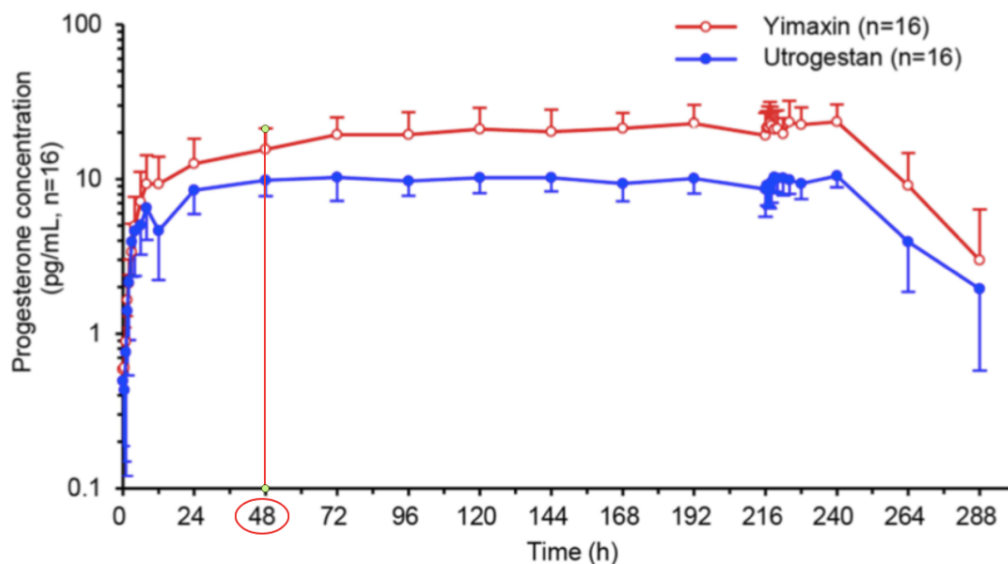


FIGURE 13 - CONCENTRATIONS PLASMATIQUES DE PROGESTERONE APRES ADMINISTRATION DE DOSES REPETEES DE 400 MG/JOUR DE PROGESTERONE MICRONISEE PAR VOIE VAGINALE. (D'APRES WANG ET AL. 2019 (135))

La pharmacocinétique et la pharmacodynamie de la progestérone administrée par voie vaginale diffèrent donc de celles des autres voies d'administration intramusculaire, sous-cutanée ou orale (136). Pour cette raison, les études examinant le rôle du taux sérique de P sur l'issue de la grossesse ne peuvent pas être comparées en utilisant différentes voies d'administration.

4.5. Mesures des taux sériques de progestérone sous progestérone vaginale

Rappelons que dans les cycles spontanés chez des femmes fertiles, un seuil de progestéronémie supérieur à 10 ng/ml a été défini comme étant le reflet d'une ovulation adéquate. Cependant, l'évaluation d'un seuil de P semble difficile à déterminer dans les cycles spontanés car il existe d'importantes fluctuations des concentrations sériques de P en milieu de phase lutéale (2).

Au contraire et au regard des données pharmacocinétiques concernant la P vaginale, la mesure du taux sérique de P en cycle artificiel est possible et semble fiable car elle ne présente pas la variabilité que l'on peut rencontrer en cycle spontané. Il a été démontré pour les TEC en cycle artificiel, qu'il existe en milieu de phase lutéale (2 ou 3 jours après le transfert embryonnaire) un intervalle de progestéronémie optimal associé à des taux de grossesse et de naissance plus élevés (137).

Mais la littérature sur l'existence d'un seuil optimal de P sérique le jour du TEC est plutôt rare et la valeur considérée comme seuil n'est pas consensuelle. Certaines études ont considéré, après supplémentation par P vaginale, un seuil à 10 ng/ml selon le postulat d'une ovulation satisfaisante (138,139), d'autres un seuil à 9,2 ng/ml (140) selon les quartiles provenant des distributions de leur population d'étude. De moins bons résultats de grossesse étaient associés à des taux sériques de P plus faibles le jour du TEC ; mais ces études étaient menées sur de faibles échantillons (138,140). En outre, une étude récente a conclu qu'il n'y avait pas d'impact du taux sérique de P le jour du TEC artificiel sur les taux de grossesse (139).

Si l'on considère que la progestéronémie le jour du TEC est effectivement corrélée au taux de grossesse, alors, la mise en place d'un seuil de P requis pour permettre une bonne implantation permettrait une modification des protocoles pour atteindre ce seuil. Cependant, compte tenu de l'hétérogénéité et de la force limitée de la littérature disponible dans ce domaine, notre objectif était de déterminer si les taux sériques de P le jour du transfert embryonnaire sont en réalité prédictifs ou non de l'issue de la grossesse dans les cycles de TEC artificiel.

L'objectif de cette étude était donc d'évaluer l'impact du taux sérique de P le jour du TEC en cycle artificiel sur le taux de grossesse évolutive. Autrement dit si une progestéronémie considérée comme basse le jour du transfert était prédictif d'un taux de grossesse évolutive plus faible.

MATERIELS ET METHODES

1. Type d'étude

Nous avons mené une étude de cohorte observationnelle, analytique, unicentrique au sein du centre d'assistance médicale à la procréation du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Bordeaux avec un recueil prospectif des données entre le 1^{er} janvier 2019 et le 28 février 2020.

2. Objectifs

2.1. Objectif principal

L'objectif principal de notre étude était d'évaluer l'impact du taux sérique de progestérone le jour du transfert d'embryons congelés sur le taux de grossesse évolutive.

2.2. Objectifs secondaires

Les objectifs secondaires étaient l'évaluation de l'impact du taux sérique de progestérone le jour du transfert sur les taux de grossesse débutante, clinique et sur le taux de perte de grossesse avant 12 semaines d'aménorrhée (SA).

3. Critères d'éligibilité

3.1. Critères d'inclusion

Les critères d'inclusion étaient définis comme listés ci-dessous :

- Toutes patientes réalisant un TEC, hors parcours de don d'ovocytes ou d'accueil d'embryons, dans le service de médecine de la reproduction du CHU de Bordeaux pendant la période d'inclusion.
- Ayant reçu un protocole de préparation endométriale artificiel par E2 puis par capsules de P vaginale micronisée 200 mg le matin et 400 mg le soir soit 600 mg par jour.
- N'ayant pas été déprogrammées en cours de traitement, c'est-à-dire répondant aux critères suivants : épaisseur de l'endomètre ≥ 6.5 mm et taux de P $< 1,5$ ng/ml en fin de phase folliculaire.
- Avec obtention d'au moins un embryon viable après dévitrification.

3.2. Critères d'exclusion

Les critères d'exclusion étaient les suivants :

- TEC avec don d'ovocytes ou accueil d'embryons.
- Absence de transfert embryonnaire (lyse embryonnaire, endomètre fin ou taux de P \geq 1,5 ng/ml, métrorragie, suspicion de polype endocavitaire ou d'hydrosalpinx).
- Toute modification de la supplémentation en P avant ou après le transfert embryonnaire.
- Transfert embryonnaire au stade zygote (car l'exposition à la P exogène avant le transfert était de moins de 48 heures chez ces patientes).
- Patientes n'ayant pas réalisé le dosage sérique de P le jour du TEC.

4. Paramètres étudiés

Les données clinico-biologiques ont été recueillies à partir des logiciels de dossiers informatisés utilisés dans le service (JFIV et DxCare) puis ont été anonymisées.

Nous avons recueilli d'une part les caractéristiques maternelles :

- Age maternel
- Indice de masse corporelle (IMC)
- Tabagisme actif
- Nulliparité
- Dosage de l'hormone anti-müllérienne (AMH)
- Étiologie de l'infertilité : masculine, tubaire, endométriose, inexpiquée (incluant les insuffisances ovariennes débutantes (IOD)), ovulatoire, mixte
- Épaisseur et aspect de l'endomètre lors du début de la supplémentation par P vaginale

Et d'autre part les caractéristiques embryonnaires :

- Nombre d'embryons transférés
- Stade embryonnaire : stade précoce (J2-J3) ou stade tardif blastocyste (J5-J6)
- Nombre d'embryons de haute qualité ou « TOP embryon » après dévitrification défini comme tel : embryon J2 à 4 blastomères réguliers et non fragmentés ; embryon J3 à 8 blastomères réguliers et non fragmentés selon la classification BLEFCO (141) (annexe 1) ; blastocyste entièrement expansé avec une masse cellulaire interne (MCI) et une qualité de trophectoderme A selon la classification de Gardner et Schoolcraft (annexe 2).

- Nombre d'embryons de « bonne qualité » après dévitrification défini comme tel : embryon J2 avec 3 à 5 blastomères sans fragmentation ; embryon J3 avec 6 à 10 blastomères avec moins de 20% de fragmentation selon Cédric-Durnerin et *al.* (138) ; blastocyste B4 à B6 c'est-à-dire entièrement expansé, en voie d'éclosion ou blastocyste éclos avec une MCI et une qualité de trophoctoderme A ou B selon la classification de Gardner et Schoolcraft.

5. Protocole de TEC en cycle artificiel

5.1. Préparation endométriale

Au deuxième jour de leur cycle, toutes les patientes débutaient un traitement par E2 per os (Provames®) 2 mg matin et 4 mg le soir ou E2 transcutané (Vivelledot®) 100 µg, 1 patch tous les 2 jours. La dose initiale de traitement par E2 était éventuellement adaptée à la réponse d'un précédent traitement pour TEC. Au bout de 10 à 12 jours de traitement, un dosage sanguin de P ainsi qu'une échographie endo-vaginale étaient réalisés pour apprécier l'aspect et mesurer l'épaisseur de l'endomètre.

Si l'épaisseur endométriale était < 6,5 mm, le traitement était poursuivi ou la dose d'E2 était éventuellement augmentée et l'échographie recontrôlée une semaine plus tard.

Si l'endomètre était \geq 6,5 mm et le taux sanguin de P < 1,5 ng/ml, le traitement par E2 était poursuivi et une supplémentation par P vaginale (Estima Gé® ou Utrogestan® ou Progestan®) 200 mg, 1 ovule le matin et 2 le soir pouvait être débutée. La supplémentation par progestérone débutait 2 jours avant un transfert d'embryon J2, 3 jours avant un transfert d'embryon J3 et 5 ou 6 jours avant un transfert embryonnaire au stade blastocyste. Toutes les patientes avaient donc reçu au moins 48 heures de progestérone vaginale avant le transfert.

5.2. Transfert embryonnaire

Le transfert embryonnaire était prévu 2 à 6 jours après l'introduction de la P vaginale selon le stade embryonnaire. Toutes les patientes devaient réaliser un dosage sérique de progestérone le jour du transfert. Cette prise de sang était réalisée dans le laboratoire d'analyse de leur choix. Le transfert embryonnaire avait lieu dans tous les cas. Il était effectué par un médecin du centre, à l'aide d'un cathéter souple Ellios® (un cathéter rigide était utilisé en cas de transfert difficile) dans lequel le ou les embryons dévitrifiés étaient montés par un biologiste ou un technicien du centre. Après avoir

nettoyé l'orifice externe du col à l'aide de compresses, le ou les embryons étaient déposés dans la cavité utérine, sous contrôle échographique. A la fin du geste, le cathéter était de nouveau confié au biologiste afin de s'assurer de l'absence de rétention embryonnaire.

Un test de grossesse par dosage d'hCG quantitatif plasmatique était réalisé 14 jours après le transfert embryonnaire. Le traitement par E2 et P était à continuer jusqu'au test de grossesse. Si le test était positif, le dosage était renouvelé 1 à 2 fois à une semaine d'intervalle puis une échographie sus-pubienne ou endo-vaginale de datation était réalisée 4 semaines après le transfert d'embryons. En cas de grossesse, le traitement par E2 était prolongé à la même dose pendant 3 semaines supplémentaires puis diminué à 4 mg par jour pendant 4 jours puis à 2 mg par jour pendant 3 jours puis arrêté. La supplémentation par P vaginale, quant à elle, était poursuivie à la même dose jusqu'à 12 SA.

6. Critères d'évaluation

6.1. Critère d'évaluation principal

Le critère de jugement principal était le taux de grossesse évolutive défini par la présence d'une grossesse évolutive à 12 SA.

6.2. Critères d'évaluation secondaires

Les critères de jugement secondaires étaient définis comme listés ci-dessous :

- Taux de grossesse débutante défini par un taux d'hCG > 100 UI/L, dosage réalisé 14 jours après le transfert embryonnaire.
- Taux de perte de grossesse avant 12 SA incluant les FCS et les grossesses extra-utérines (GEU).
- Taux de grossesse clinique défini par la présence d'un sac gestationnel intra-utérin avec un embryon et une activité cardiaque identifiée sur l'échographie de datation réalisée 4 à 6 semaines après le transfert embryonnaire.

7. Aspects statistiques

Dans un premier temps nous avons réalisé des analyses descriptives.

Nous avons choisi de réaliser une analyse comparative selon le seuil de P définissant une ovulation adéquate d'après la littérature, soit un seuil à 10 ng/ml. Notre cohorte a été séparée en deux groupes un groupe qui comprenait les cycles avec un taux de P le jour du transfert < 10 ng/ml et un groupe comprenant les cycles avec un taux de P \geq 10 ng/ml. Les issues de grossesses ont été comparées dans chacun des groupes. Les variables quantitatives étaient décrites sous forme de moyennes et écarts-types. La comparaison des variables quantitatives a été réalisée par le test de Kruskal-Wallis car elles ne suivaient pas une loi normale. Les variables qualitatives étaient décrites sous forme de fréquences et de pourcentages. Le test statistique employé pour les comparaisons de pourcentages était le test du Chi-2.

Pour prendre en compte le fait qu'une même patiente puisse avoir réalisé plusieurs cycles, le modèle initial était un modèle de régression logistique mixte avec intercept aléatoire. Devant l'absence de convergence des modèles mixtes, nous avons utilisé finalement un modèle de régression logistique multivarié. Toutes les variables identifiées comme facteurs de confusion potentiels ont été incluses dans le modèle d'analyse multivariée.

En l'absence d'un seuil consensuel de P dans les études précédentes, nous avons pris en compte le taux de P le jour du transfert en tant que variable quantitative continue pour permettre une analyse plus fine de son effet par rapport à une prise en compte qualitative avec différents seuils. L'hypothèse de proportionnalité a été vérifiée par la méthode des polynômes fractionnaires. Les données sont analysées en données complètes.

Enfin, nous avons réalisé une analyse en sous-groupes selon le kit de dosage utilisé. L'interaction entre le taux de progestérone le jour du transfert et le kit de dosage a été réalisée après ajustement sur les potentiels facteurs de confusion.

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel R version 4.0.0.

Le seuil de significativité statistique retenu était de 5% ($p = 0,05$) pour toutes les analyses.

Notre étude a été déclarée auprès du délégué à la protection des données du CHU de Bordeaux.

RESULTATS

1. Caractéristiques de la population

1.1. Effectif total et prévalence d'une progestéronémie basse dans notre cohorte

Pendant la période d'étude, 746 TEC en cycle artificiel ont été programmés dans notre centre. 38 cycles ont été exclus car déprogrammés soit en raison d'une lyse embryonnaire lors de la dévitrification, soit en lien avec d'autres causes (endomètre fin, $P \geq 1,5$ ng/ml, métrorragies, suspicion de polype endocavitaire ou d'hydrosalpinx).

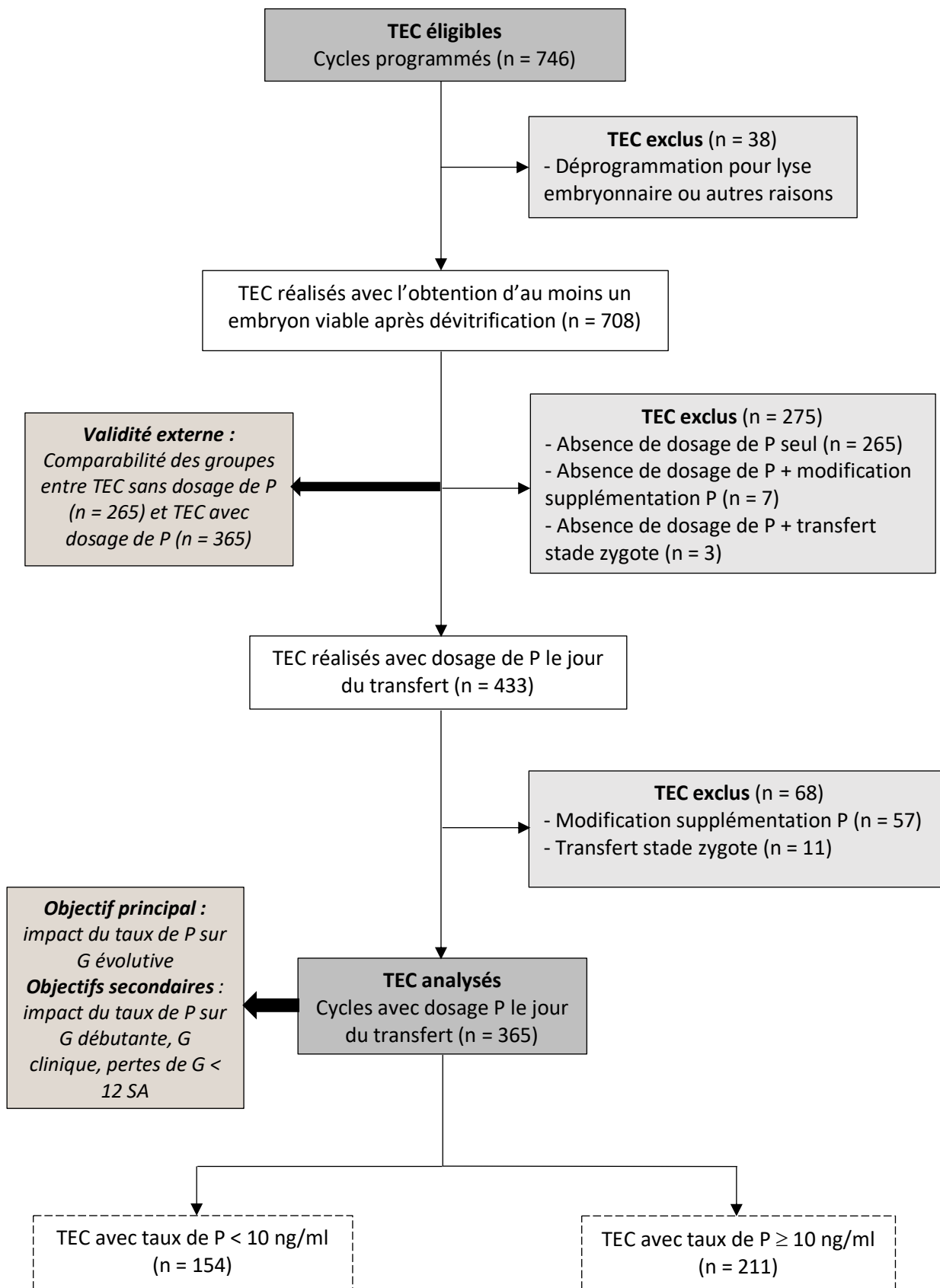
Ainsi, 708 TEC artificiel ont été réalisés avec l'obtention d'au moins un embryon viable après dévitrification. 275 sur 708 cycles soit 39%, ont dû être exclus car nous ne disposions pas du dosage de progestérone le jour du transfert d'autant plus que 7 d'entre eux n'avaient pas reçu la supplémentation par P vaginale standardisée selon le schéma d'étude et 3 étaient des transferts au stade zygote.

Ainsi, 433 TEC artificiel ont été réalisés avec dosage de P le jour du transfert. Parmi ces 433 TEC, 68 cycles ont été exclus : 57 pour modification de la supplémentation en P par rapport au schéma d'étude et 11 pour transfert embryonnaire au stade zygote.

Au total, 365 cycles de TEC artificiel avec supplémentation par 600 mg/j de P vaginale et avec dosage de P le jour du transfert ont été analysés chez 277 patientes.

D'après les données de la littérature définissant qu'une ovulation adéquate engendre un taux sérique de $P \geq 10$ ng/ml, nous avons considéré une progestéronémie basse comme étant inférieur à 10 ng/ml. Ainsi sur les 365 TEC inclus dans l'analyse, 154 soit 42% avaient une progestéronémie considérée comme basse le jour du transfert et 211 soit 58% avaient une progestéronémie ≥ 10 ng/ml.

Ces données sont illustrées sur la figure 14.



TEC : Transfert d'embryons congelés
 P : Progestérone
 G : Grossesse
 SA : Semaines d'aménorrhée

FIGURE 14 - DIAGRAMME DE FLUX.

1.2. Caractéristiques clinico-biologiques de la population et issue de grossesse dans notre cohorte

Dans notre population, les patientes étaient en moyenne âgées de 33,9 ans avec un IMC moyen à 24,7 kg/m², non fumeuses dans 77% des cas. Le nombre moyen d'embryons transférés était de 1,4 et dans la plupart des cas il s'agissait d'un embryon de stade J2 (67,4% des cas) de bonne qualité après dévitrification (dans 83% des cas).

Le taux moyen de grossesse évolutive dans notre cohorte était de 16,7%. Les taux moyens de grossesse débutante étaient de 31,2%, de grossesse clinique 18,1% et de pertes de grossesse avant 12 SA de 46,5%.

1.3. Distribution du taux de progestérone le jour du transfert dans notre cohorte

Après supplémentation par 600 mg/j de P par voie vaginale, le taux sérique moyen de P le jour du transfert dans notre cohorte était de $11,1 \pm 3,6$ ng/ml avec une large fourchette [2,0-28,2 ng/ml].

L'histogramme est représenté sur la figure 15.

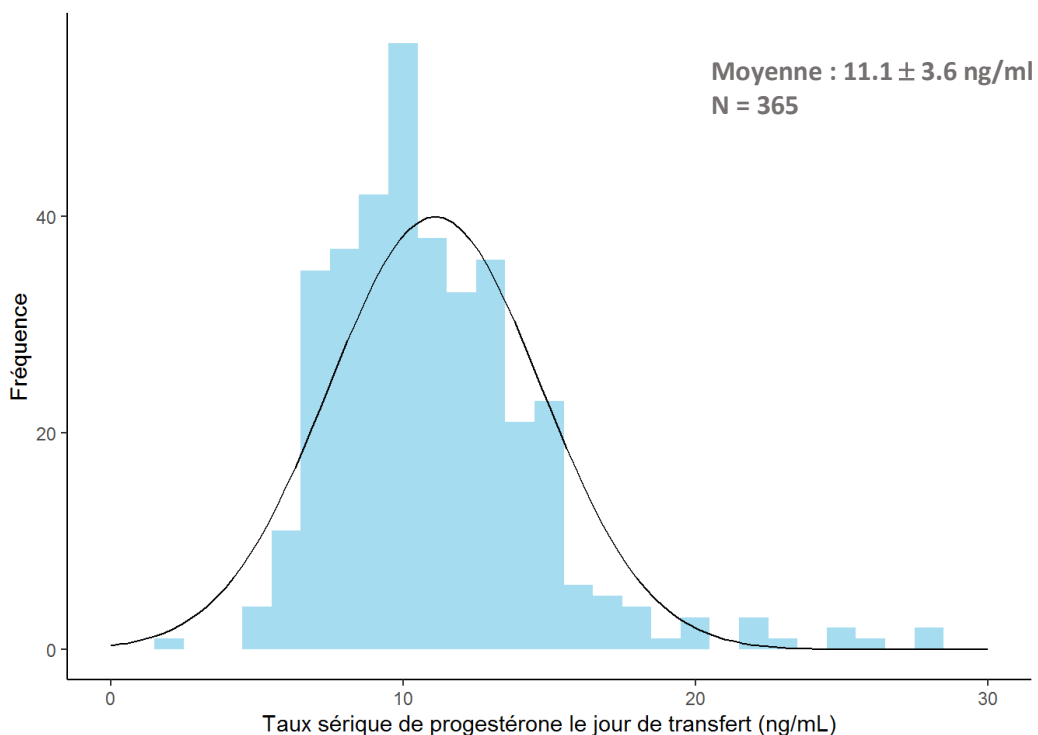


FIGURE 15 - REPARTITION DU TAUX SERIQUE DE PROGESTERONE LE JOUR DU TRANSFERT D'EMBRYONS CONGELES.

1.4. Kits utilisés pour le dosage de progestérone

La progestéronémie a été déterminée grâce à un dosage immunologique par chimiluminescence qui utilise un réactif composé d'un anticorps couplé à un composé chimiluminescent pour détecter le complexe Progestérone/Anticorps. Il existe cependant différents kits de dosage selon les laboratoires qui diffèrent par le réactif utilisé.

Or, dans notre étude, le laboratoire n'était pas standardisé. Les patientes réalisaient donc leur prélèvement sanguin dans des laboratoires d'analyses différents et différents kits de dosage ont donc été utilisés pour techniquer ces prélèvements.

Néanmoins, malgré l'absence de standardisation sur le kit de dosage, nous avons retrouvé un kit standard majoritaire utilisé dans 78% des cas dans notre population ; il s'agissait du kit Abbott.

La répartition des différents kits de dosage est représentée sur la figure 16.

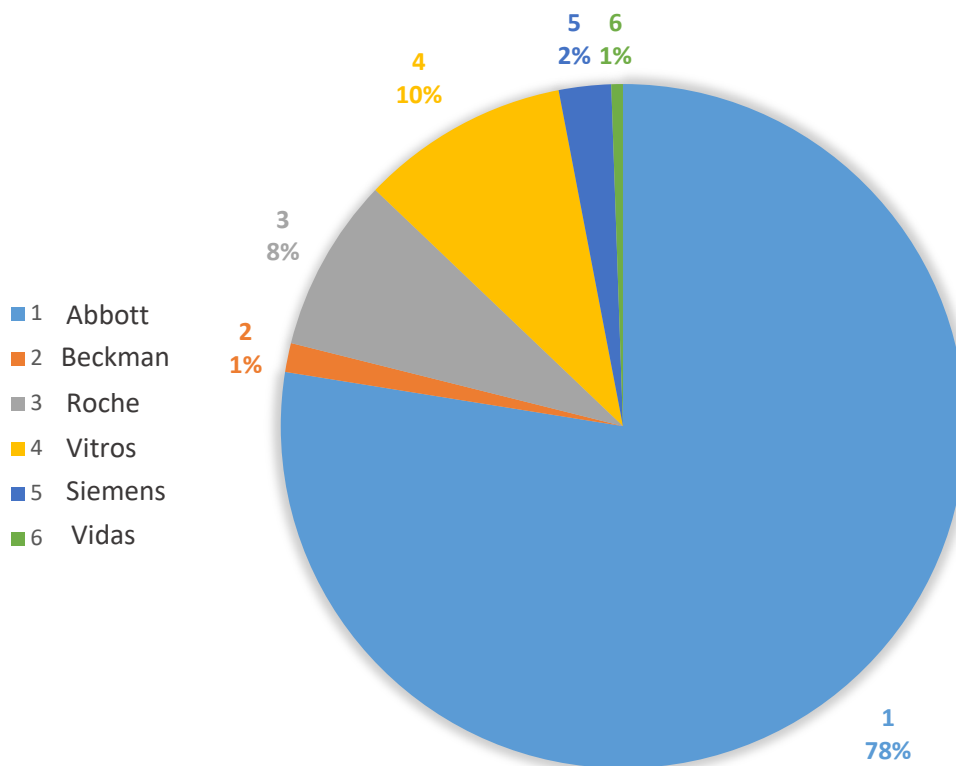


FIGURE 16 - REPARTITION DES DIFFERENTS KITS DE DOSAGE UTILISES.

1.5. Heure du prélèvement sanguin pour le dosage de progestérone

Le jour du transfert embryonnaire, toutes les patientes ne réalisaient pas leur prise de sang au même moment dans la journée.

Malgré l'absence de standardisation sur l'heure de prélèvement sanguin, les patientes ont majoritairement réalisé leur prise de sang le matin du transfert d'embryons congelés, entre 7 heures et 10 heures (dans 65% des cas).

Cette information apparait sur la figure 17.

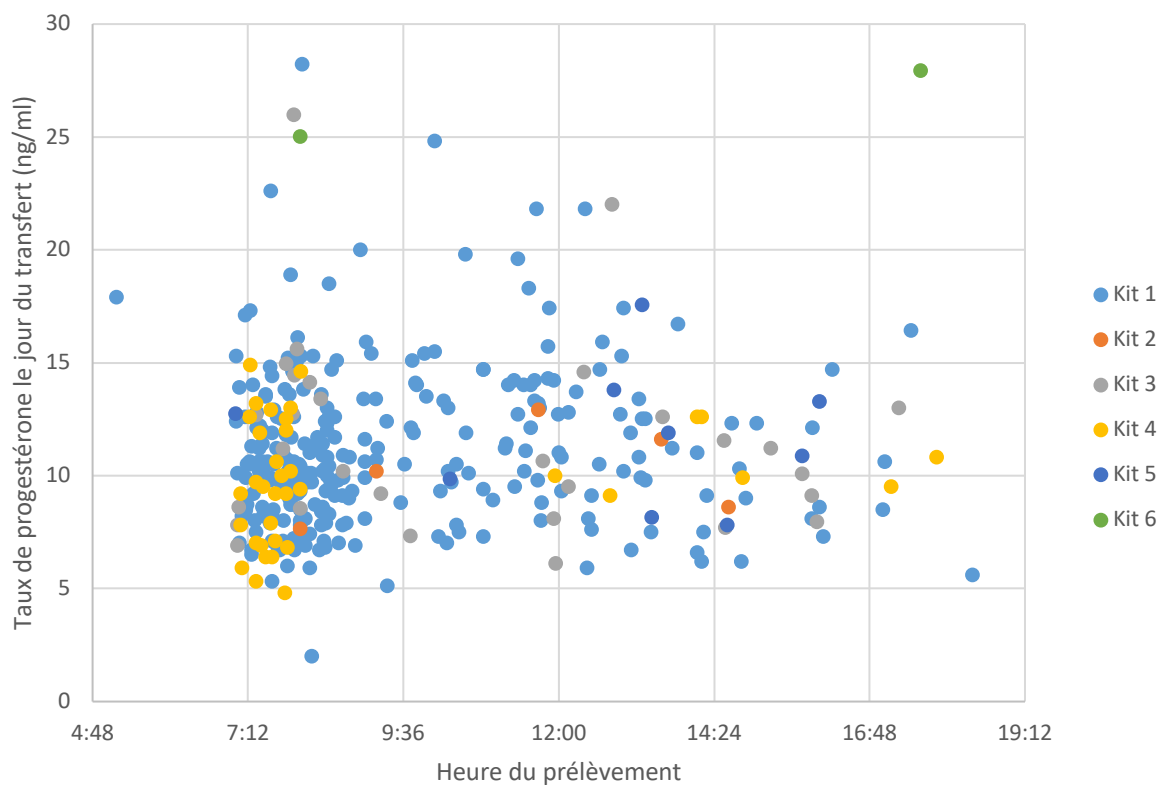


FIGURE 17 - DISTRIBUTION DES TAUX SERIQUES DE PROGESTERONE LE JOUR DU TRANSFERT, REALISES SELON DIFFERENTS KITS DE DOSAGE, EN FONCTION DE L'HEURE DE PRELEVEMENT.

2. Groupes de comparaison selon un seuil de progestérone à 10 ng/ml

Nous avons souhaité dans un premier temps étudier l'impact du taux sérique de P selon un seuil de P à 10 ng/ml, définissant une ovulation adéquate d'après la littérature.

2.1. Comparabilité des groupes

Les deux groupes étaient comparables sur toutes les caractéristiques clinico-biologiques : l'âge ($33,5 \pm 4,7$ vs $34,2 \pm 4,3$ p=0,242), l'IMC ($24,1 \pm 4,9$ vs $25,1 \pm 5,4$ kg/m², p=0,147), le tabagisme (18,2% vs 26,5% p=0,067), la nulliparité (71,4% vs 65,4% p=0,255), le taux sérique d'AMH ($3,7 \pm 2,8$ vs $3,3 \pm 2,6$ ng/ml p=0,303), l'étiologie de l'infertilité, l'épaisseur de l'endomètre ($8,6 \pm 1,8$ vs $8,7 \pm 1,9$ mm p=0,958). Le nombre d'embryons transférés ($1,4 \pm 0,5$ vs $1,4 \pm 0,5$ p=0,887), le stade embryonnaire (embryon J2 : 66,9% vs 67,8%, embryon J3 : 26,6% vs 21,3% et embryon J5 : 6,5% vs 10,9% p=0,219) et la qualité embryonnaire après dévitrification (bonne qualité embryonnaire : 82,5% vs 83,4% p=0,812 ; TOP embryon 49,4% vs 46,4% p=0,595) étaient similaires dans les deux groupes. Enfin, quel que soit le groupe, le dosage de P avait été réalisé majoritairement à l'aide du kit de dosage standard Abbott (76,0% vs 78,7% p=0,605).

Ces données sont représentées dans le tableau 1.

| Variables | P < 10 ng/ml n = 154 (139 patientes*) | P ≥ 10 ng/ml n=211 (168 patientes*) | P-value |
|-------------------------------------|---|--|----------------|
| Age (ans) | 33.5 ± 4.7 | 34.2 ± 4.3 | 0.242 |
| IMC (kg/m²) | 24.1 ± 4.9 | 25.1 ± 5.4 | 0.147 |
| Tabagisme n (%) | 28 (18.2) | 56 (26.5) | 0.061 |
| Nulliparité n (%) | 110 (71.4) | 138 (65.4) | 0.255 |
| AMH (ng/ml) | 3.7 ± 2.8 | 3.3 ± 2.6 | 0.303 |
| Étiologies infertilité n (%) | | | 0.338 |
| Masculine | 54 (35.1) | 61 (28.9) | |
| Tubaire | 18 (11.7) | 39 (18.5) | |
| Endométriose | 19 (12.3) | 20 (9.5) | |
| Inexpliquée | 34 (22.1) | 41 (19.4) | |
| Ovulatoire | 12 (7.8) | 22 (10.4) | |
| Mixte | 17 (11.0) | 28 (13.3) | |
| Épaisseur endomètre (mm) | 8.6 ± 1.8 | 8.7 ± 1.9 | 0.958 |
| Nb embryons transférés | 1.4 ± 0.5 | 1.4 ± 0.5 | 0.887 |
| Stade emb au transfert n (%) | | | 0.219 |
| J2 | 103 (66.9) | 143 (67.8) | |
| J3 | 41 (26.6) | 45 (21.3) | |
| Blastocyste | 10 (6.5) | 23 (10.9) | |
| TOP embryon n (%) | 76 (49.4) | 98 (46.4) | 0.595 |
| Bonne qualité emb n (%) | 127 (82.5) | 176 (83.4) | 0.812 |
| Kit de dosage standard n (%) | 117 (76.0) | 166 (78.7) | 0.605 |

DS : déviation standard, IMC : indice de masse corporelle, AMH : hormone anti-müllérienne,

P : progestérone, Nb : nombre, Emb : embryonnaire, J : jour

**la somme du nombre de patientes dans chaque groupe est supérieure au nombre total de patientes (n=277) car 30 patientes ont eu un cycle avec un taux de P < 10 ng/ml et un autre cycle avec un taux de P ≥ 10 ng/ml*

TABEAU 1 - CARACTERISTIQUES CLINICO-BIOLOGIQUES SELON LE TAUX DE PROGESTERONE LE JOUR DU TRANSFERT (CONSIDERANT LE SEUIL A 10 NG/ML).

2.2. Impact du taux de progestérone le jour du transfert avec un seuil à 10 ng/ml sur le taux de grossesse évolutive et les critères d'évaluation secondaires

Il n'y avait pas de différence statistiquement significative entre les deux groupes que ce soit sur le taux de grossesse évolutive (16,9% vs 16,6% p=1,000), ou bien sur les taux de grossesse débutante (29,9% vs 32,2% p=0,646), clinique (18,2% vs 18,0% p=1,000) et perte de grossesse avant 12 SA (43,5% vs 48,5% p=0,701). Les issues de grossesse étaient donc comparables chez les patientes ayant un taux de P < 10 ng/ml ou celles ayant un taux ≥ 10 ng/ml.

Ces données sont mentionnées dans le tableau 2.

| Issues de grossesse | P < 10 ng/ml n = 154 (139 patientes*) | P ≥ 10 ng/ml n = 211 (168 patientes*) | P-value |
|------------------------------------|---|---|--------------|
| Grossesse débutante n/N (%) | 46/154 (29.9) | 68/211 (32.2) | 0.646 |
| Grossesse clinique n/N (%) | 28/154 (18.2) | 38/211 (18.0) | 1.000 |
| Perte de grossesse < 12 SA n/N (%) | 20/46 (43.5) | 33/68 (48.5) | 0.701 |
| Grossesse évolutive n/N (%) | 26/154 (16.9) | 35/211 (16.6) | 1.000 |

SA : semaines d'aménorrhée

*la somme du nombre de patientes dans chaque groupe est supérieure au nombre total de patientes (n=277) car 30 patientes ont eu un cycle avec un taux de P < 10 ng/ml et un autre cycle avec un taux de P ≥ 10 ng/ml

TABLEAU 2 - ISSUES DE GROSSESSE DANS LES DEUX GROUPES SELON LE TAUX DE PROGESTERONE LE JOUR DU TRANSFERT.

3. Analyse multivariée étudiant l'impact du taux de progestérone le jour du transfert sur le taux de grossesse évolutive et les critères d'évaluation secondaires

Nous avons choisi de considérer le taux de P le jour du transfert comme une variable quantitative continue permettant une analyse plus fine et informative de son effet sur les critères d'évaluation par rapport à une prise en compte qualitative avec différents seuils.

L'analyse multivariée a été ajustée sur l'âge, l'IMC, le tabac, l'épaisseur de l'endomètre, le nombre d'embryons transférés, le stade et la qualité embryonnaire ainsi que le kit de dosage.

Nous n'avons pas retrouvé d'impact statistiquement significatif du taux de P le jour du transfert sur le taux de grossesse évolutive OR : 0,98 IC 95% [0,90-1,06] $p = 0,66$; ni sur la survenue d'une grossesse débutante OR : 1,03 IC 95% [0,96-1,09] $p=0,44$, clinique OR : 0,99 IC 95% [0,91-1,07] $p=0,73$ ou d'une perte de grossesse avant 12 SA OR : 1,05 IC 95% [0,95-1,17] $p=0,34$.

L'âge maternel était statistiquement associé à la survenue d'une grossesse évolutive, débutante ou clinique (respectivement OR : 0,91 IC 95% [0,85-0,98] $p<0,01$; OR : 0,93 IC 95% [0,88-0,98] $p<0,01$; OR : 0,91 IC 95% [0,85-0,98] $p<0,01$) autrement dit une femme d'un an plus âgée avait une probabilité diminuée d'environ 9% d'obtenir une grossesse. L'âge n'était, par contre, pas statistiquement associé à la perte de grossesse avant 12 SA (OR : 1,03 IC 95% [0,94-1,14] $p=0,47$).

Le transfert d'un embryon au stade blastocyste augmentait de plus de deux la probabilité de survenue d'une grossesse débutante par rapport au stade embryonnaire J2 (OR : 2,63 IC 95% [1,14-6,06] $p=0,02$), mais il augmentait aussi significativement la survenue de perte de grossesse avant 12 SA (OR : 8,03 IC 95% [1,93-41,52] $p<0,01$) ainsi le transfert d'un blastocyste n'avait finalement pas d'impact statistiquement significatif sur la grossesse clinique ou évolutive dans notre étude.

Nous n'avons pas retrouvé d'effet significatif de la qualité embryonnaire sur les différents critères d'évaluation.

Ces données sont mentionnées dans le tableau 3.

| | G évolutive | G débutante | G clinique | Perte G < 12SA |
|--------------------------|------------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------|
| | ORa* [95% IC] | ORa* [95% IC] | ORa* [95% IC] | ORa* [95% IC] |
| | p | p | p | p |
| Taux de P (ng/ml) | 0.98 [0.90-1.06] 0.66 | 1.03 [0.96-1.09] 0.44 | 0.99 [0.91-1.07] 0.73 | 1.05 [0.95-1.17] 0.34 |
| Age (ans) | 0.91 [0.85-0.98] <0.01 | 0.93 [0.88-0.98] <0.01 | 0.91 [0.85-0.98] <0.01 | 1.03 [0.94-1.14] 0.47 |
| Stade emb | | | | |
| J2 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| J3 | 0.61 [0.27-1.28] 0.21 | 1.19 [0.65-2.15] 0.57 | 0.57 [0.26-1.19] 0.15 | 4.14 [1.36-13.79] 0.02 |
| Blastocyste | 0.69 [0.19-1.99] 0.53 | 2.63 [1.14-6.06] 0.02 | 0.80 [0.25-2.14] 0.67 | 8.03 [1.93-41.52] <0.01 |
| Bonne qualité emb | | | | |
| Non | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Oui | 0.91 [0.38-2.29] 0.84 | 1.09 [0.53-2.31] 0.82 | 0.92 [0.39-2.31] 0.85 | 1.84 [0.46-7.96] 0.40 |

G : Grossesse

ORa : Odds Ratio ajustés

Emb : embryonnaire

** ajustement sur l'âge, l'IMC, le tabac, l'épaisseur de l'endomètre, le nombre d'embryons transférés, le stade et la qualité embryonnaire, le kit de dosage*

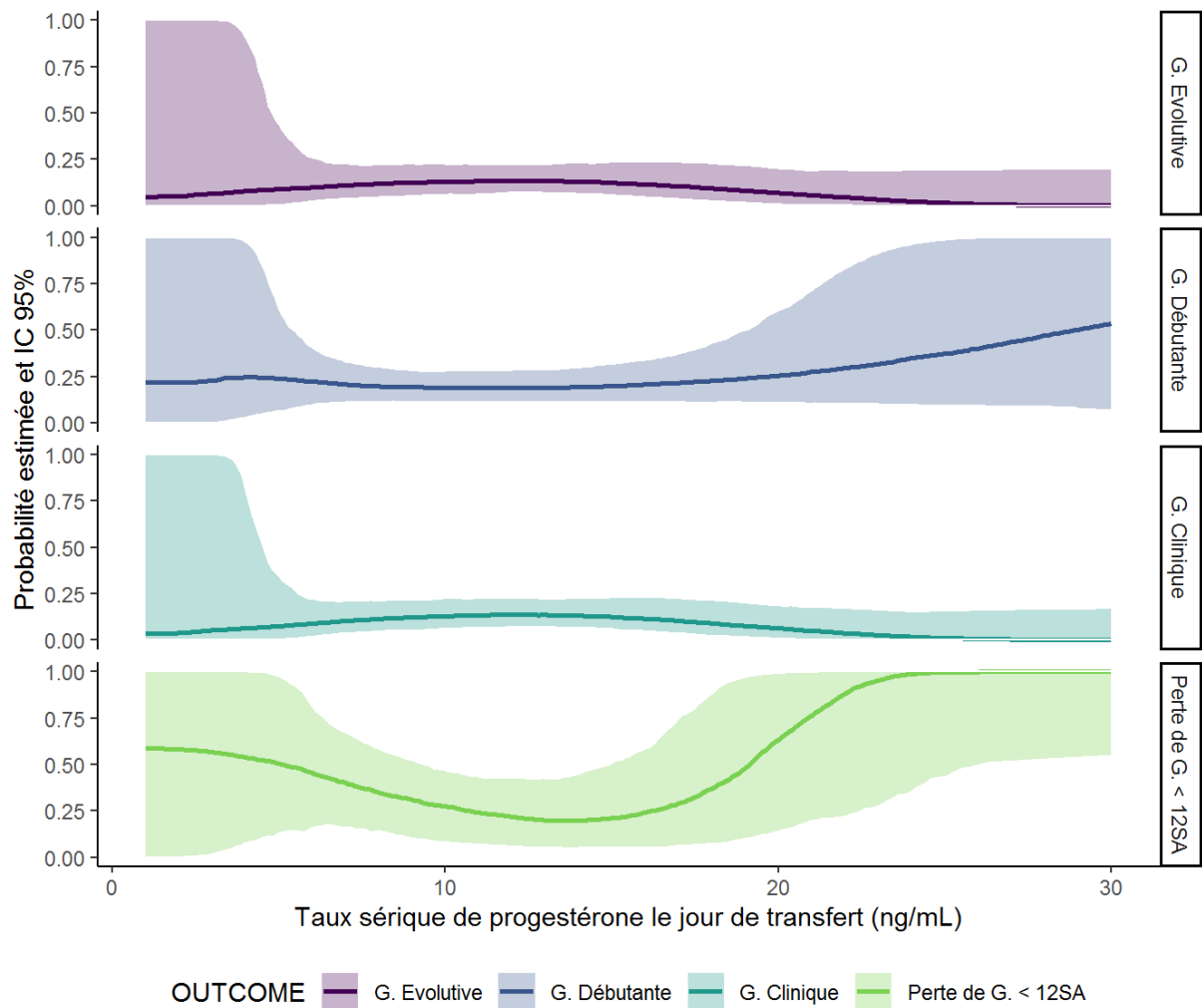
TABEAU 3 - ANALYSE DE REGRESSION LOGISTIQUE MULTIVARIEE DES FACTEURS LIES AUX TAUX DE GROSSESSE EVOLUTIVE, DEBUTANTE, CLINIQUE ET PERTE DE GROSSESSE < 12 SA.

Par défaut, le lien entre une variable quantitative (ici le taux de P le jour du transfert) et un critère d'évaluation binaire (ici le taux de grossesse) est linéaire et proportionnel. Or cette hypothèse est souvent fautive ; pour le prendre en compte nous avons utilisé la méthode des polynômes fractionnaires qui permet de mettre en évidence un lien qui n'est pas forcément linéaire et permet de visualiser si un effet seuil est identifiable.

Cette méthode n'a pas mis en évidence de tendance significative sur l'impact de la variation du taux de progestérone le jour du transfert quel que soit le critère d'évaluation. Elle n'a pas permis d'identifier un effet seuil. Cependant, elle suggère qu'un taux de P environ entre 10 et 15 ng/ml le jour du transfert semblerait avoir un meilleur impact notamment sur les pertes de grossesse avant 12 SA mais ceci n'est pas significatif.

A noter que dans les valeurs de progestéronémie élevées ou basses, l'intervalle de confiance est plus large du fait d'un effectif plus faible.

La méthode des polynômes fractionnaires est représentée sur la figure 18.



G : Grossesse

FIGURE 18 - PROBABILITE DES TAUX DE GROSSESSE EVOLUTIVE, DEBUTANTE, CLINIQUE ET PERTE DE GROSSESSE AVANT 12 SA ESTIMEE PAR REGRESSION LOGISTIQUE POUR UNE PATIENTE AYANT LES CARACTERISTIQUES MOYENNES DE L'ECHANTILLON EN FONCTION DU TAUX DE PROGESTERONE LE JOUR DU TRANSFERT.

4. Analyse en sous-groupes selon le kit de dosage utilisé

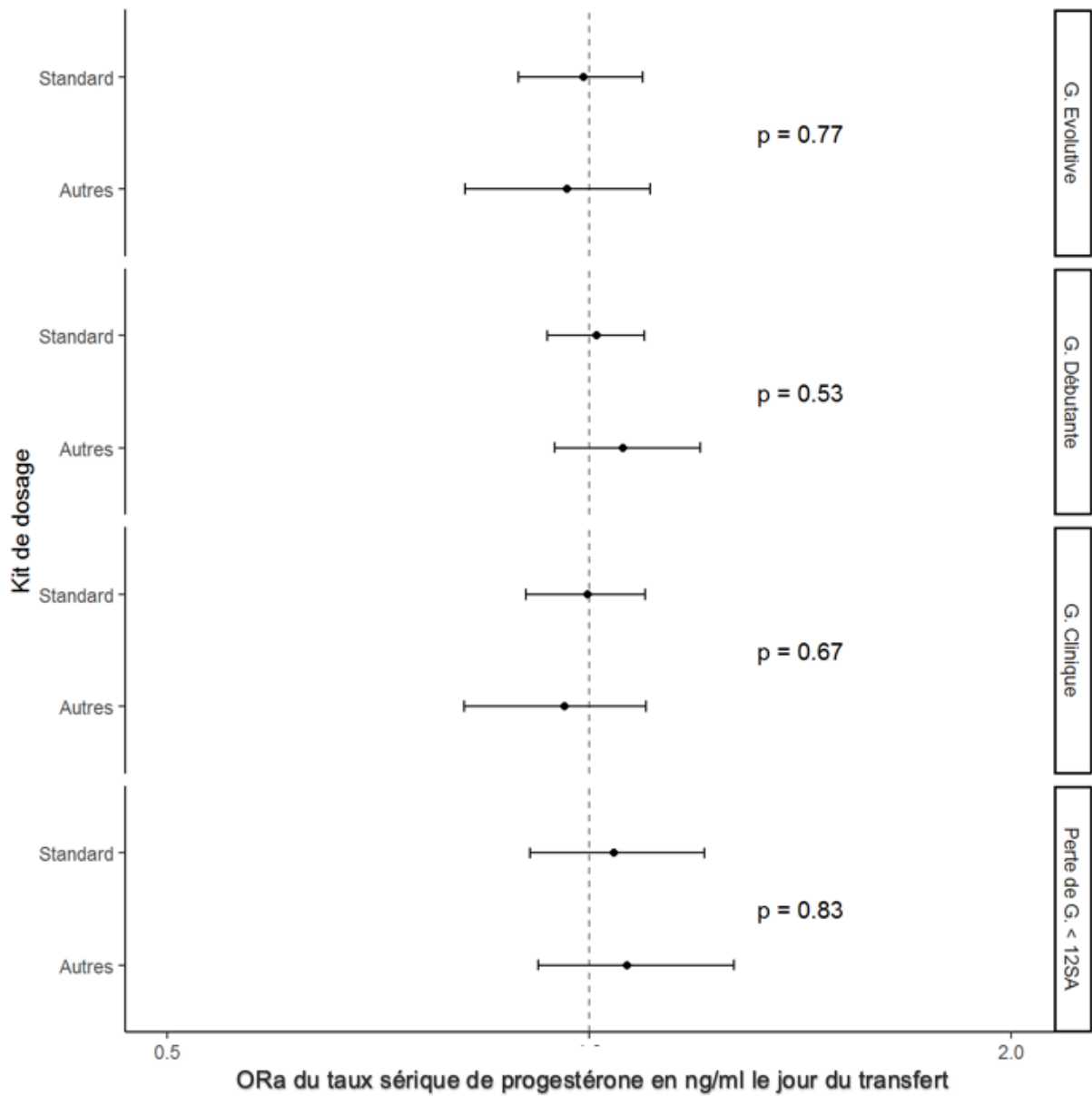
Pour prendre en compte l'absence de standardisation concernant le kit de dosage, nous avons réalisé une analyse en sous-groupes sur les différents kits de dosage utilisés.

La figure 19 met en évidence deux éléments.

D'une part, là encore, il n'y avait pas d'effet statistiquement significatif du taux de P le jour du transfert embryonnaire sur les différents critères d'évaluation que ce soit en prenant en compte uniquement le kit standard ou les autres kits utilisés (OR kit standard : 0,99 95% IC [0,89-1,09] $p=0,847$ et OR autres kits : 0,96 95% IC [0,82-1,10] $p=0,629$ pour la grossesse évolutive). Autrement dit, les taux de grossesse n'étaient statistiquement pas corrélés au taux sérique de P le jour du transfert même chez les patientes pour qui la prise de sang avait été techniquée avec le même kit de dosage.

D'autre part, il n'y avait pas de différence statistiquement significative entre le kit standard et les autres kits sur le dosage de P le jour du transfert que ce soit pour la grossesse évolutive ($p=0,77$) ou les autres critères d'évaluation.

L'analyse en sous-groupes sur les kits de dosage est illustrée sur la figure 19.



G : Grossesse

Kit standard = Abbott (78% des cas)

Autres kits = Beckman, Roche, Vitros, Siemens, Vidas (22% des cas)

*résultats ajustés sur l'âge, l'IMC, le tabac, l'épaisseur de l'endomètre, le nombre d'embryons transférés, le stade embryonnaire et la qualité embryonnaire, le kit de dosage

FIGURE 19 - ODDS RATIO AJUSTES DU TAUX DE PROGESTERONE LE JOUR DU TRANSFERT EN FONCTION DU KIT DE DOSAGE UTILISE SELON LES DIFFERENTS CRITERES D'EVALUATIONS. LES P-VALUES EVALUENT LA DIFFERENCE ENTRE LES KITS DE DOSAGE UTILISES.

5. Analyse complémentaire : comparabilité des TEC inclus avec les TEC exclus sans dosage de progestérone le jour du transfert

Nous avons recensé un nombre important de données manquantes au cours de notre période d'inclusion ; 39% des cycles de transfert d'embryons congelés ont dû être exclus car les patientes n'avaient pas réalisé leur dosage de P le jour du transfert embryonnaire. Afin d'évaluer la validité externe et garantir une meilleure robustesse de notre étude, nous avons souhaité comparer si les caractéristiques et les issues de grossesse dans notre population (TEC inclus avec dosage de P) étaient comparables aux cycles exclus à cause de l'absence de dosage de P.

Les caractéristiques clinico-biologiques des patientes pour lesquelles les cycles de TEC ont été exclus de l'analyse en raison de l'absence de dosage de P étaient comparables aux cycles de TEC inclus que ce soit sur l'âge, l'IMC, le tabac, la nulliparité, le taux d'AMH, l'étiologie de l'infertilité, l'épaisseur de l'endomètre et le stade embryonnaire.

Le nombre d'embryons transférés était statistiquement plus élevé chez les patientes n'ayant pas fait le dosage de P ($1,5 \pm 0,5$ vs $1,4 \pm 0,5$ $p=0,002$) mais les embryons transférés étaient de moins bonne qualité par rapport aux cycles avec dosage de P (bonne qualité embryonnaire respectivement de 75,8% vs 83,0% $p=0,026$, TOP embryon respectivement 37,4% contre 47,7% $p=0,012$).

Les issues de grossesse étaient tout de même identiques dans les cycles avec ou sans dosage de P. Le taux de grossesse évolutive était respectivement de 16,7% et 16,6% $p=1,000$, le taux de grossesse débutante de 31,2% et 30,2% $p=0,790$, taux de grossesse clinique 18,1% et 17,4% $p=0,843$ et enfin les pertes de grossesse avant 12 SA étaient également comparables 46,5% contre 45,0% $p=0,878$.

La comparaison des cycles de TEC inclus avec les cycles exclus en lien avec l'absence de dosage de P figure dans le tableau 4.

| | TEC INCLUS avec dosage de P n = 365 (277 patientes) | TEC EXCLUS sans dosage de P n = 265 (205 patientes) | P-value |
|---|--|--|----------------|
| Age (ans) | 33.9 ± 4.5 | 33.7 ± 4.1 | 0.514 |
| IMC (kg/m²) | 24.7 ± 5.2 | 24.6 ± 4.9 | 0.845 |
| Tabagisme n (%) | 84 (23.0) | 62 (23.4) | 0.911 |
| Nulliparité n (%) | 248 (67.9) | 187 (70.6) | 0.493 |
| AMH (ng/ml) | 3.5 ± 2.7 | 3.5 ± 2.8 | 0.964 |
| Étiologies infertilité n (%) | | | 0.214 |
| Masculine | 115 (31.5) | 90 (34.0) | |
| Tubaire | 57 (15.6) | 53 (20.0) | |
| Endométriose | 39 (10.7) | 26 (9.8) | |
| Inexpliquée | 75 (20.5) | 40 (15.1) | |
| Ovulatoire | 34 (9.3) | 32 (12.1) | |
| Mixte | 45 (12.3) | 24 (9.1) | |
| Épaisseur endomètre (mm) | 8.7 ± 1.8 | 8.8 ± 1.6 | 0.102 |
| Nb embryons transférés | 1.4 ± 0.5 | 1.5 ± 0.5 | 0.002 |
| Stade emb au transfert n (%) | | | 0.197 |
| J2 | 246 (67.4) | 169 (63.8) | |
| J3 | 86 (23.6) | 78 (29.4) | |
| Blastocyste | 33 (9.0) | 18 (6.8) | |
| TOP embryon n (%) | 174 (47.7) | 99 (37.4) | 0.012 |
| Bonne qualité emb n (%) | 303 (83.0) | 201 (75.8) | 0.026 |
| Grossesse débutante n/N (%) | 114/365 (31.2) | 80/265 (30.2) | 0.790 |
| Grossesse clinique n/N (%) | 66/365 (18.1) | 46/265 (17.4) | 0.843 |
| Perte de grossesse avant 12 SA n/N (%) | 53/114 (46.5) | 36/80 (45.0) | 0.878 |
| Grossesse évolutive n/N (%) | 61/365 (16.7) | 44/265 (16.6) | 1.000 |

DS : déviation standard, TEC : transfert d'embryons congelés, IMC : indice de masse corporelle, AMH : hormone anti-müllérienne, P : progestérone, Nb : nombre, Emb : embryonnaire, J : jour, SA : semaines d'aménorrhée

TABEAU 4 - CARACTERISTIQUES CLINICO-BIOLOGIQUES ET ISSUES DE GROSSESSE ENTRE LES TEC INCLUS AVEC DOSAGE DE PROGESTERONE ET TEC EXCLUS SANS DOSAGE DE PROGESTERONE LE JOUR DU TRANSFERT.

DISCUSSION

1. Résultats principaux et comparaison aux données de la littérature

Après administration intra vaginale de 600 mg/j de P, le taux moyen de P le jour du TEC dans notre cohorte était de 11,1 ng/ml. Ceci était similaire aux études utilisant la même voie et la même dose de P exogène qui retrouvaient un taux moyen de P le jour du transfert de 11,4 ng/ml (138) et 12,3 ng/ml (139).

Nous avons retrouvé une progestéronémie considérée comme basse le jour du transfert, inférieure à 10 ng/ml, chez 42% de notre cohorte, ce chiffre semblait comparable à la littérature retrouvant une prévalence de 37 à 40% selon les études (138,139). Labarta et *al.* (140) en 2017 a retrouvé une prévalence plus faible : 25% de patientes avaient un faible taux sérique de P le jour du transfert embryonnaire. Mais le seuil choisi (inférieur à 9,2 ng/ml) était plus bas que celui de notre étude et la dose de P vaginale que recevaient les patientes était plus élevée (800 mg/j de P vaginale contre 600 mg/j dans notre étude).

Notre étude n'a pas mis en évidence d'impact statistiquement significatif du taux sérique de P le jour du transfert d'embryons congelés que ce soit sur le taux de grossesse évolutive ou sur les taux de grossesse débutante, clinique ou les pertes de grossesse avant 12 SA. Elle n'a pas permis d'identifier d'effet seuil, quel que soit le taux de P considéré, ayant un effet significatif sur les taux de grossesse. Ce résultat était discordant avec la littérature. Des études antérieures indiquent que l'utilisation de P par voie vaginale dans les cycles de TEC conduit à des taux sériques de P pendant la phase lutéale qui sont associés à l'issue de la grossesse (dosage de P 2 ou 3 jours après le TEC (137) ; dosage de P le jour du test d'hCG (142,143) ; dosage de P la veille du TEC (144)).

Et même si peu d'études se sont intéressées précisément à évaluer l'effet du taux sérique de P le jour même du TEC sur les issues de grossesse ; elles ont montré que le taux de grossesse ou le taux de NV était statistiquement plus faible lorsque le taux de P était bas le jour du transfert (138,140).

Sur une série de 211 patientes bénéficiant de transfert d'embryons issus de don d'ovocytes après préparation endométriale par un THS (800 mg/j de P vaginale), Labarta et *al.* en 2017 (140) a montré que le taux de grossesse évolutive était statistiquement plus faible si le la progestéronémie était inférieure à 9,2 ng/ml le jour du transfert (OR : 0,297 95% CI [0,113-0,779] p=0,013). Cette étude incluait des cycles de transferts embryonnaires frais et congelés.

L'étude rétrospective de Cédric-Durnerin et *al.* en 2019 (138) menée sur 227 TEC autologues a montré qu'une concentration sérique de P le jour du transfert ≥ 10 ng/ml était statistiquement associée à un taux de NV plus élevé (OR : 2,75 95% IC [1,40-5,43] $p=0,02$).

Enfin l'étude récente de Volovsky et *al.* en 2020 (139) menée sur 2010 cycles, en accord avec nos résultats, n'avait pas retrouvé de différence statistiquement significative sur les taux de grossesse clinique (OR : 1,20 95% IC [0,96-1,50] $p=0,11$) et de NV (OR : 1,22 95% IC [0,95-1,58] $p=0,12$) selon un seuil de P à 10 ng/ml le jour du TEC. Il n'y avait pas, non plus, de différence significative sur les taux de grossesse en considérant des seuils de P le jour du transfert à 5 ng/ml ou 20 ng/ml. Seul le taux de NV a été retrouvé comme étant statistiquement plus faible lorsque le taux de P le jour du transfert était inférieur à 5 ng/ml sur 106 cycles par rapport à un taux de $P \geq 5$ ng/ml (7,55% versus 15,86% $p=0,02$) ; suggérant qu'il existerait un seuil de P en dessous duquel le taux de NV serait plus faible. Toutefois, il est important de noter qu'un élément constituait un biais majeur dans cette dernière étude car la dose de P vaginale a été augmentée à la discrétion du clinicien lorsque le taux sérique de P le jour du transfert était inférieur à 8 ng/ml. Cela signifie également que le fait d'augmenter la dose de P vaginale n'a pas permis de rattraper l'impact négatif sur les NV pour les patientes ayant un taux sérique de $P < 5$ ng/ml.

L'absence d'amélioration des résultats malgré une augmentation des doses de P vaginale le jour du transfert avait déjà été rapportée dans l'étude de Cédric-Durnerin et *al.* (138). Le doublement des doses de P vaginale de 600 à 1200 mg/j immédiatement après le transfert chez les patientes ayant une progestéronémie < 10 ng/ml, avait permis de corriger, chez plus de deux tiers des patientes, un taux de $P \geq 10$ ng/ml. Mais les taux de grossesse et de NV n'étaient statistiquement pas différents entre les patientes pour lesquelles le taux sérique de P avait été corrigé par rapport aux patientes dont le taux restait < 10 ng/ml. Ainsi, l'intervention dans l'étude de Volovsky et *al.* (139) pourrait expliquer pourquoi aucune différence n'a été observée dans les résultats reproductifs entre les patientes avec des taux de $P < 10$ ng/ml et ≥ 10 ng/ml (145,146).

Bien que nos résultats ne soient pas significatifs, notre étude a suggéré qu'un taux de P avoisinant les 10 - 15 ng/ml le jour du transfert serait meilleur sur l'impact des pertes de grossesse avant 12 SA ; cela peut vouloir dire qu'il serait bénéfique de maintenir un taux de P entre 10 et 15 ng/ml pendant la période d'implantation afin de diminuer le taux de perte de grossesse du premier trimestre. Cette hypothèse semble biologiquement plausible car l'endomètre est une cible incontestable de la P, et est cohérente avec l'accélération de la maturation endométriale bien connue lorsque le taux de P est trop élevé en fin de phase folliculaire dans les cycles frais après stimulation ovarienne, entraînant de moins

bons résultats (147). Peu d'études se sont intéressées à l'impact du taux de P sur le taux de perte de grossesse. L'étude de Labarta et *al.* (140) en 2017 n'avait pas retrouvé d'effet significatif. Alors que Kofinas et *al.* (148) dans une étude sur 213 TEC artificiel avec supplémentation par P IM, avait rapporté un taux de grossesse évolutive moindre et un taux de FCS plus élevé chez les patientes ayant une progestéronémie > 20 ng/ml le jour du TEC (25% vs 12%, $p=0,01$, RR : 0,45 95% IC [0,24-0,86]). Il est probable que les taux élevés de P le jour du transfert indiquent que des taux de P plus élevés sont atteints plus tôt et sont maintenus à des concentrations plus élevées. Cela peut avoir un effet direct sur la fenêtre d'implantation en la décalant précocement dans le temps. Une croissance et maturation endométriale accélérée pourrait désynchroniser le dialogue utérus - embryon. Lorsque l'endomètre devient réceptif à l'implantation avant que l'embryon n'atteigne un état compétent pour s'implanter, cela peut entraîner une diminution du taux d'implantation ou une implantation de mauvaise qualité.

Nos résultats étaient ajustés sur les potentiels facteurs de confusion cliniquement pertinents, à savoir : l'âge de la patiente, le tabac, l'IMC, le nombre d'embryons transférés, le stade et la qualité embryonnaire ainsi que le kit de dosage ; qui sont des paramètres pouvant influencer l'implantation et le déroulement de la grossesse. Contrairement à l'étude de Cédric-Durnerin et *al.* (138), nous n'avons pas ajusté nos résultats sur le taux d'AMH ou la diminution de réserve ovarienne (DOR) car une DOR diminue le nombre d'ovocytes ponctionnés mais n'a pas d'impact sur la qualité ovocytaire ou l'implantation (149) et il ne s'agit pas d'un bon facteur prédictif sur les résultats en TEC, après ajustement sur l'âge (150,151). (Exemple du modèle du don d'ovocytes chez des patientes atteintes d'insuffisance ovarienne prématurée avec une réserve ovarienne effondrée et pourtant une bonne implantation). Or, lors du TEC, la ponction ovocytaire et la fécondation in vitro ayant déjà eu lieu, le paramètre de DOR ne devrait pas avoir d'impact sur les issues de grossesse. Enfin et contrairement à l'étude Volovsky et *al.* (139), nous n'avons pas ajusté nos résultats sur la parité car ce paramètre ne semble pas influencer ni le taux sérique de P le jour du transfert, ni l'issue de la grossesse.

Notons que les taux de grossesse retrouvés dans notre étude étaient globalement plus faibles comparés aux chiffres rapportés dans les études précédentes. Le taux de grossesse débutante était de 31,2% dans notre étude contre environ 36% ou 40% dans les études précédentes (138,139). Mais ces deux dernières études définissaient une grossesse biochimique dès lors que le test d'hCG plasmatique était positif alors que nous définissions une grossesse débutante à partir d'un taux d'hCG plasmatique > 100 UI/L. Concernant le taux de grossesse clinique, il était de 18,1% dans notre étude, contre environ 21% et 27% dans les études précédentes (138,139). Enfin, nous avons retrouvé un taux de grossesse évolutive de 16,7% contre environ 25% dans l'étude de Cédric-Durnerin et *al.* (138). Ceci pourrait être en lien avec le transfert d'embryons majoritairement au stade précoce dans notre étude (TEC J2-J3

dans 91% des cas) alors que les autres études s'intéressaient essentiellement ou exclusivement aux transferts de blastocystes. (138,139).

Il a été démontré dans les cycles frais, que la culture prolongée avec transfert de blastocystes était supérieure au transfert d'embryons précoces notamment en termes de naissance vivante (152–154). En effet, la culture prolongée permet une sélection des embryons « fonctionnels » après mise en place et activation de leur génome embryonnaire et une sélection relative des embryons sans anomalie chromosomique (embryons dits euploïdes) (155). Cependant, cette stratégie entraîne un risque accru d'annulation de transfert embryonnaire (156). Ainsi, le taux cumulé de grossesse ou de naissance vivante après transfert d'embryons frais et congelés n'était pas différent selon le stade embryonnaire précoce ou tardif, même si le délai était plus court pour obtenir une naissance vivante après transfert de blastocyste (152–154).

2. Comment expliquer nos résultats

Nous n'avons pas retrouvé d'effet statistiquement significatif du taux sérique de P le jour du transfert sur le taux de grossesse évolutive, ni sur le taux de grossesse débutante, clinique ou perte de grossesse au premier trimestre. Ceci pourrait s'expliquer par 3 possibilités :

- Soit, en effet, parce qu'il n'existe réellement pas d'impact.
- Soit par un défaut de puissance ; nous n'avons pas calculé le nombre de sujets nécessaires, peut-être fallait-il un effectif plus important pour mettre en évidence une différence statistiquement significative. Toutefois, nos intervalles de confiance sont assez étroits ce qui est peu en faveur d'un manque de puissance. De plus, notre effectif de 365 cycles était similaire à l'étude de Cédrin-Durnerin et *al.* (138) menée sur 227 cycles de TEC ou celle de Labarta et *al.* (140) chez 211 patientes. Seule l'étude de Volovsky et *al.* (139) a été menée sur un effectif largement plus conséquent, 2010 cycles, et cette dernière a conclu à l'absence d'impact significatif du taux de P sur les grossesses cliniques.
- Soit parce qu'il existe de nombreux biais dans notre étude.

3. Forces et limites de l'étude

3.1. Forces de l'étude

Toutes les études précédentes sur le sujet ont considéré le taux sérique de P le jour du transfert comme une variable qualitative catégorielle avec différents seuils. Elles ont donc comparé de façon binaire l'impact du taux sérique de P le jour du transfert sur le taux de grossesse selon un seuil arbitraire défini par une valeur plausible d'après la littérature (138,139) ou défini par la médiane ou un quartile provenant de la distribution de la population (140,144).

Nous avons choisi de prendre en compte le taux de progestérone le jour du transfert comme une variable quantitative continue permettant une analyse plus fine de son effet par rapport à une prise en compte qualitative avec un seuil prédéfini. Elle permet aussi de visualiser si un effet seuil est identifiable. Cela permet également une meilleure puissance statistique pour montrer une éventuelle différence d'effet. Par défaut, le lien entre une variable quantitative et un critère d'évaluation binaire est linéaire et répond à la thèse de proportionnalité (une augmentation d'un point de progestérone s'accompagne toujours d'une même augmentation de probabilité d'être enceinte). Or cette hypothèse est souvent fautive, mais pour le prendre en compte nous avons utilisé la méthode des polynômes fractionnaires qui permet un lien non linéaire (hyperbole, parabole, effet plateau, etc.) qui ne retrouve pas non plus d'effet significatif.

Par ailleurs, il s'agit d'une étude de cohorte prospective ayant un meilleur niveau de preuve que des études rétrospectives.

Enfin, notre étude a été menée sur 365 cycles de TEC analysés ; cet effectif n'était pas négligeable par rapport aux données publiées (en dehors de l'étude de Volovsky et *al.* (139)) et nous n'avons eu aucun perdu de vue.

3.2. Limites de l'étude

Une des limites de notre étude est l'absence de standardisation « dans le lieu » concernant les kits de dosage utilisés. En effet, les patientes réalisaient leur prise de sang dans le laboratoire d'analyse de leur choix. Or, il s'agit d'un élément essentiel à prendre en compte (157). Cependant, la plupart des prélèvements sanguins étaient techniqués avec un kit standard majoritaire dans 78% des cas. De plus, nous avons ajusté nos résultats sur ce facteur de confusion potentiel et l'analyse en sous-groupes étudiant l'interaction du kit de dosage sur le taux sérique de P le jour du transfert n'a pas mis en évidence d'effet statistiquement significatif du kit de dosage sur les taux de grossesse. Sur ce point, la littérature rapporte des dosages standardisés dans un seul et même laboratoire.

Une deuxième limite pourrait être l'absence de standardisation « dans le temps » concernant l'heure du prélèvement sanguin. En effet, les patientes réalisaient leur prise de sang à n'importe quelle heure le jour du transfert embryonnaire. Cependant, les prélèvements sanguins étaient réalisés majoritairement entre 7 heures et 10 heures le matin du transfert. Même si certains étaient réalisés plus tard dans la journée, cela ne devrait pas impacter les taux sériques de P car les patientes ont toutes été exposées à au moins 48 heures de P vaginale exogène avant le transfert. Or, d'après les études pharmacocinétiques, l'état d'équilibre, c'est-à-dire le moment où la concentration plasmatique de P est stable, serait atteint au bout de 48 heures. Sur ce point la littérature reste floue ; elle mentionne le plus souvent que les prélèvements sanguins sont réalisés avant le transfert embryonnaire mais n'indique pas d'heure exacte.

Par ailleurs, les éléments pouvant interférer sur l'absorption vaginale de la P sont importants à prendre en compte. Un facteur de confusion potentiel serait le rapport sexuel au cours du cycle de TEC, car il a été démontré qu'il réduit les taux sériques de progestérone et donc l'absorption vaginale de P des femmes sous traitement (134).

De plus, les variations inter-individuelles de l'absorption vaginale de la P restent un biais de confusion potentiel inhérent à l'étude car il s'agit d'un paramètre non contrôlable.

Il semblerait également qu'il existe des variations intra-individuelles ou inter-cycle de l'absorption vaginale de la P. En effet, comme dans notre étude, il a été observé chez certaines patientes ayant reçu la même dose de P vaginale des taux sériques de P inférieurs ou supérieurs à 10 ng/ml selon leur cycle de TEC (138). Ainsi le fait de ne pas avoir pu utiliser, dans notre étude, une régression logistique mixte à effets aléatoires pour prendre en compte qu'une patiente ait pu réaliser plusieurs cycles a pu introduire un biais de confusion sur la variation intra-individuelle de l'absorption vaginale de P, bien que celle-ci soit associée au dosage de P le jour du transfert.

Comme nous l'avons vu, l'observance au traitement est primordiale chez les patientes ayant bénéficié d'un TEC en cycle artificiel car elles ne produisent pas de P endogène, essentielle au soutien de la phase lutéale pour espérer une grossesse : la supplémentation est donc obligatoire. Malheureusement l'observance des patientes est difficilement contrôlable et constitue un potentiel biais de confusion dans toutes les études sur le sujet.

De plus, l'administration correcte de la P vaginale est importante car, de par la justification anatomique, l'effet de premier passage utérin est observé lorsque les comprimés de P vaginale sont placés dans le tiers supérieur du vagin (119). Là encore, il s'agit d'un potentiel biais de confusion non évaluable dans les études.

Enfin, comme nous l'avons déjà évoqué, nous n'avons pas calculé le nombre de sujets nécessaires. Bien que nos intervalles de confiance soient assez étroits ce qui est peu en faveur d'un manque de puissance, ceci pourrait tout de même expliquer un défaut de puissance de l'étude et donc l'absence de différence statistiquement significative de nos résultats.

4. Extrapolation des résultats

Nous avons observé un nombre important de données manquantes concernant le dosage de P le jour du transfert (39% des cycles de TEC réalisés sur la période d'étude) liées à la mise en place progressive de cette pratique dans notre centre. Ceci ne constituait pas un biais de sélection car les patientes n'ayant pas réalisé le dosage de progestérone ont été exclues de l'analyse statistique. Toutefois, nous avons souhaité réaliser une analyse complémentaire pour évaluer la généralisabilité des résultats en vérifiant que la population incluse n'était pas trop différente de celle éligible.

Nous avons comparé les caractéristiques et issues de grossesse chez les patientes incluses qui avaient fait le dosage de P avec celles que nous avons dû exclure car nous n'avions pas le dosage. Nous avons mis en évidence une comparabilité globale des patientes notamment sur les issues de grossesse ; permettant une meilleure extrapolation et robustesse de notre étude.

Par ailleurs, notre population était représentative de la population infertile générale. Les femmes étaient en moyenne âgées de 33,9 ans (1) avec un IMC moyen inférieur à 30 kg/m² (24,7 kg/m²) (158). Les étiologies de l'infertilité retrouvées dans notre population étaient similaires à la distribution couramment retrouvée chez les couples ayant recours à l'AMP ; environ 30% de cause masculine, 30%

de cause féminine et 20% de cause inexpliquée. Le nombre moyen d'embryons transférés était de 1,4 dans notre étude ce qui était comparable au nombre moyen de 1,2 embryons transférés en France en 2018 (1). Par contre, le pourcentage de transferts d'embryons congelés au stade blastocyste était bien moindre dans notre étude ; seulement 9% par rapport au chiffre de 66,5% rapporté par l'Agence de Biomédecine concernant la part de culture prolongée lors de TEC en France en 2018. Toutefois, l'Agence de Biomédecine signale que, selon les centres, le recours à la culture prolongée varie de 4,5% à 100% des tentatives de TEC.

Le taux moyen de grossesse évolutive dans notre cohorte était de 16,7% ; relativement proche des résultats rapportés par l'Agence de Biomédecine en 2018 en France avec un taux de grossesse évolutive de 21,6%.

5. Perspectives

Tout d'abord, pour s'affranchir d'un potentiel défaut de puissance pouvant expliquer nos résultats, il serait intéressant de poursuivre l'inclusion afin d'augmenter l'effectif et la puissance statistique de notre étude.

De plus, comme nous l'avons vu, il n'existe pas de consensus quant au soutien optimal de la phase lutéale dans la perspective d'un TEC artificiel que ce soit concernant la dose ou la voie d'administration de la P.

Une première stratégie pourrait être d'administrer dès le début de la supplémentation des doses de P vaginale plus élevées à toutes les patientes considérant qu'aucune production de P endogène n'est possible chez ces femmes (131) ; cela a été rapporté comme un moyen d'optimiser les taux de grossesse tout en diminuant le risque de fausses couches (128). C'est pourquoi, dans notre centre depuis février 2020, la supplémentation par P vaginale a été augmentée de 600 mg/j à 800 mg/j pour toutes les patientes.

Une deuxième stratégie pourrait être la modification de la voie d'administration de P. Concernant la voie IM, elle n'a pas montré de supériorité par rapport à la voie vaginale et les données sont contradictoires sur ce sujet. Par ailleurs, les études s'intéressant à l'intérêt du dosage de P le jour du TEC après supplémentation par P IM, sont là encore rares et les conclusions ne sont pas si claires. Elles ont rapporté un seuil de progestéronémie plus élevé, environ à 20 ng/ml, en lien avec l'absence de premier passage utérin. Même si deux études ont rapporté un taux de NV ou grossesse évolutive plus

faible lorsque le taux de P était inférieur à 20 ng/ml (159,160) ; des résultats contradictoires ont également été démontrés, les taux sériques de P au-dessus du seuil de 20 ng/ml le jour du transfert étant corrélés à des taux de grossesse significativement plus faibles (148).

Concernant la voie SC, il s'agit d'une voie prometteuse même si elle n'a pas été évaluée en TEC précisément ; d'autant plus que la tolérance semblerait meilleure que la voie vaginale (124). La voie SC est efficace pour induire la transformation sécrétoire de l'endomètre en l'absence de P endogène (123) et des études sur le soutien de la phase lutéale en cycle frais ont démontré sa non-infériorité par rapport à la voie vaginale (125–127).

Enfin, même si le meilleur protocole pour le TEC fait encore débat à ce jour, à la lumière de la littérature récente, le TEC en cycle stimulé pourrait être prometteur car, même s'il s'agit d'études rétrospectives, elles ont montré un taux de NV plus élevé en cycle stimulé par rapport au cycle artificiel (93,94).

CONCLUSION

Actuellement, le nombre de transferts d'embryons congelés ne cesse de croître chaque année, ce qui traduit l'évolution des pratiques notamment grâce à la technique de vitrification embryonnaire et la meilleure survie des embryons dévitrifiés. Le succès du TEC en cycle artificiel repose sur une préparation efficace de l'endomètre car le soutien lutéal demeure indispensable dans ce contexte.

Le dosage de progestérone le jour du transfert d'embryons congelés pourrait être un marqueur permettant d'évaluer si la fenêtre d'implantation est optimale ou non en vue du transfert embryonnaire. Certaines études évoquent la possibilité d'un impact négatif d'un taux de progestérone bas le jour du transfert sur les chances de succès du TEC.

Après ajustement sur les facteurs de confusion potentiels et contrairement aux principaux résultats de la littérature sur le sujet, notre étude n'a pas mis en évidence d'association statistiquement significative entre le taux sérique de progestérone le jour du transfert d'embryons congelés en cycle artificiel et les taux de grossesse évolutive, débutante, clinique ou les pertes de grossesse avant 12 SA. En considérant les biais de notre étude, nous sommes tout de même en droit de nous interroger sur l'intérêt clinique du dosage de progestérone le jour du transfert.

Des recherches supplémentaires sont nécessaires dans ce domaine pour caractériser davantage la supplémentation optimale de progestérone ainsi que le rôle de la surveillance du taux sérique de progestérone dans les cycles de TEC artificiels.

BIBLIOGRAPHIE

1. Agence de la Biomédecine - rapport médical et scientifique 2018.
2. Filicori M, Butler JP, Crowley WF. Neuroendocrine regulation of the corpus luteum in the human. Evidence for pulsatile progesterone secretion. *The Journal of Clinical Investigation*. juin 1984;73(6):1638-47.
3. Jordan J, Craig K, Clifton DK, Soules MR. Luteal phase defect: the sensitivity and specificity of diagnostic methods in common clinical use. *Fertility and Sterility*. juill 1994;62(1):54-62.
4. Yarali H, Polat M, Mumusoglu S, Yarali I, Bozdag G. Preparation of endometrium for frozen embryo replacement cycles: a systematic review and meta-analysis. *J Assist Reprod Genet*. oct 2016;33(10):1287-304.
5. Ghobara T, Gelbaya TA, Ayeleke RO. Cycle regimens for frozen-thawed embryo transfer. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*. 05 2017;7:CD003414.
6. Groenewoud ER, Cohlen BJ, Macklon NS. Programming the endometrium for deferred transfer of cryopreserved embryos: hormone replacement versus modified natural cycles. *Fertility and Sterility*. mai 2018;109(5):768-74.
7. Poletto KQ, Lobo M de P, Giovanucci M, Approbato MS, Castro EC de. Pregnancy rates from natural and artificial cycles of women submitted to frozen embryo transfers: a metanalysis. *JBRA assisted reproduction*. 22 2019;23(3):268-72.
8. Blesa D, Ruiz-Alonso M, Simón C. Clinical management of endometrial receptivity. *Semin Reprod Med*. sept 2014;32(5):410-3.
9. Tomás C, Alsbjerg B, Martikainen H, Humaidan P. Pregnancy loss after frozen-embryo transfer--a comparison of three protocols. *Fertility and Sterility*. nov 2012;98(5):1165-9.
10. Givens CR, Markun LC, Ryan IP, Chenette PE, Herbert CM, Schriock ED. Outcomes of natural cycles versus programmed cycles for 1677 frozen-thawed embryo transfers. *Reproductive BioMedicine Online*. janv 2009;19(3):380-4.
11. van de Vijver A, Polyzos NP, Van Landuyt L, Mackens S, Stoop D, Camus M, et al. What is the optimal duration of progesterone administration before transferring a vitrified-warmed cleavage stage embryo? A randomized controlled trial. *Hum Reprod*. mai 2016;31(5):1097-104.
12. Lessey BA, Killam AP, Metzger DA, Haney AF, Greene GL, McCarty KS. Immunohistochemical analysis of human uterine estrogen and progesterone receptors throughout the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab*. août 1988;67(2):334-40.
13. Druckmann R, Druckmann M-A. Progesterone and the immunology of pregnancy. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. déc 2005;97(5):389-96.
14. Fanchin R, Righini C, Olivennes F, Taylor S, de Ziegler D, Frydman R. Uterine contractions at the time of embryo transfer alter pregnancy rates after in-vitro fertilization. *Human Reproduction*. 1 juill

1998;13(7):1968-74.

15. Simón C, Martín JC, Pellicer A. Paracrine regulators of implantation. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*. oct 2000;14(5):815-26.
16. Navot D, Scott RT, Driesch K, Veeck LL, Liu H-C, Rosenwaks Z. The window of embryo transfer and the efficiency of human conception in vitro. *Fertility and Sterility*. janv 1991;55(1):114-8.
17. Wilcox AJ, Baird DD, Weinberg CR. Time of implantation of the conceptus and loss of pregnancy. *The New England Journal of Medicine*. 10 juin 1999;340(23):1796-9.
18. Acosta AA, Elberger L, Borghi M, Calamera JC, Chemes H, Doncel GF, et al. Endometrial dating and determination of the window of implantation in healthy fertile women. *Fertility and Sterility*. avr 2000;73(4):788-98.
19. Lessey BA. Assessment of endometrial receptivity. *Fertility and Sterility*. sept 2011;96(3):522-9.
20. Ruiz-Alonso M, Blesa D, Díaz-Gimeno P, Gómez E, Fernández-Sánchez M, Carranza F, et al. The endometrial receptivity array for diagnosis and personalized embryo transfer as a treatment for patients with repeated implantation failure. *Fertility and Sterility*. sept 2013;100(3):818-24.
21. Murray MJ, Meyer WR, Zaino RJ, Lessey BA, Novotny DB, Ireland K, et al. A critical analysis of the accuracy, reproducibility, and clinical utility of histologic endometrial dating in fertile women. *Fertility and Sterility*. mai 2004;81(5):1333-43.
22. Goma H, Casper RF, Esfandiari N, Bentov Y. Non-synchronized endometrium and its correction in non-ovulatory cryopreserved embryo transfer cycles. *Reproductive BioMedicine Online*. avr 2015;30(4):378-84.
23. Noyes RW, Hertig AT, Rock J. Dating the endometrial biopsy. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. mai 1975;122(2):262-3.
24. Coutifaris C, Guzick DS, Legro RS, Carr BR, Vogel DL. Histological dating of timed endometrial biopsy tissue is not related to fertility status. 2004;82(5):9.
25. Kasius A, Smit JG, Torrance HL, Eijkemans MJC, Mol BW, Opmeer BC, et al. Endometrial thickness and pregnancy rates after IVF: a systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction Update*. 1 juill 2014;20(4):530-41.
26. Alcázar JL. Three-dimensional ultrasound assessment of endometrial receptivity: a review. *Reproductive biology and endocrinology: RB&E*. 9 nov 2006; 4:56.
27. Hull MGR, Savage PE, Bromham DR, Ismail AAA, Morris AF. The value of a single serum progesterone measurement in the midluteal phase as a criterion of a potentially fertile cycle ("ovulation") derived from treated and untreated conception cycles. *Fertility and Sterility*. mars 1982;37(3):355-60.
28. Lédée N, Petitbarat M, Rahmati M, Dubanchet S, Chaouat G, Sandra O, et al. New pre-conception immune biomarkers for clinical practice: interleukin-18, interleukin-15 and TWEAK on the endometrial side, G-CSF on the follicular side. *Journal of Reproductive Immunology*. mars

2011;88(2):118-23.

29. Lédée N, Petitbarat M, Prat-Ellenberg L, Dray G, Cassuto GN, Chevrier L, et al. Endometrial Immune Profiling: A Method to Design Personalized Care in Assisted Reproductive Medicine. *Front Immunol.* 4 juin 2020 ;11 :1032.
30. Díaz-Gimeno P, Horcajadas JA, Martínez-Conejero JA, Esteban FJ, Alamá P, Pellicer A, et al. A genomic diagnostic tool for human endometrial receptivity based on the transcriptomic signature. *Fertility and Sterility.* janv 2011;95(1):50-60. e15.
31. Díaz-Gimeno P, Ruiz-Alonso M, Blesa D, Bosch N, Martínez-Conejero JA, Alamá P, et al. The accuracy and reproducibility of the endometrial receptivity array is superior to histology as a diagnostic method for endometrial receptivity. *Fertility and Sterility.* févr 2013;99(2):508-17.
32. Garrido-Gómez T, Ruiz-Alonso M, Blesa D, Díaz-Gimeno P, Vilella F, Simón C. Profiling the gene signature of endometrial receptivity: clinical results. *Fertility and Sterility.* mars 2013;99(4):1078-85.
33. Mukaida T, Oka C. Vitrification of oocytes, embryos and blastocysts. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology.* déc 2012;26(6):789-803.
34. Loutradi KE, Kolibianakis EM, Venetis CA, Papanikolaou EG, Pados G, Bontis I, et al. Cryopreservation of human embryos by vitrification or slow freezing: a systematic review and meta-analysis. *Fertility and Sterility.* juill 2008;90(1):186-93.
35. AbdelHafez FF, Desai N, Abou-Setta AM, Falcone T, Goldfarb J. Slow freezing, vitrification and ultra-rapid freezing of human embryos: a systematic review and meta-analysis. *Reprod Biomed Online.* févr 2010;20(2):209-22.
36. Rienzi L, Gracia C, Maggiulli R, LaBarbera AR, Kaser DJ, Ubaldi FM, et al. Oocyte, embryo and blastocyst cryopreservation in ART: systematic review and meta-analysis comparing slow-freezing versus vitrification to produce evidence for the development of global guidance. *Hum Reprod Update.* 8 nov 2016; humupd; dmw038v1.
37. Beckers NGM, Macklon NS, Eijkemans MJ, Ludwig M, Felberbaum RE, Diedrich K, et al. Nonsupplemented luteal phase characteristics after the administration of recombinant human chorionic gonadotropin, recombinant luteinizing hormone, or gonadotropin-releasing hormone (GnRH) agonist to induce final oocyte maturation in in vitro fertilization patients after ovarian stimulation with recombinant follicle-stimulating hormone and GnRH antagonist cotreatment. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.* sept 2003;88(9):4186-92.
38. Devroey P, Polyzos NP, Blockeel C. An OHSS-Free Clinic by segmentation of IVF treatment. *Human Reproduction.* 1 oct 2011;26(10):2593-7.
39. Griesinger G, Schultz L, Bauer T, Broessner A, Frambach T, Kissler S. Ovarian hyperstimulation syndrome prevention by gonadotropin-releasing hormone agonist triggering of final oocyte maturation in a gonadotropin-releasing hormone antagonist protocol in combination with a “freeze-all” strategy: a prospective multicentric study. *Fertility and Sterility.* mai 2011;95(6):2029-2033.e1.
40. Roque M, Haahr T, Geber S, Esteves SC, Humaidan P. Fresh versus elective frozen embryo transfer in IVF/ICSI cycles: a systematic review and meta-analysis of reproductive outcomes. *Human*

Reproduction Update. 1 janv 2019;25(1):2-14.

41. Bosdou JK, Venetis CA, Tarlatzis BC, Grimbizis GF, Kolibianakis EM. Higher probability of live-birth in high, but not normal, responders after first frozen-embryo transfer in a freeze-only cycle strategy compared to fresh-embryo transfer: a meta-analysis. *Human Reproduction*. 1 mars 2019;34(3):491-505.
42. Orvieto R, Nahum R, Meltzer S, Liberty G, Anteby EY, Zohav E. GnRH agonist versus GnRH antagonist in ovarian stimulation: the role of elevated peak serum progesterone levels. *Gynecological Endocrinology*. sept 2013;29(9):843-5.
43. Venetis CA, Kolibianakis EM, Bosdou JK, Tarlatzis BC. Progesterone elevation and probability of pregnancy after IVF: a systematic review and meta-analysis of over 60 000 cycles. *Human Reproduction Update*. 1 sept 2013;19(5):433-57.
44. Healy MW, Patounakis G, Connell MT, Devine K, DeCherney AH, Levy MJ, et al. Does a frozen embryo transfer ameliorate the effect of elevated progesterone seen in fresh transfer cycles? *Fertility and Sterility*. janv 2016;105(1):93-99. e1.
45. Lawrenz B, Fatemi H. Effect of progesterone elevation in follicular phase of IVF-cycles on the endometrial receptivity. *Reproductive BioMedicine Online*. avr 2017;34(4):422-8.
46. Nikas G. Endometrial pinopodes indicate a shift in the window of receptivity in IVF cycles. *Human Reproduction*. 1 mars 1999;14(3):787-92.
47. Mirkin S, Nikas G, Hsiu J-G, Díaz J, Oehninger S. Gene Expression Profiles and Structural/Functional Features of the Peri-Implantation Endometrium in Natural and Gonadotropin-Stimulated Cycles. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. nov 2004;89(11):5742-52.
48. Ubaldi F, Bourgain C, Tournaye H, Smitz J, Van Steirteghem A, Devroey P. Endometrial evaluation by aspiration biopsy on the day of oocyte retrieval in the embryo transfer cycles in patients with serum progesterone rise during the follicular phase. *Fertility and Sterility*. mars 1997;67(3):521-6.
49. Kolibianakis E, Bourgain C, Albano C, Osmanagaoglu K, Smitz J, Van Steirteghem A, et al. Effect of ovarian stimulation with recombinant follicle-stimulating hormone, gonadotropin releasing hormone antagonists, and human chorionic gonadotropin on endometrial maturation on the day of oocyte pick-up. *Fertility and Sterility*. nov 2002;78(5):1025-9.
50. Labarta E, Martinez-Conejero JA, Alama P, Horcajadas JA, Pellicer A, Simon C, et al. Endometrial receptivity is affected in women with high circulating progesterone levels at the end of the follicular phase: a functional genomics analysis. *Human Reproduction*. 1 juill 2011;26(7):1813-25.
51. Sunkara SK, Rittenberg V, Raine-Fenning N, Bhattacharya S, Zamora J, Coomarasamy A. Association between the number of eggs and live birth in IVF treatment: an analysis of 400 135 treatment cycles. *Human Reproduction*. juill 2011;26(7):1768-74.
52. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Electronic address: ASRM@asrm.org, Practice Committee of the Society for Assisted Reproductive Technology. Guidance on the limits to the number of embryos to transfer: a committee opinion. *Fertility and Sterility*. avr 2017;107(4):901-3.

53. Zhu D, Zhang J, Cao S, Zhang J, Heng BC, Huang M, et al. Vitrified-warmed blastocyst transfer cycles yield higher pregnancy and implantation rates compared with fresh blastocyst transfer cycles--time for a new embryo transfer strategy? *Fertility and Sterility*. avr 2011;95(5):1691-5.
54. Shapiro BS, Daneshmand ST, Restrepo H, Garner FC, Aguirre M, Hudson C. Matched-cohort comparison of single-embryo transfers in fresh and frozen-thawed embryo transfer cycles. *Fertility and Sterility*. févr 2013;99(2):389-92.
55. Poulsen V, Ingerslev HJ, Kirkegaard K. Elective embryo transfers on Day 6 reduce implantation compared with transfers on Day 5. *Human Reproduction*. juin 2017;32(6):1238-43.
56. Coates A, Kung A, Mounts E, Hesla J, Bankowski B, Barbieri E, et al. Optimal euploid embryo transfer strategy, fresh versus frozen, after preimplantation genetic screening with next generation sequencing: a randomized controlled trial. *Fertility and Sterility*. mars 2017;107(3):723-730.e3.
57. Wei D, Liu J-Y, Sun Y, Shi Y, Zhang B, Liu J-Q, et al. Frozen versus fresh single blastocyst transfer in ovulatory women: a multicentre, randomised controlled trial. *The Lancet*. mars 2019;393(10178):1310-8.
58. Chen Z-J, Shi Y, Sun Y, Zhang B, Liang X, Cao Y, et al. Fresh versus Frozen Embryos for Infertility in the Polycystic Ovary Syndrome. *N Engl J Med*. 11 août 2016;375(6):523-33.
59. Vuong LN, Dang VQ, Ho TM, Huynh BG, Ha DT, Pham TD, et al. IVF Transfer of Fresh or Frozen Embryos in Women without Polycystic Ovaries. *N Engl J Med*. 11 janv 2018 ;378(2):137-47.
60. Shi Y, Sun Y, Hao C, Zhang H, Wei D, Zhang Y, et al. Transfer of Fresh versus Frozen Embryos in Ovulatory Women. *N Engl J Med*. 11 janv 2018;378(2):126-36.
61. Maheshwari A, Pandey S, Amalraj Raja E, Shetty A, Hamilton M, Bhattacharya S. Is frozen embryo transfer better for mothers and babies? Can cumulative meta-analysis provide a definitive answer? *Human Reproduction Update*. 1 janv 2018;24(1):35-58.
62. Sha T, Yin X, Cheng W, Massey IY. Pregnancy-related complications and perinatal outcomes resulting from transfer of cryopreserved versus fresh embryos in vitro fertilization: a meta-analysis. *Fertility and Sterility*. févr 2018;109(2):330-342.e9.
63. Ginström Ernstad E, Wennerholm U-B, Khatibi A, Petzold M, Bergh C. Neonatal and maternal outcome after frozen embryo transfer: Increased risks in programmed cycles. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. août 2019;221(2): 126.e1-126.e18.
64. Zhang B, Wei D, Legro RS, Shi Y, Li J, Zhang L, et al. Obstetric complications after frozen versus fresh embryo transfer in women with polycystic ovary syndrome: results from a randomized trial. *Fertility and Sterility*. févr 2018;109(2):324-9.
65. von Versen-Höynck F, Schaub AM, Chi Y-Y, Chiu K-H, Liu J, Lingis M, et al. Increased Preeclampsia Risk and Reduced Aortic Compliance With In Vitro Fertilization Cycles in the Absence of a Corpus Luteum. *Hypertension*. mars 2019;73(3):640-9.
66. Jing S, Li X feng, Zhang S, Gong F, Lu G, Lin G. Increased pregnancy complications following frozen-thawed embryo transfer during an artificial cycle. *J Assist Reprod Genet*. mai 2019;36(5):925-33.

67. Saito K, Kuwahara A, Ishikawa T, Morisaki N, Miyado M, Miyado K, et al. Endometrial preparation methods for frozen-thawed embryo transfer are associated with altered risks of hypertensive disorders of pregnancy, placenta accreta, and gestational diabetes mellitus. *Human Reproduction*. 1 août 2019;34(8):1567-75.
68. Singh B, Reschke L, Segars J, Baker VL. Frozen-thawed embryo transfer: the potential importance of the corpus luteum in preventing obstetrical complications. *Fertility and Sterility*. févr 2020;113(2):252-7.
69. Hiura H, Hattori H, Kobayashi N, Okae H, Chiba H, Miyauchi N, et al. Genome-wide microRNA expression profiling in placentae from frozen-thawed blastocyst transfer. *Clin Epigenet*. déc 2017;9(1):79.
70. Januar V, Desoye G, Novakovic B, Cvitic S, Saffery R. Epigenetic regulation of human placental function and pregnancy outcome: considerations for causal inference. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. oct 2015;213(4): S182-96.
71. Coutifaris C. Elective frozen embryo transfer for all? *The Lancet*. mars 2019;393(10178):1264-5.
72. Andersen AG, Als-Nielsen B, Hornnes PJ, Andersen LF. Time interval from human chorionic gonadotrophin (HCG) injection to follicular rupture. *Human Reproduction*. déc 1995;10(12):3202-5.
73. Wang Y, Zhu Y, Sun Y, Di W, Qiu M, Kuang Y, et al. Ideal embryo transfer position and endometrial thickness in IVF embryo transfer treatment. *Int J Gynecol Obstet*. déc 2018;143(3):282-8.
74. Paulson RJ. Hormonal induction of endometrial receptivity. *Fertility and Sterility*. sept 2011;96(3):530-5.
75. Simon A, Hurwitz A, Pharhat M, Revel A, Zentner B-S, Laufer N. A flexible protocol for artificial preparation of the endometrium without prior gonadotropin-releasing hormone agonist suppression in women with functioning ovaries undergoing frozen-thawed embryo transfer cycles. *Fertility and Sterility*. avr 1999;71(4):609-13.
76. Prato LD, Bonu MA, Sciajno R, Flamigni C. Endometrial preparation for frozen-thawed embryo transfer with or without pretreatment with gonadotropin-releasing hormone agonist. 2002 ;77(5):5.
77. van de Vijver A, Polyzos NP, Van Landuyt L, De Vos M, Camus M, Stoop D, et al. Cryopreserved embryo transfer in an artificial cycle: is GnRH agonist down-regulation necessary? *Reproductive BioMedicine Online*. nov 2014;29(5):588-94.
78. Mackens S, Santos-Ribeiro S, van de Vijver A, Racca A, Van Landuyt L, Tournaye H, et al. Frozen embryo transfer: a review on the optimal endometrial preparation and timing. *Human Reproduction*. 1 nov 2017;32(11):2234-42.
79. Mounce G, McVeigh E, Turner K, Child TJ. Randomized, controlled pilot trial of natural versus hormone replacement therapy cycles in frozen embryo replacement in vitro fertilization. *Fertility and Sterility*. oct 2015;104(4):915-920.e1.
80. Cerrillo M, Herrero L, Guillén A, Mayoral M, García-Velasco JA. Impact of Endometrial Preparation Protocols for Frozen Embryo Transfer on Live Birth Rates. *Rambam Maimonides Med J*. 28

avr 2017;8(2):e0020.

81. Alur-Gupta S, Hopeman M, Berger DS, Gracia C, Barnhart KT, Coutifaris C, et al. Impact of method of endometrial preparation for frozen blastocyst transfer on pregnancy outcome: a retrospective cohort study. *Fertility and Sterility*. sept 2018;110(4):680-6.
82. Groenewoud ER, Cohlen BJ, Al-Oraiby A, Brinkhuis EA, Broekmans FJM, de Bruin JP, et al. A randomized controlled, non-inferiority trial of modified natural versus artificial cycle for cryo-thawed embryo transfer. *Hum Reprod*. juill 2016;31(7):1483-92.
83. Morozov V, Ruman J, Kenigsberg D, Moodie G, Brenner S. Natural cycle cryo-thaw transfer may improve pregnancy outcome. *J Assist Reprod Genet*. 20 avr 2007;24(4):119-23.
84. Levron J, Yerushalmi GM, Brengauz M, Gat I, Katorza E. Comparison between two protocols for thawed embryo transfer: natural cycle versus exogenous hormone replacement. *Gynecological Endocrinology*. juill 2014;30(7):494-7.
85. Hill MJ, Miller KA, Frattarelli JL. A GnRH agonist and exogenous hormone stimulation protocol has a higher live-birth rate than a natural endogenous hormone protocol for frozen-thawed blastocyst-stage embryo transfer cycles: an analysis of 1391 cycles. *Fertility and Sterility*. 15 janv 2010;93(2):416-22.
86. Zheng Y, Dong X, Huang B, Zhang H, Ai J. The artificial cycle method improves the pregnancy outcome in frozen-thawed embryo transfer: a retrospective cohort study. *Gynecological Endocrinology*. 2 janv 2015;31(1):70-4.
87. Glujovsky D, Pesce R, Fiszbajn G, Sueldo C, Hart RJ, Ciapponi A. Endometrial preparation for women undergoing embryo transfer with frozen embryos or embryos derived from donor oocytes. *Cochrane Gynaecology and Fertility Group, éditeur. Cochrane Database of Systematic Reviews [Internet]. 20 janv 2010 [cité 5 oct 2020]; Disponible sur: <http://doi.wiley.com/10.1002/14651858.CD006359.pub2>*
88. Groenewoud ER, Cantineau AEP, Kollen BJ, Macklon NS, Cohlen BJ. What is the optimal means of preparing the endometrium in frozen-thawed embryo transfer cycles? A systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction Update*. 1 sept 2013;19(5):458-70.
89. Dor J, Rudak E, Davidson A, Levran D, Ben-Rafael Z, Mashiach S. Endocrine and biological factors influencing implantation of human embryos following cryopreservation. *Gynecol Endocrinol*. sept 1991;5(3):203-11.
90. Wright KP, Guibert J, Weitzen S, Davy C, Fauque P, Olivennes F. Artificial versus stimulated cycles for endometrial preparation prior to frozen-thawed embryo transfer. *Reproductive BioMedicine Online*. janv 2006;13(3):321-5.
91. Konc J, Kanyo K, Varga E, Kriston R, Cseh S. The effect of cycle regimen used for endometrium preparation on the outcome of day 3 frozen embryo transfer cycle. *Fertility and Sterility*. juill 2010;94(2):767-8.
92. Yu J, Ma Y, Wu Z, Li Y, Tang L, Li Y, et al. Endometrial preparation protocol of the frozen-thawed embryo transfer in patients with polycystic ovary syndrome. *Archives of Gynecology and Obstetrics*.

janv 2015;291(1):201-11.

93. Hatoum I, Bellon L, Swierkowski N, Ouazana M, Bouba S, Fathallah K, et al. Disparities in reproductive outcomes according to the endometrial preparation protocol in frozen embryo transfer: The risk of early pregnancy loss in frozen embryo transfer cycles. *J Assist Reprod Genet.* mars 2018;35(3):425-9.
94. Peigné M, Devouche E, Ferraretto X, Gricourt S, Luton D, Patrat C, et al. Higher live birth rate with stimulated rather than artificial cycle for frozen-thawed embryo transfer. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology.* déc 2019; 243:144-9.
95. Veleva Z, Tiitinen A, Vilska S, Hyden-Granskog C, Tomas C, Martikainen H, et al. High and low BMI increase the risk of miscarriage after IVF/ICSI and FET. *Human Reproduction.* 31 janv 2008;23(4):878-84.
96. Nawroth F, Ludwig M. What is the 'ideal' duration of progesterone supplementation before the transfer of cryopreserved-thawed embryos in estrogen/progesterone replacement protocols? *Human Reproduction.* 1 mai 2005;20(5):1127-34.
97. Nahoul K, Dehennin L, Jondet M, Roger M. Profiles of plasma estrogens, progesterone and their metabolites after oral or vaginal administration of estradiol or progesterone. *Maturitas.* mai 1993;16(3):185-202.
98. Critchley HOD, Buckley CH, Anderson DC. Experience with a « physiological » steroid replacement regimen for the establishment of a receptive endometrium in women with premature ovarian failure. *BJOG:An international journal of O&G.* sept 1990;97(9):804-10.
99. Fatemi HM, Bourgain C, Donoso P, Blockeel C, Papanikolaou EG, Popovic-Todorovic B, et al. Effect of oral administration of dydrogesterone versus vaginal administration of natural micronized progesterone on the secretory transformation of endometrium and luteal endocrine profile in patients with premature ovarian failure: a proof of concept. *Human Reproduction.* 1 mai 2007;22(5):1260-3.
100. Bourgain C, Devroey P, Waesberghe LV, Smits J, Steirteghem ACV. Effects of natural progesterone on the morphology of the endometrium in patients with primary ovarian failure. *Human Reproduction.* juill 1990;5(5):537-43.
101. Barbosa MWP, Valadares NPB, Barbosa ACP, Amaral AS, Iglesias JR, Nastri CO, et al. Oral dydrogesterone vs. vaginal progesterone capsules for luteal-phase support in women undergoing embryo transfer: a systematic review and meta-analysis. *JBRA Assisted Reproduction [Internet].* 2018 [cité 7 août 2020] ; Disponible sur: <http://www.gnresearch.org/doi/10.5935/1518-0557.20180018>
102. Rashidi BH, Ghazizadeh M, Tehrani Nejad ES, Bagheri M, Gorginzadeh M. Oral dydrogesterone for luteal support in frozen-thawed embryo transfer artificial cycles: A pilot randomized controlled trial. *Asian Pacific Journal of Reproduction.* nov 2016;5(6):490-4.
103. Zarei A, Sohail P, Parsanezhad ME, Alborzi S, Samsami A, Azizi M. Comparison of four protocols for luteal phase support in frozen-thawed Embryo transfer cycles: a randomized clinical trial. *Arch Gynecol Obstet.* janv 2017;295(1):239-46.
104. Yanushpolsky E, Hurwitz S, Greenberg L, Racowsky C, Hornstein M. Crinone vaginal gel is

equally effective and better tolerated than intramuscular progesterone for luteal phase support in in vitro fertilization–embryo transfer cycles: a prospective randomized study. *Fertility and Sterility*. déc 2010;94(7):2596-9.

105. Beltsos AN, Sanchez MD, Doody KJ, Bush MR, Domar AD, Collins MG. Patients' administration preferences: progesterone vaginal insert (Endometrin®) compared to intramuscular progesterone for Luteal phase support. *Reprod Health*. déc 2014;11(1):78.

106. Zaman AY, Coskun S, Alsanie AA, Awartani KA. Intramuscular progesterone (Gestone) versus vaginal progesterone suppository (Cyclogest) for luteal phase support in cycles of in vitro fertilization–embryo transfer: patient preference and drug efficacy. *Fertil Res and Pract*. déc 2017;3(1):17.

107. Vaisbuch E, de Ziegler D, Leong M, Weissman A, Shoham Z. Luteal-phase support in assisted reproduction treatment: real-life practices reported worldwide by an updated website-based survey. *Reproductive BioMedicine Online*. mars 2014;28(3):330-5.

108. Haddad G, Saguan DA, Maxwell R, Thomas MA. Intramuscular route of progesterone administration increases pregnancy rates during non-downregulated frozen embryo transfer cycles. *J Assist Reprod Genet*. 27 oct 2007;24(10):467-70.

109. Kaser DJ, Ginsburg ES, Missmer SA, Correia KF, Racowsky C. Intramuscular progesterone versus 8% Crinone vaginal gel for luteal phase support for day 3 cryopreserved embryo transfer. *Fertility and Sterility*. déc 2012;98(6):1464-9.

110. Devine K, Richter KS, Widra EA, McKeeby JL. Vitrified blastocyst transfer cycles with the use of only vaginal progesterone replacement with Endometrin have inferior ongoing pregnancy rates: results from the planned interim analysis of a three-arm randomized controlled noninferiority trial. *Fertility and Sterility*. févr 2018;109(2):266-75.

111. Delcour C, Robin G, Delesalle A-S, Drumez E, Plouvier P, Dewailly D, et al. Weekly intramuscular progesterone for luteal phase support in women receiving oocyte donation is associated with a decreased miscarriage rate. *Reproductive BioMedicine Online*. sept 2019;39(3):446-51.

112. Lightman A, Kol S, Itskovitz-Eldor J. A prospective randomized study comparing intramuscular with intravaginal natural progesterone in programmed thaw cycles. *Human Reproduction*. oct 1999;14(10):2596-9.

113. Shapiro DB, Pappadakis JA, Ellsworth NM, Hait HI, Nagy ZP. Progesterone replacement with vaginal gel versus i.m. injection: cycle and pregnancy outcomes in IVF patients receiving vitrified blastocysts. *Human Reproduction*. 1 août 2014 ;29(8):1706-11.

114. Wang Y, He Y, Zhao X, Ji X, Hong Y, Wang Y, et al. Crinone Gel for Luteal Phase Support in Frozen-Thawed Embryo Transfer Cycles: A Prospective Randomized Clinical Trial in the Chinese Population. *Gleicher N, éditeur. PLoS ONE*. 29 juill 2015;10(7): e0133027.

115. Leonard PH, Hokenstad AN, Khan Z, Jensen JR, Stewart EA, Coddington CC. Progesterone support for frozen embryo transfer: intramuscular versus vaginal suppository demonstrates no difference in a cohort. *J Reprod Med*. avr 2015;60(3-4):103-8.

116. Asoglu MR, Celik C, Karakis LS, Findikli N, Gultomruk M, Bahceci M. Comparison of daily vaginal

progesterone gel plus weekly intramuscular progesterone with daily intramuscular progesterone for luteal phase support in single, autologous euploid frozen-thawed embryo transfers. *J Assist Reprod Genet.* juill 2019;36(7):1481-7.

117. Jiang L, Luo Z-Y, Hao G-M, Gao B-L. Effects of intramuscular and vaginal progesterone supplementation on frozen-thawed embryo transfer. *Sci Rep.* déc 2019;9(1):15264.

118. Cicinelli E, de Ziegler D. Transvaginal progesterone: evidence for a new functional « portal system » flowing from the vagina to the uterus. *Human Reproduction Update.* août 1999;5(4):365-72.

119. Cicinelli E, de Ziegler D, Morgese S, Bulletti C, Luisi D, Schonauer LM. “First uterine pass effect” is observed when estradiol is placed in the upper but not lower third of the vagina. *Fertility and Sterility.* mai 2004;81(5):1414-6.

120. Miles RA, Paulson RJ, Lobo RA, Press MF, Dahmouh L, Sauer MV. Pharmacokinetics and endometrial tissue levels of progesterone after administration by intramuscular and vaginal routes: a comparative study. *Fertility and Sterility.* sept 1994;62(3):485-90.

121. Cicinelli E, de Ziegler D, Bulletti C, Matteo MG, Schonauer LM, Galantino P. Direct transport of progesterone from vagina to uterus. *Obstetrics and Gynecology.* mars 2000;95(3):403-6.

122. Sator M, Radicioni M, Cometti B, Loprete L, Leuratti C, Schmidl D, et al. Pharmacokinetics and safety profile of a novel progesterone aqueous formulation administered by the s.c. route. *Gynecological Endocrinology.* mars 2013;29(3):205-8.

123. de Ziegler D, Sator M, Binelli D, Leuratti C, Cometti B, Bourgain C, et al. A randomized trial comparing the endometrial effects of daily subcutaneous administration of 25 mg and 50 mg progesterone in aqueous preparation. *Fertility and Sterility.* sept 2013;100(3):860-6.

124. Venturella R, Vaiarelli A, Buffo L, D’alessandro P, Colamaria S, Pedri S, et al. Progesterone for preparation of the endometrium for frozen–thawed blastocyst transfer *in vitro* fertilization cycles: a prospective study on patients’ opinions on a new subcutaneous formulation. *Gynecological Endocrinology.* 2 sept 2018;34(9):766-71.

125. Lockwood G, Griesinger G, Cometti B, de Placido G, Alviggi C, Ranieri A, et al. Subcutaneous progesterone versus vaginal progesterone gel for luteal phase support in *in vitro* fertilization: a noninferiority randomized controlled study. *Fertility and Sterility.* janv 2014;101(1):112-119.e3.

126. Baker VL, Jones CA, Doody K, Foulk R, Yee B, Adamson GD, et al. A randomized, controlled trial comparing the efficacy and safety of aqueous subcutaneous progesterone with vaginal progesterone for luteal phase support of *in vitro* fertilization. *Human Reproduction.* 10 oct 2014;29(10):2212-20.

127. Tomic V, Kasum M, Vucic K. The role of luteal support during IVF: a qualitative systematic review. *Gynecological Endocrinology.* 3 oct 2019;35(10):829-34.

128. Alsbjerg B, Polyzos NP, Elbaek HO, Povlsen BB, Andersen CY, Humaidan P. Increasing vaginal progesterone gel supplementation after frozen–thawed embryo transfer significantly increases the delivery rate. *Reproductive BioMedicine Online.* févr 2013;26(2):133-7.

129. Enatsu Y, Enatsu N, Kishi K, Iwasaki T, Matsumoto Y, Koikeguchi S, et al. Effectiveness of high-dose transvaginal progesterone supplementation for women who are undergoing a frozen-thawed

embryo transfer. *Reprod Med Biol.* juill 2018;17(3):242-8.

130. van der Linden M, Buckingham K, Farquhar C, Kremer JA, Metwally M. Luteal phase support for assisted reproduction cycles. Cochrane Gynaecology and Fertility Group, éditeur. *Cochrane Database of Systematic Reviews* [Internet]. 7 juill 2015 [cité 5 oct 2020]; Disponible sur: <http://doi.wiley.com/10.1002/14651858.CD009154.pub3>

131. Labarta E, Rodríguez C. Progesterone use in assisted reproductive technology. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology.* 4 juin 2020;

132. Paulson RJ, Collins MG, Yankov VI. Progesterone Pharmacokinetics and Pharmacodynamics With 3 Dosages and 2 Regimens of an Effervescent Micronized Progesterone Vaginal Insert. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* nov 2014;99(11):4241-9.

133. Duijkers IJM, Klingmann I, Prinz R, Wargenau M, Hrafnisdottir S, Magnusdottir TB, et al. Effect on endometrial histology and pharmacokinetics of different dose regimens of progesterone vaginal pessaries, in comparison with progesterone vaginal gel and placebo. *Human Reproduction.* 1 nov 2018;33(11):2131-40.

134. Merriam KS, Leake KA, Elliot M, Matthews ML, Usadi RS, Hurst BS. Sexual Absorption of Vaginal Progesterone: A Randomized Control Trial. *International Journal of Endocrinology.* 2015; 2015:1-5.

135. Wang H, Liu M, Fu Q, Deng C. Pharmacokinetics of hard micronized progesterone capsules via vaginal or oral route compared with soft micronized capsules in healthy postmenopausal women: a randomized open-label clinical study. *DDDT.* juill 2019; Volume 13:2475-82.

136. Tavaniotou A. Comparison between different routes of progesterone administration as luteal phase support in infertility treatments. *Human Reproduction Update.* 1 mars 2000;6(2):139-48.

137. Yovich JL, Conceicao JL, Stanger JD, Hinchliffe PM, Keane KN. Mid-luteal serum progesterone concentrations govern implantation rates for cryopreserved embryo transfers conducted under hormone replacement. *Reproductive BioMedicine Online.* août 2015;31(2):180-91.

138. Cédric-Durnerin I, Isnard T, Mahdjoub S, Sonigo C, Seroka A, Comtet M, et al. Serum progesterone concentration and live birth rate in frozen-thawed embryo transfers with hormonally prepared endometrium. *Reproductive BioMedicine Online.* mars 2019;38(3):472-80.

139. Volovsky M, Pakes C, Rozen G, Polyakov A. Do serum progesterone levels on day of embryo transfer influence pregnancy outcomes in artificial frozen-thaw cycles? *J Assist Reprod Genet.* mai 2020;37(5):1129-35.

140. Labarta E, Mariani G, Holtmann N, Celada P, Remohí J, Bosch E. Low serum progesterone on the day of embryo transfer is associated with a diminished ongoing pregnancy rate in oocyte donation cycles after artificial endometrial preparation: a prospective study. *Human Reproduction.* 1 déc 2017;32(12):2437-42.

141. Boyer P, Boyer M. Évaluation non invasive de l'embryon : morphologie embryonnaire préimplantatoire. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité.* nov 2009;37(11-12):908-16.

142. Basnayake SK, Volovsky M, Rombauts L, Osianlis T, Vollenhoven B, Healey M. Progesterone concentrations and dosage with frozen embryo transfers - What's best ? *Aust N Z J Obstet Gynaecol.*

oct 2018;58(5):533-8.

143. Alsbjerg B, Thomsen L, Elbaek HO, Laursen R, Povlsen BB, Haahr T, et al. Progesterone levels on pregnancy test day after hormone replacement therapy-cryopreserved embryo transfer cycles and related reproductive outcomes. *Reproductive BioMedicine Online*. nov 2018;37(5):641-7.
144. Gaggiotti-Marre S, Martinez F, Coll L, Garcia S, Álvarez M, Parriego M, et al. Low serum progesterone the day prior to frozen embryo transfer of euploid embryos is associated with significant reduction in live birth rates. *Gynecological Endocrinology*. 4 mai 2019;35(5):439-42.
145. Alsbjerg B, Labarta E, Humaidan P. Serum progesterone levels on day of embryo transfer in frozen embryo transfer cycles—the truth lies in the detail. *J Assist Reprod Genet* [Internet]. 12 juin 2020 [cité 31 juill 2020] ; Disponible sur: <http://link.springer.com/10.1007/s10815-020-01851-1>
146. Labarta E. Relationship between serum progesterone (P) levels and pregnancy outcome: lessons from artificial cycles when using vaginal natural micronized progesterone. *J Assist Reprod Genet*. août 2020;37(8):2047-8.
147. Lawrenz B, Labarta E, Fatemi H, Bosch E. Premature progesterone elevation: targets and rescue strategies. *Fertility and Sterility*. avr 2018;109(4):577-82.
148. Kofinas JD, Blakemore J, McCulloh DH, Grifo J. Serum progesterone levels greater than 20 ng/dl on day of embryo transfer are associated with lower live birth and higher pregnancy loss rates. *J Assist Reprod Genet*. sept 2015;32(9):1395-9.
149. Morin SJ, Patounakis G, Juneau CR, Neal SA, Scott RT, Seli E. Diminished ovarian reserve and poor response to stimulation in patients <38 years old: a quantitative but not qualitative reduction in performance. *Human Reproduction*. 1 août 2018;33(8):1489-98.
150. Li HWR, Lee VCY, Lau EYL, Yeung WSB, Ho P-C, Ng EHY. Role of baseline antral follicle count and anti-Müllerian hormone in the index stimulation cycle of IVF treatment in predicting outcome of subsequent frozen-thawed embryo transfers. *Gynecological Endocrinology*. juill 2014;30(7):490-3.
151. Tal R, Seifer DB, Wantman E, Baker V, Tal O. Antimüllerian hormone as a predictor of live birth following assisted reproduction: an analysis of 85,062 fresh and thawed cycles from the Society for Assisted Reproductive Technology Clinic Outcome Reporting System database for 2012–2013. *Fertility and Sterility*. févr 2018;109(2):258-65.
152. Guerif F, Lemseffer M, Bidault R, Gasnier O, Sausseureau MH, Cadoret V, et al. Single Day 2 embryo versus blastocyst-stage transfer: a prospective study integrating fresh and frozen embryo transfers. *Human Reproduction*. 27 févr 2009;24(5):1051-8.
153. Glujovsky D, Farquhar C, Quinteiro Retamar AM, Alvarez Sedo CR, Blake D. Cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in assisted reproductive technology. *Cochrane Gynaecology and Fertility Group*, éditeur. *Cochrane Database of Systematic Reviews* [Internet]. 30 juin 2016 [cité 2 sept 2020]; Disponible sur: <http://doi.wiley.com/10.1002/14651858.CD002118.pub5>
154. De Vos A, Van Landuyt L, Santos-Ribeiro S, Camus M, Van de Velde H, Tournaye H, et al. Cumulative live birth rates after fresh and vitrified cleavage-stage versus blastocyst-stage embryo transfer in the first treatment cycle. *Hum Reprod*. nov 2016;31(11):2442-9.

155. Kroener L, Ambartsumyan G, Briton-Jones C, Dumesic D, Surrey M, Munné S, et al. The effect of timing of embryonic progression on chromosomal abnormality. *Fertility and Sterility*. oct 2012;98(4):876-80.
156. Papanikolaou EG, Kolibianakis EM, Tournaye H, Venetis CA, Fatemi H, Tarlatzis B, et al. Live birth rates after transfer of equal number of blastocysts or cleavage-stage embryos in IVF. A systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction*. janv 2008;23(1):91-9.
157. Patricot MC, Badonnel Y, Boudou P, Lacroix I, Mathian B, Mathieu E, et al. [Validity of immunochemical methods for bloody progesterone: a study performed in 1998]. *Ann Biol Clin (Paris)*. avr 1999;57(2):201-10.
158. Moragianni VA, Jones S-ML, Ryley DA. The effect of body mass index on the outcomes of first assisted reproductive technology cycles. *Fertility and Sterility*. juill 2012;98(1):102-8.
159. Brady PC, Kaser DJ, Ginsburg ES, Ashby RK, Missmer SA, Correia KF, et al. Serum progesterone concentration on day of embryo transfer in donor oocyte cycles. *J Assist Reprod Genet*. mai 2014;31(5):569-75.
160. Boynukalin FK, Gultomruk M, Turgut E, Demir B, Findikli N, Serdarogullari M, et al. Measuring the serum progesterone level on the day of transfer can be an additional tool to maximize ongoing pregnancies in single euploid frozen blastocyst transfers. *Reprod Biol Endocrinol*. déc 2019 ;17(1):102.

ANNEXES

Annexe 1 : Classification des embryons à J2-J3 après la fécondation : Classification consensuelle des Biologistes des Laboratoires d'Étude de la Fécondation et de la Conservation de l'œuf (BLEFCO)

1^{er} chiffre : Nombre de blastomères, généralement de 4 à J2 et 8 à J3

2^{ème} chiffre : Forme des blastomères :

1 = typique

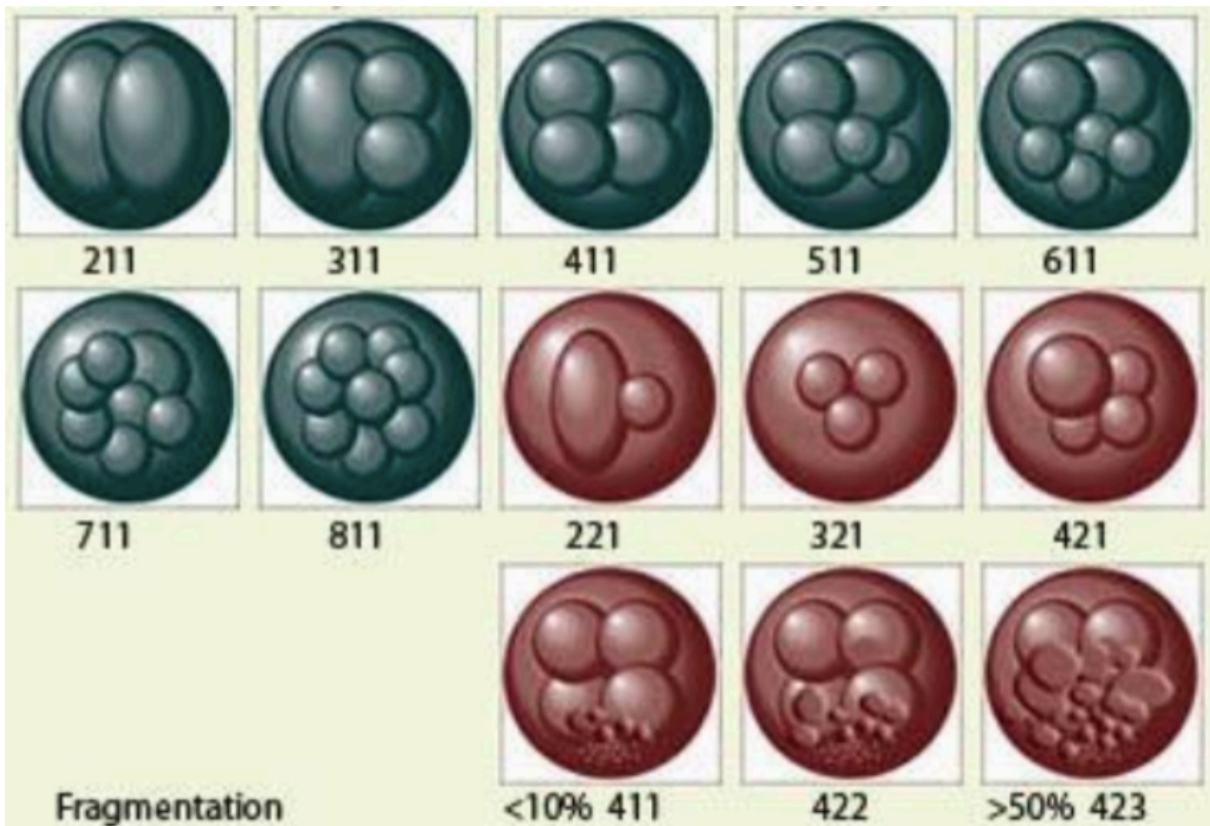
2 = atypique

3^{ème} chiffre : Taux de fragmentation :

1 = inférieur à 10%

2 = 10 à 50%

3 = supérieur à 50%

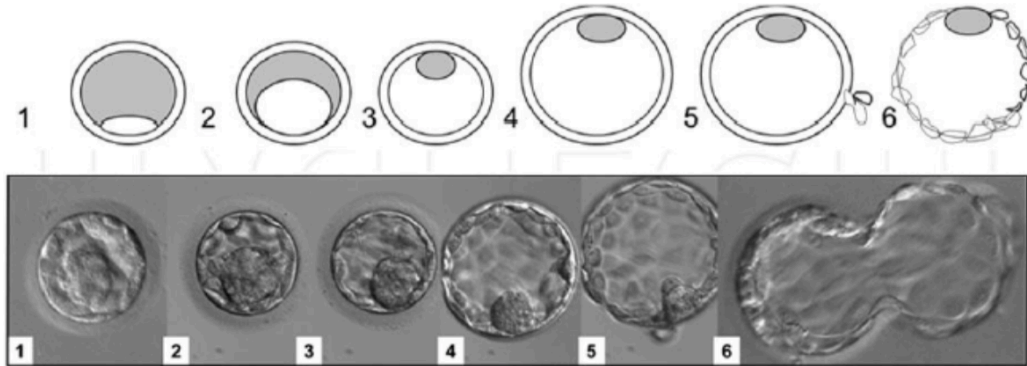


Annexe 2 : Classification des blastocystes selon Gardner et Schoolcraft (1999)

Chacune des trois parties de l'embryon est codifiée :

Le blastocèle

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



| | |
|---|---|
| 1 | La cavité du blastocèle représente moins de la moitié du volume de l'embryon |
| 2 | La cavité du blastocèle représente plus de la moitié du volume de l'embryon |
| 3 | Blastocyste en voie d'expansion : la cavité du blastocèle occupe tout l'embryon |
| 4 | Blastocyste expansé |
| 5 | Blastocyste en voie d'éclosion |
| 6 | Blastocyste éclos |

Le bouton embryonnaire et le trophoctoderme

Ils sont caractérisés par une lettre : A, B ou C, selon le nombre et l'aspect de ses cellules. La lettre A correspond toujours à la meilleure morphologie cellulaire.

Gardner et *al.* ont défini le score embryonnaire au stade blastocyste permettant d'obtenir le meilleur taux d'implantation et de grossesse : il s'agit du score $\geq 3AA$ qui désigne le « TOP quality blastocyst ».

| | Grade A | Grade B | Grade C |
|---|--|--|--|
| Bouton embryonnaire (flèches noires) | Il est compact, composé de nombreuses cellules et bien individualisé | Il est moins organisé avec moins de cellules | Il est peu visible et formé de peu de cellules |
| Trophoctoderme (flèches blanches) | Les cellules forment un épithélium festonné | Epithélium irrégulier | Epithélium lisse |
| | | | |

SERMENT D'HIPPOCRATE

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

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

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

J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences.

Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences.

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

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

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

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

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

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

RESUME

Objectif : Évaluer l'impact du taux sérique de progestérone (P) le jour du transfert d'embryons congelés (TEC) sur le taux de grossesse évolutive dans les cycles artificiels.

Méthodes : Étude de cohorte prospective unicentrique, observationnelle menée sur 365 cycles de TEC. Toutes les patientes ont reçu un traitement hormonal substitutif pour la préparation endométriale comprenant de l'œstradiol seul puis associé à 600 mg/jour de P vaginale. Toutes les patientes devaient réaliser un dosage de progestérone sérique le jour du transfert afin d'évaluer son impact sur la grossesse évolutive. Le seuil de 10 ng/ml a été utilisé, définissant une ovulation adéquate dans la littérature. Puis le taux de P le jour du transfert a été considéré comme une variable continue, permettant une analyse plus fine et informative de son potentiel effet sur les issues de grossesse.

Résultats : Il n'y avait pas de différence statistiquement significative sur les issues de grossesse lorsque la progestéronémie était inférieure ou supérieure à 10 ng/ml le jour du transfert ; que ce soit sur le taux de grossesse évolutive (16,9% versus 16,6% $p = 1,00$), ou bien sur les taux de grossesse débutantes (29,9% versus 32,2% $p = 0,65$), clinique (18,2% versus 18,0% $p = 1,00$) et perte de grossesse avant 12 SA (43,5% versus 48,5% $p = 0,55$). L'analyse de régression logistique multivariée n'a pas identifiée le taux sérique de P le jour du transfert comme étant un facteur statistiquement associé à la grossesse évolutive (OR : 1,00 95%IC [0,91-1,09] $p = 0,96$).

Conclusion : Notre étude n'a pas mis en évidence d'association statistiquement significative entre le taux sérique de P le jour du transfert embryonnaire et les taux de grossesse évolutive. Des recherches supplémentaires sont nécessaires dans ce domaine pour caractériser davantage la supplémentation optimale de P ainsi que le rôle de la surveillance du taux de progestérone dans les cycles de TEC artificiels.

ABSTRACT

Impact of serum progesterone level on the day of artificial frozen-thawed embryo transfer on ongoing pregnancy rate

Objective: To evaluate the impact of serum progesterone (P) level on the day of frozen-thawed embryo transfer (FET) on ongoing pregnancy rate (OPR) in artificial endometrium preparation cycles.

Methods: Prospective, unicentric, observational cohort study in 365 FET cycles. All patients received hormonal replacement therapy for endometrium preparation: administration of estradiol alone and then combined with administration of 600 mg/day vaginal micronized P. The threshold of 10 ng/ml was used, consistent with adequate ovulation in the literature. The P level on the day of embryo transfer was then considered as a continuous variable, allowing for a more detailed and informative analysis to evaluate its potential effect on pregnancy outcomes.

Results: There was no statistically significant difference in pregnancy outcomes when progesterone levels were < 10 ng/ml or ≥ 10 ng/ml: ongoing pregnancy rate (16.9% versus 16.6% $p = 1.00$), biochemical pregnancy rate (29.9% versus 32.2% $p = 0.65$), clinical pregnancy rate (18.2% versus 18.0% $p = 1.00$) and first trimester pregnancy loss rate (43.5% versus 48.5% $p = 0.55$). Multivariate logistic regression analysis did not identify serum progesterone level on the day of transfer as a prognostic factor statistically associated with ongoing pregnancy rate (OR: 1.00 95%CI [0.91-1.09] $p = 0.96$).

Conclusion: No statistically significant association was found in our study between serum progesterone levels on the day of embryo transfer and OPR. Additional research is needed to further characterize optimal progesterone supplementation and the role of progesterone monitoring in FET artificial cycles.

MOTS-CLES : Transfert d'embryons congelés, cycle artificiel, progestérone, grossesse évolutive

DISCIPLINE : Médecine, gynécologie, médecine de la reproduction

UFR des Sciences Médicales, Université de Bordeaux, 146 rue Léo Saignat, 33076 Bordeaux Cedex