



L'ovocyte : avancées fondamentales et thérapeutiques

Maturation ovocytaire *in vitro* : l'expérience française

D'après la communication de J. Lornage

Département de Médecine de la Reproduction, Hôpital Edouard-Herriot, Lyon.

RÉSUMÉ

La maturation *in vitro* (MIV) permet d'utiliser des ovocytes immatures en vue d'une FIV. Cette technique de MIV ne requiert pas de stimulation hormonale et peut donc être proposée aux patientes à risque élevé d'hyperstimulation ovarienne. On peut également proposer cette technique aux femmes présentant un syndrome des ovaires polykystiques, en solution alternative à la FIV. Toutefois, les résultats en termes de taux de grossesse restent inférieurs à ceux de la FIV classique. Cette communication rapporte les résultats de la MIV dans les centres français qui la pratiquent.

Mots-clés : *Maturation • Ovocyte • Humain • In vitro.*

SUMMARY: *In vitro* maturation: the French experience

In vitro oocyte maturation (IVM) allows the use of immature oocytes in IVF. IVM does not require ovarian stimulation and therefore can be offered to patients at risk of ovarian hyperstimulation syndrome. IVM can be offered as an alternative to conventional IVF in women with PCOS (polycystic ovarian syndrome). However, cleavage, implantation, and pregnancy rates were lower than those obtained with conventional IVF. The present study describes the results of IVM in French IVF departments.

Key words: *Maturation • Oocyte • Human • In vitro.*

■ INTRODUCTION

La maturation *in vitro* des ovocytes humains (MIV) est une technique émergente d'assistance médicale à la procréation permettant d'obtenir, sans stimulation, des ovocytes matures. La première naissance d'un enfant en France après MIV (maturation *in vitro*) a été rapportée par l'équipe d'Antoine-Béclère [1].

■ TECHNIQUE ET INDICATIONS DE LA MIV

Les ovocytes immatures sont recueillis à partir de follicules antraux de quelques millimètres.

C'est une technique plus astreignante que la fécondation *in vitro* conventionnelle pour le laboratoire (*fig. 1*), mais qui présente de nombreux avantages potentiels comme une diminution de la lourdeur des traitements de stimulation de l'ovulation, et une absence de risque d'hyperstimulation grave pour les patientes, en particulier pour celles présentant un SOPK (syndrome des ovaires polykystiques) (*fig. 1*).

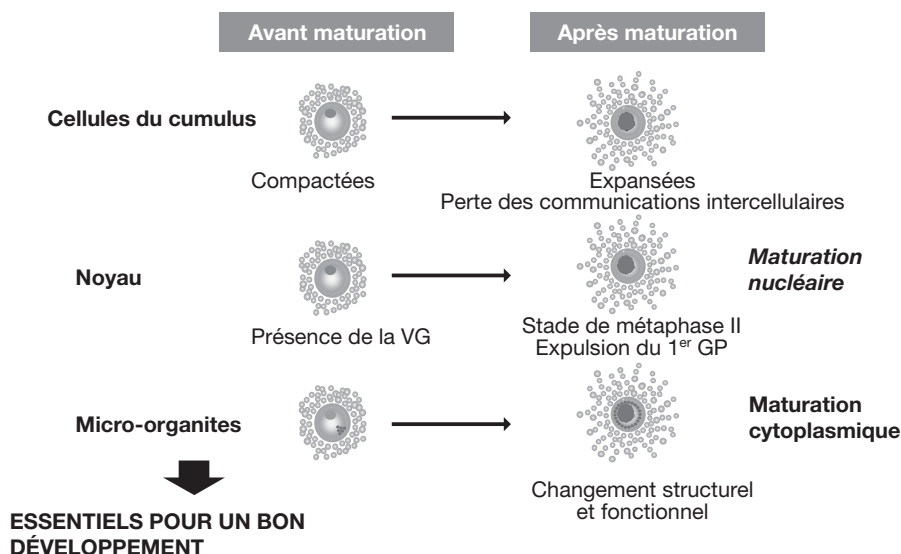
La première grossesse mondiale a été rapportée par Cha en 1991 [3] avec le transfert de 5 embryons et l'obtention d'une grossesse triple. Plus d'une centaine de naissances sont maintenant rapportées dans la littérature [3-13].

Les indications actuelles de la MIV sont représentées par le SOPK et certaines femmes normo-ovulantes.

■ DÉROULEMENT D'UN CYCLE DE MIV

Lors d'un cycle spontané, un monitoring échographique et hormonal est réalisé. La ponction ovocytaire a lieu en général vers J8-J11. Les ovocytes immatures recueillis sont placés dans un milieu de culture pendant 24 à 48 heures. La fécondation est en général assistée (micro-injection : ICSI), mais on peut aussi faire de la FIV classique. Le transfert a lieu vers J2 ou J3 selon les équipes.

Un « prétraitement » peut être administré (FSH priming), bien que les dernières études cliniques sur le sujet n'aient pas montré d'intérêt majeur à ce prétraitement [1, 12].



Tiré de Cha, 2004

Figure 1 Les différentes étapes de la maturation ovocytaire *in vitro* (MIV).

En revanche, la plupart des équipes réalisent une injection d'hCG avant la ponction, sauf les Finlandais [13].

La ponction ovocytaire doit être réalisée en l'absence de tout follicule dominant, car sinon, les follicules entourant un follicule dominant sont souvent atrétiques.

La maturation dure en moyenne 28 heures avec un milieu supplémenté en FSH, en hCG, et en sérum de la patiente (20 %).

La préparation de l'endomètre débute dès la ponction ovocytaire, et comprend des œstrogènes et de la progestérone. Le transfert aura lieu à J2 ou J3.

■ ÉTUDE PILOTE MIV TRICENTRIQUE

Sous un même protocole avec avis favorable du CCPPRB, 3 centres (Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, hôpital Jean-Verdier et Centre hospitalier intercommunal de Créteil) ont inclus 10 patientes avec en moyenne 2 ponctions par patiente. L'indication était soit un syndrome des ovaires polykystiques, soit un risque d'hyperstimulation grave. Dans les prétraitements, il pouvait y avoir de l'hCG ou de la FSH. Les ponctions étaient réalisées sous anesthésie générale et la MIV était réalisée dans un seul centre (Pitié-Salpêtrière). Le milieu de maturation utilisé avait été fabriqué spécifiquement pour cette étude (Cryo Bio System®). Le milieu était supplémenté avec 20 % de sérum de la patiente, de la FSH, et de l'hCG. La

culture a été réalisée en microgouttes sous huile, avec des cellules du complexe cumulo-ovocytaire (coculture). L'observation des complexes cumulo-ovocytaires était réalisée à 24 et 48 heures. Une technique de fécondation des ovocytes en métaphase II était systématiquement réalisée avec ICSI.

Dans cette étude, le taux de maturation a été de 64 %, avec un taux de fécondation à 50 %. Une grossesse obtenue (gémellaire), sans aucun syndrome d'hyperstimulation. La grossesse gémellaire s'est réduite spontanément à une grossesse unique et il y a eu naissance en septembre 2003 d'un garçon à terme en bonne santé (*tableau I*).

■ PROTOCOLE DE CLAMART

Soixante-cinq patientes ont été prises en charge en MIV à Antoine-Béclère, avec 96 ponctions et 84 transferts d'embryons. L'indication était toujours un syndrome des ovaires polykystiques.

Le prétraitement comportait des œstrogènes et de l'hCG juste avant la ponction. La posologie était ensuite adaptée en fonction de l'épaisseur endométriale. Les ponctions ovocytaires étaient toutes réalisées sous anesthésie générale avec un matériel adapté (aiguille de 17 Gauge simple lumière).

Le milieu de maturation utilisé était celui de Chian et Tan [14, 15]. La culture était réalisée en microgouttes sous huile, avec des cellules du complexe cumulo-ovocytaire. L'observation des complexes

Tableau I Résultats de l'étude pilote MIV (Pitié-Salpêtrière, Jean-Verdier, CHIC).

| | Nombre | Moyenne | Taux |
|--------------------------|--------|---------------|---------------------|
| Ovocytes recueillis | 261 | 16,3 (4-30) | |
| Métaphases 2 à 24 heures | 51 | | 19,5 % |
| Métaphases 2 à 48 heures | 116 | | 44,4 % |
| Total des métaphases 2 | 167 | 10,4 | 63,9 % (167/261) |
| 2 PN des M2 en 24 heures | 31 | | 60,7 % (31/51) |
| 2 PN des M2 en 48 heures | 49 | | 42,2 % (49/116) |
| Total des 2 PN (/M2) | 80 | | 47,9 % (80/167) |
| 3 PN des M2 en 24 heures | 7 | | 13 % (7/51) |
| 3 PN des M2 en 48 heures | 22 | | 18,9 % (22/116) |
| Total des 3 PN | 29 | | 17,3 % (29/167) |
| Embryons (24 heures) | 30 | | |
| Embryons (48 heures) | 48 | | |
| Embryons obtenus | 78 | 4,8 (0-12) | 46,7 % (78/167) |
| Transferts | 15 | | |
| Embryons transférés | 42 | 2,8 | |
| Congélation | 1 | | |
| Grossesse | 1 (γγ) | | 1/15 transferts |

Pas de syndrome d'hyperstimulation.

cumulo-ovocytaires était réalisée à 24 et 48 heures, et c'est aussi une technique de fécondation assistée des ovocytes en métaphase II qui était pratiquée (ICSI). Pour cela, une décoronisation mixte utilisant de la hyaluronidase et mécanique était réalisée (*tableau II*).

Le taux de maturation ovocytaire était satisfaisant, de l'ordre de 66 %, de même que le taux de fécondation de 58 %. Vingt et une grossesses cliniques ont été répertoriées, dont 9 fausses couches précoces (9/21, 43 %). Dix-sept enfants sont nés.

Là encore, aucun syndrome d'hyperstimulation n'a été observé. Nous disposons actuellement de quelques éléments de surveillance des enfants nés : aucune malformation et aucun retard de croissance ne sont survenus.

■ PROTOCOLE MÉDICULT

Ce protocole regroupe l'hôpital Edouard-Herriot de Lyon (Pr B. Salle, Dr J. Lornage, Pr J.-F. Guérin), l'Institut de médecine de la reproduction (IMR) de Marseille (Dr R. Roulier, Dr P. Terriou, Dr C. Giorgetti, Dr E. Glowaczower, Dr V. Chabert, Dr Franquebalme, Dr Chinchole), et l'hôpital Antoine-Béclère

Tableau II Résultats de l'équipe d'Antoine-Béclère, Clamart.

| | Nombre | Moyenne | Taux |
|----------------------------------|--------|-----------------------|---------------------|
| Ovocytes recueillis | 1 180 | 12,3 | |
| Métaphases 2 à 24 heures | 629 | | 53,3 % |
| Métaphases 2 à 48 heures | 148 | | 12,5 % |
| Total des métaphases 2 | 777 | 8,1 | 66 % (777/1 180) |
| Total des métaphases 2 injectées | 770 | | |
| 2 PN des M2 en 24 heures | 396 | | 51,4 % |
| 2 PN des M2 en 48 heures | 49 | | 6,4 % |
| Total des 2 PN (/M2) | 445 | | 57,8 % (445/770) |
| 3 PN des M2 en 24 heures | 31 | | |
| 3 PN des M2 en 48 heures | 15 | | |
| Total des 3 PN | 46 | | |
| Embryons (24 heures) | 428 | | |
| Embryons (48 heures) | 49 | | |
| Embryons obtenus | 477 | 4,97 | 61,9 % (477/770) |
| Transferts | 84 | | |
| Embryons transférés | 205 | 2,44 (8 ponctions) | 26,6 % |
| Congélation | 29 | | |
| Grossesses cliniques | 21 | Dont 9 FCS | |

Pas de syndrome d'hyperstimulation.

depuis avril 2005 (Pr R. Frydman, Pr G. Tachdjian, Dr N. Frydman, Dr R. Fanchin).

Résultats du centre de Lyon de novembre 2002 à octobre 2004

Vingt et un couples dont la femme avait un syndrome des ovaires polykystiques ont été inclus, ainsi que 7 couples dont la femme avait une ovulation normale. Trente-cinq ponctions ont été réalisées et 27 transferts d'embryons. Un prétraitement par FSH et hCG était réalisé, et les ponctions ovocytaires étaient pratiquées sous anesthésie générale avec un matériel adapté (17 Gauge simple lumière). Le milieu de maturation utilisé était du MédiCult® et la culture était réalisée en puits, avec des cellules du complexe cumulo-ovocytaire. L'observation des complexes cumulo-ovocytaires était réalisée à 28 heures. Une technique de fécondation des ovocytes par ICSI était systématiquement réalisée, après décoronisation mécanique et à la hyaluronidase (*tableau III*).

Dans le groupe de patientes normo-ovulantes, le taux de maturation était de 72 %, une grossesse a été obtenue, mais s'est terminée par une fausse couche.

Tableau III Résultats du centre de Lyon de novembre 2002 à octobre 2004 (patientes SOPK).

| | Nombre | Moyenne | Taux |
|----------------------------------|--------|--|---------------------|
| Ovocytes recueillis | 220 | 6,47 (0-24) | |
| Métaphases 2 à 28 heures | 151 | | |
| Total des métaphases 2 | 151 | 4,44 (0-24) | 68,6 % (151/220) |
| Total des métaphases 2 injectées | 151 | | |
| 2 PN des M2 en 24 heures | 80 | | |
| 2 PN des M2 en 48 heures | – | | |
| Total des 2 PN (/M2) | 80 | | 52,9 % (80/151) |
| 3 PN des M2 en 24 heures | 0 | | |
| Total des 3 PN | 0 | | |
| Embryons (48 heures) | 88 | | |
| Embryons obtenus | 88 | | 58,3 % (88/151) |
| Transferts | 27 | | |
| Embryons transférés | 62 | 2,3 (1-4) | |
| Congélation | 0 | | |
| Grossesse | 3 | 2 FCS 1 RMP 20 SA 4 biochimiques | |

Pas de syndrome d'hyperstimulation.

Dans le groupe des femmes affectées par un syndrome des ovaires polykystiques (SOPK), le taux de maturation était un peu plus faible de 68 %. Trois grossesses ont été obtenues, dont 2 fausses couches.

Résultats du centre de Lyon d'octobre 2004 à juillet 2005

À partir d'octobre 2004, la technique a été modifiée. Dix couples avec syndrome des ovaires polykystiques ont été inclus, 20 ponctions et 18 transferts d'embryons ont été réalisés.

Aucun prétraitement n'était donné aux patientes, nous faisons uniquement un monitoring échographique, les ponctions étaient réalisées sous anesthésie générale et la technique de fécondation pouvait être une FIV simple ou une ICSI.

Les taux de maturation obtenus ont été un peu moins bons (50 %), mais 4 grossesses ont été recensées, dont 3 évolutives (tableau IV).

Résultats du centre Antoine-Béclère de Clamart depuis avril 2005 (patientes SOPK)

Dix couples avec syndrome des ovaires polykystiques ont été inclus, 10 ponctions et 9 transferts d'embryons ont été réalisés.

Tableau IV Résultats du centre de Lyon d'octobre 2004 à juillet 2005 (patientes SOPK).

| | Nombre | Moyenne | Taux |
|----------------------------------|---------------|---|--------------------|
| Ovocytes recueillis | 165 (2-20) | 8,25 | |
| Métaphases 2 à 28 heures | 84 | | |
| Total des métaphases 2 | 84 | 4,2 | 50,9 % (84/165) |
| Total des métaphases 2 injectées | 84 | | |
| 2 PN des M2 en 24 heures | 47 | 2,35 | |
| Total des 2 PN (/M2) | 47 | 2,35 | 55,9 % (47/84) |
| 3 PN des M2 en 24 heures | 0 | | |
| Total des 3 PN | 0 | | |
| Embryons (48 heures) | 49 | 2,45 | |
| Embryons obtenus | 49 | | 58,3 % (49/84) |
| Transferts | 18 | | |
| Embryons transférés | 41 | 2,27 | |
| Congélation | 0 | | |
| Grossesse | 4 | 3 grossesses évolutives dont 1 gémellaire | 1 FCS à 8 SA |

Pas de syndrome d'hyperstimulation.

Un prétraitement par estradiol le jour de l'hCG était donné, les ponctions étaient réalisées sous anesthésie générale et la technique de fécondation pouvait être une FIV simple ou une ICSI.

Les taux de maturation obtenus ont été 39 %, et 3 grossesses ont été recensées dont une évolutive (tableau V).

L'IMR rapporte des taux de maturation plus élevés (70 %) sur 8 patientes, mais aucune grossesse n'a encore été obtenue.

■ ENFANTS NÉS APRÈS MIV

Cent quarante-six enfants sont nés par MIV dans le cadre du protocole MEDICULT et, au total, 415 « enfants MIV » sont nés dans le monde à l'heure actuelle.

■ CONCLUSION

La maturation *in vitro* (MIV) constitue une solution alternative intéressante pour les patientes présentant un syndrome des ovaires polykystiques. Les résultats en termes de grossesse s'améliorent, mais il

Tableau V Résultats du centre Antoine-Béclère de Clamart depuis avril 2005 (patientes SOPK).

| | Nombre | Moyenne | Taux |
|----------------------------------|--------|-----------------------|--------------------|
| Ovocytes recueillis | 203 | 20,3 | |
| Métaphases 2 à 24 heures | 75 | | |
| Métaphases 2 à 48 heures | 4 | | |
| Total des métaphases 2 | 79 | 7,9 | 38,9 % (79/203) |
| Total des métaphases 2 injectées | 79 | 7,9 | |
| 2 PN des M2 en 24 heures | 50 | | |
| Total des 2 PN (M2) | 50 | 5 | 63,3 % (50/79) |
| 3 PN des M2 en 24 heures | 7 | | |
| Total des 3 PN | 7 | | |
| Embryons (24 heures) | 50 | | |
| Embryons (48 heures) | 0 | | |
| Embryons obtenus | 50 | 5 | 63,3 % (50/79) |
| Transferts | 9 | | |
| Embryons transférés | 22 | 2,2 | |
| Congélation | 6 | | |
| Grossesse clinique | 3 | 1 grossesse évolutive | 2 FCS |

Pas de syndrome d'hyperstimulation.

existe une phase nécessaire d'apprentissage pour l'équipe clinique et biologique. Les indications de la MIV pour les patientes normo-ovulantes restent à préciser et le suivi des enfants reste à faire.

Remerciements : C. Poirot, N. Frydman et P. Terriou pour leur collaboration dans la collecte des données et l'ensemble des équipes clinico-biologiques.

■ RÉFÉRENCES

1. Le Du A, Kadoch IJ, Bourcigaux N, Doumerc S, Bourrier MC, Chevalier N, *et al.* *In vitro* oocyte maturation for the treatment of infertility associated with polycystic ovarian syndrome: the French experience. *Hum Reprod* 2005; 20: 420-4.
2. Cha KY, Chian RC. Maturation *in vitro* of immature human oocytes for clinical use. *Hum Reprod Update* 1998; 4: 103-20.
3. 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; 55: 109-13.
4. Trounson A, Wood C, Kausche A. *In vitro* maturation and the fertilization and developmental competence of oocytes recovered from untreated polycystic ovarian patients. *Fertil Steril* 1994; 62: 353-62.
5. Barnes FL, Crombie A, Gardner DK, Kausche A, Lacham-Kaplan O, Suikkari AM, *et al.* Blastocyst development and birth after *in vitro* maturation of human primary oocytes, intracytoplasmic sperm injection and assisted hatching. *Hum Reprod* 1995; 10: 3243-7.
6. Russell JB, Knezevich KM, Fabian KF, Dickson JA. Unstimulated immature oocyte retrieval: early *versus* midfollicular endometrial priming. *Fertil Steril* 1997; 67: 616-20.
7. Liu J, Katz E, Garcia JE, Compton G, Baramki TA. Successful *in vitro* maturation of human oocytes not exposed to human chorionic gonadotropin during ovulation induction, resulting in pregnancy. *Fertil Steril* 1997; 67: 566-8.
8. Thornton MH, Francis MM, Paulson RJ. Immature oocyte retrieval: lessons from unstimulated IVF cycles. *Fertil Steril* 1998; 70: 647-50.
9. Mikkelsen AL, Smith SD, Lindenberg S. *In vitro* maturation of human oocytes from regularly menstruating women may be successful without follicle stimulating hormone priming. *Hum Reprod* 1999; 14: 1847-51.
10. Cha KY, Han SY, Chung HM, Choi DH, Lim JM, Lee WS, Ko JJ, Yoon TK. Pregnancies and deliveries after *in vitro* maturation culture followed by *in vitro* fertilization and embryo transfer without stimulation in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2000; 73: 978-83.
11. Smith SD, Mikkelsen A, Lindenberg S. Development of human oocytes matured *in vitro* for 28 or 36 hours. *Fertil Steril* 2000; 73: 541-4.
12. Lin YH, Hwang JL, Huang LW, Mu SC, Seow KM, Chung J, *et al.* Combination of FSH priming and hCG priming for *in vitro* maturation of human oocytes. *Hum Reprod* 2003; 18: 1632-6.
13. Soderstrom-Anttila V, Makinen S, Tuuri T, Suikkari AM. Favourable pregnancy results with insemination of *in vitro* matured oocytes from unstimulated patients. *Hum Reprod* 2005; 20: 1534-40.
14. Chian RC, Buckett WM, Abdul Jalil AK, Son WY, Sylvestre C, Rao D, Tan SL. Natural-cycle *in vitro* fertilization combined with *in vitro* maturation of immature oocytes is a potential approach in infertility treatment. *Fertil Steril* 2004; 82: 1675-8.
15. Chian RC, Buckett WM, Too LL, Tan SL. Pregnancies resulting from *in vitro* matured oocytes retrieved from patients with polycystic ovary syndrome after priming with human chorionic gonadotropin. *Fertil Steril* 1999; 72: 639-42.