

UNIVERSITÉ TOULOUSE III – PAUL SABATIER
FACULTÉS DE MÉDECINE

ANNÉE 2015

2015 TOU3 1597

THÈSE

POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE
MÉDECINE SPÉCIALISÉE CLINIQUE

Présentée et soutenue publiquement par

Cynthia SIMON

Le 23 Octobre 2015

**Analyse des valeurs seuils de compte des follicules antraux et
d'hormone Anti-Müllérienne sérique permettant de prédire le
nombre d'ovocytes cryopréservés en maturation *in vitro* chez des
jeunes femmes atteintes de cancer et candidates à une
préservation de la fertilité**

Directeur de thèse : Dr Charlotte SONIGO

JURY

Monsieur le Professeur PARINAUD Jean	Président
Monsieur le Professeur MONROZIES Xavier	Assesseur
Monsieur le Professeur ROCHE Henri	Assesseur
Monsieur le Docteur LEANDRI Roger	Assesseur
Madame le Docteur COHADE Clémentine	Suppléant
Madame le Docteur SONIGO Charlotte	Invitée

Analyse des valeurs seuils de compte des follicules antraux et d'hormone Anti-Müllérienne sérique permettant de prédire le nombre d'ovocytes cryopréservés en maturation *in vitro* chez des jeunes femmes atteintes de cancer et candidates à une préservation de la fertilité

Soutenue le 23 Octobre 2015

Objectif : Déterminer les valeurs seuils de CFA et d'AMH permettant d'assurer la congélation de différents nombres d'ovocytes maturés *in vitro* (MIV) chez des patientes atteintes de cancer candidates à une préservation de la fertilité (PF).

Matériel et Méthodes : 340 patientes ont été prospectivement incluses. L'analyse par régression logistique a permis de déterminer les valeurs seuils de CFA et d'AMH permettant d'obtenir $\geq 8-10$ ou 15 et ≤ 2 ovocytes MIV congelés.

Résultats : L'analyse statistique retrouvait des valeurs seuils de CFA et d'AMH supérieures à 28 follicules et 3.9ng/mL, 20 follicules et 3.7ng/mL et 19 follicules et 3.5ng/mL, pour obtenir au moins 15, 10 et 8 ovocytes MIV congelés et inférieurs à 19 follicules et 3ng/mL pour obtenir 2 ovocytes ou moins.

Conclusion : Les valeurs seuils de CFA et d'AMH doivent être relativement hautes pour optimiser les résultats en MIV. L'association à une congélation de tissu ovarien reste la meilleure stratégie quand la réserve ovarienne est diminuée.

What threshold values of antral follicle count and serum AMH levels should be considered in cancer patients, candidates for oocyte cryopreservation after *in vitro* maturation?

DISCIPLINE ADMINISTRATIVE : Médecine spécialisée clinique

MOTS-CLÉS : Préservation de la fertilité, maturation *in vitro*, AMH, compte des follicules antraux

INTITULÉ ET ADRESSE DE L'UFR OU DU LABORATOIRE :

Université Toulouse III-Paul Sabatier
Faculté de médecine Toulouse-Purpan,
37 Allées Jules Guesde 31000 Toulouse

Directeur de thèse : Charlotte SONIGO

UNIVERSITÉ TOULOUSE III – PAUL SABATIER
FACULTÉS DE MÉDECINE

ANNÉE 2015

2015 TOU3 1597

THÈSE

POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE

MÉDECINE SPÉCIALISÉE CLINIQUE

Présentée et soutenue publiquement par

Cynthia SIMON

Le 23 Octobre 2015

**Analyse des valeurs seuils de compte des follicules antraux et
d'hormone Anti-Müllérienne sérique permettant de prédire le
nombre d'ovocytes cryopréservés en maturation *in vitro* chez des
jeunes femmes atteintes de cancer et candidates à une
préservation de la fertilité**

Directeur de thèse : Dr Charlotte SONIGO

JURY

Monsieur le Professeur PARINAUD Jean	Président
Monsieur le Professeur MONROZIES Xavier	Assesseur
Monsieur le Professeur ROCHE Henri	Assesseur
Monsieur le Docteur LEANDRI Roger	Assesseur
Madame le Docteur COHADE Clémentine	Suppléant
Madame le Docteur SONIGO Charlotte	Invitée

TABLEAU du PERSONNEL HU
des Facultés de Médecine de l'Université Paul Sabatier
au 1^{er} septembre 2014

Professeurs Honoraires

Doyen Honoraire	M. ROUGE D.	Professeur Honoraire	M. SALVADOR M.
Doyen Honoraire	M. LAZORTHES Y.	Professeur Honoraire	M. BAYARD
Doyen Honoraire	M. CHAP H.	Professeur Honoraire	M. LEOPHONTE
Doyen Honoraire	M. GUIRAUD-CHAUMEIL B	Professeur Honoraire	M. FABIÉ
Professeur Honoraire	M. COMMANAY	Professeur Honoraire	M. BARTHE
Professeur Honoraire	M. CLAUX	Professeur Honoraire	M. CABARROT
Professeur Honoraire	M. ESCHAPASSE	Professeur Honoraire	M. DUFFAUT
Professeur Honoraire	Mme ENJALBERT	Professeur Honoraire	M. ESCAT
Professeur Honoraire	M. GEDEON	Professeur Honoraire	M. ESCANDE
Professeur Honoraire	M. PASQUIE	Professeur Honoraire	M. PRIS
Professeur Honoraire	M. RIBAUT	Professeur Honoraire	M. CATHALA
Professeur Honoraire	M. ARLET J.	Professeur Honoraire	M. BAZEX
Professeur Honoraire	M. RIBET	Professeur Honoraire	M. VIRENQUE
Professeur Honoraire	M. MONROZIES	Professeur Honoraire	M. CARLES
Professeur Honoraire	M. DALOUS	Professeur Honoraire	M. BONAFÉ
Professeur Honoraire	M. DUPRE	Professeur Honoraire	M. VAYSSE
Professeur Honoraire	M. FABRE J.	Professeur Honoraire	M. ESQUERRE
Professeur Honoraire	M. DUCOS	Professeur Honoraire	M. GUITARD
Professeur Honoraire	M. GALINIER	Professeur Honoraire	M. LAZORTHES F.
Professeur Honoraire	M. LACOMME	Professeur Honoraire	M. ROQUE-LATRILLE
Professeur Honoraire	M. BASTIDE	Professeur Honoraire	M. CERENE
Professeur Honoraire	M. COTONAT	Professeur Honoraire	M. FOURNIAL
Professeur Honoraire	M. DAVID	Professeur Honoraire	M. HOFF
Professeur Honoraire	Mme DIDIER	Professeur Honoraire	M. REME
Professeur Honoraire	M. GAUBERT	Professeur Honoraire	M. FAUVEL
Professeur Honoraire	Mme LARENG M.B.	Professeur Honoraire	M. FREXINOS
Professeur Honoraire	M. BES	Professeur Honoraire	M. CARRIERE
Professeur Honoraire	M. BERNADET	Professeur Honoraire	M. MANSAT M.
Professeur Honoraire	M. GARRIGUES	Professeur Honoraire	M. BARRET
Professeur Honoraire	M. REGNIER	Professeur Honoraire	M. ROLLAND
Professeur Honoraire	M. COMBELLES	Professeur Honoraire	M. THOUVENOT
Professeur Honoraire	M. REGIS	Professeur Honoraire	M. CAHUZAC
Professeur Honoraire	M. ARBUS	Professeur Honoraire	M. DELSOL
Professeur Honoraire	M. PUJOL	Professeur Honoraire	M. ABBAL
Professeur Honoraire	M. ROCHICCIOLI	Professeur Honoraire	M. DURAND
Professeur Honoraire	M. RUMEAU	Professeur Honoraire	M. DALY-SCHVEITZER
Professeur Honoraire	M. BESOMBES	Professeur Honoraire	M. RAILHAC
Professeur Honoraire	M. GUIRAUD	Professeur Honoraire	M. POURRAT
Professeur Honoraire	M. SUC	Professeur Honoraire	M. QUERLEU D.
Professeur Honoraire	M. VALDIGUIE	Professeur Honoraire	M. ARNE JL
Professeur Honoraire	M. BOUNHOURE	Professeur Honoraire	M. ESCOURROU J.
Professeur Honoraire	M. PONTONNIER	Professeur Honoraire	M. FOURTANIER G.
Professeur Honoraire	M. CARTON	Professeur Honoraire	M. LAGARRIGUE J.
Professeur Honoraire	Mme PUEL J.	Professeur Honoraire	M. PESSEY JJ.
Professeur Honoraire	M. GOUZI		
Professeur Honoraire associé	M. DUTAU		
Professeur Honoraire	M. PONTONNIER		
Professeur Honoraire	M. PASCAL		

Professeurs Émérites

Professeur LARROUY	Professeur JL. ADER
Professeur ALBAREDE	Professeur Y. LAZORTHES
Professeur CONTÉ	Professeur L. LARENG
Professeur MURAT	Professeur F. JOFFRE
Professeur MANELFE	Professeur J. CORBERAND
Professeur LOUVET	Professeur B. BONEU
Professeur SARRAMON	Professeur H. DABERNAT
Professeur CARATERO	Professeur M. BOCCALON
Professeur GUIRAUD-CHAUMEIL	Professeur B. MAZIERES
Professeur COSTAGLIOLA	Professeur E. ARLET-SUAU
	Professeur J. SIMON

P.U. - P.H. Classe Exceptionnelle et 1ère classe		P.U. - P.H. 2ème classe	
M. ADOUE D.	Médecine Interne, Gériatrie	Mme BEYNE-RAUZY O.	Médecine Interne
M. AMAR J.	Thérapeutique	M. BIRMES Ph.	Psychiatrie
M. ATTAL M. (C.E)	Hématologie	M. BROUCHET L.	Chirurgie thoracique et cardio-vascul
M. AVET-LOISEAU H	Hématologie, transfusion	M. BUREAU Ch	Hépatogastro-entéro
M. BLANCHER A.	Immunologie (option Biologique)	M. CALVAS P.	Génétique
M. BONNEVIALLE P.	Chirurgie Orthopédique et Traumatologie.	M. CARRERE N.	Chirurgie Générale
M. BOSSAVY J.P.	Chirurgie Vasculaire	Mme CASPER Ch.	Pédiatrie
M. BRASSAT D.	Neurologie	M. CHAIX Y.	Pédiatrie
M. BROUSSET P. (C.E)	Anatomie pathologique	Mme CHARPENTIER S.	Thérapeutique, méd. d'urgence, addict
M. BUGAT R. (C.E)	<i>Cancérologie</i>	M. COGNARD C.	Neuroradiologie
M. CARRIE D.	Cardiologie	M. DE BOISSEZON X.	Médecine Physique et Réadapt Fonct.
M. CHAP H. (C.E)	Biochimie	M. FOURNIE B.	Rhumatologie
M. CHAUVEAU D.	Néphrologie	M. FOURNIÉ P.	Ophthalmologie
M. CHOLLET F. (C.E)	Neurologie	M. GAME X.	Urologie
M. CLANET M. (C.E)	Neurologie	M. GEERAERTS T.	Anesthésiologie et réanimation chir.
M. DAHAN M. (C.E)	Chirurgie Thoracique et Cardiaque	Mme GENESTAL M.	Réanimation Médicale
M. DEGUINE O.	O. R. L.	M. LAROCHE M.	Rhumatologie
M. DUCOMMUN B.	Cancérologie	M. LAUWERS F.	Anatomie
M. FERRIERES J.	Epidémiologie, Santé Publique	M. LEOBON B.	Chirurgie Thoracique et Cardiaque
M. FOURCADE O.	Anesthésiologie	M. MAZIERES J.	Pneumologie
M. FRAYSSE B. (C.E)	O.R.L.	M. MOLINIER L.	Epidémiologie, Santé Publique
M. IZOPET J. (C.E)	Bactériologie-Virologie	M. OLIVOT J-M	Neurologie
Mme LAMANT L.	Anatomie Pathologique	M. PARANT O.	Gynécologie Obstétrique
M. LANG T.	Biostatistique Informatique Médicale	M. PARIENTE J.	Neurologie
M. LANGIN D.	Nutrition	M. PATHAK A.	Pharmacologie
M. LAUQUE D. (C.E)	Médecine Interne	M. PAUL C.	Dermatologie
M. LIBLAU R. (C.E)	Immunologie	M. PAYOUX P.	Biophysique
M. MAGNAVAL J.F.	Parasitologie	M. PAYRASTRE B.	Hématologie
M. MALAVAUD B.	Urologie	M. PORTIER G.	Chirurgie Digestive
M. MANSAT P.	Chirurgie Orthopédique	M. PERON J.M.	Hépatogastro-entérologie
M. MARCHOU B.	Maladies Infectieuses	M. RONCALLI J.	Cardiologie
M. MONROZIES X.	Gynécologie Obstétrique	M. SANS N.	Radiologie
M. MONTASTRUC J.L. (C.E)	Pharmacologie	Mme SAVAGNER F.	Biochimie et biologie moléculaire
M. MOSCOVICI J.	Anatomie et Chirurgie Pédiatrique	Mme SELVES J.	Anatomie et cytologie pathologiques
Mme MOYAL E.	Cancérologie	M. SOL J-Ch.	Neurochirurgie
Mme NOURHASHEMI F.	Gériatrie		
M. OLIVES J.P. (C.E)	Pédiatrie		
M. OSWALD E.	Bactériologie-Virologie		
M. PARINAUD J.	Biol. Du Dévelop. et de la Reprod.		
M. PERRET B (C.E)	Biochimie		
M. PRADERE B. (C.E)	Chirurgie générale		
M. RASCOL O.	Pharmacologie	P.U.	
M. RECHER Ch.	Hématologie	M. OUSTRIC S.	Médecine Générale
M. RISCHMANN P. (C.E)	Urologie		
M. RIVIERE D. (C.E)	Physiologie		
M. SALES DE GAUZY J.	Chirurgie Infantile		
M. SALLES J.P.	Pédiatrie		
M. SERRE G. (C.E)	Biologie Cellulaire		
M. TELMON N.	Médecine Légale		
M. VINEL J.P. (C.E)	Hépatogastro-entérologie		

P.U. - P.H. Classe Exceptionnelle et 1ère classe		P.U. - P.H. 2ème classe	
M. ACAR Ph.	Pédiatrie	M. ACCADBLE F.	Chirurgie Infantile
M. ALRIC L.	Médecine Interne	Mme ANDRIEU S.	Epidémiologie
M. ARLET Ph. (C.E)	Médecine Interne	M. ARBUS Ch.	Psychiatrie
M. ARNAL J.F.	Physiologie	M. BERRY A.	Parasitologie
Mme BERRY I.	Biophysique	M. BONNEVILLE F.	Radiologie
M. BOUTAULT F. (C.E)	Stomatologie et Chirurgie Maxillo-Faciale	M. BUJAN L.	Uro-Andrologie
M. BUSCAIL L.	Hépto-Gastro-Entérologie	Mme BURA-RIVIERE A.	Médecine Vasculaire
M. CANTAGREL A.	Rhumatologie	M. CHAYNES P.	Anatomie
M. CARON Ph. (C.E)	Endocrinologie	M. CHAUFOUR X.	Chirurgie Vasculaire
M. CHAMONTIN B. (C.E)	Thérapeutique	M. CONSTANTIN A.	Rhumatologie
M. CHAVOIN J.P. (C.E)	Chirurgie Plastique et Reconstructive	M. DELOBEL P.	Maladies Infectieuses
M. CHIRON Ph.	Chirurgie Orthopédique et Traumatologie	Mme DULY-BOUHANICK B.	Thérapeutique
Mme COURTADE SAIDI M.	Histologie Embryologie	M. COURBON	Biophysique
M. DELABESSE E.	Hématologie	M. DAMBRIN C.	Chirurgie Thoracique et Cardiovasculaire
Mme DELISLE M.B. (C.E)	Anatomie Pathologie	M. DECRAMER S.	Pédiatrie
M. DIDIER A.	Pneumologie	M. DELORD JP.	Cancérologie
M. ELBAZ M.	Cardiologie	M. GALINIER Ph.	Chirurgie Infantile
M. GALINIER M.	Cardiologie	M. GARRIDO-STÖWHAS I.	Chirurgie Plastique
M. GERAUD G.	Neurologie	Mme GOMEZ-BROUCHET A.	Anatomie Pathologique
M. GLOCK Y.	Chirurgie Cardio-Vasculaire	M. GROLLEAU RAOUX J.L.	Chirurgie plastique
M. GOURDY P.	Endocrinologie	Mme GUIMBAUD R.	Cancérologie
M. GRAND A. (C.E)	Epidémio. Eco. de la Santé et Prévention	M. HUYGHE E.	Urologie
Mme HANAIRE H. (C.E)	Endocrinologie	M. LAFOSSE JM.	Chirurgie Orthopédique et Traumatologie
M. KAMAR N.	Néphrologie	M. LEGUEVAQUE P.	Chirurgie Générale et Gynécologique
M. LARRUE V.	Neurologie	M. MARCHEIX B.	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
M. LAURENT G. (C.E)	Hématologie	M. MARQUE Ph.	Médecine Physique et Réadaptation
M. LEVADE T.	Biochimie	Mme MAZEREEUW J.	Dermatologie
M. MALECAZE F. (C.E)	Ophtalmologie	M. MINVILLE V.	Anesthésiologie Réanimation
Mme MARTY N.	Bactériologie Virologie Hygiène	M. MUSCARI F.	Chirurgie Digestive
M. MASSIP P.	Maladies Infectieuses	M. OTAL Ph.	Radiologie
M. PLANTE P.	Urologie	M. ROLLAND Y.	Gériatrie
M. RAYNAUD J-Ph.	Psychiatrie Infantile	M. ROUX F.E.	Neurochirurgie
M. RITZ P.	Nutrition	M. SAILLER L.	Médecine Interne
M. ROCHE H. (C.E)	Cancérologie	M. SOULAT J.M.	Médecine du Travail
M. ROSTAING L. (C.E).	Néphrologie	M. TACK I.	Physiologie
M. ROUGE D. (C.E)	Médecine Légale	M. VAYSSIERE Ch.	Gynécologie Obstétrique
M. ROUSSEAU H.	Radiologie	M. VERGEZ S.	O.R.L.
M. SALVAYRE R. (C.E)	Biochimie	Mme URO-COSTE E.	Anatomie Pathologique
M. SCHMITT L. (C.E)	Psychiatrie		
M. SENARD J.M.	Pharmacologie		
M. SERRANO E. (C.E)	O. R. L.		
M. SOULIE M.	Urologie		
M. SUC B.	Chirurgie Digestive		
Mme TAUBER M.T.	Pédiatrie		
M. VELLAS B. (C.E)	Gériatrie		

M.C.U. - P.H.		M.C.U. - P.H	
M. APOIL P. A	Immunologie	Mme ABRAVANEL F.	Bactério. Virologie Hygiène
Mme ARNAUD C.	Epidémiologie	M. BES J.C.	Histologie - Embryologie
M. BIETH E.	Génétique	M. CMBUS J.P.	Hématologie
Mme BONGARD V.	Epidémiologie	Mme CANTERO A.	Biochimie
Mme CASPAR BAUGUIL S.	Nutrition	Mme CARFAGNA L.	Pédiatrie
Mme CASSAING S.	Parasitologie	Mme CASSOL E.	Biophysique
Mme CONCINA D.	Anesthésie-Réanimation	Mme CAUSSE E.	Biochimie
M. CONGY N.	Immunologie	M. CHASSAING N	Génétique
Mme COURBON	Pharmacologie	Mme CLAVE D.	Bactériologie Virologie
Mme DAMASE C.	Pharmacologie	M. CLAVEL C.	Biologie Cellulaire
Mme de GLISEZENSKY I.	Physiologie	Mme COLLIN L.	Cytologie
Mme DELMAS C.	Bactériologie Virologie Hygiène	M. CORRE J.	Hématologie
Mme DE-MAS V.	Hématologie	M. DEDOUIT F.	Médecine Légale
M. DUBOIS D.	Bactériologie Virologie Hygiène	M. DELPLA P.A.	Médecine Légale
Mme DUGUET A.M.	Médecine Légale	M. DESPAS F.	Pharmacologie
M. DUPUI Ph.	Physiologie	M. EDOUARD T	Pédiatrie
Mme FILLAUX J.	Parasitologie	Mme ESQUIROL Y.	Médecine du travail
M. GANTET P.	Biophysique	Mme ESCOURROU G.	Anatomie Pathologique
Mme GENNERO I.	Biochimie	Mme GALINIER A.	Nutrition
Mme GENOUX A.	Biochimie et biologie moléculaire	Mme GARDETTE V.	Epidémiologie
M. HAMDI S.	Biochimie	M. GASQ D.	Physiologie
Mme HITZEL A.	Biophysique	Mme GRARE M.	Bactériologie Virologie Hygiène
M. IRIART X.	Parasitologie et mycologie	Mme GUILBEAU-FRUGIER C.	Anatomie Pathologique
M. JALBERT F.	Stomato et Maxillo Faciale	Mme GUYONNET S.	Nutrition
M. KIRZIN S	Chirurgie générale	Mme INGUENEAU C.	Biochimie
Mme LAPEYRE-MESTRE M.	Pharmacologie	M. LAHARRAGUE P.	Hématologie
M. LAURENT C.	Anatomie Pathologique	M. LAIREZ O.	Biophysique et médecine nucléaire
Mme LE TINNIER A.	Médecine du Travail	M. LEANDRI R.	Biologie du dével. et de la reproduction
M. LOPEZ R.	Anatomie	M. LEPAGE B.	Biostatistique
M. MONTOYA R.	Physiologie	Mme MAUPAS F.	Biochimie
Mme MOREAU M.	Physiologie	M. MIEUSSET R.	Biologie du dével. et de la reproduction
Mme NOGUEIRA M.L.	Biologie Cellulaire	Mme PERIQUET B.	Nutrition
M. PILLARD F.	Physiologie	Mme NASR N.	Neurologie
Mme PRERE M.F.	Bactériologie Virologie	Mme PRADDAUDE F.	Physiologie
Mme PUISSANT B.	Immunologie	M. RIMAILHO J.	Anatomie et Chirurgie Générale
Mme RAGAB J.	Biochimie	M. RONGIERES M.	Anatomie - Chirurgie orthopédique
Mme RAYMOND S.	Bactériologie Virologie Hygiène	Mme SOMMET A.	Pharmacologie
Mme SABOURDY F.	Biochimie	M. TKACZUK J.	Immunologie
Mme SAUNE K.	Bactériologie Virologie	M. VALLET P.	Physiologie
M. SILVA SIFONTES S.	Réanimation	Mme VEZZOSI D.	Endocrinologie
M. SOLER V.	Ophtalmologie		
M. TAFANI J.A.	Biophysique		
M. TREINER E.	Immunologie		
Mme TREMOLLIERS F.	Biologie du développement		
M. TRICOIRE J.L.	Anatomie et Chirurgie Orthopédique		
M. VINCENT C.	Biologie Cellulaire		
			M.C.U.
		M. BISMUTH S.	Médecine Générale
		Mme ROUGE-BUGAT ME	Médecine Générale
		Mme ESCOURROU B.	Médecine Générale

Maîtres de Conférences Associés de Médecine Générale

Dr STILLMUNKES A.
Dr BRILLAC Th.
Dr ABITTEBOUL Y.
Dr CHICOULAA B.

Dr BISMUTH M
Dr BOYER P.
Dr ANE S.

Remerciements

A mon président de thèse, Monsieur le Professeur Jean Parinaud,

Je suis honorée de vous avoir comme président de thèse.

Je suis heureuse de pouvoir bénéficier de votre avis d'expert en biologie de la reproduction pour juger ce travail sur la technique de MIV. Merci pour la confiance que vous m'avez accordée, je regrette de ne pas pouvoir vous suivre pour le post-internat.

A ma directrice de thèse, Madame le Docteur Charlotte Sonigo,

Travailler avec toi a été un véritable plaisir, merci de m'avoir fait profiter de ton expérience. Ta passion pour ton métier, ta rigueur scientifique, ton acharnement au travail sont pour moi une véritable source d'inspiration. Tu combines le travail et la vie privée à la perfection, tu es un véritable modèle.

Sois sûre de mon profond respect, de mon admiration et de mon amitié.

A Monsieur le Professeur Xavier Monrozies,

Pour la bienveillance avec laquelle vous avez accepté de participer à mon jury de thèse. Je garde en mémoire la qualité de votre enseignement, ainsi que votre grande disponibilité.

A Monsieur le Professeur Henri Roché,

Pour avoir accepté avec tant de gentillesse de participer au jury de ma soutenance de thèse. Vous me faites l'honneur d'apporter votre œil d'expert en oncologie et particulièrement en sénologie.

A Monsieur le Docteur Roger Leandri

Pour avoir accepté de participer à mon jury de thèse, m'offrant ainsi l'expertise d'un spécialiste de la biologie de la reproduction. Ta rigueur scientifique et ta capacité de travail sont un exemple pour tes internes.

A Madame le Docteur Clémentine Cohade,

Spécialiste de l'oncofertilité Toulousaine, c'est un honneur pour moi que tu sois membre de ce jury. Je suis fière d'avoir été ton externe, ta co-interne puis ton interne. Merci pour tout ce que tu m'as transmis.

A Monsieur le Professeur Michael Grynberg,

Je te remercie de m'avoir proposé ce travail de thèse et d'avoir participer à son élaboration. Tu m'as tiré vers le haut et m'as fait confiance pour l'ESHRE. Je ne te remercierai jamais assez pour ta patience, tes encouragements et ta disponibilité. Ta curiosité intellectuelle et ta rigueur scientifique sont exemplaires, merci de m'avoir transmis une partie de ton savoir.

A Monsieur Marouane Boubaya,

Merci pour ta grande disponibilité et ton aide précieuse pour ce travail.

A mes maîtres de stage :

Au **Professeur Philippe Caron**, vous m'avez donné le gout pour l'endocrinologie. Merci pour votre enseignement et pour la confiance que vous m'avez accordé, je n'oublie pas notre projet sur les goitres ovariens.

Au **Docteur Daniel Mourlan**, je suis fière d'avoir été votre interne. Vous resterez pour moi un exemple.

Au **Professeur Pierre Leguevaque**, pour les connaissances en chirurgie et en oncologie que vous m'avez transmises.

Au **Docteur Thierry Charasson**, vous avez dédramatisé ma façon de voir l'obstétrique.

Au **Professeur Philippe Touraine**, merci de m'avoir accepté au sein de votre équipe et de m'avoir permis d'approfondir mes connaissances en endocrinologie et physiologie ovarienne.

Au **Professeur Jean Noel Hugues**, pour votre soif d'apprendre et de nous transmettre en permanence. Je n'oublierai pas les séances de bibliographie pendant les consultations, les staffs du mardi sans téléphone portable, mais aussi la soirée en votre honneur. Merci de m'avoir accepté dans votre service.

Au **Docteur Florence Lesourd**, pour votre accessibilité et votre pédagogie. Merci de m'avoir formée avec bienveillance à la médecine de la reproduction.

Au **Professeur Louis Bujan**, pour votre disponibilité et votre pédagogie. Merci de m'avoir permis d'apprendre l'andrologie.

A mes anciens chefs :

A **Delphine Vezzozi**, pour ta rigueur scientifique, ta pédagogie et ta patience. Merci de m'avoir encadré lors de mes premiers pas d'interne.

A **Fredéric Estingoy**, pour tes compétences, ton humour et les bons repas à la maison.

A **Stéphanie Motton et Marc Soule-Tholy**, pour votre enseignement et votre humour.

A **Marion Deslandres et Pascale Rivera**, pour votre patience avec les internes et votre disponibilité. Merci d'avoir rendu ce semestre si formateur.

A **Françoise Lorenzini et Catherine Pienkowski**, pour vos compétences et votre pédagogie. Merci de m'avoir permis de participer à vos consultations.

A l'équipe de Ducuing, **Anne Henry, Joel Gnanih, Aline Alcaide Roberto, Evelyne Labeyrie**, pour la formation toujours dans la bonne humeur. A **Cécile Mervant Pinar**, il m'a fallu du temps pour t'apprivoiser mais ça en valait la peine. Merci pour ta confiance et les réponses à toutes mes questions. Cyncha à moins peur de l'obstétrique maintenant.

A **Yan Tanguy Le Gac**, pour ta rigueur scientifique, ta disponibilité, ton amour pour la GM (oui, oui je sais que tu utilises les 2 brosses à frottis) et pour tes encouragements quand je suis partie à Paris faire des kebabs.

A **Gégé Cartron**, pour tes compétences, ta motivation, ta disponibilité, ton humour, tes talons hauts, ta consult sans fin (j'ai faim)... Je pourrais t'écrire une page. Allez, un petit câlin de GM...

A l'équipe de la pitié, qui m'a tant appris. **Anne Bachelot** c'est une chance d'avoir pu bénéficier de ton expérience. Merci pour ta disponibilité et ta bonne humeur, ton rire est communicatif. **Carine Courtilot** pour ton enseignement, ta tolérance envers mes connaissances bien maigre et le soutien que tu m'as apporté. **Zeina Chakhtoura**, malheureusement nous n'avons pas assez profité de ta présence mais les quelques semaines passées avec toi ont été plus que formatrices. **Cécile Ghander**, pour tes compétences et ta gentillesse, désolée de t'avoir harcelé pendant ce semestre. Merci à **Antoinette** et à l'équipe de Renon, **Laëtitia Jacquesson, Laurence Meng et Naouelle Dosso** pour m'avoir donné l'envie de faire de l'AMP.

A **Isabelle Cedrin Durnerin** pour tout ce que tu m'a appris.

A **Alexandra Benoit**, ma sage femme préférée. Merci pour ta rigueur et ta bonne humeur, c'est un plaisir de travailler avec toi.

A **Nathalie Sermondade, Christophe Sifer et aux tech du labo**, merci de m'avoir ouvert les portes du labo.

A **Carole Fajau-Prevot**, pour ta douceur et ta rigueur. Merci pour ta bienveillance au bloc, ta disponibilité en consultation et tout les savoirs que tu nous transmets.

Au service d'andrologie, Pr Eric Huygues, au Dr Roger Mieusset, au Dr Boris Delaunay, au Dr Myriam Daudin et au Dr Nathalie Moinard pour votre accueil, votre gentillesse et votre tolérance face à mon ignorance.

A **François Isus**, pour le travail dans la bonne humeur. Merci pour ce semestre formateur et plein de fous rires. J'espère qu'on se verra quand tu viendras à Paris !

A tous les PU-PH et PH de Paule de Viguier pour m'avoir transmis leurs connaissances théoriques et pratiques en gardes et en consultations.

A mes anciens chefs de clinique et assistantes

Au **Dr Rooooooche** !!! Merci de m'avoir tant appris, merci pour ta patience, ta disponibilité, ta motivation exemplaire, ton sens du style et du shoosing !! Avec Charlotte vous avez été une dream-team. Merci aussi pour Lisbonne, c'était rassurant de t'avoir à mes cotés. **Aux chefs et assistants du -1 Pauline, Sophie, Tiff, Oriana, Carole et Nico**, merci d'avoir rendu ce dernier semestre Toulousain plus doux. A **Laia**, pour ta pédagogie et ta bonne humeur. Tu as été une super chef, j'espère avoir été une bonne première interne. Merci pour tout ce que tu m'as transmis en écho et en obstétrique, pour les discussions dans l'escalier de secours (clop/frisk) et bien sûr pour m'avoir accueilli à Lisbonne avec Béné et Clem !! A **Solange**, pour ta capacité à tout gérer avec succès. A **Camille et Clothilde** pour ce semestre à Auch, merci pour votre gentillesse et votre patience. A **Fabien** qui a su gérer d'une main de fer ses 9 internes (non je déconne). Merci pour ce semestre dans la bonne humeur, j'ai beaucoup appris à tes cotés. A **Carole Nicolas** pour tes compétences et ton courage. Tu as su nous encadrer malgré le déménagement, tes premiers pas dans le clinicat et nos maigres connaissances en endoc. Félicitations pour la suite ! A **Martin**, pour les césariennes et consultations en chantant, toujours dispo pour enlever un implant.

A mes co-internes de stages :

A **Lucie et Claire**, sans vous je n'aurais pas tenue !! A nos soirées compte rendus, nos questions débiles d'endoc, à tous ces implants et stérilets qu'on a posés. Merci pour votre amitié, je suis heureuse de rester avec vous à Paris.

A **la team du 9.3 : Marjo, Constance, Sarah**!! Pour ce semestre inoubliable plein de choré, de karaoké et de barres de rire! J'espère continuer à profiter de vous encore longtemps.

A **Mélissa**. Enfin un semestre ensemble et pas des moindres ! Merci pour ton soutien pour ce dernier semestre à Toulouse. Ta motivation et ta détermination sont exemplaires, ne change rien. A **Florence** pour ton humour et ton second degré, dans le fond « je le sais que tu as toujours été mignonne »...

A **Amanda et Chloé**, vous formez une équipe de choc, merci de m'y avoir laissé entrer les chatons.

A **Sophie, Fred, Pauline et Diane**, pour votre bienveillance au cours de mon premier semestre, vous avez rendu mes débuts d'interne bien plus facile et m'avez donné envie de comprendre l'endoc ! Je n'oublierai pas les staff (napoleon, ananas...) et les gâteaux au chocolat en forme de cœur.

A **Paul** (Josie) on s'est perdu de vue trop vite, mais ce semestre avec toi était légendaire !

Au **groupe des 9 ½ de Rangueil** : A **Ludi** travailleuse acharnée tu es un exemple à suivre, à **Paulo** pour ta bêtise et ta franchise, à **Benoit** pour ta gentillesse, à **Claire** pour ton amitié, à **Donia** pour la révélation, à **Anaïs** pour ton humour, à **Laura** pour les moments girly, à **Mag** et au **petit José** pour avoir rythmé notre semestre.

A **Hélène** (chaton). Grace à toi je suis un peu mieux coiffée (parfois) et un peu moins souvent en baskets (parfois). Merci pour ce semestre plein de rigolade et pour m'avoir sauvé de cette ENORME araignée. Comme tu le disais une amitié avortée trop tôt, mais bon on était trop énorme...

A celles qui sont passées avant moi et qui m'ont formée :

A **Pauline**, toujours de bon conseil et à l'écoute, ta douceur est légendaire. **Marie Cha**, travailler avec toi c'est comme entrer dans le monde des bisounours, merci d'avoir rendu les gardes plus agréables. **Anita**, pour ta bienveillance en gardes et les discussions aux urgences, plein de bonheur avec Davidou. **Adeline et Marion V** pour m'avoir sauvé des consultations du Dr B. quand j'étais externe avant de me former avec patience aux urgences. A **Béné**, pour ta douceur en toute occasion. A **Christelle, Elo et Ludi** qui m'ont « protégée » au cours de mes premières gardes. A **Christine** merci d'être venue à mon secours de nombreuses fois (c'est quoi ça ? ah une poche des eaux !). A **Tiff**, pour ton énergie débordante qui nous contamine.

A tous les autres...les plus anciens et les plus jeunes.

A toutes les infirmières et secrétaires avec qui j'ai eu le plaisir de travailler en endocrino, en gynéco, en AMP, en onco...

Aux sages femmes d'obstétrique, pour votre savoir et votre pédagogie.

A l'équipe de sage femme de PMA de Paul de Viguier, pour votre aide et vos compétences

TABLE DES MATIERES

I. INTRODUCTION	1
A. Les différents stratégies de PF féminine	2
1. <i>Marqueurs du statut folliculaire ovarien</i>	2
2. <i>Injection d'agonistes de la GnRH</i>	3
3. <i>Cryopréservation embryonnaire après stimulation ovarienne</i>	4
4. <i>Cryopréservation ovocytaire après stimulation ovarienne</i>	5
5. <i>Congélation de tissu ovarien</i>	7
6. <i>Maturation in vitro des ovocytes</i>	9
B. La maturation in vitro	10
1. <i>Historique de la maturation in vitro</i>	10
2. <i>Indications et résultats hors préservation de la fertilité</i>	10
3. <i>Données néonatales</i>	11
4. <i>Intérêt de la MIV en préservation de la fertilité</i>	12
5. <i>Résultats de la MIV en préservation de la fertilité</i>	14
II. OBJECTIF DE L'ETUDE	16
III. PATIENTES ET METHODES	17
A. Sélection de la population	17
B. Echographie ovarienne et dosages hormonaux	17
C. La technique de MIV	18
D. Analyses statistiques	19
IV. RESULTATS	21
A. Caractéristiques de la population	21
B. Résultats de la MIV	22
C. Lien entre le CFA, l'AMH et le nombre d'ovocytes MIV congelés	23
D. Détermination des valeurs seuils	25
V. DISCUSSION	27
VI. CONCLUSION	31
VII. BIBLIOGRAPHIE	32
VIII. ANNEXES	42
<i>Annexe 1. Résumé de l'article soumis à la revue Human Reproduction</i>	42
<i>Annexe 2. Attestation de présentation orale au congrès de l'ESHRE</i>	44

I. Introduction

L'amélioration de l'espérance de vie des patientes atteintes de cancer a fait émerger une population de femmes jeunes soumises aux conséquences à long terme des traitements gonadotoxiques (1). L'atteinte ovarienne des traitements proposés tels que la chimiothérapie et la radiothérapie, varie en fonction du type de protocole utilisé et des doses reçues. De plus, elle est dépendante de l'âge de la patiente et de sa réserve ovarienne au moment des traitements. Une infertilité et au maximum une insuffisance ovarienne prématurée (IOP) sont des effets secondaires fréquents des différents traitements, ayant un impact important sur la qualité de vie. Cette possible baisse de la fertilité constitue, pour des jeunes femmes atteintes de pathologies malignes, un traumatisme parfois rapporté comme plus douloureux que le cancer lui-même (2). Ainsi, dans le but d'améliorer la qualité de vie des patientes atteintes de cancers et de leur permettre de se projeter dans une future parentalité, des stratégies de préservation de la fertilité (PF) ont été mises en place. Le troisième plan cancer (2014-2019) (3) et les recommandations des sociétés savantes (4-7) soulignent l'importance d'adresser ces femmes à un spécialiste de l'oncofertilité avant l'initiation d'un traitement potentiellement gonadotoxique. La consultation de PF a pour but d'informer les patientes sur la fertilité, les conséquences des thérapeutiques et sur les techniques de PF envisageables.

A. Les différents stratégies de PF féminine

Si chez l'homme l'autoconservation de spermatozoïdes avant un traitement potentiellement gonadotoxique est une technique simple, la stratégie de PF féminine demeure plus complexe. Le choix de la technique repose sur l'âge de la patiente, sa réserve ovarienne, le type de pathologie (hormono-dépendante ou non) et le délai disponible avant l'introduction du traitement. Ainsi, l'incapacité à prédire de manière fiable la fertilité post-traitement d'une patiente donnée a conduit au développement de multiples techniques de PF. La cryopréservation embryonnaire après stimulation ovarienne est à ce jour la technique la mieux établie grâce à l'expérience en médecine de la reproduction. Cependant, cette technique de PF concerne le couple et ne peut être proposée aux femmes seules. Ainsi, d'autres techniques se sont développées comme la cryopréservation d'ovocytes après stimulation ovarienne ou la congélation de tissu ovarien. Plus récemment, la ponction des petits follicules antraux suivie par une maturation *in vitro* (MIV) des ovocytes immatures récupérés est proposée aux femmes présentant une contre-indication à la stimulation ovarienne ou lorsque le traitement gonadotoxique ne peut être retardé (8).

1. Marqueurs du statut folliculaire ovarien

L'appréciation du statut folliculaire ovarien fait actuellement appel à différents marqueurs biologiques et échographiques qui permettent de guider le choix de la technique de PF adaptée à chaque patiente. Désormais, le compte des follicules antraux (CFA) (9) et le dosage de l'hormone anti-Müllérienne sérique (AMH) (10) sont systématiquement évalués au moment de la consultation de PF, idéalement avant tout traitement anti-cancéreux.

L'échographie ovarienne au troisième jour du cycle permet de dénombrer les follicules antraux de 2 à 9 mm et d'évaluer ainsi la réserve ovarienne (9). La mesure du CFA nécessite une approche rigoureuse utilisant des sondes de haute résolution, comptant tous les follicules de 2 à 9 mm (valeur moyenne du diamètre mesuré sur deux sections) en coupe longitudinale

et antéropostérieure. Cette évaluation est en générale réalisée en phase folliculaire précoce, mais peut cependant être réalisée à tout moment du cycle. La fiabilité de la mesure est opérateur-dépendant et repose sur l'expérience de l'échographiste, le type d'appareil d'échographie utilisé ainsi que de l'échogénicité de la patiente. De plus, dans certaines situations, comme les jeunes femmes vierges par exemple, l'échographie doit être pratiquée par voie sus-pubienne ce qui rend l'évaluation précise du CFA plus difficile à réaliser et moins fiable que par voie endovaginale. L'ensemble de ces limites relatives à l'évaluation du CFA rend compte de l'intérêt de l'associer au dosage de l'AMH sérique. En effet, la forte corrélation entre CFA et AMH (11) permet de limiter la marge d'erreur dans l'estimation du statut folliculaire ovarien.

Chez la femme, l'AMH est produite par les cellules de la granulosa des follicules ovariens en croissance depuis le stade primaire jusqu'au stade antral précoce (inférieur à 8 mm) (12). Les follicules ayant une croissance au-delà du stade antral précoce perdent progressivement leur capacité à exprimer l'AMH (13). Le taux d'AMH sérique est très étroitement corrélé au CFA, en début de phase folliculaire. Il est actuellement reconnu comme le meilleur reflet du statut folliculaire ovarien, en comparaison au dosage sérique de *follicle stimulating hormone* (FSH), estradiol, inhibine B (14). Chez les patientes devant être traitées pour un cancer, un des principaux intérêts à l'utilisation du dosage d'AMH est son absence de variation intra-cyclique (12). Par conséquent, elle pourra être dosée dans l'urgence, sans avoir à attendre un bilan de réserve ovarienne «classique» en phase folliculaire précoce.

2. Injection d'agonistes de la GnRH

L'injection d'agoniste de la *gonadotrophin releasing hormone* (GnRHa) en cours de chimiothérapie est proposée depuis plusieurs années afin de prévenir la survenue d'une insuffisance ovarienne prématurée (15). Les GnRHa ont pour objectif de bloquer la sécrétion hypophysaire de la FSH et de la *luteinizing hormone* (LH) afin de limiter la croissance

folliculaire. Le mécanisme d'action potentiellement mis en jeu dans la préservation du pool folliculaire au cours de la chimiothérapie est encore contesté. En effet, d'une part les follicules primordiaux entrent en croissance indépendamment des gonadotrophines; d'autre part il existe une toxicité ovarienne des traitements chez les petites filles pré-pubères, alors que l'axe gonadotrope est encore immature (16). Cependant, les GnRHa pourraient entraîner une réduction de la perfusion ovarienne et de l'apoptose protégeant ainsi la réserve ovarienne (17). Dans la littérature, le rôle bénéfique des GnRHa en PF reste très controversé. Alors que plusieurs études retrouvent un effet protecteur sur la fertilité ou la réserve ovarienne après chimiothérapie (18–22), d'autres ne retrouvent aucun impact (23–27) et les nombreux biais rendent ces études difficiles à analyser. Il faut cependant tenir compte des avantages inhérents à leur utilisation en cours de chimiothérapie comme l'effet contraceptif durable et la diminution des phénomènes hémorragiques chez des patientes à risque de thrombopénie. Ainsi, lorsque des GnRHa sont proposés aux patientes, celles-ci doivent être clairement informées de l'objectif du traitement, des effets secondaires attendus (bouffées de chaleur, sécheresse vaginale et baisse potentielle de la minéralisation osseuse) et des doutes quant à l'efficacité en PF (28).

3. Cryopréservation embryonnaire après stimulation ovarienne

La cryopréservation embryonnaire est un procédé utilisé en routine dans les centres de médecine de la reproduction. Elle a pour avantage d'être une technique ancienne et bien maîtrisée, la première naissance obtenue après congélation–décongélation d'embryon ayant eu lieu il y a plus de 30 ans (29). Cette technique nécessite une stimulation ovarienne préalable par les gonadotrophines exogènes, afin de recueillir, lors d'une ponction ovarienne par voie transvaginale, les ovocytes matures. La fécondation est ensuite réalisée *in vitro* selon les techniques de fécondation *in vitro* (FIV) conventionnelle ou par micro-injection de spermatozoïdes (ICSI). Les zygotes ou embryons obtenus sont alors cryopréservés afin d'être

ultérieurement décongelés à la demande du couple et replacés dans la cavité utérine après préparation hormonale de l'endomètre.

La technique de vitrification, autorisée en France depuis la modification de la loi de bioéthique le 7 Juillet 2011, a permis de considérablement améliorer les taux de survie embryonnaire après décongélation (30). La technique de vitrification consiste en une descente très rapide en température à l'aide de très fortes doses d'agents cryoprotecteurs, sans formation de cristaux de glace, contrairement à ce qui pouvait être observé en congélation lente (31). Les taux de grossesse par transfert d'embryons congelés peuvent atteindre 40 à 50%, soit des résultats identiques à ceux obtenus avec des embryons frais (32,33). Pour recourir à une congélation d'embryons, la législation française exige d'être « en âge de procréer » et « en couple stable » (LOI de bioéthique n° 2011-814 de 2004 revisitée le 7 juillet 2011). Elle prévoit également les conditions d'accès ultérieur aux embryons. Ainsi pour les patientes en couple et souhaitant préserver des embryons, il ne sera pas possible de procéder à leur utilisation en cas de décès de l'un des deux conjoints ou de séparation du couple. Par définition, cette technique ne peut donc être proposée aux femmes seules et les indications de la congélation embryonnaire sont désormais supplantées par la cryopréservation ovocytaire. Cependant, elle reste encore envisagée pour les femmes en couple, le choix entre cryopréservation d'embryons et/ou d'ovocytes revenant à la patiente qui aura reçu une information complète de la part du médecin.

4. Cryopréservation ovocytaire après stimulation ovarienne

Afin de surseoir aux inconvénients de la cryopréservation embryonnaire, la cryopréservation ovocytaire s'est développée comme une alternative. Elle consiste à réaliser une stimulation ovarienne par l'injection de gonadotrophines exogènes selon les mêmes protocoles que ceux utilisés en FIV depuis plus de 20 ans. Les ovocytes matures sont ensuite recueillis lors d'une ponction transvaginale et congelés. Avec l'autorisation de l'équipe

d'oncologie, en cas de désir de grossesse, les ovocytes seront réchauffés puis mis en fécondation avec les spermatozoïdes du conjoint. Les embryons ainsi formés seront transférés dans la cavité utérine après préparation endométriale.

Grâce à la technique de vitrification, les taux de survie ovocytaire après réchauffement sont excellents (34), et les taux de grossesse seraient identiques à ceux obtenus avec des ovocytes «frais» (35,36). Depuis la première grossesse en 1986 (37), de nombreuses naissances dans le monde, en dehors du contexte de PF, ont été rapportées et les données concernant la santé des enfants sont rassurantes (38,39). Désormais au niveau international la vitrification ovocytaire n'est plus considérée comme une technique expérimentale, elle est recommandée en première intention pour la préservation de la fertilité féminine (5,40). Toutefois, il est important de retenir que les informations données aux patientes sur les chances de grossesse en cas de vitrification ovocytaires reposent sur les résultats des programmes de don d'ovocytes (41) et qu'il faut les extrapoler avec précaution dans une population de femmes atteintes de cancer. A ce jour une dizaine de grossesses issues du réchauffement d'ovocytes vitrifiés dans un contexte d'oncofertilité ont été rapportées (42–48).

Bien que la cryopréservation embryonnaire et ovocytaire soient de nos jours les techniques les mieux établies en PF, elles présentent un certain nombre d'inconvénients. En effet, elles requièrent une stimulation ovarienne préalable qui ne peut donc être réalisée qu'après la puberté, une fois l'axe hypothalamo-hypophysio-ovarien activé. De plus, afin de répondre à la stimulation ovarienne, il est nécessaire d'avoir une réserve ovarienne suffisante. Classiquement, la stimulation ovarienne est initiée en phase folliculaire précoce. Afin de raccourcir la durée de prise en charge, il est désormais clairement établi qu'elle peut être démarrée à n'importe quel moment du cycle (« random-start protocol »), avec des résultats comparables (49,50). Ceci repose sur le fait qu'il existerait plusieurs vagues de recrutement folliculaire au cours d'un même cycle menstruel entraînant l'apparition régulière de nouveaux follicules antraux, sensibles à la FSH (51). Ces protocoles offrent également la possibilité de

réaliser 2 stimulations ovariennes consécutives afin d'augmenter le nombre d'ovocytes matures cryopréservés avant la chimiothérapie (52). La durée moyenne d'une stimulation ovarienne est de $11,2 \pm 2,5$ jours afin d'obtenir la maturité folliculaire ; elle ne peut donc pas être proposée en cas de chimiothérapie urgente (53).

Si on se réfère à l'Autorisation de Mise sur le Marché des médicaments utilisés pour la stimulation ovarienne, celle-ci est contre-indiquée en cas de cancer du sein. Cela tient au fait qu'elle entraîne une hyperoestrogénie supra-physiologique, avec des taux moyens d'oestradiolémie au déclenchement pouvant atteindre pendant une dizaine de jours des valeurs allant jusqu'à 10 fois celles d'un cycle menstruel naturel (1640 ± 1028 pg/mL) (53). Cependant, depuis quelques années, nombreux sont les centres qui proposent une stimulation ovarienne pour PF aux patientes atteintes d'un cancer du sein en utilisant des protocoles adaptés au profil de chaque patiente. Les prérequis incluent systématiquement le fait que la tumeur ait préalablement été traitée chirurgicalement. De plus, afin de limiter l'hyperoestrogénie supra-physiologique, des protocoles spécifiques utilisant les anti-aromatases tels que le Letrozole ont été proposés, notamment dans les pathologies hormono-dépendantes (54,55). Toutefois l'utilisation du Letrozole dans cette indication n'est pas autorisée en France suite aux résultats d'une étude de faible amplitude ayant montré une augmentation du risque malformatif chez le fœtus (56).

5. Congélation de tissu ovarien

La congélation de tissu ovarien a initialement été développée pour la PF des jeunes filles pré-pubères. Elle peut être réalisée à tout âge, bien que dans la littérature la majorité des grossesses rapportées concernent des femmes prélevées avant l'âge de 30 ans (57,58). Chez les jeunes filles pré-pubères il s'agit de la technique de PF de choix (59). A ce jour, la congélation de tissu ovarien constitue la seule technique permettant de rétablir une fonction

ovarienne à la fois exocrine et endocrine et quelques équipes ont décrit l'induction de la puberté chez des jeunes filles par autogreffe (60,61).

L'objectif de la congélation de tissu ovarien est de préserver les follicules de réserve, au sein du cortex ovarien. Elle nécessite une intervention chirurgicale, le plus souvent réalisée par voie coelioscopique et consiste au prélèvement d'un lambeau de cortex ovarien ou de l'ovaire entier. Les fragments de corticale contenant les follicules primordiaux et primaires sont ensuite congelés. Le cortex ovarien étant riche en follicules de réserve, sa congélation permet de préserver un grand nombre d'ovocytes, permettant d'envisager plusieurs grossesses chez une même patiente. La quantité de tissu ovarien prélevée doit néanmoins être suffisamment importante car un grand nombre de follicules sera perdu lors de la congélation, de la décongélation et de la transplantation. La greffe ultérieure des fragments peut se faire de manière orthotopique dans le pelvis ou hétérotopique (tissu sous-cutané de l'avant-bras, de la paroi abdominale...) (58).

Le principal avantage de cette procédure est de pouvoir être réalisée sans délai, sans retarder la mise en route du traitement du cancer. A ce jour une soixantaine de grossesses sont rapportées dans le monde (62) dont trois après greffe en site hétérotopique et une chez une femme adulte prélevée avant la puberté (63,64). L'efficacité et la sécurité de la procédure ont été rapportées dans différentes revues de la littérature et séries de cas (65,66), mais il faut tenir compte du risque opératoire et anesthésique chez des patientes fragiles, atteintes de cancers (64). De plus, l'amputation de la réserve ovarienne secondaire à l'intervention et les incertitudes concernant l'efficacité de la technique sur la fertilité, doivent conduire à ne proposer cette technique qu'aux patientes à haut risque d'IOP, afin de ne pas nuire aux chances de récupération spontanée de la fonction ovarienne après la chimiothérapie (59). Cette technique reste donc expérimentale et bien que la congélation de tissu ovarien soit autorisée, l'autogreffe est considérée en France comme de la recherche clinique et doit s'intégrer dans le cadre d'un protocole. En effet, un des principaux risques de cette technique

est la possible réintroduction de cellules malignes lors de la greffe, ce qui a bien été démontré dans les maladies hématologiques (67). Cependant, en cas de pathologie mammaire, ce risque semble relativement faible bien que la sensibilité des méthodes de détection des cellules malignes reste à améliorer (68).

6. Maturation *in vitro* des ovocytes

La MIV des ovocytes est une technique biologique permettant d'obtenir des ovocytes matures à partir de complexes cumulo-ovocytaires (COCs) recueillis lors d'une ponction transvaginale écho-guidée des petits follicules antraux, sans stimulation ovarienne préalable. Seuls les ovocytes ayant atteints le stade de métaphase II pourront être congelés ou fécondés en vue d'une cryopréservation embryonnaire. Cette technique, qui ne requiert pas de stimulation ovarienne permet d'éviter un certain nombre de complications ou d'effets indésirables, en rapport avec l'administration de gonadotrophines exogènes.

B. La maturation *in vitro*

1. Historique de la maturation *in vitro*

Les premiers résultats faisant la preuve qu'un ovocyte immature pouvait être mûré *in vitro* ont été publiés par Pincus et Enzmann en 1935 sur des ovocytes de lapines (69). Trente ans plus tard, Edwards publia des résultats similaires avec des ovocytes humains (70). La technique a par la suite été délaissée du fait des progrès considérables de la FIV. En 1983, fut rapportée la première grossesse après MIV d'un ovocyte, recueilli au cours d'une césarienne (71). Puis dans les années 90, ont été publiés les premiers cas de grossesses après MIV chez des femmes et présentant un syndrome des ovaires polykystiques (SOPK) (72). A ce jour, dans le monde, on estime que plus de 5000 enfants sont nés de cette technique chez des patientes présentant un SOPK (73).

2. Indications et résultats hors préservation de la fertilité

La technique de MIV a initialement été développée en assistance médicale à la procréation afin de pallier aux effets indésirables de la stimulation ovarienne. En effet, chez des patientes présentant un SOPK cette technique permet d'obtenir un grand nombre d'ovocytes immatures, secondairement mûré *in vitro*, en évitant les risques liés à la stimulation ovarienne tels que le syndrome d'hyperstimulation ovarienne (SHO), complication iatrogène la plus fréquente pouvant avoir des conséquences sévères (74). Cependant, les moindres résultats de la MIV comparativement à ceux de la FIV conventionnelle (75,76) ainsi que le développement de protocoles de stimulation ovarienne visant à réduire les risques de SHO (protocoles antagonistes avec déclenchement par GnRHa) (77,78), ont réduit les indications de la MIV dans le SOPK (79).

Depuis la première grossesse rapportée par MIV, le perfectionnement des protocoles ainsi que l'amélioration des milieux de culture ont permis l'obtention de taux de grossesses satisfaisants variant de 20% à 50%, avec des taux de naissances vivantes compris entre 13% et 40%, chez des patientes présentant un SOPK (73,76,80–82). Afin d'améliorer les taux de

maturation, Chian *et al.*, ont montré que chez des patientes avec un SOPK, l'administration d'une activité LH 36 heures avant le recueil des ovocytes immatures permettait d'augmenter les taux de maturation à 24 et à 48 heures (83). Bien que les dernières études cliniques sur le sujet n'aient pas montré d'intérêt majeur à ce prétraitement, en particulier chez des femmes non SOPK (84), la plupart des équipes le réalisent avant la ponction. Cependant, malgré des taux élevés de maturation obtenus, les taux d'implantation, de grossesses cliniques et de naissances vivantes restent inférieurs à ceux obtenus avec des ovocytes maturés *in vivo* (75,76,85). Il convient tout de même de pondérer ces données qui proviennent principalement de patientes présentant un SOPK, alors plus à risque d'échecs d'implantation ou de fausses couches. Il est par ailleurs envisageable qu'une inadéquation endométriale par asynchronisme entre l'endomètre et l'embryon puisse expliquer les moindres taux d'implantation dans ces études, ce qui pourrait être corrigé par la dissociation entre la constitution des embryons post MIV et leur transfert intra-utérin (86).

La grande majorité des données de la littérature concernant la MIV proviennent donc essentiellement de patientes atteintes d'un SOPK (21). Les indications de la MIV se sont étendues notamment aux mauvaises répondeuses, aux donneuses d'ovocytes (87) et aux patientes présentant une résistance ovarienne à la FSH ou une contre-indication à l'administration de FSH exogène en rapport avec une pathologie hormono-dépendante, telle que le lupus ou le cancer du sein (88). Plus récemment, les spécificités de la MIV l'ont fait proposer comme une technique envisageable dans la stratégie de PF féminine (8).

3. Données néonatales

Les données actuelles concernant les issues néonatales sont rassurantes. En effet, il ne semble pas exister d'augmentation du risque d'anomalies fœtales chez les nouveau-nés issus d'une MIV par rapport à la FIV ou l'ICSI, que les ovocytes soient utilisés frais ou après vitrification (89,90). Par ailleurs, il n'y a pas d'argument à l'heure actuelle pour un risque accru de survenue de maladies liées à l'empreinte (89,91,92). En revanche, un poids de

naissance plus élevé est rapporté chez ces enfants, probablement en raison de facteurs de risques maternels, le SOPK augmentant le risque de diabète gestationnel et la macrosomie (93).

4. Intérêt de la MIV en préservation de la fertilité

a) Une technique réalisable sans stimulation ovarienne préalable

Le cancer du sein représente environ 30 % des tumeurs malignes survenant chez la femme et 5 à 10 % sont diagnostiqués chez des femmes de moins de 45 ans (94,95). L'intérêt de la MIV chez la femme jeune porteuse d'une pathologie hormono-dépendante repose sur le fait qu'il n'est pas nécessaire de réaliser une stimulation ovarienne préalablement au recueil des COCs. Par conséquent, l'absence d'hyperœstrogénie induite au court d'un cycle de MIV rend cette technique intéressante chez les patientes présentant un cancer du sein, surtout en cas de chimiothérapie néo-adjuvante urgente, alors que la tumeur est encore en place. En effet, dans cette situation, la stimulation ovarienne est contre-indiquée devant le risque supposé de prolifération des cellules tumorales. D'autre part, en l'absence de stimulation ovarienne, il n'y a pas de risque de SHO, qui pourrait retarder la prise en charge du cancer. Le risque thromboembolique est quant à lui très faible car il est majoré en cas de stimulation ovarienne par les gonadotrophines exogènes, ce qui n'est pas le cas chez les patientes bénéficiant d'une MIV.

b) Une technique réalisable en urgence, quelle que soit la phase du cycle

Le recueil des ovocytes immatures avant MIV peut être réalisé en phase lutéale comme en phase folliculaire sans altérer les résultats. En effet, les ovocytes sont dépourvus de récepteurs à la progestérone (96) et les études en FIV classique, notamment chez les donneuses d'ovocytes, ont montré l'absence d'impact d'une élévation de la progestérone sur la qualité ovocytaire (97). De plus, des cas de grossesses avec naissances obtenues après MIV

d'ovocytes immatures recueillis au cours de césariennes et donc préalablement exposés à de fortes doses de progestérone sont décrits dans la littérature (98,99). Deux études récentes retrouvent, chez des femmes candidates à une PF, un nombre d'ovocytes recueillis, un taux de maturation ovocytaire, un taux de fécondation et un nombre d'ovocytes matures et/ou d'embryons congelés similaire quelle que soit la phase du cycle à laquelle les ovocytes sont prélevés (100,101). L'absence de délai avant la réalisation d'un cycle de MIV permet donc de considérer cette technique dans le cadre de l'urgence, lorsque l'oncologue contre-indique la stimulation ovarienne ou que la patiente la refuse.

c) Combinaison possible avec la congélation de tissu ovarien

Classiquement, la ponction ovarienne pour MIV est effectuée par voie transvaginale, sous contrôle échographique et peut être réalisée avant l'ovariectomie partielle ou totale par cœlioscopie (8,102,103). La combinaison de ces techniques est particulièrement intéressante chez les patientes atteintes d'une pathologie à fort risque d'invasion ovarienne par les cellules malignes contre-indiquant alors la greffe ultérieure du tissu ovarien congelé (58,104,105). Dans ces situations, la vitrification ovocytaire après stimulation ovarienne semble être la stratégie de choix de PF, mais elle est parfois impossible en cas de chimiothérapie urgente, de tumeur hormono-dépendante ou chez les jeunes filles pré-pubères. Ainsi, la congélation de tissu ovarien est proposée à ces patientes, alors informées que dans l'état actuel des connaissances elles ne pourront pas bénéficier d'une autogreffe ultérieure du cortex ovarien en raison du risque de réintroduction des cellules malignes. Dans ces conditions, l'indication d'une congélation de tissu ovarien repose sur la possible émergence de nouvelles techniques, telles que la culture de follicules isolés ou la folliculogénèse *in vitro*, qui permettront d'obtenir des follicules matures à partir de follicules primordiaux par culture au laboratoire, sans nécessiter de greffe (106). L'association avec la technique de MIV permet donc à ces patientes de préserver, en plus du tissu ovarien, des ovocytes matures ou des embryons qui constituent à ce jour leur seule chance de grossesse avec leurs propres ovocytes. Certains

auteurs proposent également de recueillir *ex vivo*, au laboratoire, les ovocytes immatures dans la pièce d'ovariectomie (102). Cette technique est intéressante notamment chez les jeunes filles pré-pubères ne pouvant bénéficier d'une ponction ovarienne pour MIV avant la cryoconservation de cortex ovarien.

5. Résultats de la MIV en préservation de la fertilité

La MIV est une nouvelle alternative peu évaluée en PF, qui semble donner des résultats intéressants. La première grossesse après MIV d'ovocytes obtenus *ex vivo* sur pièce d'ovariectomie, dans un contexte de PF, pour tumeur ovarienne de type « borderline » a été rapportée en 2014 (107). Deux grossesses dans un même contexte ont récemment été rapportées (108,109).

Le nombre d'ovocytes matures vitrifiés est à ce jour le principal critère de succès de la technique car ce dernier est potentiellement corrélé aux chances de grossesses futures. Compte tenu du manque de recul, le nombre optimal d'ovocytes MIV vitrifiés nécessaire à l'obtention d'une grossesse n'est pas connu, les patientes n'ayant souvent pas encore utilisé leurs gamètes. Dans la littérature, le nombre moyen d'ovocytes immatures recueillis varie entre 8 et 17. Les écarts-types élevés sont probablement liés à la difficulté de ponction des petits follicules antraux. La moyenne du nombre total d'ovocytes matures vitrifiés varie quant à elle de 6 à 12 (100,104,110–112) (Tableau 1).

Tableau 1. Résultats de la MIV en PF

	<i>Nombre de patientes PF</i>	<i>Nombre d'ovocytes recueillis</i>	<i>Taux de maturité (%)</i>	<i>Nombre d'ovocytes matures/embryons congelés</i>
Lee <i>et al.</i> , 2014	Ovocytes immatures vitrifiés (n=69) Ovocytes matures vitrifiés (n=27)		63,8 33,3	
Shalom-Paz <i>et al.</i> , 2010	Cancer du sein (n = 66) Ovocytes congelés (n= 35) Embryons congelés (n= 31)	11.4 ± 8.8 9.7 ± 6.4	64.2 53.2	7.9 ± 6.6 5.8 ± 2.7
Maman <i>et al.</i> , 2011	Phase lutéale (n= 5) Phase folliculaire (n=13)	12,8 ± 8,4 17,3± 13,5	48,6±18,3 57,8±29,2	6,4 ± 6,6 7,8 ± 7,5
Moria <i>et al.</i> , 2010	Cancer du sein (n= 87) Hémopathie maligne (n=16)	9 (6-16) 8 (5-21)	50 (40-62,5) 61,2(33,3-79,2)	8 (4-17) 12 (0-24)
Grynberg <i>et al.</i> , 2012	Phase folliculaire (n = 60) Phase lutéale (n = 42)	8.4 ± 5.0 9.2 ± 6.7	79.2 ± 2.5 78.7 ± 2.0	6.9 ± 3.7 7.4 ± 5.2

Concernant la technique de congélation, une étude récente (110) montrent qu'il est nécessaire de congeler uniquement les ovocytes à un stade mature (métaphase II). En effet, les taux de maturation après congélation-réchauffement des ovocytes immatures sont significativement diminués par rapport aux taux de maturation des ovocytes frais : 33.3% vs 63.8% ($p < 0.05$). Il est donc nécessaire de réaliser une vitrification des ovocytes en 2 temps, à 24 et 48 heures post-ponction.

II. Objectif de l'étude

Le nombre optimal d'ovocytes matures congelés permettant d'offrir aux patientes atteintes de cancer le maximum de chances d'obtenir une grossesse après la guérison est actuellement un enjeu majeur en PF. Deux études récentes conduites chez des patientes infertiles candidates à une stimulation ovarienne ont estimé que 8 à 20 ovocytes matures sont nécessaires pour maximiser les taux de naissance vivantes (113,114). Cependant, ces résultats ne sont probablement pas extrapolables à la MIV car le potentiel des ovocytes maturés *in vitro* semble inférieur à celui des ovocytes obtenus après stimulation ovarienne (76,85). De plus, les données actuellement disponibles ne proviennent que de patientes non atteintes de cancer, pathologie qui pourrait par elle-même réduire la compétence ovocytaire.

Afin de guider au mieux les patientes candidates à une PF, l'objectif de cette étude était de déterminer les valeurs seuils de CFA et d'AMH permettant d'assurer la cryopréservation de différents nombres d'ovocytes maturés *in vitro* chez des patientes atteintes de cancer, candidates à une PF. Cette étude a fait l'objet d'une présentation le 17 Juin 2015 à Lisbonne, au congrès de l'European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE) et d'une soumission à la revue Human Reproduction.

III. Patientes et méthodes

A. Sélection de la population

Trois cent quarante patientes, âgées de 18 à 41 ans, ayant eu recours à un prélèvement ovocytaire suivi d'une MIV, au sein de deux services de Médecine de la Reproduction (CHU Jean Verdier, Bondy, France et CHU Antoine Bécclère, Clamart, France, APHP), entre Janvier 2009 et Avril 2015, ont été incluses dans cette étude. Les données ont été collectées de manière prospective.

Les critères d'inclusion de l'étude étaient : 1) la présence de 2 ovaires, visibles et accessibles à une ponction ovarienne écho-guidée ; 2) un CFA \geq 8 follicules ; 3) l'absence d'antécédent de chimiothérapie ; 4) l'indication d'une préservation de la fertilité posée à l'issue de la consultation d'oncofertilité. L'association à une congélation de tissu ovarien était systématiquement proposée aux patientes de moins de 35 ans. Lorsque les deux procédures étaient réalisées, la ponction des follicules antraux par voie transvaginale était réalisée juste avant la coelioscopie opératoire.

B. Echographie ovarienne et dosages hormonaux

Préalablement aux choix de la technique de PF, chaque patiente bénéficiait d'une évaluation précise de son statut folliculaire ovarien par la détermination du CFA lors d'une échographie transvaginale et un dosage de l'AMH sérique. Par ailleurs, un dosage de la progestérone sérique était réalisé afin de déterminer la phase du cycle.

L'échographie pelvienne était réalisée par voie endovaginale, à l'aide d'une sonde multifréquences de 3.7 à 9.3 MHz (RIC5-9H, Voluson 730 Expert; General Electric Medical Systems, Paris, France), en aveugle par rapport aux résultats des différents dosages hormonaux. L'objectif de l'examen échographique était d'évaluer le nombre et la taille des

petits follicules antraux. Tous les follicules de diamètre compris entre 3 et 12 mm (moyenne de deux diamètres orthogonaux) dans les deux ovaires étaient dénombrés. Afin d'optimiser la fiabilité de l'évaluation folliculaire, le système des harmoniques était utilisé afin d'améliorer la résolution des images et de mieux délimiter les contours folliculaires (115). Le coefficient de variation intra-analyse pour la mesure folliculaire et ovarienne était inférieur à 5% et la limite inférieure de détection était de 0.1mm.

L'AMH sérique était mesurée selon la méthode ELISA ultrasensible (Beckman-Coulter, Villepinte, France). Les coefficients de variation intra et inter-essais étaient évalués à moins de 6% et 10%, respectivement. La plus petite valeur d'AMH détectée était de 0.13ng/mL avec une linéarité jusqu'à 21ng/mL. Les valeurs de progestérone sériques étaient déterminées à l'aide d'un système automatisé multi-analyse utilisant la technique de chimioluminescence (Advia-Centaur; Bayer Diagnostics, Puteaux, France). Les coefficients de variation intra et inter-essais étaient de 8 et 9%, respectivement. Le taux de détection le plus bas était de 0.10 ng/mL avec une linéarité jusqu'à 60 ng/mL.

C. La technique de MIV

Le recueil ovocytaire a été réalisé sous sédation modérée pour toutes les patientes, 36 heures après l'administration d'une activité LH sous forme d'hCG (Gonadotrophine Chorionique Endo, Organon Pharmaceutique, Saint Denis, France, 10 000 UI, IM) (83). La ponction des petits follicules antraux était réalisée par voie transvaginale, sous contrôle échographique, à l'aide d'une aiguille 19-Gauge (K-OPS-7035-Wood ; Cook, France) avec une pression d'aspiration réglée à 7.5 kPa. Les liquides folliculaires aspirés contenant les COCs étaient récupérés dans des tubes préchauffés NuncTM (Nunc A/S, Roskilde, Denmark) de 14mL, contenant 3mL d'héparinate de sodium 2 UI/mL (Sanofi-Synthelabo, France). Les liquides d'aspiration étaient ensuite dispersés dans des boîtes de culture pour FIV NuncTM (Nunc A/S, Roskilde, Denmark) où les COCs étaient isolés sous loupe binoculaire, puis lavés

avec un milieu de culture G Gamete™ (Vitrolife, Göteborg, Sweden), préalablement chauffé à 37°C sous une atmosphère enrichie à 6% en CO₂. Les COCs étaient ensuite placés dans les puits centraux d'une boîte de culture de FIV Nunc™ (Nunc A/S, Denmark) contenant 1mL de milieu de culture IVM® (Origio, Måløv, Denmark) sous huile minérale (Nidacon International, Göteborg, Sweden), supplémenté avec 20% de sérum maternel inactivé, 0.75 UI/mL de FSH et 0.75 UI/mL de LH Menopur® (Ferring, Germany) (116). Les ovocytes étaient ensuite incubés à 37°C sous une atmosphère enrichie à 6% en CO₂. Après 24 heures de maturation, tous les COCs étaient décoronisés à l'aide de 80 UI/mL d'une solution de hyaluronidase diluée à 20 UI/mL (Hyaluronidase in Fercult™ flushing medium, FertiPro N.V, Beernem, Belgium). La maturité ovocytaire était appréciée sous microscope inversé : la présence du premier globule polaire dans l'espace péri-vitellin ovocytaire était le témoin de la maturité nucléaire indiquant le passage au stade de métaphase II. Les ovocytes matures (ayant atteint le stade métaphase II) étaient congelés le même jour. Les ovocytes immatures restés au stade de prophase ou métaphase I de la méiose étaient placés en culture 24 heures supplémentaires puis réévalués à 48 heures. Les ovocytes matures à 48 heures étaient cryopréservés par congélation lente avant 2011 puis par vitrification, les ovocytes immatures n'étaient pas conservés.

D. Analyses statistiques

Les variables continues sont présentées par leurs moyennes \pm l'écart type et les variables quantitatives en nombres ou pourcentages. La corrélation entre les variables continues a été évaluée en utilisant le test de Spearman afin de déterminer si le coefficient de corrélation (r) était différent de zéro.

Différentes valeurs seuils de CFA et d'AMH ont été calculés pour assurer la cryopréservation de 8, 10 ou 15 ovocytes matures après MIV (113). La même analyse a été réalisée afin de prédire la cryopréservation de 2 ovocytes MIV ou moins. Pour chaque seuil

d'ovocytes, une régression logistique univariée a été réalisée afin d'étudier l'association entre le nombre d'ovocytes matures congelés et le CFA et l'AMH. La mesure de l'effet a été estimée en utilisant les odds ratios (OR) avec un intervalle de confiance à 95%. Les courbes *receptor operating characteristic* (ROC) ont été tracées afin de déterminer la mesure de l'aire sous la courbe (AUC) pour chaque seuil d'ovocytes. Une AUC inférieure ou égale à 0.5 signifie que les résultats ne sont pas meilleurs que le hasard. Les sensibilités et spécificités ont été estimées en favorisant la sensibilité (> 80%), tout en conservant une spécificité acceptable (>60%).

Le seuil de la signification statistique était fixé à $p < 0.05$ pour tous les tests.

IV. Résultats

A. Caractéristiques de la population

Nous avons analysé les données recueillies au cours de 355 cycles de MIV effectués chez 340 patientes. L'âge moyen des patientes était de 31.8 ± 4.5 ans (18-41 ans) et l'indice de masse corporelle moyen (IMC) était de 22.7 ± 3.9 Kg/m². Trente neuf patientes présentaient une oligo-spanioménorrhée. Avant la procédure, 100 patientes avaient déjà au moins un enfant. Les valeurs moyennes de CFA et d'AMH sérique de la population étaient de 21.7 ± 13.3 follicules et de 4.4 ± 3.8 ng/mL, respectivement.

La principale indication de MIV était pour 300 patientes un cancer du sein, nécessitant une chimiothérapie néo-adjuvante en urgence ou dont le stade de la maladie contre-indiquait une stimulation ovarienne. Quatorze patientes présentaient une hémopathie et 26 une pathologie nécessitant une chimiothérapie en urgence. Après information, la majorité des patientes a opté pour la cryopréservation d'ovocytes seuls (n=301) et seulement 39 ont souhaité préserver des embryons. De plus, 47 patientes ont eu une congélation de tissu ovarien associée à la MIV. Parmi les 340 patientes, 13 ont bénéficié de deux cycles consécutifs de recueil ovocytaire pour MIV et une patiente de 3 cycles avant le début du traitement gonadotoxique.

B. Résultats de la MIV

Le recueil des ovocytes immatures a été réalisé en phase folliculaire (49%) ou lutéale (51%) du cycle. Au total, 3369 ovocytes ont été recueillis, ce qui correspond à une moyenne de 9.5 ± 8.2 COCs recueillis par cycle. Aucun ovocyte n'a été recueilli (ponction blanche) dans seulement 10 cycles sur les 355 réalisés (2.8%). Après MIV, 1957 ovocytes en métaphase II ont été congelés (5.5 ± 4.6 par cycle) conduisant à un taux de maturation de 65%. Seulement quelques patientes ont souhaité préserver des embryons (n=39) ce qui ne nous a pas permis d'analyser les taux de fécondation et la morphologie embryonnaire dans cette étude.

C. Lien entre le CFA, l'AMH et le nombre d'ovocytes MIV congelés

Le CFA et l'AMH sérique étaient significativement corrélés au nombre de COCs recueillis ($r=0.61$ pour le CFA et l'AMH, $p<0.0001$) ainsi qu'au nombre d'ovocytes matures obtenus après MIV ($r =0.56$ pour le CFA et 0.51 pour l'AMH, $p<0.0001$).

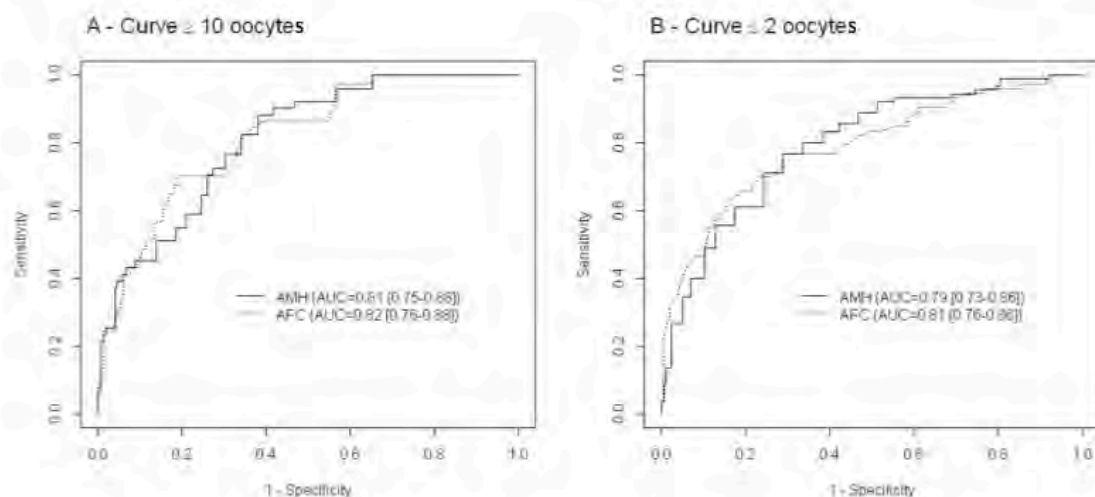
L'analyse par régression logistique univariée (Tableau 2) retrouve une forte corrélation positive entre le CFA et l'AMH et la congélation d'au moins 8, 10 ou 15 ovocytes matures. Ainsi, pour toute augmentation de l'AMH et du CFA, les chances de vitrifier plus de 8, 10 ou 15 ovocytes sont augmentées. De plus, le CFA et l'AMH sont négativement corrélés à la congélation de 2 ovocytes matures ou moins. Pour toute augmentation d'AMH et CFA, le risque d'obtenir deux d'ovocytes matures ou moins congelés est donc diminué.

Tableau 2. Analyse de l'association entre le nombre d'ovocytes matures congelés en fonction du CFA et de l'AMH. Analyse par régression logistique univariée.

	<i>≥ 8 Ovocytes vitrifiés</i>		<i>≥ 10 Ovocytes vitrifiés</i>		<i>≥ 15 Ovocytes vitrifiés</i>		<i>≤ 2 Ovocytes vitrifiés</i>	
	OR [IC 95%]	<i>p</i>	OR [IC 95%]	<i>p</i>	OR [IC 95%]	<i>p</i>	OR [IC 95%]	<i>p</i>
CFA	1.09 [1.06-1.12]	<0.0001	1.09 [1.06-1.12]	<0.0001	1.07 [1.03-1.1]	<0.0001	0.85 [0.81-0.89]	<0.0001
AMH	1.33 [1.21-1.46]	<0.0001	1.3 [1.19-1.42]	<0.0001	1.17 [1.05-1.3]	0.006	0.63 [0.53-0.76]	<0.0001

Les courbes ROC ont été tracées afin d'étudier la performance du test diagnostic (c'est à dire la capacité à discriminer les patientes pour qui au moins 8, 10 ou 15 ovocytes matures après MIV seront congelés et celles qui en auront 2 ou moins). Les AUC ont été calculées et la sensibilité et 1-la spécificité ont été déterminés pour chaque seuil d'ovocytes matures congelés. Les AUC pour les seuils de CFA et d'AMH permettant de prédire l'obtention d'au moins 10 ovocytes matures congelés après MIV, était de 0.82 [0.76.-0.88] et 0.81 [0.75.-0.88], respectivement. Ainsi, l'AMH et le CFA permettent d'identifier avec une prédiction forte les patientes qui auront au moins 10 ovocytes matures congelés après MIV. De la même manière, les courbes ROC ont été construite pour déterminer les seuils de CFA et d'AMH permettant de prédire l'obtention d'au moins 8 et 15 ovocytes matures congelés après MIV (données non représentées). Les AUC pour les seuils de CFA et d'AMH permettant de prédire l'obtention 2 ovocytes matures congelés après MIV ou moins étaient respectivement de 0.81 [0.76.-0.86] et 0.79 [0.73.-0.86] (Figure 1).

Fig 1. Courbes ROC représentant l'association entre: **A.** CFA et AMH et ≥ 10 ovocytes matures congelés, **B.** CFA et AMH et ≤ 2 ovocytes matures congelés



D. Détermination des valeurs seuils

Les valeurs seuils de CFA et d'AMH sérique permettant de prédire la cryopréservation de différents nombres d'ovocytes matures après MIV, avec une sensibilité supérieure à 80% et une spécificité supérieure à 60%, sont rapportées dans le Tableau 3. Afin d'obtenir au moins 8, 10 ou 15 ovocytes matures après MIV, des valeurs de CFA et d'AMH supérieures à 19 follicules et 3.5 ng/mL, 20 follicules et 3.7 ng/mL et 28 follicules et 3.9 ng/mL sont respectivement requises (Tableau 3). Dans notre population nous avons obtenu plus de 15 ovocytes matures congelés pour 12 patientes (3%), plus de 10 pour 55 patientes (15%) et plus de 8 pour 96 patientes (27%).

Tableau 3. Valeurs seuils de CFA et d'AMH sérique permettant d'obtenir \geq 8, 10 ou 15 ovocytes matures congelés

	<i>Valeurs seuils (\geq)</i>	<i>Seuils d'ovocytes matures (\geq)</i>	<i>Sensibilité [IC 95%]</i>	<i>Spécificité [IC 95%]</i>
CFA (n)	28	15	0.90 [0.55-1]	0.78 [0.73-0.82]
	20	10	0.88 [0.76-0.96]	0.62 [0.56-0.68]
	19	8	0.82 [0.72-0.89]	0.63 [0.56-0.69]
AMH (ng/ml)	3,9	15	0.89 [0.52-1]	0.61 [0.55-0.67]
	3,7	10	0.84 [0.68-0.94]	0.64 [0.57-0.7]
	3,5	8	0.82 [0.71-0.91]	0.63 [0.56-0.7]

Par ailleurs, les valeurs seuils de 19 follicules pour le CFA et 3 ng/mL pour l'AMH ont été identifiées et permettent de prédire la capacité de congeler 2 ovocytes MIV ou moins avec une bonne sensibilité (>77%) (Tableau 4). Dans notre population, 100 patientes ont obtenu 2 ovocytes MIV ou moins congelés et cinquante neuf en ont eu 1 ou moins.

Tableau 4. Valeurs seuils de CFA et d'AMH sérique permettant d'obtenir ≤ 2 ovocytes matures congelés

	<i>Valeurs seuils (<)</i>	<i>Seuils d'ovocytes matures (\leq)</i>	<i>Sensibilité [IC 95%]</i>	<i>Spécificité [IC 95%]</i>
CFA (n)	19	2	0.83 [0.74-0.9]	0.61 [0.55-0.68]
AMH (ng/ml)	3	2	0.77 [0.65-0.86]	0.70 [0.63-0.77]

V. Discussion

L'objectif de l'étude était d'analyser les valeurs seuils des deux marqueurs les plus précis pour évaluer la réserve ovarienne, afin de prédire le nombre d'ovocytes matures congelés après MIV chez des jeunes femmes candidates à une PF. Nous avons montré, sur une large population, qu'un taux relativement élevé de CFA et d'AMH était nécessaire pour obtenir un nombre intéressant d'ovocytes MIV congelés. En effet, les seuils de CFA et d'AMH permettant de prédire l'obtention d'au moins 10 ovocytes MIV congelés, étaient de 20 follicules et 3.7 ng/mL, respectivement. Par ailleurs, avoir un CFA inférieur à 19 follicules et une AMH inférieure à 3 ng/ml était lié au risque de congeler 2 ovocytes ou moins après MIV. L'analyse statistique permettant de déterminer les valeurs seuils de chaque paramètre a intentionnellement été réalisée en favorisant la sensibilité. L'objectif était de proposer une MIV à toutes les patientes susceptibles d'obtenir au moins 8, 10 ou 15 ovocytes matures congelés, avec un risque potentiel d'erreur pour certaines patientes (c'est à dire de réaliser une MIV à certaines patientes qui auront finalement moins de 8, 10 ou 15 ovocytes matures congelés). De plus, nous avons souhaité évaluer le seuil de CFA et d'AMH permettant de prédire la congélation de deux ovocytes matures ou moins, afin de ne pas proposer une MIV seule à ces patientes. Dans cette population de patientes jeunes, le nombre moyen d'ovocytes immatures recueillis par cycle était de 9.5 ± 8.2 conduisant, après un taux de maturation de 65%, à un nombre moyen d'ovocytes matures congelés de 5.5 ± 4.6 . Ces données correspondent aux données de la littérature (Tableau 1).

Déterminer le nombre d'ovocytes matures congelés reste un enjeu crucial pour les femmes candidates à une PF. Malgré un manque de connaissance important chez les patientes ayant cryopréservé des ovocytes pour raison médicales, quelques données ont récemment été rapportées dans la littérature. En effet, sur plus de 400 000 cycles de FIV conventionnelle, Sunkara *et al.*, rapportait une forte corrélation entre le nombre d'ovocytes matures recueillis et

le taux de naissance vivante. Selon le nomogramme établi, le nombre optimal d'ovocytes matures par cycle de stimulation ovarienne permettant de maximiser les chances d'obtenir un enfant vivant se situe entre 8 et 15 quelque soit l'âge (117). Une autre étude, réalisée en Belgique, retrouvait un taux de naissance vivante par ovocyte mature de 4.47% (IC 95% : 4.32-4.61) chez des femmes infertiles, âgées de 23 à 37 ans, candidates à une ICSI (114). Rienzi *et al.*, ont quant à eux estimé que plus de 8 ovocytes vitrifiés étaient nécessaires pour augmenter le taux de naissance chez des patientes infertiles (22.6 vs 46.4%, IC 95% : 18.5-27.4 et 37.3-55.6, respectivement) (118). De plus, les données de la littérature concernant la préservation ovocytaire pour raison sociétale rapportent un taux de naissance vivante par ovocyte vitrifié de 4-5% avant l'âge de 36 ans. Ainsi, une moyenne de 20 à 25 ovocytes vitrifiés seraient nécessaires pour obtenir une naissance vivante (119). Ces données sont confirmées par un large essai contrôlé randomisé, réalisé dans un groupe de donneuses d'ovocytes, qui retrouve un taux de grossesse clinique par ovocyte réchauffé de 4.5% (120).

L'évaluation du CFA, tout comme la mesure de l'AMH, constituent actuellement les meilleurs marqueurs de réponse ovarienne à la stimulation ovarienne (121). De la même manière, ils sont corrélés au nombre de COCs recueillis et aux résultats obtenus en MIV (122–124). En effet, les taux de grossesse augmentent significativement avec le nombre de COCs recueillis (125,126). Ainsi, les patientes présentant un SOPK, de part l'excès folliculaire qu'elles présentent, sont de bonnes candidates à la technique de MIV (74). De plus, Guzman *et al.*, ont récemment rapporté, dans une population de femme SOPK ayant bénéficié d'une MIV sans injection d'hCG préalablement au recueil, des taux cumulés de grossesses évolutives augmentés quand au moins 8 COCs étaient recueillis (30.4 vs 11%, $p=0.01$) (127). Au total, chez les patientes présentant un SOPK bénéficiant d'un cycle de MIV sans priming hCG, le taux de naissance vivantes était de 1.1% (17/1526) par ovocyte immature et de 2.1% (17/800) par ovocyte mature (128). Seulement, quelques études ont évalué la MIV chez des patientes normo-ovulantes non SOPK. Fadini *et al.*, ont proposé des

critères de sélection utilisable chez ces patientes normo-ovulantes candidates à une MIV (123,126). Dans une première série portant sur 256 cycles de MIV, il existait une forte corrélation positive entre le CFA et le nombre d'ovocytes recueillis, le nombre d'ovocytes maturés *in vitro* et le taux de grossesse clinique (126). Lorsqu'une valeur seuil de CFA supérieure à 8 était retenue, une différence significative était retrouvée sur le nombre moyen de COCs recueillis (3.9 ± 3 versus 5.4 ± 3.2 , $p=0.0001$) ainsi que sur le nombre moyen d'ovocytes matures obtenus (1.8 ± 1.6 versus 2.4 ± 1.8 , $p=0.0001$). Les taux de grossesse par embryon transféré et les taux d'implantation dans les groupes ≤ 8 follicules et > 8 follicules étaient de 12.6% et 18.6% et de 7.1% et 10.2%, respectivement. Sur ces données, les auteurs concluaient qu'un seuil inférieur de CFA d'au moins 5 follicules permettait de proposer la technique de MIV aux patientes normo-ovulantes. La même équipe a décrit dans une seconde série, une forte corrélation positive entre le nombre de COCs recueillis et le taux d'AMH sérique. Une valeur seuil d'AMH de 1.28 ng/mL était retenue comme indicateur permettant un recueil suffisant de COCs (123). Pour conclure, ces études suggèrent que les chances de mener à terme une grossesse après MIV sont positivement associées au recueil d'au moins 5 COCs, chez des patientes normo-ovulantes, non SOPK (84,126,129).

Cependant, il est important d'avoir conscience que les résultats globaux obtenus en MIV restent inférieurs à ceux observés avec des ovocytes recueillis après stimulation ovarienne. Ceci est probablement expliqué par une maturation sous-optimale des ovocytes, en particulier un asynchronisme entre la maturation nucléaire et cytoplasmique (76). Ainsi, les capacités de développement des embryons issues de MIV peuvent être altérées, ce qui entraîne de plus faibles taux d'implantation et une augmentation de l'incidence des fausses couches spontanées (130). De plus, se pose la question de l'impact délétère du cancer sur le potentiel des ovocytes. En effet, à ce jour seulement une dizaine d'enfants sont nés à travers le monde à partir d'ovocytes cryopréservés, dans le cadre d'une PF pour cancer (42–48,107,109).

Actuellement, le nombre exact d'ovocytes MIV congelés nécessaire pour assurer de réelles chances de grossesses futures reste inconnu. Ainsi, nous avons étudiés différents seuils de 8, 10 et 15 ovocytes MIV congelés, dans le but d'informer au mieux les patientes souhaitant recourir à cette technique de PF. En effet, chez les patientes jeunes âgées de moins de 35 ans, la congélation de tissu ovarien est une technique de PF intéressante, bien qu'elle requiert une intervention chirurgicale et ampute la réserve ovarienne. Il est probable que la combinaison de la technique de MIV associée à la congélation de tissu ovarien reste la meilleure stratégie de PF quand la stimulation de l'ovulation avec vitrification d'ovocytes matures n'est pas réalisable (103). Toutefois, un nombre non négligeable de patientes considèrent la coelioscopie, nécessaire au prélèvement de tissu ovarien, trop invasive et demande à bénéficier d'une MIV seule. Une information objective sur les avantages et limites de la technique de MIV doit donc être donnée. D'après nos résultats, les patientes souhaitant une MIV seule, doivent être informées qu'un seuil de CFA et d'AMH d'au moins 20 follicules et 3.7 ng/ml, permet d'apporter de réelles chances de succès. A l'inverse, lorsque le CFA est inférieur à 19 et l'AMH à 3 ng/mL, la technique de MIV doit être remise en cause et ne doit probablement jamais être proposée seule. Enfin, l'association d'une MIV à une congélation de tissu ovarien doit systématiquement être proposée dans le même temps lorsque le nombre d'ovocytes matures prédit semble insuffisant. Cependant, si le nombre d'ovocytes MIV finalement congelés n'est pas suffisant, un prélèvement de tissu ovarien pourra toujours être réalisé, même après un premier cycle de chimiothérapie (64,131).

VI. Conclusion

Malgré le manque important de données concernant la MIV dans le cadre de la PF, cette technique peut être une méthode de choix en cas d'urgence thérapeutique ou lors d'une contre-indication à la stimulation ovarienne. Dans cette étude, nous avons montré que les valeurs seuils de CFA et d'AMH devaient être relativement hautes pour optimiser le nombre d'ovocytes matures congelés après MIV. Ainsi, lorsque la réserve ovarienne est insuffisante chez des patientes de moins de 35 ans, candidates à une PF, l'association de la MIV à une cryopréservation de tissu ovarien reste probablement la meilleure stratégie de PF afin d'améliorer les chances de grossesses futures.

Pr Jean PARINAUD
Médecine de la reproduction
Hôpital Paule de Viguière
330, avenue de Grande Bretagne
TSA 70034 - 31059 TOULOUSE Cedex 9
Tél. 05 67 77 10 02 - Fax 05 67 77 10 15

Vu permis d'imprimer
Le Doyen de la Faculté
de Médecine Purpan

J.P. VINEL

VII. Bibliographie

1. Quaresma M, Coleman MP, Rachet B. 40-year trends in an index of survival for all cancers combined and survival adjusted for age and sex for each cancer in England and Wales, 1971-2011: a population-based study. *Lancet Lond Engl*. 2015 Mar 28;385(9974):1206–18.
2. Trèves R, Grynberg M, Parco S le, Finet A, Poulain M, Fanchin R. Female fertility preservation in cancer patients: an instrumental tool for the envisioning a postdisease life. *Future Oncol Lond Engl*. 2014 May;10(6):969–74.
3. Recommandations pour le 3ème Plan cancer. Recommandations pour le 3ème Plan cancer - Rapport à la ministre des Affaires sociales et de la Santé et à la ministre de l'Enseignement supérieur et de la Recherche. 2013 aout.
4. Lee SJ, Schover LR, Partridge AH, Patrizio P, Wallace WH, Hagerty K, et al. American Society of Clinical Oncology recommendations on fertility preservation in cancer patients. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2006 Jun 20;24(18):2917–31.
5. Practice Committee of ASRM. Fertility preservation in patients undergoing gonadotoxic therapy or gonadectomy: a committee opinion. *Fertil Steril*. 2013 Nov;100(5):1214–23.
6. Loren AW, Mangu PB, Beck LN, Brennan L, Magdalinski AJ, Partridge AH, et al. Fertility preservation for patients with cancer: American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline update. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2013 Jul 1;31(19):2500–10.
7. ISFP Practice Committee, Kim SS, Donnez J, Barri P, Pellicer A, Patrizio P, et al. Recommendations for fertility preservation in patients with lymphoma, leukemia, and breast cancer. *J Assist Reprod Genet*. 2012 Jun;29(6):465–8.
8. Rao GD, Chian RC, Son WS, Gilbert L, Tan SL. Fertility preservation in women undergoing cancer treatment. *Lancet*. 2004 May 29;363(9423):1829–30.
9. Ruess ML, Kline J, Santos R, Levin B, Timor-Tritsch I. Age and the ovarian follicle pool assessed with transvaginal ultrasonography. *Am J Obstet Gynecol*. 1996 Feb;174(2):624–7.
10. Van Rooij I a. J, Broekmans FJM, te Velde ER, Fauser BCJM, Bancsi LFJMM, de Jong FH, et al. Serum anti-Müllerian hormone levels: a novel measure of ovarian reserve. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2002 Dec;17(12):3065–71.
11. Barbakadze L, Kristesashvili J, Khonelidze N, Tsagareishvili G. The correlations of anti-mullerian hormone, follicle-stimulating hormone and antral follicle count in different age groups of infertile women. *Int J Fertil Steril*. 2015 Mar;8(4):393–8.
12. Marca AL, Stabile G, Artenisio AC, Volpe A. Serum anti-Mullerian hormone throughout the human menstrual cycle. *Hum Reprod*. 2006 Dec 1;21(12):3103–7.

13. Weenen C, Laven JSE, Von Bergh ARM, Cranfield M, Groome NP, Visser JA, et al. Anti-Müllerian hormone expression pattern in the human ovary: potential implications for initial and cyclic follicle recruitment. *Mol Hum Reprod*. 2004 Feb;10(2):77–83.
14. Fanchin R, Schonäuer LM, Righini C, Guibourdenche J, Frydman R, Taieb J. Serum anti-Müllerian hormone is more strongly related to ovarian follicular status than serum inhibin B, estradiol, FSH and LH on day 3. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2003 Feb;18(2):323–7.
15. Lobo RA. Potential options for preservation of fertility in women. *N Engl J Med*. 2005 Jul 7;353(1):64–73.
16. Bresters D, Emons JAM, Nuri N, Ball LM, Kollen WJW, Hannema SE, et al. Ovarian insufficiency and pubertal development after hematopoietic stem cell transplantation in childhood. *Pediatr Blood Cancer*. 2014 Nov;61(11):2048–53.
17. Oktay K, Sönmezer M, Oktem O, Fox K, Emons G, Bang H. Absence of conclusive evidence for the safety and efficacy of gonadotropin-releasing hormone analogue treatment in protecting against chemotherapy-induced gonadal injury. *The Oncologist*. 2007 Sep;12(9):1055–66.
18. Giuseppe L, Attilio G, Edoardo DN, Loredana G, Cristina L, Vincenzo L. Ovarian function after cancer treatment in young women affected by Hodgkin disease (HD). *Hematol Amst Neth*. 2007 Apr;12(2):141–7.
19. Badawy A, Elnashar A, El-Ashry M, Shahat M. Gonadotropin-releasing hormone agonists for prevention of chemotherapy-induced ovarian damage: prospective randomized study. *Fertil Steril*. 2009 Mar;91(3):694–7.
20. Del Mastro L, Boni L, Michelotti A, Gamucci T, Olmeo N, Gori S, et al. Effect of the gonadotropin-releasing hormone analogue triptorelin on the occurrence of chemotherapy-induced early menopause in premenopausal women with breast cancer: a randomized trial. *JAMA*. 2011 Jul 20;306(3):269–76.
21. Siristatidis CS, Vrachnis N, Creatsa M, Maheshwari A, Bhattacharya S. In vitro maturation in subfertile women with polycystic ovarian syndrome undergoing assisted reproduction. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013;10:CD006606.
22. Moore HCF, Unger JM, Phillips K-A, Boyle F, Hitre E, Porter D, et al. Goserelin for ovarian protection during breast-cancer adjuvant chemotherapy. *N Engl J Med*. 2015 Mar 5;372(10):923–32.
23. Leonard RC, Adamson D, Anderson R, Ballinger R, Bertelli G, Coleman RE, et al. The OPTION trial of adjuvant ovarian protection by goserelin in adjuvant chemotherapy for early breast cancer. *J Clin Oncol [Internet]*. 2010 [cited 2014 Dec 12];28:15s(suppl; abstr 590). Available from: <http://meetinglibrary.asco.org/content/53620-74>
24. Gerber B, von Minckwitz G, Stehle H, Reimer T, Felberbaum R, Maass N, et al. Effect of luteinizing hormone-releasing hormone agonist on ovarian function after modern adjuvant breast cancer chemotherapy: the GBG 37 ZORO study. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2011 Jun 10;29(17):2334–41.
25. Munster PN, Moore AP, Ismail-Khan R, Cox CE, Lacevic M, Gross-King M, et al. Randomized Trial Using Gonadotropin-Releasing Hormone Agonist Triptorelin for the

- Preservation of Ovarian Function During (Neo)Adjuvant Chemotherapy for Breast Cancer. *J Clin Oncol*. 2012 Feb 10;30(5):533–8.
26. Elgindy EA, El-Haieg DO, Khorshid OM, Ismail EI, Abdelgawad M, Sallam HN, et al. Gonadotrophin suppression to prevent chemotherapy-induced ovarian damage: a randomized controlled trial. *Obstet Gynecol*. 2013 Jan;121(1):78–86.
 27. Gris-Martínez JM, Trillo-Urrutia L, Gómez-Cabeza JJ, Encabo-Duró G. [Protective effect of GnRH analogues on the reproductive capacity of women with neoplasia or autoimmune disease who require chemotherapy. Final results of a phase ii clinical trial]. *Med Clin (Barc)*. 2015 Jul 17;
 28. Thomin A, Torre A, Darai É, Chabbert-Buffet N. [Role of GnRH agonists in preserving female fertility]. *J Gynécologie Obstétrique Biol Reprod*. 2014 Apr;43(4):267–74.
 29. Trounson A, Mohr L. Human pregnancy following cryopreservation, thawing and transfer of an eight-cell embryo. *Nature*. 1983 Oct 20;305(5936):707–9.
 30. 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. *Fertil Steril*. 2008 Jul;90(1):186–93.
 31. Vajta G, Kuwayama M. Improving cryopreservation systems. *Theriogenology*. 2006 Jan 7;65(1):236–44.
 32. Desai N, Abdelhafez F, Bedaiwy MA, Goldberg J, Falcone T, Goldfarb J. Clinical pregnancy and live births after transfer of embryos vitrified on day 3. *Reprod Biomed Online*. 2010 Jun;20(6):808–13.
 33. Herrero L, Martínez M, Garcia-Velasco JA. Current status of human oocyte and embryo cryopreservation. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2011 Aug;23(4):245–50.
 34. Edgar DH, Gook DA. A critical appraisal of cryopreservation (slow cooling versus vitrification) of human oocytes and embryos. *Hum Reprod Update*. 2012 Oct;18(5):536–54.
 35. Rienzi L, Romano S, Albricci L, Maggiulli R, Capalbo A, Baroni E, et al. Embryo development of fresh “versus” vitrified metaphase II oocytes after ICSI: a prospective randomized sibling-oocyte study. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2010 Jan;25(1):66–73.
 36. Cobo A, Diaz C. Clinical application of oocyte vitrification: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Fertil Steril*. 2011 Aug;96(2):277–85.
 37. Chen C. Pregnancy after human oocyte cryopreservation. *Lancet Lond Engl*. 1986 Apr 19;1(8486):884–6.
 38. Noyes N, Porcu E, Borini A. Over 900 oocyte cryopreservation babies born with no apparent increase in congenital anomalies. *Reprod Biomed Online*. 2009 Jun;18(6):769–76.
 39. Cobo A, Serra V, Garrido N, Olmo I, Pellicer A, Remohí J. Obstetric and perinatal outcome of babies born from vitrified oocytes. *Fertil Steril*. 2014 Oct;102(4):1006–15.e4.

40. ACOG: Committee Opinion No. 584: oocyte cryopreservation. *Obstet Gynecol.* 2014 Jan;123(1):221–2.
41. Cobo A, Remohí J, Chang C-C, Nagy ZP. Oocyte cryopreservation for donor egg banking. *Reprod Biomed Online.* 2011 Sep;23(3):341–6.
42. Yang D, Brown SE, Nguyen K, Reddy V, Brubaker C, Winslow KL. Live birth after the transfer of human embryos developed from cryopreserved oocytes harvested before cancer treatment. *Fertil Steril.* 2007 Jun;87(6):1469.e1–4.
43. Porcu E, Venturoli S, Damiano G, Ciotti PM, Notarangelo L, Paradisi R, et al. Healthy twins delivered after oocyte cryopreservation and bilateral ovariectomy for ovarian cancer. *Reprod Biomed Online.* 2008 Aug;17(2):265–7.
44. Sánchez-Serrano M, Crespo J, Mirabet V, Cobo AC, Escribá M-J, Simón C, et al. Twins born after transplantation of ovarian cortical tissue and oocyte vitrification. *Fertil Steril.* 2010 Jan;93(1):268.e11–3.
45. Kim MK, Lee DR, Han JE, Kim YS, Lee WS, Won HJ, et al. Live birth with vitrified-warmed oocytes of a chronic myeloid leukemia patient nine years after allogeneic bone marrow transplantation. *J Assist Reprod Genet.* 2011 Dec;28(12):1167–70.
46. Garcia-Velasco JA, Domingo J, Cobo A, Martínez M, Carmona L, Pellicer A. Five years' experience using oocyte vitrification to preserve fertility for medical and nonmedical indications. *Fertil Steril.* 2013 Jun;99(7):1994–9.
47. Alvarez M, Solé M, Devesa M, Fábregas R, Boada M, Tur R, et al. Live birth using vitrified--warmed oocytes in invasive ovarian cancer: case report and literature review. *Reprod Biomed Online.* 2014 Jun;28(6):663–8.
48. Da Motta ELA, Bonavita M, Alegretti JR, Chehin M, Serafini P. Live birth after 6 years of oocyte vitrification in a survivor with breast cancer. *J Assist Reprod Genet.* 2014 Oct;31(10):1397–400.
49. Sönmezer M, Türkçüoğlu I, Coşkun U, Oktay K. Random-start controlled ovarian hyperstimulation for emergency fertility preservation in letrozole cycles. *Fertil Steril.* 2011 May;95(6):2125.e9–11.
50. Cakmak H, Katz A, Cedars MI, Rosen MP. Effective method for emergency fertility preservation: random-start controlled ovarian stimulation. *Fertil Steril.* 2013 Dec;100(6):1673–80.
51. Baerwald AR, Adams GP, Pierson RA. Characterization of ovarian follicular wave dynamics in women. *Biol Reprod.* 2003 Sep;69(3):1023–31.
52. Turan V, Bedoschi G, Moy F, Oktay K. Safety and feasibility of performing two consecutive ovarian stimulation cycles with the use of letrozole-gonadotropin protocol for fertility preservation in breast cancer patients. *Fertil Steril.* 2013 Dec;100(6):1681–5.e1.
53. Courbiere B, Decanter C. Aspects cliniques pratiques de la vitrification ovocytaire en oncofertilité. *Gynécologie Obstétrique Fertil.* 2014 Sep;42(9):653–6.

54. Oktay K, Buyuk E, Libertella N, Akar M, Rosenwaks Z. Fertility preservation in breast cancer patients: a prospective controlled comparison of ovarian stimulation with tamoxifen and letrozole for embryo cryopreservation. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2005 Jul 1;23(19):4347–53.
55. Oktay K, Hourvitz A, Sahin G, Oktem O, Safro B, Cil A, et al. Letrozole reduces estrogen and gonadotropin exposure in women with breast cancer undergoing ovarian stimulation before chemotherapy. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006 Oct;91(10):3885–90.
56. Biljan MM, Hemmings R, Brassard N. The Outcome of 150 Babies Following the Treatment With Letrozole or Letrozole and Gonadotropins. *Fertil Steril*. 2005 Sep 1;84:S95.
57. Donnez J, Silber S, Andersen CY, Demeestere I, Piver P, Meirow D, et al. Children born after autotransplantation of cryopreserved ovarian tissue. a review of 13 live births. *Ann Med*. 2011;43(6):437–50.
58. Donnez J, Dolmans M-M, Pellicer A, Diaz-Garcia C, Sanchez Serrano M, Schmidt KT, et al. Restoration of ovarian activity and pregnancy after transplantation of cryopreserved ovarian tissue: a review of 60 cases of reimplantation. *Fertil Steril*. 2013 May;99(6):1503–13.
59. Wallace WHB, Smith AG, Kelsey TW, Edgar AE, Anderson RA. Fertility preservation for girls and young women with cancer: population-based validation of criteria for ovarian tissue cryopreservation. *Lancet Oncol*. 2014 Sep;15(10):1129–36.
60. Poirot C, Abirached F, Prades M, Coussieu C, Bernaudin F, Piver P. Induction of puberty by autograft of cryopreserved ovarian tissue. *Lancet*. 2012 Feb 11;379(9815):588.
61. Anderson RA, Hindmarsh PC, Wallace WHB. Induction of puberty by autograft of cryopreserved ovarian tissue in a patient previously treated for Ewing sarcoma. *Eur J Cancer Oxf Engl* 1990. 2013 Sep;49(13):2960–1.
62. Donnez J, Dolmans M-M. Ovarian cortex transplantation: 60 reported live births brings the success and worldwide expansion of the technique towards routine clinical practice. *J Assist Reprod Genet*. 2015 Jul 26;32(8):1167–70.
63. De Vos M, Smits J, Woodruff TK. Fertility preservation in women with cancer. *Lancet*. 2014 Oct 4;384(9950):1302–10.
64. Imbert R, Moffa F, Tsepelidis S, Simon P, Delbaere A, Devreker F, et al. Safety and usefulness of cryopreservation of ovarian tissue to preserve fertility: a 12-year retrospective analysis. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2014 Sep;29(9):1931–40.
65. Anderson RA, Wallace WHB, Baird DT. Ovarian cryopreservation for fertility preservation: indications and outcomes. *Reprod Camb Engl*. 2008 Dec;136(6):681–9.
66. Jadoul P, Dolmans M-M, Donnez J. Fertility preservation in girls during childhood: is it feasible, efficient and safe and to whom should it be proposed? *Hum Reprod Update*. 2010 Dec;16(6):617–30.

67. Dolmans M-M, Jadoul P, Gilliaux S, Amorim CA, Luyckx V, Squifflet J, et al. A review of 15 years of ovarian tissue bank activities. *J Assist Reprod Genet.* 2013 Mar;30(3):305–14.
68. Rosendahl M, Greve T, Andersen CY. The safety of transplanting cryopreserved ovarian tissue in cancer patients: a review of the literature. *J Assist Reprod Genet.* 2013 Jan;30(1):11–24.
69. Pincus G, Enzmann EV. THE COMPARATIVE BEHAVIOR OF MAMMALIAN EGGS IN VIVO AND IN VITRO : I. THE ACTIVATION OF OVARIAN EGGS. *J Exp Med.* 1935 Oct 31;62(5):665–75.
70. Edwards RG, Bavister BD, Steptoe PC. Early stages of fertilization in vitro of human oocytes matured in vitro. *Nature.* 1969 Feb 15;221(5181):632–5.
71. Veeck LL, Wortham JW, Witmyer J, Sandow BA, Acosta AA, Garcia JE, et al. Maturation and fertilization of morphologically immature human oocytes in a program of in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 1983 May;39(5):594–602.
72. Cha KY, Koo JJ, Ko JJ, Choi DH, Han SY, Yoon TK. Pregnancy after in vitro fertilization of human follicular oocytes collected from nonstimulated cycles, their culture in vitro and their transfer in a donor oocyte program. *Fertil Steril.* 1991 Jan;55(1):109–13.
73. Chian R-C, Uzelac PS, Nargund G. In vitro maturation of human immature oocytes for fertility preservation. *Fertil Steril.* 2013 Apr;99(5):1173–81.
74. Chian R-C. In-vitro maturation of immature oocytes for infertile women with PCOS. *Reprod Biomed Online.* 2004 May;8(5):547–52.
75. Child TJ, Phillips SJ, Abdul-Jalil AK, Gulekli B, Tan SL. A comparison of in vitro maturation and in vitro fertilization for women with polycystic ovaries. *Obstet Gynecol.* 2002 Oct;100(4):665–70.
76. Gremeau A-S, Andreadis N, Fatum M, Craig J, Turner K, McVeigh E, et al. In vitro maturation or in vitro fertilization for women with polycystic ovaries? A case-control study of 194 treatment cycles. *Fertil Steril.* 2012 Aug;98(2):355–60.
77. Manzanares MA, Gómez-Palomares JL, Ricciarelli E, Hernández ER. Triggering ovulation with gonadotropin-releasing hormone agonist in in vitro fertilization patients with polycystic ovaries does not cause ovarian hyperstimulation syndrome despite very high estradiol levels. *Fertil Steril.* 2010 Mar 1;93(4):1215–9.
78. Meldrum DR. Preventing severe OHSS has many different facets. *Fertil Steril.* 2012 Mar;97(3):536–8.
79. De Ziegler D, Streuli I, Gayet V, Frydman N, Bajouh O, Chapron C. Retrieving oocytes from small non-stimulated follicles in polycystic ovary syndrome (PCOS): in vitro maturation (IVM) is not indicated in the new GnRH antagonist era. *Fertil Steril.* 2012 Aug;98(2):290–3.
80. Son W-Y, Lee S-Y, Yoon S-H, Lim J-H. Pregnancies and deliveries after transfer of human blastocysts derived from in vitro matured oocytes in in vitro maturation cycles. *Fertil Steril.* 2007 Jun;87(6):1491–3.

81. Shalom-Paz E, Holzer H, Son W-Y, Levin I, Tan SL, Almog B. PCOS patients can benefit from in vitro maturation (IVM) of oocytes. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2012 Nov;165(1):53–6.
82. Walls ML, Hunter T, Ryan JP, Keelan JA, Nathan E, Hart RJ. In vitro maturation as an alternative to standard in vitro fertilization for patients diagnosed with polycystic ovaries: a comparative analysis of fresh, frozen and cumulative cycle outcomes. *Hum Reprod.* 2015 Jan 1;30(1):88–96.
83. Chian RC, Gülekli B, Buckett WM, Tan SL. Priming with human chorionic gonadotropin before retrieval of immature oocytes in women with infertility due to the polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med.* 1999 Nov 18;341(21):1624, 1626.
84. Fadini R, Dal Canto MB, Mignini Renzini M, Brambillasca F, Comi R, Fumagalli D, et al. Effect of different gonadotrophin priming on IVM of oocytes from women with normal ovaries: a prospective randomized study. *Reprod Biomed Online.* 2009 Sep;19(3):343–51.
85. Child TJ, Abdul-Jalil AK, Gulekli B, Tan SL. In vitro maturation and fertilization of oocytes from unstimulated normal ovaries, polycystic ovaries, and women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 2001 Nov;76(5):936–42.
86. De Vos M, Ortega-Hrepich C, Albuz FK, Guzman L, Polyzos NP, Smits J, et al. Clinical outcome of non-hCG-primed oocyte in vitro maturation treatment in patients with polycystic ovaries and polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 2011 Oct;96(4):860–4.
87. Holzer H, Scharf E, Chian R-C, Demirtas E, Buckett W, Tan SL. In vitro maturation of oocytes collected from unstimulated ovaries for oocyte donation. *Fertil Steril.* 2007 Jul;88(1):62–7.
88. Grynberg M, El Hachem H, de Bantel A, Benard J, le Parco S, Fanchin R. In vitro maturation of oocytes: uncommon indications. *Fertil Steril.* 2013 Apr;99(5):1182–8.
89. Buckett WM, Chian R-C, Holzer H, Dean N, Usher R, Tan SL. Obstetric outcomes and congenital abnormalities after in vitro maturation, in vitro fertilization, and intracytoplasmic sperm injection. *Obstet Gynecol.* 2007 Oct;110(4):885–91.
90. Fadini R, Mignini Renzini M, Guarnieri T, Dal Canto M, De Ponti E, Sutcliffe A, et al. Comparison of the obstetric and perinatal outcomes of children conceived from in vitro or in vivo matured oocytes in in vitro maturation treatments with births from conventional ICSI cycles. *Hum Reprod Oxf Engl.* 2012 Dec;27(12):3601–8.
91. Mikkelsen AL. Strategies in human in-vitro maturation and their clinical outcome. *Reprod Biomed Online.* 2005 May;10(5):593–9.
92. Söderström-Anttila V, Mäkinen S, Tuuri T, Suikkari A-M. Favourable pregnancy results with insemination of in vitro matured oocytes from unstimulated patients. *Hum Reprod Oxf Engl.* 2005 Jun;20(6):1534–40.
93. Foix-L'Hélias L, Grynberg M, Ducot B, Frydman N, Kerbrat V, Bouyer J, et al. Growth development of French children born after in vitro maturation. *PloS One.* 2014;9(2):e89713.

94. Anders CK, Johnson R, Litton J, Phillips M, Bleyer A. Breast Cancer Before Age 40 Years. *Semin Oncol.* 2009 Jun;36(3):237–49.
95. INCa. les cancers en France en 2014, l'essentiel des faits et chiffres. 2015 Mar.
96. Sonigo C, Dray G, Roche C, Cédric-Durnerin I, Hugues J-N. Impact of high serum progesterone during the late follicular phase on IVF outcome. *Reprod Biomed Online.* 2014 Aug;29(2):177–86.
97. Melo M a. B, Meseguer M, Garrido N, Bosch E, Pellicer A, Remohí J. The significance of premature luteinization in an oocyte-donation programme. *Hum Reprod.* 2006 Jun 1;21(6):1503–7.
98. Hwang JL, Lin YH, Tsai YL. In vitro maturation and fertilization of immature oocytes: a comparative study of fertilization techniques. *J Assist Reprod Genet.* 2000 Jan;17(1):39–43.
99. Hwang JL, Lin YH, Tsai YL. Pregnancy after immature oocyte donation and intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril.* 1997 Dec;68(6):1139–40.
100. Maman E, Meirou D, Brengauz M, Raanani H, Dor J, Hourvitz A. Luteal phase oocyte retrieval and in vitro maturation is an optional procedure for urgent fertility preservation. *Fertil Steril.* 2011 Jan;95(1):64–7.
101. Grynberg M, Even M, Hesters L, Treves R, Fanchin R, Frydman N. Similar in vitro maturation (IVM) and fertilization rates of oocytes retrieved either at the follicular or the luteal phase of the cycle offers flexible options for urgent fertility preservation (FP). *Fertil Steril.* 2012 Sep 1;98(3):S7.
102. Huang JYJ, Tulandi T, Holzer H, Tan SL, Chian R-C. Combining ovarian tissue cryobanking with retrieval of immature oocytes followed by in vitro maturation and vitrification: an additional strategy of fertility preservation. *Fertil Steril.* 2008 Mar;89(3):567–72.
103. Berwanger AL, Finet A, El Hachem H, le Parco S, Hesters L, Grynberg M. New trends in female fertility preservation: in vitro maturation of oocytes. *Future Oncol Lond Engl.* 2012 Dec;8(12):1567–73.
104. Grynberg M, Poulain M, Sebag-Peyrelevade S, le Parco S, Fanchin R, Frydman N. Ovarian tissue and follicle transplantation as an option for fertility preservation. *Fertil Steril.* 2012 Jun;97(6):1260–8.
105. Dolmans M-M, Luyckx V, Donnez J, Andersen CY, Greve T. Risk of transferring malignant cells with transplanted frozen-thawed ovarian tissue. *Fertil Steril.* 2013 May;99(6):1514–22.
106. Telfer EE, Zelinski MB. Ovarian follicle culture: advances and challenges for human and nonhuman primates. *Fertil Steril.* 2013 May;99(6):1523–33.
107. Prasath EB, Chan MLH, Wong WHW, Lim CJW, Tharmalingam MD, Hendricks M, et al. First pregnancy and live birth resulting from cryopreserved embryos obtained from in vitro matured oocytes after oophorectomy in an ovarian cancer patient. *Hum Reprod Oxf Engl.* 2014 Feb;29(2):276–8.

108. Segers I, Mateizel I, Van Moer E, Smits J, Tournaye H, Verheyen G, et al. In vitro maturation (IVM) of oocytes recovered from ovariectomy specimens in the laboratory: a promising “ex vivo” method of oocyte cryopreservation resulting in the first report of an ongoing pregnancy in Europe. *J Assist Reprod Genet.* 2015 Aug;32(8):1221–31.
109. Uzelac PS, Delaney AA, Christensen GL, Bohler HCL, Nakajima ST. Live birth following in vitro maturation of oocytes retrieved from extracorporeal ovarian tissue aspiration and embryo cryopreservation for 5 years. *Fertil Steril.* 2015 Aug 18;
110. Lee JA, Sekhon L, Grunfeld L, Copperman AB. In-vitro maturation of germinal vesicle and metaphase I eggs prior to cryopreservation optimizes reproductive potential in patients undergoing fertility preservation. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2014 Jun;26(3):168–73.
111. Moria A, Das M, Shehata F, Holzer H, Son W-Y, Tulandi T. Ovarian reserve and oocyte maturity in women with malignancy undergoing in vitro maturation treatment. *Fertil Steril.* 2011 Apr;95(5):1621–3.
112. Shalom-Paz E, Almog B, Shehata F, Huang J, Holzer H, Chian R-C, et al. Fertility preservation for breast-cancer patients using IVM followed by oocyte or embryo vitrification. *Reprod Biomed Online.* 2010 Oct;21(4):566–71.
113. 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. *Hum Reprod Oxf Engl.* 2011 Jul;26(7):1768–74.
114. Stoop D, Ermini B, Polyzos NP, Haentjens P, De Vos M, Verheyen G, et al. Reproductive potential of a metaphase II oocyte retrieved after ovarian stimulation: an analysis of 23 354 ICSI cycles. *Hum Reprod Oxf Engl.* 2012 Jul;27(7):2030–5.
115. Thomas JD, Rubin DN. Tissue harmonic imaging: why does it work? *J Am Soc Echocardiogr Off Publ Am Soc Echocardiogr.* 1998 Aug;11(8):803–8.
116. Chian R-C, Chung J-T, Downey BR, Tan SL. Maturation and developmental competence of immature oocytes retrieved from bovine ovaries at different phases of folliculogenesis. *Reprod Biomed Online.* 2002 Apr;4(2):127–32.
117. 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. *Hum Reprod Oxf Engl.* 2011 Jul;26(7):1768–74.
118. Rienzi L, Cobo A, Paffoni A, Scarduelli C, Capalbo A, Vajta G, et al. Consistent and predictable delivery rates after oocyte vitrification: an observational longitudinal cohort multicentric study. *Hum Reprod Oxf Engl.* 2012 Jun;27(6):1606–12.
119. ESHRE Task Force on Ethics and Law, Dondorp W, de Wert G, Pennings G, Shenfield F, Devroey P, et al. Oocyte cryopreservation for age-related fertility loss. *Hum Reprod Oxf Engl.* 2012 May;27(5):1231–7.
120. Cobo A, Meseguer M, Remohí J, Pellicer A. Use of cryo-banked oocytes in an ovum donation programme: a prospective, randomized, controlled, clinical trial. *Hum Reprod Oxf Engl.* 2010 Sep;25(9):2239–46.

121. Iliodromiti S, Anderson RA, Nelson SM. Technical and performance characteristics of anti-Müllerian hormone and antral follicle count as biomarkers of ovarian response. *Hum Reprod Update*. 2014 Dec 8;
122. Tan SL, Child TJ, Gulekli B. In vitro maturation and fertilization of oocytes from unstimulated ovaries: predicting the number of immature oocytes retrieved by early follicular phase ultrasonography. *Am J Obstet Gynecol*. 2002 Apr;186(4):684–9.
123. Fadini R, Comi R, Mignini Renzini M, Coticchio G, Crippa M, De Ponti E, et al. Anti-mullerian hormone as a predictive marker for the selection of women for oocyte in vitro maturation treatment. *J Assist Reprod Genet*. 2011 Jun;28(6):501–8.
124. Fadini R, Mignini Renzini M, Dal Canto M, Epis A, Crippa M, Caliari I, et al. Oocyte in vitro maturation in normo-ovulatory women. *Fertil Steril*. 2013 Apr;99(5):1162–9.
125. Tan SL, Child TJ. In-vitro maturation of oocytes from unstimulated polycystic ovaries. *Reprod Biomed Online*. 2002;4 Suppl 1:18–23.
126. Fadini R, Dal Canto MB, Renzini MM, Brambillasca F, Comi R, Fumagalli D, et al. Predictive factors in in-vitro maturation in unstimulated women with normal ovaries. *Reprod Biomed Online*. 2009 Feb;18(2):251–61.
127. Guzman L, Ortega-Hrepich C, Polyzos NP, Anckaert E, Verheyen G, Coucke W, et al. A prediction model to select PCOS patients suitable for IVM treatment based on anti-Mullerian hormone and antral follicle count. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2013 May;28(5):1261–6.
128. Ortega-Hrepich C, Stoop D, Guzmán L, Van Landuyt L, Tournaye H, Smits J, et al. A “freeze-all” embryo strategy after in vitro maturation: a novel approach in women with polycystic ovary syndrome? *Fertil Steril*. 2013 Oct;100(4):1002–7.
129. Dal Canto MB, Mignini Renzini M, Brambillasca F, Cepparo H, Comi R, Villa A, et al. IVM--the first choice for IVF in Italy. *Reprod Biomed Online*. 2006 Aug;13(2):159–65.
130. Li Y, Feng H-L, Cao Y-J, Zheng G-J, Yang Y, Mullen S, et al. Confocal microscopic analysis of the spindle and chromosome configurations of human oocytes matured in vitro. *Fertil Steril*. 2006 Apr 1;85(4):827–32.
131. Abir R, Ben-Haroush A, Felz C, Okon E, Raanani H, Orvieto R, et al. Selection of patients before and after anticancer treatment for ovarian cryopreservation. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2008 Apr;23(4):869–77.

VIII. Annexes

Annexe 1. Résumé de l'article soumis à la revue Human Reproduction

What threshold values of antral follicle count and serum AMH levels should be considered in cancer patients, candidates for oocyte cryopreservation after *in vitro* maturation?

Simon C, Sonigo C, Boubaya M, Benoit A, Sifer C, Sermondade N, Grynberg M

Study question:

What threshold values of ultrasonographic antral follicle count (AFC) and serum anti-Müllerian hormone (AMH) levels should be considered for ensuring the cryopreservation of different number of *in vitro* matured (IVM) oocytes, in cancer patients seeking fertility preservation (FP)?

Summary answer

The present investigation shows that AFC and serum AMH values above 20 follicles and 3.7 ng/mL, respectively, are required for obtaining at least 10 IVM oocytes cryopreserved. Given these relatively high values, the combination of IVM and ovarian tissue cryopreservation should systematically be discussed for optimizing the FP strategy.

What is known already?

IVM of cumulo-oocyte-complexes (COCs) followed by oocyte cryopreservation has emerged recently as an option for urgent FP. Recent data have reported that, in healthy patients, 8 to 20 cryopreserved oocytes after ovarian stimulation would maximize the chance of obtaining a live birth. Although both AFC and AMH have been reported as predictive factors of IVM success in polycystic ovary syndrome (PCOS), there is a dramatic lack of data regarding the values of these parameters in oncologic patients.

Study design, size, duration:

From January 2009 to April 2015, we prospectively studied 340 cancer patients, aged 18-41 years, candidates for oocyte cryopreservation following IVM.

Participants/materials, setting, methods

All patients had AFC and AMH measurements, 48-72 hours before oocyte retrieval, whatever the phase of the cycle. COCs were recovered under ultrasound guidance 36 hours after hCG priming. Logistic regression has allowed determining threshold values of AFC and AMH, for obtaining at least 8, 10 or 15 matures oocytes frozen after IVM procedure. Similar analysis was performed for a final number of oocytes ≤ 2 .

Main results and the role of chance

Among the 340 cancer patients included, 300 were diagnosed with breast cancers, 14 had a hematological malignancies and 26 underwent this procedure for others indications. Overall, mean age of the population was 31.8 ± 4.5 years. Mean AFC and serum AMH levels were

21.7 ± 13.3 follicles and 4.4 ± 3.8 ng/mL, respectively. IVM was performed in equal proportion during the follicular or the luteal phase of the cycle (49% and 51%, respectively). Statistical analysis showed that AFC and AMH values above 28 follicles and 3.9 ng/mL, 20 follicles and 3.7 ng/mL and 19 follicles and 3.5 ng/mL, respectively, are required for obtaining at least 15, 10 or 8 IVM frozen oocytes with a sensitivity ranging from 0.82 to 0.90. On the contrary, 2 or less IVM oocytes were cryopreserved when AFC and AMH were lower than 19 and 3 ng/mL, respectively.

Limitations, reasons for caution

Although the potential of IVM oocytes frozen in cancer patients remains unknown, data obtained from infertile PCOS women have shown a dramatically reduced competence of these oocytes when compared to that of eggs recovered after ovarian stimulation. As a consequence, the optimal number of IVM oocytes frozen in candidates for FP is currently unpredictable.

Wider implications of the findings

Cryopreservation of oocytes after IVM should be considered in the FP strategy when ovarian stimulation is unfeasible, in particular when markers of the follicular ovarian status are at a relatively high range. Further investigation is needed to objectively assess the real potential of these IVM oocytes after cryopreservation. Therefore, even when a good COCs yield is expected, we should systematically encourage IVM in combination with ovarian tissue cryopreservation.



31th Annual meeting of ESHRE Lisbon,
Portugal - 14 June to 17 June 2015

This is to certify that

Cynthia Simon - France

Attended the scientific programme of the **31th Annual Meeting of the European Society of Human** Reproduction and Embryology, held at "International Lisbon Fair" in **Lisbon, Portugal from 14 June to 17 June 2015.**

This meeting is designated for a maximum of (or "for up to") 16 hours of European external CME credits by the European Accreditation Council for Continuing Medical Education (EACCME). The EACCME is an institution of the European Union of Medical Specialists (UEMS). EACCME credits are recognized by the American Medical Association towards the Physician's Recognition Award (PRA).

Prof. Dr. Juha S. Tapanainen
Chairman of ESHRE

What threshold values of antral follicle count and serum AMH levels should be considered in cancer patients, candidates for oocyte cryopreservation after *in vitro* maturation?

Objective: What threshold values of AFC and AMH levels should be considered for ensuring the vitrification of different number of *in vitro* matured (IVM) oocytes, in cancer patients seeking fertility preservation (FP)?

Material and method: We prospectively studied 340 cancer patients. Logistic regression has allowed determining threshold values of AFC and AMH, for obtaining at least 8,10 or 15 and ≤ 2 matured oocytes frozen after IVM procedure.

Results: Statistical analysis showed that AFC and AMH values above 28 follicles and 3.9ng/mL, 20 follicles and 3.7ng/mL and 19 follicles and 3.5ng/mL, are respectively required for obtaining at least 15, 10 or 8. On the contrary, 2 or less IVM oocytes were cryopreserved when AFC and AMH were lower than 19 follicles and 3ng/mL.

Conclusion: Cryopreservation of oocytes after IVM should be considered when markers of the follicular ovarian status are at a relatively high range. We should systematically encourage IVM in combination with ovarian tissue cryopreservation.

Analyse des valeurs seuils de compte des follicules antraux et d'hormone Anti-Müllérienne sérique permettant de prédire le nombre d'ovocytes cryopréservés en maturation *in vitro* chez des jeunes femmes atteintes de cancer et candidates à une préservation de la fertilité

Soutenue le 23 octobre 2015

Objectif : Déterminer les valeurs seuils de CFA et d'AMH permettant d'assurer la congélation de différents nombres d'ovocytes maturés *in vitro* (MIV) chez des patientes atteintes de cancer candidates à une préservation de la fertilité (PF).

Matériel et Méthodes : 340 patientes ont été prospectivement incluses. L'analyse par régression logistique a permis de déterminer les valeurs seuils de CFA et d'AMH permettant d'obtenir $\geq 8-10$ ou 15 et ≤ 2 ovocytes MIV congelés.

Résultats : L'analyse statistique retrouvait des valeurs seuils de CFA et d'AMH supérieures à 28 follicules et 3.9ng/mL, 20 follicules et 3.7ng/mL et 19 follicules et 3.5ng/mL, pour obtenir au moins 15, 10 et 8 ovocytes MIV congelés et inférieurs à 19 follicules et 3ng/mL pour obtenir 2 ovocytes ou moins.

Conclusion : Les valeurs seuils de CFA et d'AMH doivent être relativement hautes pour optimiser les résultats en MIV. L'association à une congélation de tissu ovarien reste la meilleure stratégie quand la réserve ovarienne est diminuée.

What threshold values of antral follicle count and serum AMH levels should be considered in cancer patient, candidates for oocyte cryopreservation after *in vitro* maturation ?

MOTS-CLÉS : Préservation de la fertilité, maturation *in vitro*, AMH, compte des follicules antraux

INTITULÉ ET ADRESSE DE L'UFR OU DU LABORATOIRE :

Université Toulouse III-Paul Sabatier
Faculté de médecine Toulouse-Purpan,
37 Allées Jules Guesde 31000 Toulouse

Directeur de thèse : Charlotte SONIGO