



**HAL**  
open science

# Étude de la sensibilité des follicules antraux à la FSH exogène chez des patientes candidates à une préservation de la fertilité pour cancer du sein ou lymphome de Hodgkin

Marjorie Comtet

► **To cite this version:**

Marjorie Comtet. Étude de la sensibilité des follicules antraux à la FSH exogène chez des patientes candidates à une préservation de la fertilité pour cancer du sein ou lymphome de Hodgkin. Médecine humaine et pathologie. 2015. dumas-01307351

**HAL Id: dumas-01307351**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01307351v1>**

Submitted on 26 Apr 2016

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

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

## AVERTISSEMENT

Cette thèse d'exercice est le fruit d'un travail approuvé par le jury de soutenance et réalisé dans le but d'obtenir le diplôme d'Etat de docteur en médecine. Ce document est mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt toute poursuite pénale.

UNIVERSITÉ PARIS DESCARTES  
Faculté de Médecine PARIS DESCARTES

Année 2015

N° 133

THÈSE  
POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT  
DE  
DOCTEUR EN MÉDECINE

Etude de la sensibilité des follicules antraux à la FSH exogène chez  
des patientes candidates à une préservation de la fertilité  
pour cancer du sein ou lymphome de Hodgkin

Présentée et soutenue publiquement  
le 6 octobre 2015

Par

**Marjorie COMTET**

Née le 28 mars 1986 à Lyon (69)

Dirigée par M. Le Professeur Michaël Grynberg et  
Mme Le Docteur Charlotte Sonigo

Jury :

Mme Le Professeur Nathalie Chabbert-Buffet ..... Président

M. Le Docteur Marc Espié

Mme Le Docteur Vanessa Gallot



Except where otherwise noted, this work is licensed under  
<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/>

# Tables des matières

---

<b>Tables des matières</b> .....	<b>2</b>
<b>Remerciements</b> .....	<b>4</b>
<b>Introduction</b> .....	<b>6</b>
<b>1. Rappels</b> .....	<b>8</b>
<b>1.1. Epidémiologie</b> .....	<b>8</b>
<b>1.2. Stratégie thérapeutique</b> .....	<b>9</b>
1.2.1. Cancer du sein.....	9
a) Traitement loco-régional : chirurgie et radiothérapie .....	9
b) Traitement néo-adjuvant .....	10
c) Traitement médical adjuvant.....	10
1.2.2. Lymphome de Hodgkin.....	13
a) Chimiothérapie de 1 <sup>ère</sup> ligne.....	13
b) Formes réfractaires et rechute .....	14
<b>1.3. Physiologie ovarienne : la folliculogénèse</b> .....	<b>15</b>
<b>1.4. Gonadotoxicité des protocoles de chimiothérapie</b> .....	<b>18</b>
1.4.1. Mécanismes de toxicité ovarienne .....	18
1.4.2. Fonction ovarienne après chimiothérapie .....	19
<b>1.5. Techniques de préservation de la fertilité</b> .....	<b>21</b>
1.5.1. Prévention médicamenteuse par les agonistes de la GnRH.....	21
1.5.2. Protocoles de stimulation ovarienne en vue de cryopréservation ovocytaire et/ou embryonnaire .....	23
a) Modalités de stimulation .....	24
• Doses de FSH exogène .....	24
• « Random-start » et double cycle de stimulation.....	25
• Déclenchement par les agonistes de la GnRH.....	25
b) Particularités du cancer du sein.....	26
1.5.3. Maturation ovocytaire <i>in vitro</i> (MIV).....	28
1.5.4. Cryopréservation de tissu ovarien.....	29
1.5.5. Résultats en oncofertilité.....	30
<b>1.6. Le FORT (Follicular Output RaTe), un nouvel outil</b> .....	<b>31</b>
<b>2. Objectifs</b> .....	<b>34</b>

<b>3. Patientes et Méthodes.....</b>	<b>35</b>
<b>3.1. Population étudiée .....</b>	<b>35</b>
<b>3.2. Protocoles de stimulation ovarienne.....</b>	<b>36</b>
<b>3.3. Echographie pelvienne et dosages hormonaux.....</b>	<b>39</b>
<b>3.4. Calcul du FORT.....</b>	<b>40</b>
<b>3.5. Analyses statistiques .....</b>	<b>41</b>
<b>4. Résultats.....</b>	<b>42</b>
<b>5. Discussion .....</b>	<b>48</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>54</b>
<b>Bibliographie .....</b>	<b>55</b>
<b>Annexes.....</b>	<b>69</b>
<b>Résumé.....</b>	<b>73</b>

## Remerciements

---

Au Professeur Nathalie Chabbert- Buffet,

J'ai beaucoup appris à vos côtés. Je vous remercie de m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury et de juger mon travail.

Au Professeur Michaël Grynberg,

Merci pour ta confiance et ton dynamisme. Ton enseignement m'est très précieux.

Au Docteur Charlotte Sonigo,

Merci pour ta disponibilité et tes conseils dans l'élaboration de cette thèse.

Reçois l'expression de toute mon amitié.

Au Docteur Gallot et au Docteur Espié pour m'avoir fait l'honneur de constituer le jury de ma thèse.

A mes chefs de service, seniors et chefs dont le compagnonnage m'a permis de me former et de progresser au quotidien.

A mes collègues d'internat.

A mes parents,

Vous avez toujours cru en moi et m'avez permis de mener à bien ces longues études.

Je ne vous remercierai jamais assez.

A ma soeur,

Merci pour ta présence et ta bienveillance depuis toujours.

A ma famille et mes amis, qui ont toujours été là pour moi.

A Jean-Baptiste.

## Introduction

---

Le pronostic des patients atteints de pathologies malignes s'améliore constamment grâce aux progrès thérapeutiques dans le domaine de la cancérologie. Ainsi, la qualité de vie des patients guéris d'un cancer est devenue un enjeu majeur, au centre de nombreuses recommandations françaises (1) et internationales (2). Pour les sujets les plus jeunes, la problématique de la fertilité à l'issue des traitements radio- et/ou chimio-thérapeutiques est souvent au premier plan. Assurer un accès à l'information et aux techniques de préservation de la fertilité (PF) à ces patients est primordial (3). En situations carcinologiques, la PF doit être mise en œuvre au plus tôt après le diagnostic, idéalement avant l'initiation de tout traitement gonadotoxique, en concertation avec les équipes d'oncologie, de chirurgie, et de médecine de la reproduction.

De nombreuses avancées techniques concernant la conservation des gamètes féminins sont apparues depuis une vingtaine d'années. Les progrès dans les techniques de congélation permettent désormais d'envisager la PF tant pour les femmes en âge de procréer que chez l'enfant. Si la vitrification ovocytaire et/ou embryonnaire après stimulation ovarienne constitue la technique de référence, la cryopréservation de tissu ovarien bien qu'encore expérimentale, est en plein essor. Par ailleurs, des protocoles de stimulation ovarienne spécifiques, adaptés aux situations urgentes et aux éventuelles contre-indications à une hyperestradiolémie ont été développés dans le but d'offrir une vitrification gamétique à un maximum de patientes.

Le cancer du sein et les maladies hématologiques, en particulier le lymphome de Hodgkin (LyH), représentent actuellement les 2 principales indications « oncologiques » de PF chez les jeunes femmes post-pubères. Si leur pronostic à long terme reste relativement

bon, la guérison nécessite habituellement l'administration d'agents chimiothérapeutiques (alkylants notamment) à gonadotoxicité souvent élevée.

La PF, dans les situations de cancer mammaire ou LyH fait souvent appel à la cryopréservation ovocytaire après stimulation ovarienne. Cependant, la capacité de réponse à l'hyperstimulation ovarienne contrôlée des femmes atteintes de pathologies malignes est un sujet débattu. En effet, certains auteurs rapportent une moindre réponse à l'administration de FSH (Hormone Folliculo-Simulante) exogène chez ces patientes, avant même le début des traitements gonadotoxiques, comparativement à celle de femmes présentant une infertilité d'origine tubaire ou masculine (4). Une des hypothèses évoquées serait un impact de la maladie cancéreuse sur le fonctionnement des cellules de la granulosa, qui pourrait être différent en fonction du type de cancer.

Ce travail de thèse a pour objectif d'analyser la sensibilité des follicules antraux à la stimulation ovarienne chez des patientes candidates à une PF pour cancer du sein ou LyH.

# 1. Rappels

---

## 1.1. Epidémiologie

Avec 48 763 nouveaux cas estimés en 2012 selon l'Institut National du Cancer (INCa), le cancer du sein représente le principal cancer féminin en France, devant le cancer du côlon-rectum (18 926 nouveaux cas) et le cancer du poumon (11 284 cas). Il représente ainsi 31.5 % de l'ensemble des cancers de la femme (5). L'âge médian au diagnostic est de 63 ans et l'incidence dans la population des patientes de moins de 40 ans représentait 2344 cas en 2012 (Tableau 1). Par ailleurs, le taux de survie nette à 5 ans rapporté par le réseau Francim est de 86 % chez les femmes de moins de 45 ans (6).

**Tableau 1 : Incidence estimée du cancer du sein en France métropolitaine en 2012 (7).**

Classe d'âge	20 - 24 ans	25 – 29 ans	30 – 34 ans	35 – 39 ans
Nombre de nouveaux cas	18	150	507	1669

En 2011, environ 1840 nouveaux cas de lymphome de Hodgkin ont été diagnostiqués en France selon l'INCa. L'incidence de la maladie est globalement stable. Il existe deux pics d'incidence : un premier chez l'adulte jeune entre 20 et 30 ans et un second chez le sujet plus âgé vers 60 ans (8). Le taux de survie à 5 ans est bon, aux alentours de 90% (9).

En 2013, 287.000 patients ont reçu une chimiothérapie, 21.5% pour cancers du sein et 17.8 % pour hémopathies (Figure 1).

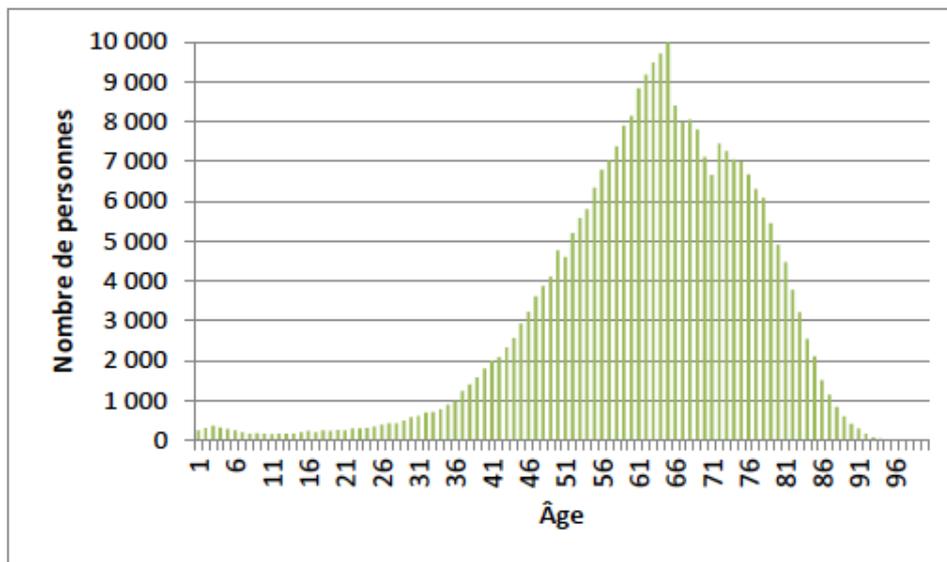


Figure 1 : Répartition du nombre de patients pris en charge pour chimiothérapie en fonction de l'âge en 2013 (10).

## 1.2. Stratégie thérapeutique

### 1.2.1. Cancer du sein

La classification TNM du cancer du sein a été modifiée en 2010 (annexe 1).

#### a) *Traitement loco-régional : chirurgie et radiothérapie*

Le traitement d'un cancer du sein infiltrant non métastatique repose principalement sur un traitement locorégional :

- soit une chirurgie mammaire conservatrice (mastectomie partielle) complétée d'une radiothérapie,
- soit une chirurgie mammaire non conservatrice (mastectomie) et au besoin complétée d'une radiothérapie.

- Dans les 2 cas, le geste inclut une chirurgie des ganglions (biopsie ganglion sentinelle ou curage ganglionnaire axillaire).

Ce traitement principal peut être complété par une chimiothérapie et/ou une hormonothérapie en fonction de la présence ou non de facteurs pronostiques et prédictifs de récurrence (11).

### ***b) Traitement néo-adjuvant***

En cas de cancer infiltrant volumineux et/ou inflammatoire, un traitement systémique néoadjuvant est parfois indiqué en vue d'une réduction première du volume tumoral. Il peut être discuté en cas de cancer d'emblée inopérable, ou selon la taille de la tumeur pour permettre l'accès à une chirurgie partielle (11). La chimiothérapie pré-opératoire permet un contrôle très précoce de la maladie micro-métastatique. Elle permet d'optimiser le taux de conservation mammaire mais pas d'augmenter la survie des patientes qui avaient un cancer opérable d'emblée (12). Les agents chimiothérapeutiques employés sont les mêmes que ceux en adjuvant, et font le plus souvent appel à des agents alkylants (13).

### ***c) Traitement médical adjuvant***

- Les facteurs pronostiques

En cas de carcinome infiltrant, un traitement médical postopératoire peut être indiqué. Les traitements de référence sont la chimiothérapie (associée ou non à une thérapie ciblée) et l'hormonothérapie. Son indication et le choix du traitement sont discutés en fonction des facteurs pronostiques et des facteurs prédictifs de réponse aux traitements. Les facteurs pronostiques actuellement reconnus sont : l'envahissement ganglionnaire, la taille de la

tumeur, le grade histologique, la présence d'embolies vasculaires, l'expression des récepteurs hormonaux et l'âge de moins de 35 ans. En effet, les femmes de moins de 35 ans, considérées comme jeunes, ont des caractéristiques tumorales différentes avec notamment plus de tumeurs de haut grade, plus d'embolies vasculaires, moins de surexpression des récepteurs hormonaux et plus de surexpression du récepteur Her 2 (12). Dans une étude rétrospective incluant 2040 patientes dont 12.5% de moins de 35 ans, les patientes jeunes avaient une survie sans récurrence moindre par rapport aux autres patientes. A 5 ans, leur taux de récurrence était de 30.4% *versus* 18.7% pour les patientes plus âgées, différence qui persistait à 10 ans (14). Une chimiothérapie adjuvante est donc souvent indiquée pour les patientes jeunes afin de diminuer le risque de récurrence et de décès.

- Protocoles de chimiothérapie

Les schémas d'administration peuvent varier d'un protocole de traitement à l'autre. La majorité des protocoles de chimiothérapie actuellement proposés comprennent du cyclophosphamide, un agent alkylant, au très fort potentiel gonadotoxique, souvent associé à des anthracyclines, des anti-métabolites et des taxanes (15). Le tableau 2 résume les recommandations actuelles (12). Ils comprennent habituellement 4 à 6 cures, le plus souvent espacées de 21 jours. Une thérapie ciblant le récepteur HER2 n'est indiquée qu'en association avec une chimiothérapie, et en cas de surexpression significative de HER2.

**Tableau 2 : Recommandations pour les protocoles de chimiothérapie (12).**

<b>Tumeurs sans surexpression ou amplification de HER2, quel que soit le statut hormonal</b>	
<i>Schéma associant anthracyclines et taxanes</i>	
6 TAC	
3 FEC 100 + 3 docétaxel 100	
4 AC + 12 paclitaxel 80 hebdomadaires	
4 AC + 4 docétaxel 100	
Pour les N +	Niveau 1, grade A
Pour les N –	Niveau 3, grade C
<i>Schéma avec anthracyclines sans taxanes pour les N-</i>	
6 FEC 100	Niveau 1, grade A
4 AC	
<i>Schéma avec taxanes sans anthracyclines</i>	
4 TC	Niveau 2, grade B
<b>Tumeurs avec surexpression ou amplification de HER2, quel que soit le statut hormonal</b>	
<i>Schéma séquentiel associant anthracyclines et taxanes</i>	Accord d'experts
TAC : docétaxel, doxorubicine, cyclophosphamide ;	
FEC : 5-fluoro-uracile, épirubicine, cyclophosphamide ;	
AC : adriamycine, cyclophosphamide ; TC : docétaxel, cyclophosphamide.	

Concernant le délai entre la chirurgie et le début de la chimiothérapie, les recommandations de l'INCa ont été mises à jour et précisent qu'il y a un bénéfice à initier la chimiothérapie dans un délai de 3 mois après la chirurgie (niveau C). En revanche, durant cette période, les données ne permettent pas d'identifier de délai optimal (niveau de preuve C) (16).

- Hormonothérapie

L'hormonothérapie de référence des patientes non ménopausées présentant une tumeur avec des récepteurs hormonaux positifs est un modulateur sélectif des récepteurs aux œstrogènes (SERM), le tamoxifène (20 mg/jour). Une durée de 5 ans a montré un maximum d'efficacité dans l'amélioration de la survie sans récurrence et de la survie globale par rapport à 1 ou 2 ans de traitement (17) . Une poursuite du traitement pendant 5 années supplémentaires chez les patientes présentant une tumeur à récepteurs hormonaux positifs a été l'objet de

l'essai clinique ATLAS (*Adjuvant Tamoxifen: Longer Against Shorter*) et montre des résultats positifs en termes de récurrence et de survie après 5 à 14 années de prise de tamoxifène (18). Cette mise en différé d'un projet de grossesse expose la femme au vieillissement ovarien physiologique ce qui doit être pris en compte y compris chez les patientes n'ayant pas d'indication de chimiothérapie. Ce traitement ne semble pas impacter directement la réserve ovarienne, bien qu'il soit responsable d'une aménorrhée réversible.

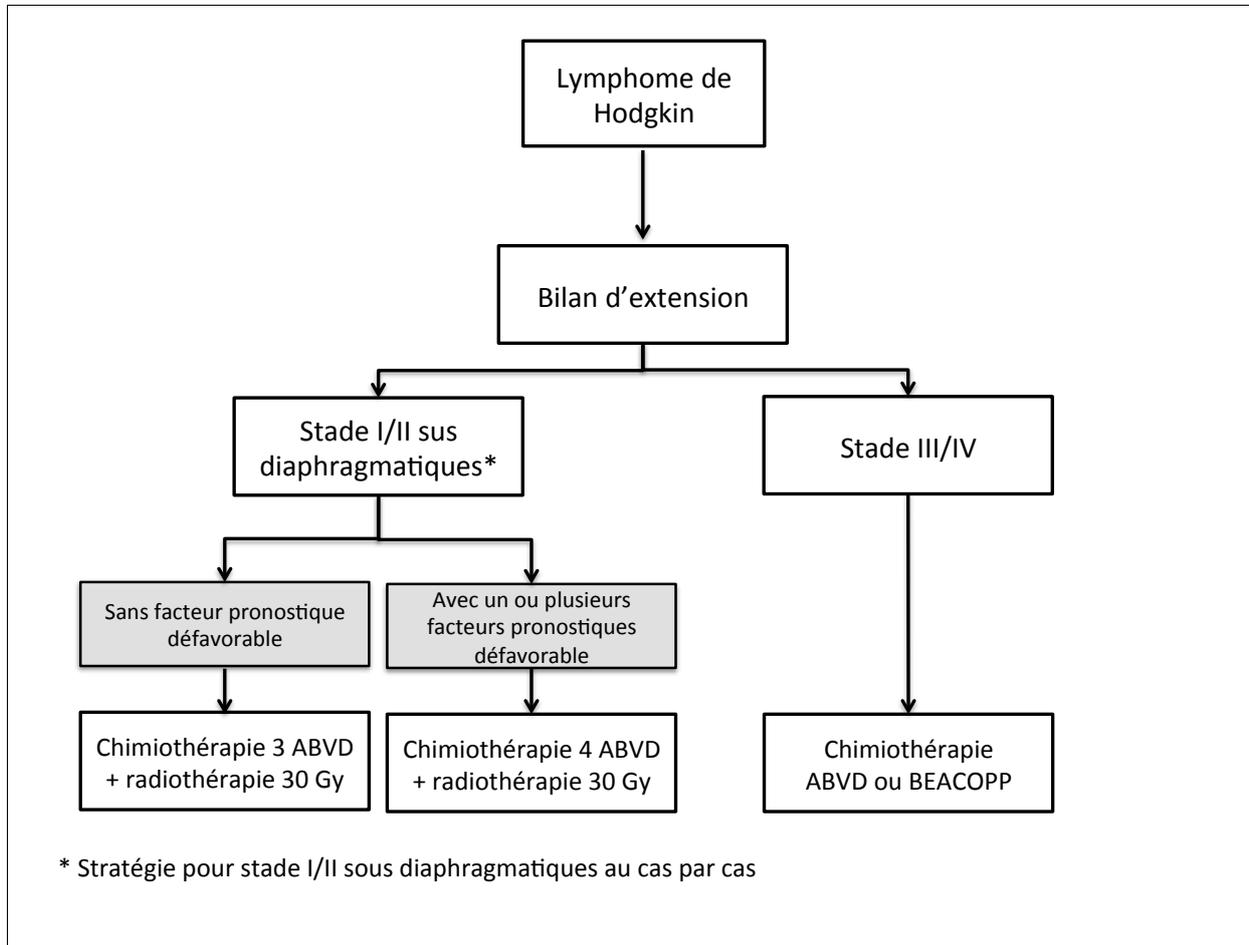
### **1.2.2. Lymphome de Hodgkin**

La classification utilisée est celle d'Ann Arbor modifiée selon Costswolds (Annexe 2). On distingue en premier lieu les formes dites localisées, stades I et II de Ann Arbor et les formes dites disséminées ou étendues, stades III et IV de Ann Arbor. Ensuite, au sein de chacune de ces deux grandes formes distinctes, différents sous-groupes de patients sont définis. Pour les formes localisées, les scores de l'EORTC (*European Organization for Research and Treatment of Cancer*) ou du GHSG (*German Hodgkin's lymphoma Study Group*) permettent, à partir de quatre critères, de définir deux sous-groupes pronostiques, favorable ou défavorable (Annexe 3).

#### **a) Chimiothérapie de 1<sup>ère</sup> ligne**

Le traitement de référence associe une phase de chimiothérapie suivie de l'irradiation des territoires ganglionnaires initialement atteints pour les stades localisés sus-diaphragmatiques et une chimiothérapie exclusive pour les stades disséminés (19). Les deux principaux protocoles utilisés actuellement sont de type ABVD (Adriamycine, Bléomycine, Vinblastine, Dacarbazine) ou BEACOPP (Bléomycine, Etoposide, Doxorubicine,

Cyclophosphamide, Vincristine, Procarbazine, Prednisone). La stratégie thérapeutique est définie dans la figure 2 (19).



**Figure 2 : Stratégies thérapeutiques en fonction du stade du LyH selon les critères de l'EORTC (19).**

***b) Formes réfractaires et rechute***

La stratégie de traitement des formes réfractaires et des rechutes comprend une chimiothérapie de réduction tumorale suivie en cas de lymphome de Hodgkin chimio-sensible d'un conditionnement en vue d'une auto-greffe de cellules souches hématopoïétiques (20).

### 1.3. Physiologie ovarienne : la folliculogénèse

La croissance folliculaire comporte quatre grandes séquences : l'initiation, la croissance folliculaire basale, la sélection et la maturation pré-ovulatoire avec l'acquisition de la dominance décrites par Gougeon (21).

- L'initiation est le phénomène par lequel un follicule primordial quitte le *pool* des follicules quiescents et débute son développement. Cette entrée en croissance est permanente depuis la vie fœtale jusqu'à la ménopause. Elle est marquée par une croissance de l'ovocyte bloqué en prophase 1 de la méiose et par une modification des cellules de la granulosa qui deviennent cuboïdes. La transformation du follicule primordial en follicule secondaire, possédant plusieurs couches de cellules de la granulosa s'effectue sur une période de plusieurs mois. Les phénomènes à l'origine de l'activation des follicules ou de leur maintien ou repos sont de mieux en mieux connus, notamment grâce aux invalidations de gènes réalisées chez la souris. L'Hormone Anti-Müllerienne (AMH) et son récepteur (AMHRII), exprimés par les cellules de la granulosa des follicules en croissance seraient un des facteurs de maintien du stock de follicules primordiaux (22). La population de follicules en croissance exercerait un rétrocontrôle négatif sur l'activation du stock de follicules quiescents (23).

- Puis la croissance folliculaire basale, indépendante des gonadotrophines, débute par la transformation des follicules secondaires en follicules préantraux. La suite, caractérisée par l'accumulation de liquide dans l'antrum et la multiplication des cellules de la granulosa et de la thèque interne se poursuivra pendant encore 40 jours pour aboutir à la formation de follicules à antrum de 2mm. Les follicules ayant débuté leur croissance basale 70 jours plus tôt deviennent des follicules sélectionnables. Leur taille est comprise entre 2 et 5mm (24). Ils acquièrent à ce stade une plus grande sensibilité à la FSH alors que le nombre de récepteurs de cette hormone n'est pas modifié (25). Avant la puberté et l'activation de l'axe

gonadotrope, tous les follicules arrivant à ce stade de follicule antral évolueront donc vers l'atrésie.

- Enfin, la croissance folliculaire terminale, dépendante des gonadotrophines, démarre à la puberté. L'action de la FSH sur son récepteur, exprimé au niveau des cellules de la granulosa, permet à une cohorte de follicules antraux de poursuivre leur croissance et d'échapper ainsi au phénomène d'atrésie. Au cours de la maturation préovulatoire, le follicule sélectionné augmente de taille : ceci est lié à l'accumulation de liquide folliculaire dans l'antrum et à la prolifération des cellules de la granulosa dont le nombre est compris entre 2 et 5 millions en début de phase folliculaire et entre 50 et 100 millions au moment de l'ovulation (21).

En fin de phase folliculaire, les cellules de la granulosa du follicule dominant sont le siège de nombreuses modifications morphologiques. A partir du milieu de la phase folliculaire, on observe une augmentation de la vascularisation thécale du follicule préovulatoire. Sur le plan fonctionnel, la maturation préovulatoire se caractérise par une augmentation considérable de la capacité des cellules de la granulosa à produire de l'œstradiol qui est liée à une augmentation de l'activité aromatasase (26).

L'activité aromatasase est essentiellement stimulée par la FSH. Mais, au niveau des cellules de la granulosa, d'autres mécanismes de type autocrines (notamment grâce aux *Insulin like Growth factor*) agissent en synergie avec la FSH et constituent un puissant stimulateur de cette activité enzymatique (27). Par ailleurs, les cellules de la granulosa du follicule pré-ovulatoire acquièrent des récepteurs à l'Hormone Lutéinisante (LH) (25) en phase folliculaire. Cette hormone agit également en synergie avec la FSH et induit une augmentation importante de la synthèse d'œstradiol. Dès que la croissance folliculaire est stimulée, l'augmentation de la sécrétion d'œstradiol et la maturation folliculaire se

poursuivent malgré la diminution progressive de la FSH circulante (secondaire au rétrocontrôle négatif de l'estradiol sur l'axe hypothalamo-hypophysaire).

Les mécanismes exacts de la sélection et de la dominance sont encore peu connus, mais il est clairement établi que les follicules dominants sont plus sensibles à la FSH, du fait d'une augmentation de l'expression du récepteur de la FSH et/ou de la LH, ou de l'augmentation de facteurs locaux favorisant la réponse à la FSH. De nombreuses études ont ainsi montré l'importance en particulier du système IGF dans l'amplification de l'action de la FSH. Les cellules de la granulosa du follicule pré-ovulatoire dominant semblent donc plus sensibles à la FSH que celles des follicules sélectionnables.

Enfin, l'ovulation se caractérise par l'expulsion de l'ovocyte mur. Le pic de LH et de FSH, déclenché par le dépassement d'une concentration seuil de l'estradiol pendant une période de 48h, marque cette période de transition.

Les différentes étapes de la folliculogénèse sont représentées dans la figure 3.

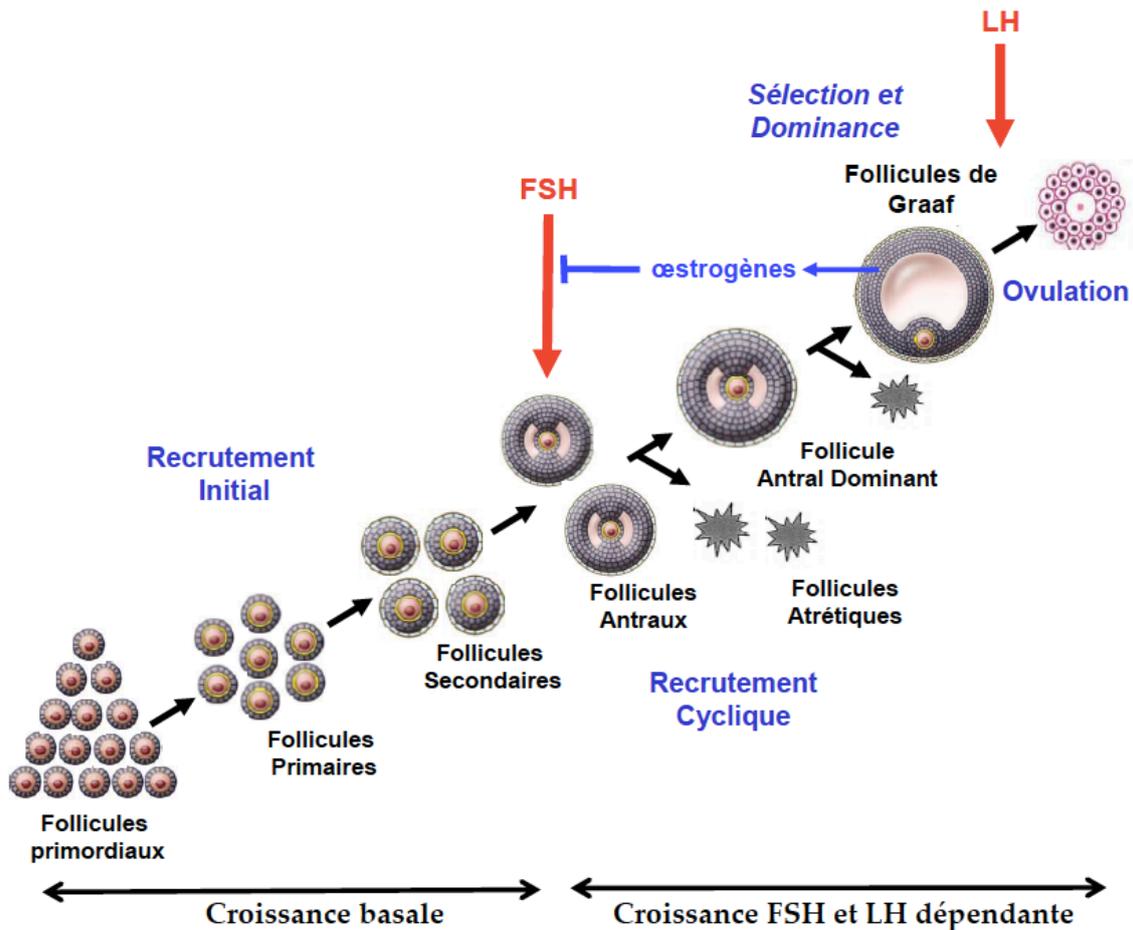


Figure 3 : La croissance folliculaire, adaptée de McGee et Hsueh (28) .

## 1.4. Gonadotoxicité des protocoles de chimiothérapie

### 1.4.1. Mécanismes de toxicité ovarienne

La chimiothérapie agit sur l'ovaire en induisant une déplétion folliculaire pouvant aboutir au maximum à une insuffisance ovarienne prématurée. L'importance de l'altération du stock folliculaire dépend du type de molécule utilisée, de leur association ainsi que des paramètres d'évaluation du statut folliculaire ovarien avant le début des traitements et de l'âge de la patiente. Plusieurs mécanismes de gonadotoxicité sont impliqués en fonction du type de molécule. La principale hypothèse concernant la toxicité ovarienne aiguë s'expliquerait par une atteinte directe des cellules de la granulosa des follicules et des cellules germinales qui

conduirait à une apoptose (29). Des mécanismes vasculaires et une fibrose du tissu ovarien sont peut être également impliqués (30). Plus récemment, la théorie du « burn-out » a été proposée comme un des mécanismes de déplétion folliculaire. La chimiothérapie, notamment le cyclophosphamide, induirait une levée des mécanismes inhibiteurs destinés à maintenir en quiescence les follicules primordiaux. La conséquence en serait une brutale entrée en croissance des follicules qui deviennent alors extrêmement chimiosensibles et s'atrécient, induisant une perte folliculaire massive (31).

#### 1.4.2. Fonction ovarienne après chimiothérapie

La gonadotoxicité d'un traitement est multifactorielle, dépendant principalement du type d'agent chimiothérapeutique et de la dose administrée. Un tableau récapitulatif des différents agents en fonction d'un risque élevé/intermédiaire/bas de gonatotoxicité a été proposé par Donnez *et al.* (Tableau 3) (32).

**Tableau 3 : Agents cytotoxiques selon leur degré de toxicité (32).**

Risque élevé	Risque intermédiaire	Risque bas / Pas de risque
Cyclophosphamide	Doxorubicine	Méthotrexate
Busulfan	Cisplatine	Bléomycine
Melphalan	Carboplatine	5-Fluorouracil
Chlorambucil		Actinomycine – D
Dacarbazine		Mercaptopurine
Procarbazine		Vincristine
Ifosfamide		
Thiotépa		
Moutarde azotée		

La majorité des données disponibles sur la fonction ovarienne post-chimiothérapie a comme principal indicateur l'aménorrhée, qui est un facteur très imparfait, souvent synonyme d'insuffisance ovarienne extrême. Les paramètres d'évaluation les plus objectifs seraient le taux de grossesses cliniques et le taux de naissances vivantes, chez les patientes désirant une grossesse après chimiothérapie. Cependant, ces paramètres sont difficilement évaluables. En effet, un délai est nécessaire entre la fin de la chimiothérapie et le début d'un projet parental : d'une part du fait d'une période de sur-risque de rechute évaluée entre 2 et 5 ans selon le type de pathologie et d'autre part à cause de l'altération génétique des gamètes avec un risque tératogène persistant pendant environ 6 mois après la fin de la chimiothérapie (33). La plupart des études ont une période de suivi trop courte pour atteindre cet objectif. Depuis quelques années, la gonadotoxicité des chimiothérapies est évaluée par les marqueurs du statut folliculaire ovarien, notamment le compte des follicules antraux (CFA) et la mesure de l'AMH sérique (34).

Les études récentes concernant les chimiothérapies pour cancer du sein incluant des schémas avec taxanes montrent que le taux d'insuffisance ovarienne prématurée après chimiothérapie pour cancer du sein est de 60-80% (35). Dans l'étude de Tham *et al.*, seulement 40% des patientes de moins de 40 ans retrouvent des cycles réguliers après un épisode d'aménorrhée. L'adjonction de taxanes et un âge de plus de 40 ans étaient des facteurs supplémentaires de risque d'insuffisance ovarienne prématurée (36). Les chiffres de l'essai du NSABP B-30 (*National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project*) allaient dans le même sens. L'âge constitue le facteur de risque principal d'insuffisance ovarienne prématurée, la dose de cyclophosphamide nécessaire pour induire une aménorrhée chez une femme de 40 ans étant 4 fois moins importante que chez une femme de 30 ans (37). Par ailleurs, les taux de grossesses naturelles après traitement d'un cancer du sein sont de l'ordre de 11% avant 40 ans (38).

La gonadotoxicité de la chimiothérapie utilisée dans le LyH varie considérablement en fonction du protocole utilisé. La 1<sup>ère</sup> ligne de traitement consiste le plus souvent en une administration d'AVBD, ne contenant pas d'agent alkylant, et de fait peu gonadotoxique (39). Une étude récente rapporte le retour des taux d'AMH à leurs valeurs initiales 12 mois après la fin du traitement (40). La nécessité d'une PF avant initiation de la chimiothérapie peut néanmoins être recommandée en fonction de l'âge et des paramètres de la réserve ovarienne en pré-traitement. De plus, ces patientes sont exposées à un risque de rechute avec intensification de la chimiothérapie et de second cancer notamment mammaire du fait de la potentielle radiothérapie sus diaphragmatique (41).

Dans les autres protocoles de chimiothérapie réservés aux formes de moins bon pronostic ou plus avancées, en particulier le BEACOPP, les paramètres de la réserve ovarienne sont impactés, notamment car ils comprennent des alkylants. Le groupe allemand d'étude des lymphomes a regroupé une cohorte de 232 patientes de moins de 40 ans en rémission à un an ayant reçu de la chimiothérapie de type BEACOPP : sur 51% des patientes qui avaient un désir d'enfant, seulement 15% avaient obtenu une grossesse à 4 ans (42).

## **1.5. Techniques de préservation de la fertilité**

### **1.5.1. Prévention médicamenteuse par les agonistes de la GnRH**

La place des agonistes de la GnRH (GnRHa) dans la préservation de la réserve ovarienne reste encore mal définie. Tout d'abord, le rationnel de l'utilisation des GnRHa en cours de chimiothérapie présente un certain nombre de limites. En effet, l'entrée en croissance des follicules primordiaux est indépendante de la FSH, qui n'intervient qu'à partir du stade antral. Par conséquent, comment concevoir le potentiel effet d'un effondrement des sécrétions de FSH induit par les GnRHa, sur la protection du stock de follicules primordiaux pas ou peu

sensibles à la FSH ? Une action via une modification de la vascularisation ovarienne pourrait être envisagée (43).

L'étude POEMS (*Prevention of Early Menopause Study*) a montré, chez 135 patientes atteintes de cancer du sein non hormono-dépendant ayant reçu concomitamment une chimiothérapie et un GnRHa, une diminution significative de l'incidence de l'insuffisance ovarienne prématurée, comparativement à des femmes n'ayant été traitée que par chimiothérapie (8% vs 22% ; OR = 0.30, IC = 0.09-0.97, p=0.04, respectivement) mais également une augmentation des taux de grossesses chez un petit nombre de patientes (44). Ces données vont dans le même sens que celles obtenues dans l'étude PROMISE-GIM6 réalisée en 2011 (45) et dans la méta-analyse de la Cochrane. Cette dernière n'incluait que 4 études comprenant 157 patientes avec une durée moyenne de suivi de moins d'un an (46).

En dépit de ces résultats attestant de l'effet bénéfique des GnRHa sur la fonction ovarienne post-chimiothérapie, un grand nombre de publications n'a pu retrouver cet effet (47)(48). Dernièrement, une méta-analyse incluant 907 patientes n'a pas montré d'effet protecteur des GnRHa sur le taux d'aménorrhée. Les critères secondaires tels que le taux d'AMH, le CFA et le taux de naissances spontanées étaient également identiques chez les patientes ayant ou non reçu les GnRHa (49).

Malgré une efficacité controversée (50), cette stratégie de PF présente des avantages indéniables, notamment le fait qu'elle ne nécessite aucun délai d'action, n'induit pas de stimulation ovarienne et ne comprend pas d'intervention chirurgicale supplémentaire. Elle a par ailleurs un rôle contraceptif et l'absence de règles en période de chimiothérapie peut être bénéfique. Les effets secondaires sont toutefois à prendre en compte : bouffées de chaleur, sécheresse vaginale et possiblement un déficit en minéralisation osseuse. L'utilisation des

GnRHa en PF doit donc s'inscrire dans une démarche éclairée de la patiente dans le cadre d'essais cliniques.

### **1.5.2. Protocoles de stimulation ovarienne en vue de cryopréservation ovocytaire et/ou embryonnaire**

La cryopréservation embryonnaire existe depuis une trentaine d'années et est utilisée quotidiennement dans les centres d'assistance médicale à la procréation. Cette technique a été pendant longtemps la seule considérée comme non expérimentale en PF. Depuis janvier 2013, la congélation ovocytaire peut également être proposée comme une technique de choix (51), du fait de résultats en constante amélioration (52). La technique de vitrification a récemment supplanté la congélation lente, tant pour les embryons que pour les ovocytes. Elle consiste en une descente très rapide en température à l'aide de très fortes doses d'agents cryoprotecteurs, sans formation de cristaux de glace, ce qui permet l'obtention d'excellents taux de survie lors de la décongélation (53). La littérature hors contexte d'oncofertilité montre, qu'avant 38 ans, la vitrification de 8 ovocytes aboutit à environ 46% de chances de grossesses après technique d'ICSI (*IntraCytoplasmic Sperm Injection*)(54). Actuellement, aucun sur-risque obstétrical et périnatal après utilisation de la technique de la vitrification ovocytaire n'a été montré (55). Le choix d'une cryopréservation d'embryons et d'ovocytes ne doit donc pas se faire sur les chances de réussite mais après une discussion éclairée avec la patiente. Si la patiente est en couple et souhaite préserver des embryons, elle ne pourra les réutiliser qu'avec son partenaire actuel, les conséquences d'une telle décision poussent souvent les patientes à partager la cohorte des ovocytes, une part en cryopréservation embryonnaire, une part en vitrification ovocytaire. Le pré-requis reste alors l'obtention d'une cohorte ovocytaire suffisante.

### **a) Modalités de stimulation**

Les modalités de stimulation ovarienne sont globalement identiques à celles utilisées pour les couples infertiles indemnes de toute pathologie cancéreuse. L'objectif est d'amener plusieurs follicules antraux (5 mm de diamètre environ) au stade pré-ovulatoire (16-22 mm de diamètre). Ainsi, il sera nécessaire de combiner l'apport d'une activité FSH et un blocage de l'ovulation afin de faire grossir et mûrir les follicules antraux tout en bloquant l'ovulation (qui empêcherait la récupération des ovocytes lors de la ponction). Lorsqu'un nombre suffisant de follicules a atteint le seuil pré-ovulatoire, il conviendra d'administrer une activité LH, nommée « déclenchement de l'ovulation », dont l'objectif sera d'initier les premières étapes de l'ovulation (reprise de la méiose ovocytaire notamment), sans toutefois attendre la rupture folliculaire. Ainsi, le prélèvement ovocytaire est réalisée par ponction transvaginale échoguidée, sous anesthésie locale ou générale, environ 36h après le déclenchement de l'ovulation. Les ovocytes recueillis, mûris *in vivo* grâce à l'apport de FSH exogène, pourront être immédiatement vitrifiés et/ou fécondés pour une cryopréservation embryonnaire.

- **Doses de FSH exogène**

La stimulation ovarienne devra être suffisamment forte pour obtenir un maximum d'ovocytes matures, en évitant les complications pouvant retarder l'initiation du traitement anticancéreux, en particulier le syndrome d'hyperstimulation ovarienne. La dose optimale de gonadotrophines sera choisie en fonction des marqueurs du statut folliculaire ovarien (dosage de l'AMH sérique et CFA) en tenant compte d'un possible risque de mauvaise réponse.

- **« Random-start » et double cycle de stimulation**

Classiquement, une stimulation ovarienne dure de 12 à 15 jours et est initiée en phase folliculaire précoce (2<sup>ème</sup> – 3<sup>ème</sup> jours du cycle). Il est désormais établi qu'il est possible de recueillir des ovocytes après une stimulation démarrée à n'importe quel moment du cycle, avec des résultats comparables (56). Ceci tient au fait qu'il existerait plusieurs vagues de recrutement folliculaire au cours d'un cycle menstruel, avec l'apparition régulière de nouveaux follicules antraux, sensibles à la FSH (57). Le rendement de la stimulation ovarienne est comparable quelle que soit la phase du cycle à laquelle le traitement est démarré, avec un même nombre d'ovocytes matures récupérés (58). La qualité ovocytaire n'est, par ailleurs, pas impactée négativement par ces « *random start protocols* » dans la mesure où l'ovocyte est dénué de récepteurs à la progestérone, hormone dont les concentrations sériques sont élevées dans les stimulations initiées en phase lutéale. Par ailleurs, il est possible de pratiquer deux cycles de stimulations successives chez une même patiente sans retarder de manière significative le délai entre le début de la chimiothérapie et la chirurgie dans les cas de cancer du sein (59). Cela sous-tend que les patientes soient vues rapidement en consultation d'oncofertilité. Les patientes ayant pu bénéficier de deux cycles de stimulation ont finalement eu deux fois plus d'embryons ou d'ovocytes vitrifiés. Le taux de récurrence de cancer du sein était identique après un ou deux cycles de stimulation avec un suivi médian de 57.6 mois.

- **Déclenchement par les agonistes de la GnRH**

La prévention du syndrome d'hyperstimulation ovarienne fait actuellement appel à de nouvelles techniques de déclenchement de l'ovulation. Classiquement, l'activité LH nécessaire à la maturation folliculaire finale était donnée sous forme d'hCG (Hormone chorionique gonadotrope humaine). Cependant, il a été montré qu'elle pouvait, en cas de forte

réponse à la stimulation ovarienne, constituer le *primum movens* du syndrome d'hyperstimulation ovarienne, complication potentiellement létale. Ce risque tient en particulier à la longue demi-vie de l'hCG, induisant une libération de *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF), à l'origine de la cascade des complications notamment thromboemboliques (60). Plus récemment, il a été proposé de déclencher l'ovulation par des GnRHa. En effet, une administration d'un GnRHa de courte durée d'action induit, par effet « *flare up* », une décharge de LH (et de FSH) suffisante pour déclencher l'ovulation. La fugacité de la décharge de LH aboutit au même effet que l'hCG, en annihilant quasiment la survenue du syndrome d'hyperstimulation ovarienne (61). Une étude récente chez des donneuses d'ovocytes a montré la non-infériorité du déclenchement de l'ovulation par GnRHa comparativement à l'hCG, en terme d'échecs de déclenchement et de nombre d'ovocytes matures recueillis (61). Cependant quelques cas d'échec de réponse au déclenchement par GnRHa ont été rapportés, avec la possibilité, en cas d'échec de récupération d'ovocytes à la ponction du 1<sup>er</sup> ovaire, de re-déclencher l'ovulation à l'hCG 36h avant de prélever le second ovaire. Ceci s'est avéré efficace chez 11 patientes sur 13 ayant « résisté » au déclenchement par GnRHa (62). On peut également proposer un dosage de la LH le lendemain du déclenchement afin d'écartier toute erreur de traitement ou inefficacité de l'injection. Ainsi, en l'absence de réponse au GnRHa, une administration d'hCG sera réalisée.

#### **b) Particularités du cancer du sein**

Si on se réfère à l'Autorisation de mise sur le marché des médicaments utilisés dans la stimulation ovarienne, leur utilisation est contre-indiquée en cas de cancer du sein. Cela tient au fait qu'elle s'associe à des valeurs d'estradiol sérique pouvant atteindre pendant une dizaine de jours, des valeurs allant jusqu'à dix fois celles d'un cycle menstruel naturel. Cependant, depuis quelques années, de nombreuses équipes pratiquent cette stimulation

ovarienne dans le cadre de la PF pour cancer du sein, dans le but d'offrir aux patientes les meilleures chances futures de grossesse. La tentative de stimulation ovarienne est le plus souvent unique, avec un protocole adapté au profil de chaque patiente. En France, de plus en plus d'oncologues valident, après concertation pluri-disciplinaire, la possibilité de recourir à une vitrification ovocytaire ou embryonnaire après stimulation ovarienne. Les indications incluent systématiquement une chirurgie première.

Pour tenter de limiter l'impact des concentrations d'estradiol supra-physiologiques sur les cellules tumorales, des protocoles spécifiques ont été proposés associant une administration de gonadotrophines exogènes à des molécules anti-estrogènes. Les premiers travaux ont initialement étudié les stimulations ovariennes avec adjonction de tamoxifène. Cette molécule, en entrant en compétition avec les estrogènes au niveau de leur récepteur spécifique, limite l'effet des stéroïdes notamment au niveau du tissu mammaire. Il est bien démontré que le tamoxifène possède la capacité de réduire significativement les récurrences de l'adénocarcinome mammaire chez les femmes ayant toujours une fonction ovarienne. Ces données constituent le rationnel de l'utilisation du tamoxifène en cours de stimulation ovarienne chez les femmes candidates à une préservation de la fertilité pour cancer du sein. Cependant, en interrompant la boucle de rétrocontrôle négative des estrogènes sur l'axe hypothalamo-hypophysaire, le tamoxifène entraîne, chez la femme pré-ménopausée, des concentrations sériques d'estradiol classiquement rencontrées chez les femmes traitées en assistance médicale à la procréation ( $> 1000$  pg/mL) (63).

Rapidement, les anti-aromatases, limitant la production d'estrogènes par les follicules en croissance, ont été préférés aux protocoles utilisant le tamoxifène. En effet, l'utilisation du létrozole est très intéressante pour maintenir des taux physiologiques d'estradiol sériques au cours de la stimulation. Ainsi, bien qu'étant fortement découragée par le laboratoire sur les bases d'une étude avec de nombreux biais méthodologiques qui a montré une augmentation

des risques de malformations liés à l'utilisation de cette molécule (64), l'utilisation du létrozole est fréquente en PF chez les patientes présentant un cancer du sein (65). Son innocuité est d'ailleurs de plus en plus décrite dans la littérature, notamment chez les patientes présentant un syndrome des ovaires polykystiques (66). Une étude récente sur 750 femmes infertiles avec syndrome des ovaires polykystiques, incluses dans un protocole d'induction de l'ovulation, a montré sa supériorité en terme de grossesses par rapport à du citrate de clomifène sans augmentation significative du nombre de malformations observées (67).

### **1.5.3. Maturation ovocytaire *in vitro* (MIV)**

La vitrification embryonnaire ou ovocytaire est maintenant possible à partir d'ovocytes ponctionnés immatures puis maturés secondairement *in vitro*. La MIV consiste en un recueil de complexe cumulo-ovocytaires par ponction transvaginale échoguidée des petits follicules antraux. Les ovocytes, récupérés dans du sérum hépariné, au stade de vésicule germinative, sont maturés dans un milieu spécifique contenant de la FSH, de la LH et du sérum décomplémenté de la patiente. Seuls les ovocytes maturés *in vitro* après 24h à 48h, ont la capacité d'être fécondés ou vitrifiés.

Cette technique présente 2 principaux avantages :

- Elle est réalisable en urgence sans traitement préalable, quelle que soit la phase du cycle.
- Elle ne nécessite pas de stimulation ovarienne préalable et n'induit donc pas d'élévation supra-physiologique d'estradiol.

La MIV est donc particulièrement intéressante pour les patientes ayant une indication urgente de chimiothérapie, ce qui est souvent le cas dans le cadre des hémopathies, ou pour les patientes présentant une contre-indication à la stimulation ovarienne (patientes présentant

un cancer du sein avec une indication de chimiothérapie néo-adjuvante par exemple). D'abord développée pour les patientes présentant un syndrome des ovaires polykystiques exposées à un risque accru de syndrome d'hyperstimulation ovarienne, la MIV a vu ses indications s'élargir : patientes porteuses de mutations des récepteurs de la FSH, donneuses d'ovocytes et enfin prise en charge en oncofertilité (68). On considère qu'environ 5000 enfants sont issus de MIV, avec pour le moment un devenir comparable à celui des enfants nés après FIV (69).

Le nombre final d'ovocytes vitrifiés à l'issue de la MIV varie entre 6 et 12 (70), en fonction du CFA initial. Ces chiffres sont relativement similaires à ceux du nombre d'ovocytes vitrifiés après stimulation ovarienne avec un protocole utilisant les inhibiteurs de l'aromatase (71). Cependant, le potentiel des ovocytes issus de MIV est vraisemblablement moindre comparativement à celui de gamètes recueillis après administration de gonadotrophines exogènes (72).

#### **1.5.4. Cryopréservation de tissu ovarien**

Bien que la cryopréservation de tissu ovarien soit encore considérée comme expérimentale, elle représente la seule technique offrant la possibilité d'une restitution ovarienne exocrine et endocrine (73). De plus, le cortex ovarien étant riche en follicules primordiaux, la congélation de fragments de corticales permet de préserver un grand nombre d'ovocytes, et ainsi d'envisager plusieurs grossesses chez les patientes candidates à une greffe dans les suites du cancer. Cette technique est actuellement en plein essor.

La cryopréservation de tissu ovarien requiert le prélèvement de tout ou une partie d'un ovaire, le plus souvent par coelioscopie. La congélation de fragments ovariens est une technique fiable en terme de survie folliculaire (74). La greffe peut se faire en site

orthotopique, dans le pelvis, ou hétérotopique (tissu sous-cutané de l'avant bras ou de la paroi abdominale) (75).

Il y a actuellement dans la littérature une soixantaine de grossesses obtenue après transplantation de tissu ovarien congelé qui sont décrites, la majorité après greffe orthotopique (76) . Un des intérêts de la cryopréservation de tissu ovarien est de pouvoir se combiner à un recueil d'ovocytes immatures en vue d'une MIV et vitrification ovocytaire ou embryonnaire. Le prélèvement peut alors se pratiquer *in vivo* , avant la cœlioscopie, ou *ex vivo*, sur la pièce d'ovariectomie (77). Cette combinaison des techniques peut s'avérer particulièrement utile lorsque la transplantation du cortex cryopréservé ne peut être encore envisagée, notamment dans les contextes de pathologies à fort risque d'invasion ovarienne par les cellules malignes (78). Concernant les cancers du sein à un stade localisé et le LyH, les données sont rassurantes (79)(78). De nouvelles techniques sont en cours de recherche pour éviter la transmission de cellules malignes lors de la greffe, en particulier la folliculogénèse *in vitro* (80).

#### **1.5.5. Résultats en oncofertilité**

Dans des contextes de PF pour cancers, 2 naissances ont été rapportées après MIV (81)(82), moins d'une vingtaine après stimulation ovarienne et cryopréservation ovocytaire et environ soixante après ré-implantations de tissu ovarien. Les patientes doivent par conséquent être informées des possibilités d'échecs lors de la réutilisation des gamètes ou tissu congelés.

## 1.6. Le FORT (Follicular Output RaTe), un nouvel outil

Le Follicular Output RaTe (FORT) est un nouvel outil d'évaluation de la sensibilité des follicules sélectionnables à la FSH au cours de la stimulation ovarienne. En effet, lors d'une fécondation *in vitro*, seuls les follicules sélectionnables sont capables de répondre aux gonadotrophines exogènes (83). La qualité de la réponse ovarienne est classiquement définie par le nombre d'ovocytes recueillis lors de la ponction des follicules matures. Cependant, ce paramètre est largement dépendant du statut folliculaire ovarien initial de la patiente, notamment du nombre de follicules antraux précoces mesurés en phase folliculaire initiale d'un cycle naturel. Ainsi, un des critères fondamentaux pour pouvoir caractériser la réponse d'une patiente à la stimulation ovarienne est représenté par l'efficacité et le rendement de cette dernière. Au cours des dernières années, a été proposée l'utilisation d'un nouveau paramètre, indépendant de la taille de la cohorte de follicules antraux précoces « pré-traitement », pour évaluer le rendement de la stimulation ovarienne. Ce paramètre, dénommé FORT, est calculé à partir du rapport des follicules pré-ovulatoires (16 à 22 mm de diamètre) au jour du déclenchement de l'ovulation (J DO) x 100 / nombre de follicules à petit antrum (3-8 mm de diamètre) au moment du démarrage de la stimulation.

$$\text{Follicular Output RaTe} = \frac{\text{Nombre de follicules pré-ovulatoires (16-22 mm) le jour du déclenchement} \times 100}{\text{Compte des follicules antraux (3-8 mm) avant le début de la stimulation}}$$

Les premiers travaux faisant appel au FORT ont eu pour objectif d'analyser la relation entre ce paramètre et les valeurs d'AMH sérique. En effet, cette hormone, comme on l'a vu précédemment, inhiberait l'initiation du recrutement des follicules primordiaux (23) mais aurait également un rôle dans la réduction de la sensibilité des follicules à la FSH (84). Ainsi, Genro *et al.* (85), ont montré que le pourcentage de follicules qui répondent effectivement à la FSH exogène en atteignant le stade pré-ovulatoire était négativement et indépendamment lié aux taux sériques d'AMH. Ce résultat va dans le sens d'un effet inhibiteur de l'AMH sur la sensibilité des follicules à la FSH.

Deux études ont ensuite tenté de démontrer que le FORT était non seulement un indicateur quantitatif de la réponse des follicules à la FSH, indépendant de la réserve ovarienne de base, mais aussi un marqueur de la qualité de la réponse ovarienne : une première étude, ayant divisé une population de 302 patientes avec des cycles normo-ovulatoires en 3 groupes en fonction de la valeur de leur FORT, retrouvait un nombre d'ovocytes ponctionnés, un taux d'implantation et un taux de grossesses d'autant meilleur que le FORT était élevé (>58%) (86).

Une autre étude, incluant 1503 cycles de stimulation chez des patientes normo-ovulatoires, a montré que le groupe de patientes ayant un FORT élevé (> 73%) avait plus d'embryons de TOP qualité et des taux d'implantation et de grossesse clinique significativement meilleurs (87). Le FORT pourrait par conséquent représenter un facteur prédictif des taux de succès en assistance médicale à la procréation, indépendamment de l'âge de la patiente.

La diminution de la sensibilité des follicules antraux à la FSH exogène pourrait témoigner d'un certain degré de dysfonction ovarienne, en particulier au niveau des cellules de la granulosa (86).

Dans le domaine de la PF, si des études se sont intéressées à la réponse ovarienne à la stimulation, elles n'ont pris que pour seul critère de jugement le nombre d'ovocytes recueillis et congelés. L'index FORT n'a pour le moment pas fait l'objet de travaux publiés même si des résultats préliminaires ont déjà été rapportés, comparant des femmes candidates à une PF à un groupe de patientes infertiles (88). Il a ainsi été montré que le FORT était identique dans les 2 populations.

## 2. Objectifs

---

La stimulation ovarienne suivie d'une ponction folliculaire et d'une vitrification des ovocytes matures obtenus est la technique de PF la plus reconnue de nos jours. Cependant, l'impact possible de la maladie cancéreuse sur la fonction ovarienne et la réponse à la FSH exogène reste controversé.

L'objectif principal de ce travail était de comparer la sensibilité des follicules antraux à la FSH exogène, évaluée par le FORT, chez des patientes candidates à une PF par vitrification ovocytaire dans un contexte de cancer du sein ou de LyH.

Les objectifs secondaires visaient par ailleurs à comparer le taux de maturation ovocytaire et le nombre d'ovocytes matures congelés au sein de ces 2 populations.

### 3. Patientes et Méthodes

---

#### 3.1. Population étudiée

Il s'agissait d'une étude de cohorte, prospective et unicentrique, qui s'est déroulée de juillet 2013 à avril 2015, dans le service de médecine de la reproduction du CHU de Jean Verdier.

Les critères d'inclusion étaient :

- Patientes adressées dans le service en vue d'une PF, atteintes d'un cancer du sein ou d'un LyH,
- Accord de l'oncologue référent de la patiente pour une stimulation ovarienne,
- Cycles réguliers de 25 à 35 jours,
- 2 ovaires présents sans anomalies échographiques (kyste, endométriome) et correctement visibles en échographie,
- Patiente non vierge.

Les critères d'exclusion étaient :

- Antécédent d'ovariectomie unilatérale,
- Patiente présentant un syndrome des ovaires polykystiques selon les critères de Rotterdam (89),
- Antécédent de chimiothérapie.

Toutes les patientes atteintes d'un cancer du sein avaient bénéficié d'un traitement chirurgical conservateur ou radical avant le début de l'hyperstimulation ovarienne contrôlée.

Au cours de la consultation dédiée à la PF, les patientes rencontraient un gynécologue, un biologiste et éventuellement un anesthésiste en fonction de leur choix de mode d'anesthésie. Par ailleurs, après discussion, les patientes en couples décidaient en accord leur conjoint, de congeler des ovocytes matures et/ou des embryons.

### **3.2. Protocoles de stimulation ovarienne**

Chaque patiente bénéficiait d'une évaluation du statut folliculaire ovarien (dosage d'AMH sérique, CFA) avant le début de la stimulation. La dose de départ de FSH exogène recombinante (Gonal-F<sup>®</sup>, Merck-Serono Pharmaceuticals, France) était définie en fonction des caractéristiques de la patiente : âge, indice de masse corporelle (IMC), et CFA. Dans les 2 groupes, l'utilisation d'un protocole par antagoniste de la GnRH était systématique. La FSH recombinante était débutée au dosage initial pendant au moins 5 jours puis ajustée en fonction du taux d'estradiol et du nombre de follicules en croissance. En fonction de la phase du cycle à laquelle était débutée la stimulation, l'antagoniste de la GnRH (acétate de ganirelix, Orgalutran<sup>®</sup> 0.25 mg, MSD, France), était soit initié au 6<sup>ème</sup> jour de la stimulation ou concomitamment à la FSH exogène. Selon le degré d'urgence de la procédure de PF, les patientes pouvaient être amenées à débuter leur stimulation à tout moment pendant leur cycle. En fonction de leur bilan sanguin et échographique réalisé avant la stimulation, 3 types de situation étaient rencontrés :

- Patiente en phase folliculaire précoce, définie par un taux de progestérone sanguin <1.5 ng/mL et l'absence de follicules > 12mm de diamètre, le protocole était similaire aux stimulations ovariennes pour patientes infertiles.
- Patiente en phase lutéale, définie par un taux de progestérone > 3ng/mL et la présence

d'un corps jaune à l'échographie, l'antagoniste de la GnRH était débuté concomitamment à la FSH exogène.

- Patiente en phase folliculaire tardive, définie par un taux de progestérone sanguin  $< 1.5\text{ng/mL}$  et la présence de follicules  $> 12\text{ mm}$ . L'ovulation était déclenchée par un GnRHa (Triptoreline, Decapeptyl<sup>®</sup> 0.2 mg, Ipsen Pharma, France) afin d'induire une phase lutéale et d'obtenir une cohorte folliculaire homogène et de diamètre  $\leq 8\text{ mm}$ . Les dosages sanguins étaient refaits 3 jours plus tard pour confirmer le début de la phase lutéale (taux de progestérone sanguin  $> 3\text{ng/mL}$  et présence d'un corps jaune). Puis la stimulation était identique à celle en phase lutéale.

Les figures 4 et 5 montrent les schémas de stimulation en phase folliculaire précoce et en phase lutéale.

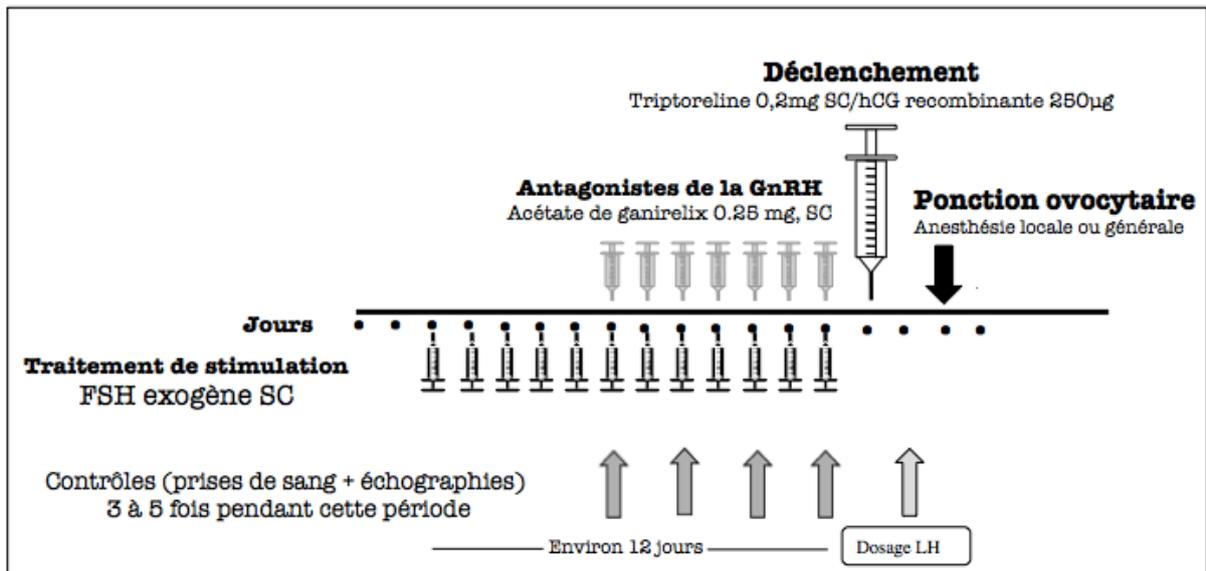


Figure 3 : Schéma thérapeutique en phase folliculaire précoce.

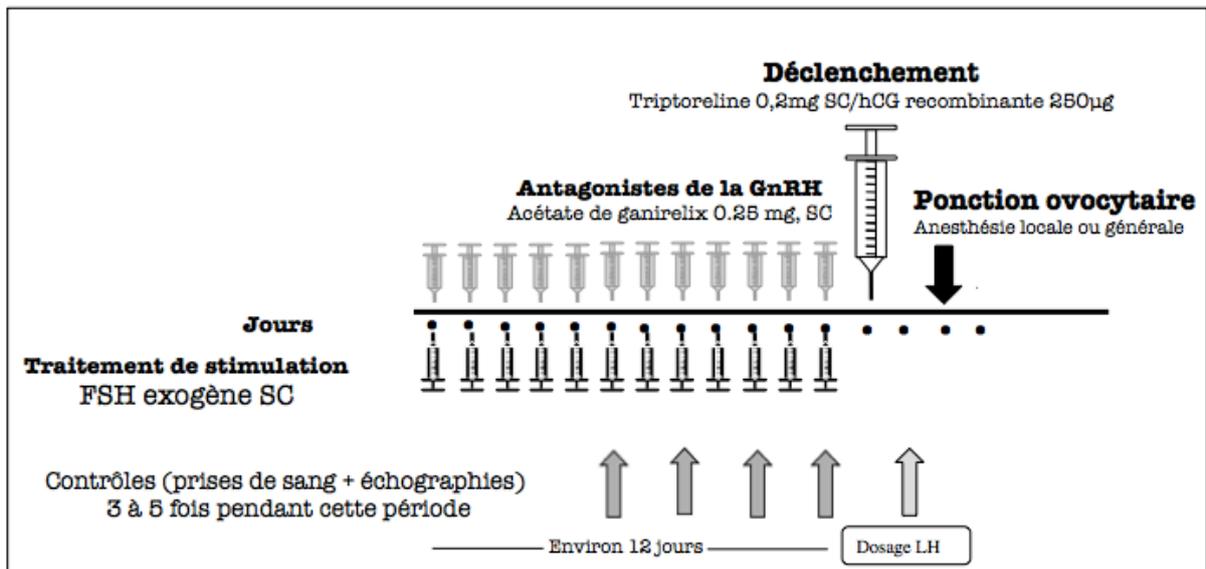


Figure 4 : Schéma thérapeutique en phase lutéale.

Le déclenchement de l'ovulation était réalisé par l'injection d'une activité LH par hCG recombinante (Ovitrelle<sup>®</sup> 250 µg, Merck-Serono Pharmaceuticals, France) ou GnRHα (Triptoreline, Decapeptyl<sup>®</sup> 0.2 mg, Ipsen Pharma, France), dès que plus de 4 follicules pré-ovulatoires (16-22 mm de diamètre) étaient observés. La ponction ovocytaire transvaginale échoguidée était réalisée sous anesthésie générale ou locale selon le désir de la patiente, 36 h après le déclenchement. Les ovocytes matures, identifiés par la présence d'un globule polaire après décoronisation, étaient vitrifiés. Une partie ou la totalité de la cohorte pouvait être fécondée par ICSI. Les embryons obtenus étaient ensuite congelés au stade zygote.

Aucune patiente n'a reçu d'inhibiteur de l'aromatase pendant la stimulation.

### **3.3. Echographie pelvienne et dosages hormonaux**

Un bilan de réserve ovarienne de base (j0), incluant une échographie pelvienne transvaginale et un prélèvement sanguin veineux pour dosages hormonaux de FSH, LH, 17β-estradiol (E<sub>2</sub>), progestérone (P<sub>4</sub>) et AMH, était réalisé le jour de la première consultation d'oncofertilité, au maximum 3 jours avant le début de la stimulation. Puis une échographie et un bilan hormonal de monitoring (LH, E<sub>2</sub>, P<sub>4</sub>) était réalisé régulièrement au cours de la stimulation, jusqu'au déclenchement de l'ovulation (J DO).

Les échographies d'évaluation de la réserve ovarienne et de monitoring de la stimulation, étaient réalisées par 2 opérateurs différents en aveugle des résultats des dosages hormonaux, grâce à une sonde endovaginale de 5.0 - 9.0 MHz (Voluson 730 Expert, General Electric Medical Systems, Paris, France). L'objectif de l'examen échographique était de recenser le nombre et la taille de tous les follicules de 3 à 22 mm de diamètre moyen (moyenne des 2 diamètres orthogonaux) dans chaque ovaire. Le mode harmonique (90)

permettait d'améliorer la résolution de l'image et d'avoir une meilleure visualisation de la limite des follicules.

Les dosages de P<sub>4</sub>, E<sub>2</sub> et LH étaient déterminés par un système automatisé multi-analyse utilisant la technologie de la chimiluminescence (Advia-Centaur, Bayer Diagnostics, Puteaux, France).

- Pour la P<sub>4</sub>, le seuil de détection était 0.10 ng/mL, avec une linéarité jusqu'à 60 ng/mL, et des coefficients de variation (CV) intra- et inter-analyse de 8% et 9%, respectivement.
- Pour l'E<sub>2</sub>, le seuil de détection était de 30 pg/mL, avec une linéarité jusqu'à 1000 pg/mL, et des CV intra- et inter-analyse de 8% et 9%, respectivement.
- Pour la LH, le seuil de détection était de 0.1 mUI/mL, et avec des CV intra- et inter-analyse de 3% et 5%, respectivement.

L'AMH était mesurée grâce à une méthode immuno-enzymatique (AMH Gen II ELISA, Beckman Coulter, Etats-Unis). Toutes les étapes respectaient les recommandations du fabricant. Le seuil de détection était de 0.1ng/mL. Les CV inter-analyse et intra-analyse étaient de 5.6% et 4.0%, respectivement.

### **3.4. Calcul du FORT**

Le FORT a été calculé comme décrit précédemment par le ratio entre le nombre de follicules pré-ovulatoires supérieurs à 16 mm au jour du déclenchement de l'ovulation (J DO) × 100 rapporté au nombre de follicules antraux vus à l'échographie de base (J0).

### **3.5. Analyses statistiques**

L'indicateur de tendance centrale utilisé était la moyenne et l'indicateur de dispersion était la déviation standard (SD) pour les données paramétriques. Les comparaisons statistiques entre les deux groupes ont été réalisées à l'aide de tests non-paramétriques de Wilcoxon-Mann Whitney dans le cas où la distribution n'était pas normale ou de tests t de Student avec correction de Welsh si la distribution était normale. Un seuil fixe de 5 % a été retenu pour le risque de première espèce.

## 4. Résultats

---

- *Caractéristiques de la population*

La population étudiée était composée de 63 patientes atteintes d'un cancer du sein et 32 d'un LyH, âgées de 19 à 40 ans.

Dans le groupe cancer du sein, 5 patientes ont été exclues du fait d'un antécédent d'ovariectomie (n=1), de chimiothérapie pour LyH préalable (n=1) ou de présence des critères de Rotterdam (n=3). Dans le groupe LH, 8 patientes qui avaient déjà reçu de la chimiothérapie pour LH (n=6), polyarthrite rhumatoïde (n=1), ou glomérulonéphrite (n=1) ont également été exclues.

Les stades selon la classification d'Ann Arbor des patientes atteintes d'un Lyh sont détaillés dans le tableau 4.

**Tableau 4 : Stades des patientes LH.**

Stades	Nombre de patientes
Stade 1	3
Stade 2	13
Stade 3	0
Stade 4	8

Concernant les patientes atteintes d'un cancer du sein, la population se composait ainsi du point de vue de l'examen anatomo-pathologique des biopsies : 55 carcinomes canaux infiltrants, 1 sarcome, 1 carcinome épidermoïde, 1 carcinome micro-papillaire invasif.

Seize patientes présentaient des cancers triples négatifs. Trente-cinq avaient des récepteurs hormonaux positifs. Le stade pTNM est détaillé dans le tableau 5.

**Tableau 5 : Stades pTNM des patientes cancer du sein.**

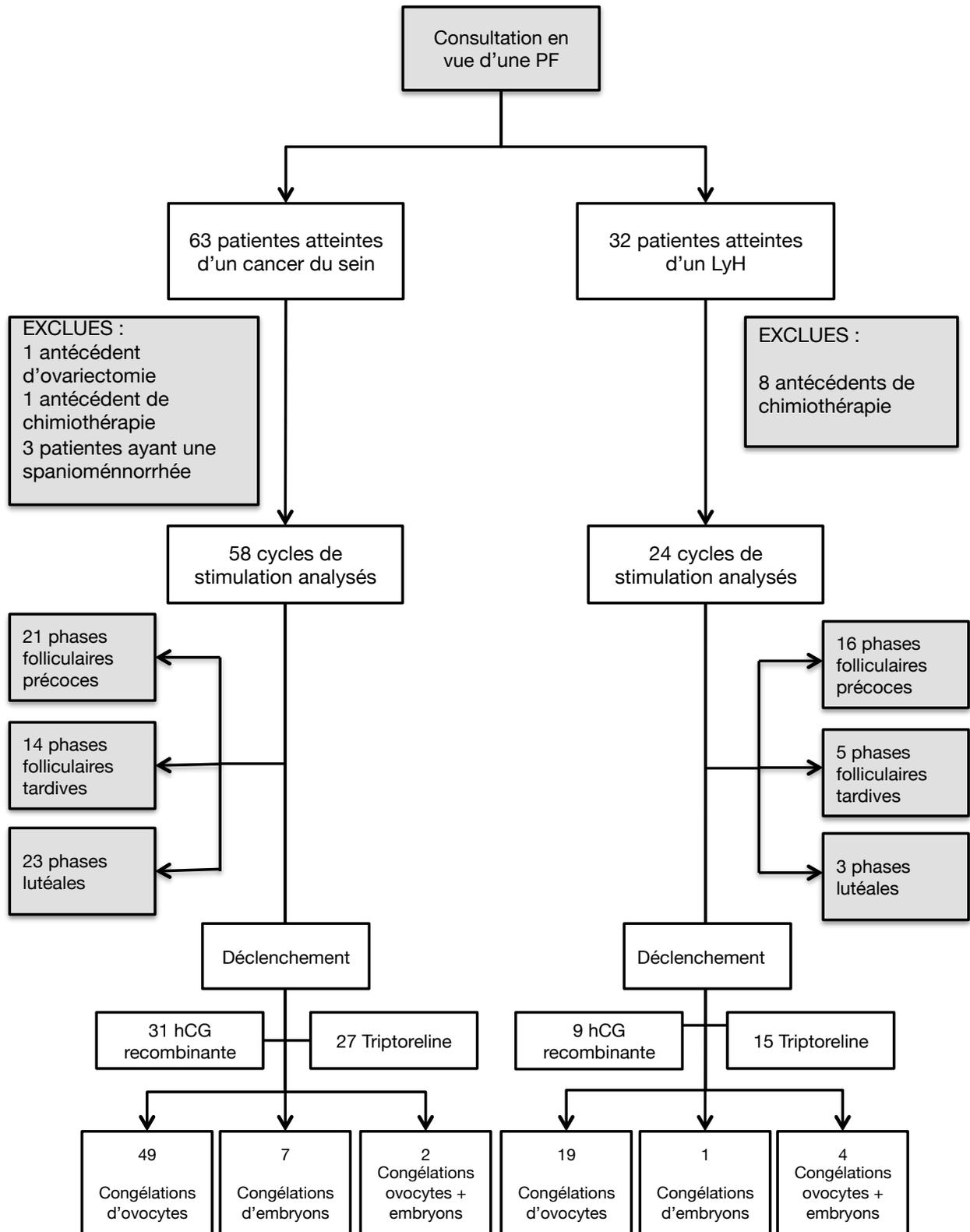
<b>Tumeur</b>	<b>Nombre</b>	<b>Ganglion</b>	<b>Nombre</b>	<b>Métastase</b>	<b>Nombre</b>
T1	29	N 0	46	M 0	58
T2	22	N 1	6	M 1	0
T3	1	N 2	1	Non connus	0
T4	1	N 3	1		
Non connus	5	Non connus	4		

Les patientes du groupe LyH était significativement plus jeunes que celle atteintes d'un cancer du sein ( $27.1 \pm 3.9$  ans vs  $33.8 \pm 3.9$  ans,  $p < 0.0001$ , respectivement). Le CFA était plus élevé de manière significative dans le groupe LyH ( $23 \pm 10$  vs  $18 \pm 14$ ,  $p < 0.02$ , respectivement). Les taux sanguins d'AMH n'étaient pas significativement différents dans les 2 groupes ( $3.6 \pm 2.8$  ng/mL vs  $2,7 \pm 2.1$  ng/mL,  $p = 0.1$ ). Les données sont résumées dans le tableau 6.

**Tableau 6 : Caractéristiques des patientes à j0**

<b>Paramètres</b>	<b>LyH</b>	<b>Cancer du sein</b>	<b>P</b>
<b>Age (années)</b>	$27.1 \pm 3.9$	$33.8 \pm 3.9$	$< 0.0001$
<b>Compte des Follicules Antraux</b>	$23 \pm 10$	$18 \pm 14$	0.01
<b>AMH (ng/mL)</b>	$3.6 \pm 2.8$	$2.7 \pm 2.1$	0.10
<b>IMC (Kg/m<sup>2</sup>)</b>	$23.5 \pm 6.4$	$22.9 \pm 4.1$	0.70

• Diagramme de l'étude



- ***Paramètres et résultats de la stimulation***

Dans le groupe LyH, la stimulation était débutée en phase folliculaire précoce chez 16 patientes, en phase folliculaire tardive chez 5 patientes et en phase lutéale chez 3 patientes. Dans le groupe cancer du sein : 21 patientes ont débuté en phase folliculaire précoce, 14 en phase folliculaire tardive, et 23 en phase lutéale.

Le déclenchement a été réalisé par :

- GnRHa (Triptoreline) chez 15 patientes dans le groupe LyH et 27 dans le groupe cancer du sein.
- hCG recombinante chez 9 patientes dans le groupe LyH et 31 dans le groupe cancer du sein.

L'ensemble des cycles a conduit à une ponction ovocytaire et aucune complication n'a été rapportée.

Dans le groupe LyH, 5 patientes ont opté pour une congélation embryonnaire dont 4 en association avec une vitrification ovocytaire. Dans le groupe cancer du sein, 9 ont congelé des embryons (7 des embryons seuls et 2 ont partagé la cohorte ovocytaire).

La dose de départ de FSH, la dose totale de FSH, et la durée de la stimulation étaient comparables entre les 2 groupes (Tableau 7).

**Tableau 7 : Caractéristiques de la stimulation ovarienne.**

Paramètres	LyH	Cancer du sein	P
Dose de départ de FSH (UI)	257 ± 87	277 ± 84	0.3
Dose totale de FSH (UI)	2945 ± 1393	3015 ± 1417	0.7
Durée de la stimulation (jours)	10.5 ± 2.2	10.4 ± 2.7	0.8

Si le nombre d'ovocytes recueillis et d'ovocytes matures ne différait pas dans les 2 groupes, le FORT était significativement plus faible dans le groupe LyH comparativement à celui des patientes atteintes de cancer du sein ( $25 \pm 16 \%$  vs  $37 \pm 19 \%$ ,  $p < 0.02$ , respectivement). La valeur de l'estradiol sérique au jour du déclenchement était également moindre dans le groupe LyH comparativement à celle des patientes atteintes de cancer du sein ( $1169 \pm 575$  pg/mL vs  $1541 \pm 881$  pg/mL,  $p = 0.03$ , respectivement)(Tableau 8).

**Tableau 8 : Résultats de la stimulation ovarienne.**

Paramètres	LyH	Cancer du sein	P
Estradiolémie à J DO (pg/mL)	1169 ± 575	1541 ± 881	0.03
Nombre d'ovocytes recueillis	13.8 ± 7.8	12.2 ± 8.3	0.30
Nombre d'ovocytes matures	9.9 ± 5.6	9.4 ± 7.2	0.40
Taux de maturation (%)	70 ± 20	80 ± 20	0.35
FORT (%)	25 ± 16	37 ± 19	<0.02

- **Comparaison entre les formes localisées et disséminées du LyH**

Les patientes aux stades 1 – 2 (n = 16), considérés ici comme une forme localisée du LyH avaient les mêmes caractéristiques de base à j0 que les patientes aux stades 3 – 4 (n=8), correspondant à la forme disséminée. Les résultats de la stimulation ovarienne étaient comparables dans les 2 groupes. Le FORT ne différait pas dans les 2 groupes ( $24 \pm 13\%$  dans le groupe stade 1-2 vs  $27 \pm 13\%$  dans le groupe stade 3-4,  $p = 0.8$ ). Tous les paramètres sont détaillés dans le tableau 9.

**Tableau 9 : Paramètres des caractéristiques des patientes et des résultats de stimulation ovarienne chez les patientes au stades 1-2 et stades 3-4 du LyH.**

Paramètres	Stades 1 – 2	Stades 3 - 4	P
Age (années)	$27.2 \pm 4$	$25.9 \pm 3.7$	0.6
Compte des Follicules Antraux	$23 \pm 10$	$23 \pm 14$	1
AMH (ng/mL)	$4.2 \pm 3.3$	$2.4 \pm 1.2$	0.19
IMC ( $\text{Kg/m}^2$ )	$24.4 \pm 7$	$21.6 \pm 4$	0.46
Dose de départ de FSH (UI)	$260 \pm 93$	$245 \pm 29$	0.9
Dose totale de FSH (UI)	$2794 \pm 1100$	$3247 \pm 1903$	0.8
Durée de la stimulation (jours)	$10.25 \pm 1.8$	$11.1 \pm 2.7$	0.7
Estradiolémie à J DO (pg/mL)	$1320 \pm 573$	$1094 \pm 619$	0.4
Nombre d'ovocytes matures	$11.06 \pm 5.7$	$7.5 \pm 4.8$	0.15
Taux de maturation (%)	$68 \pm 15$	$82 \pm 16$	0.15
FORT (%)	$24 \pm 13$	$27 \pm 23$	0.8

## 5. Discussion

---

Ce travail avait pour objectif de déterminer la sensibilité des follicules antraux à la FSH exogène chez des patientes candidates à une PF pour cancer du sein ou LyH. Les patientes incluses atteintes d'un LyH étaient significativement plus jeunes que celles atteintes d'une cancer du sein ( $27.1 \pm 3.9$  ans vs  $33.8 \pm 3.9$  ans,  $p < 0.0001$ , respectivement). Malgré un âge plus jeune et des paramètres de la réserve ovarienne plus élevés chez les patientes LyH en comparaison aux patientes atteintes de cancer du sein (CFA :  $23 \pm 10$  vs  $18 \pm 14$ ,  $p < 0.02$ , respectivement ; AMH :  $3.6 \pm 2.8$  ng/mL vs  $2.7 \pm 2.1$  ng/mL,  $p = 0.1$ , respectivement), le nombre d'ovocytes matures congelés était identique dans les 2 groupes ( $9.9 \pm 5.6$  vs  $9.4 \pm 7.2$ ,  $p = 0.40$ , respectivement). Le fait que les patientes LyH aient obtenu le même nombre d'ovocytes matures, sans présenter d'altération du taux de maturation, nous incite donc à imputer une diminution de la sensibilité de ces follicules à la FSH. En effet, les deux groupes de patientes ont bénéficié d'une stimulation ovarienne aux caractéristiques identiques du point de vue du mode de désensibilisation hypophysaire (protocole antagoniste), de la durée et de la dose totale de FSH reçue.

Nous avons employé le FORT pour tenter de démontrer que la sensibilité des follicules des patientes LyH était diminuée. Le FORT est un outil indépendant du stock de follicules antraux et de l'âge de la patiente. Il est lié négativement au taux sériques d'AMH. Les deux populations ont bénéficié de *random start protocol*. Cependant, du fait du déclenchement des patientes qui débutaient leur stimulation en phase folliculaire tardive, toutes les patientes avaient une cohorte folliculaire homogène de diamètre  $\leq 8$ mm au moment de débiter la stimulation.

Le FORT des patientes LyH était diminué de manière significative par rapport au groupe cancer du sein ( $25 \pm 16 \%$  vs  $37 \pm 19 \%$ ,  $p < 0.02$ , respectivement). Par ailleurs, en dépit d'un même nombre d'ovocytes recueillis ( $13.8 \pm 7.8$  vs  $1541 \pm 881$  pg/mL,  $p = 0.30$ , respectivement), les valeurs d'estradiol sériques des patientes LyH étaient moindres par rapport aux patientes cancers du sein ( $1169 \pm 575$  pg/mL vs  $1541 \pm 881$  pg/mL,  $p = 0.03$ , respectivement).

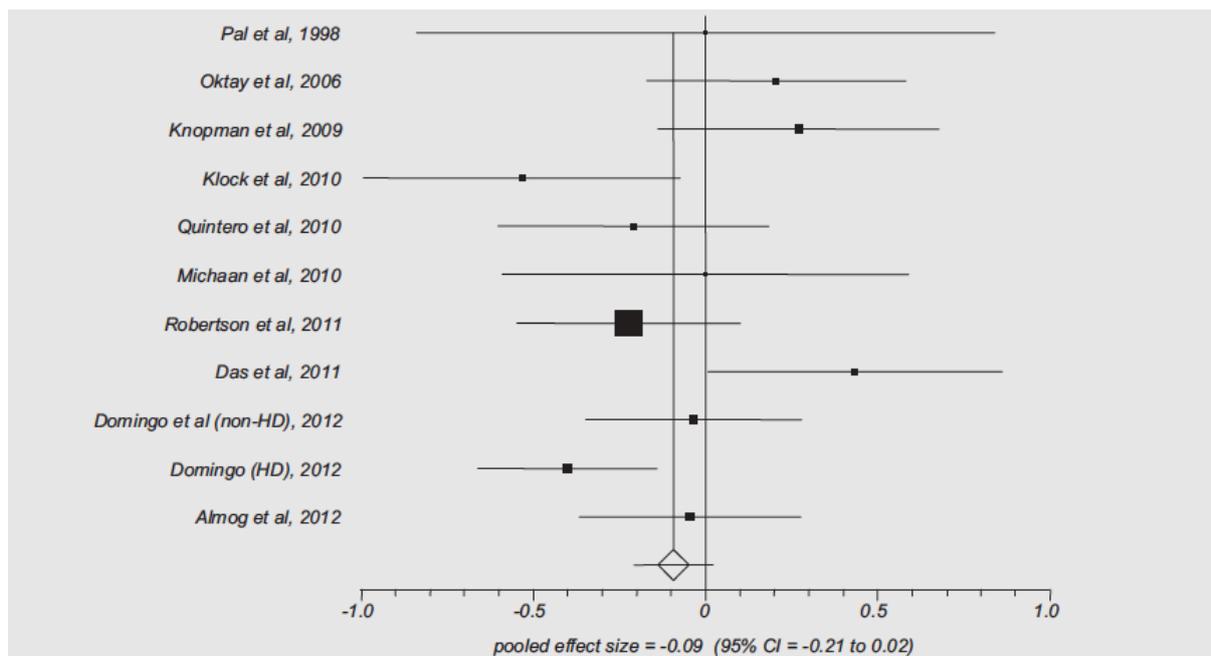
La vitrification ovocytaire après stimulation ovarienne pour PF dans les contextes de cancer constitue une des techniques maximisant les chances d'accéder à la maternité en cas d'insuffisance ovarienne iatrogène après guérison. Il est désormais clairement établi que l'administration de gonadotrophines exogènes peut être initiée quelle que soit la phase du cycle et que le déclenchement de l'ovulation doit idéalement faire appel aux GnRHa afin de limiter le risque de syndrome d'hyperstimulation ovarienne. Cependant, la dose de FSH à administrer demeure une question fondamentale et non encore résolue. En effet, si l'objectif est clairement d'obtenir un maximum d'ovocytes, sans prendre de risque de complications susceptibles de retarder le début du traitement chimiothérapeutique, des données de la littérature laissent penser que les patientes « oncologiques » pourraient avoir une réponse moindre à la stimulation (91)(92). Ces travaux utilisent le plus souvent comme groupe contrôle des patientes présentant une infertilité d'origine tubaire ou masculine. *A contrario*, d'autres équipes n'ont observé aucun impact du cancer sur la réserve ovarienne et le nombre d'ovocytes recueillis à l'issue de la stimulation (93)(94). Deux méta-analyses récentes montrent des résultats divergents en terme de nombre d'ovocytes recueillis chez les candidates à une PF. Friedler *et al.* (4), ont inclus 7 études rétrospectives regroupant 218 patientes atteintes de pathologies malignes et 1253 patientes contrôle. Les principales pathologies étaient : 124 (56.9%) cancers du sein, 31 (14.2%) hémopathies et 18 (8.2%) cancers gynécologiques. Le nombre d'ovocytes matures récupérés était significativement

moindre dans le groupe cancer comparativement aux contrôles ( $9.0 \pm 6.5$  vs  $10.8 \pm 6.7$  ovocytes,  $p=0.002$ , respectivement), en sachant qu'elles avaient reçu des doses plus réduites de FSH ( $3031 \pm 1726$  UI vs  $3387 \pm 1763$  UI,  $p=0.008$ , respectivement)(Tableau 10).

**Tableau 10 : Paramètres de la réponse ovarienne dans 7 études rétrospectives (4).**

Study	No. of cycles		Mean no. of retrieved oocytes (mean $\pm$ SD)			Mean no. of mature oocytes			Fertilization rate (%)		
	Study (N = 227)	Control (N = 1,258)	Study	Control	P value two-sided 95% CI (LL to UL)	Study	Control	P value two-sided 95% CI (LL to UL)	Study	Control	P value two-sided 95% CI (LL to UL)
Pal et al., 1998	8	17	13 $\pm$ 3	13 $\pm$ 1	1.000000 1.64, -1.64	8.7	10.5	.003674 -0.65, -2.95	6.6 $\pm$ 1.53	10.66 $\pm$ 0.82	.000000 -3.09, -5.02
Oktay et al., 2006	53	56	12.4 $\pm$ 7	11.1 $\pm$ 5.5	.282020 3.68, -1.08	8.7 $\pm$ 4.8	9.7 $\pm$ 5.1	.294804 0.88, -2.88	9.17 $\pm$ 5.18	8.1 $\pm$ 4.05	.230875 2.83, -0.69
Knopman et al., 2009	28	135	14 $\pm$ 9	12 $\pm$ 7	.193340 5.02, -1.02				8.8 $\pm$ 5.6	13.06 $\pm$ 7.1	.006796 -1.21, -7.31
Klock et al., 2010	28	57	10 $\pm$ 6.4	13.9 $\pm$ 7.6	.021853 -0.58, -7.22						
Quintero et al., 2010	50	50	11.5 $\pm$ 8.3	13 $\pm$ 5.7	.294740 1.32, -4.32	9.6 $\pm$ 8.8	9.7 $\pm$ 5.4	.945537 2.79, -2.99	8.05 $\pm$ 5.81	9.88 $\pm$ 4.33	.077222 0.20, -3.86
Michaan et al., 2010	22	22	8.8 $\pm$ 6	8.8 $\pm$ 6.6	1.000000 3.84, -3.84				5.4 $\pm$ 4.5	5 $\pm$ 3.6	.746370 2.88, -2.08
Robertson et al., 2011	38	921	12 $\pm$ 8	14 $\pm$ 9	.177998 0.91, -4.91	9 $\pm$ 6	11 $\pm$ 7	.083074 0.26, -4.26	7.44 $\pm$ 4.96	7.7 $\pm$ 4.95	.751098 1.35, -1.87
Total			11.7 $\pm$ 7.5	13.5 $\pm$ 8.4	.002766 -2.97, -0.62	9.0 $\pm$ 6.5	10.8 $\pm$ 6.7	.002691 -2.94, -0.62	7.98 $\pm$ 5.2	8.08 $\pm$ 5.1	.810703 -0.87, 0.68

A la suite d'une étude rétrospective d'Almog *et al.* (95) qui montrait une absence de différence de réponse ovarienne chez 74 patientes atteintes de diverses pathologies par rapport au groupe contrôle, une nouvelle méta-analyse confirmait que l'ampleur de la différence entre le nombre d'ovocytes recueillis chez les patientes en cours de PF et les patientes infertiles était minime (96) (Figure 7).



**Figure 7 : Méta-analyse du nombre d'ovocytes recueillis chez les patientes atteintes de cancer versus un groupe contrôle. Evaluation de la taille d'effet = -0.09 (IC 95% = -0.21 – 0.02) (66).**

Selon un autre type d'approche consistant à évaluer un normogramme du nombre d'ovocytes attendus en fonction de l'âge, les patientes en cours de FP avait une réponse ovarienne en rapport avec celle attendue pour des patientes infertiles du même âge (97).

Enfin, une étude s'est intéressée à la réponse ovarienne en fonction du type de cancer dont la patiente était atteinte : 109 patientes ont bénéficié d'une hyperstimulation ovarienne contrôlée en vue d'une PF (98). Soixante-cinq patientes avaient un cancer du sein, 29 un cancer d'origine hématologique, 15 un cancer d'origine gynécologique et 15 des pathologies diverses (type cancer colo-rectal, sarcome...). Dix-neuf patientes avaient déjà reçu de la chimiothérapie dont 12 dans le groupe hémopathies. Leurs résultats en termes de nombre d'ovocytes recueillis étaient comme attendu moins bons que les patientes non exposées. Globalement, les auteurs concluaient à une durée de stimulation significativement plus longue pour le groupe hémopathie par rapport aux autres groupes. Par ailleurs, même si les patientes

des groupes cancer du sein et cancers gynécologiques étaient plus âgées, elles n'avaient pas moins d'ovocytes congelés à l'issue de la procédure de PF.

De plus, Lawrenz *et al.* ont analysé spécifiquement 38 patientes atteintes de LyH ou lymphome non hodgkinien. Leurs valeurs d'AMH sériques avant tout traitement étaient significativement diminuées en comparaison avec un groupe contrôle de patientes saines du même âge. Dans un second temps, les résultats de la stimulation ovarienne de 64 patientes atteintes d'un cancer hématologiques ont été comparés à ceux de 84 patientes atteintes d'un cancer du sein. Bien que les patientes atteintes d'un cancer hématologique étaient plus jeunes, leur nombre d'ovocytes recueillis était moindre que celui du groupe de patientes atteintes d'un cancer du sein ( $11.62 \pm 6.21$  vs  $12.10 \pm 8.37$ ,  $p < 0.05$ , respectivement) (99).

La principale critique de la majorité de ces études tient à l'absence d'évaluation des marqueurs de la réserve ovarienne de base et à l'hétérogénéité des protocoles utilisés. En conséquence, les résultats doivent être interprétés avec précaution. En effet, l'intensité de la réponse ovarienne à la stimulation ovarienne est multifactorielle, dépendant la taille du *pool* de follicules antraux possiblement sensibles à la FSH, elle-même corrélée à l'AMH et au CFA (100), de la sensibilité des follicules antraux à la FSH et de la dose de FSH administrée.

Devant ces données discordantes, notre travail avait pour objectif d'analyser l'impact de différents types de cancers sur la sensibilité des follicules à la FSH, évaluée par le FORT. Ainsi, ce paramètre était significativement moins bon dans le groupe LyH. Le principal intérêt du FORT est de s'affranchir du nombre de follicules sensibles à la FSH en pré-traitement (CFA de base), permettant alors de mieux appréhender la capacité de ces follicules à répondre à la stimulation ovarienne. Nos résultats permettent d'envisager une nouvelle hypothèse dans la modulation de la capacité de réponse des femmes présentant une pathologie oncologique. En effet, jusqu'à présent, les hypothèses d'une moindre réponse à la stimulation mettaient en

exergue l'hypercatabolisme, la perte de poids et le stress à l'origine d'une dysfonction de l'hypothalamus et d'une baisse de la production des gonadotrophines (101) (102). Cependant, dans notre étude, les paramètres de la stimulation étaient les mêmes dans les 2 groupes. Le fait que la sensibilité folliculaire à la FSH soit diminuée en cas de LyH, dont le retentissement sur l'état général est plus important que le cancer du sein, peut s'expliquer par une dysfonction plus importante des cellules de la granulosa en cas d'hémopathie. Cette hypothèse est renforcée par les valeurs maximales d'estradiol sériques moindres au terme de la stimulation en cas de LyH, en dépit d'un nombre de follicules matures comparable à celui des femmes avec cancer du sein.

Dans notre série, huit patientes présentaient des formes disséminées de LyH alors que tous les cancers du sein étaient à des stades localisés. Le FORT n'était pas différent en fonction du stade de la maladie dans le cadre du LyH. Cependant, notre effectif était relativement faible. Chez l'homme, plusieurs études sur des échantillons de sperme pour conservation gamétique avant chimiothérapie pour LyH ont montré que jusqu'à 70% des prélèvements de sperme étaient anormaux (103)(104). Les taux d'azoospermie et d'oligoastheno-téatospermie étaient corrélés au stade de la maladie (105). Les hypothèses pour expliquer cette atteinte testiculaire spécifique dans le LyH seraient la fièvre, le taux élevé de cytokines inflammatoires et l'état de dysimmunité avec des taux de lymphocytes T augmentés dans le testicule (106).

Il existe cependant des limites à l'utilisation du FORT. Elle suppose que les petits follicules répondent de manière coordonnée à la FSH alors que des différences de croissance folliculaire à la FSH ont été montrées (107). Enfin, on assume que seuls les follicules de 16 à 22mm ont effectivement répondu à la FSH. Or il est possible que les plus petits aient également présenté un certain degré de réponse à la FSH (107).

## Conclusion

---

Notre étude a mis en évidence, qu'en dépit de paramètres de stimulation ovarienne comparables, la sensibilité des follicules antraux à la FSH exogène, évaluée par le FORT, est moindre en cas de lymphome de Hodgkin que chez des femmes atteintes de cancer du sein. Ces différences pourraient être en rapport avec un impact plus important des hémopathies sur la fonction des cellules de la granulosa, comme en attestent les moindres taux d'estradiol sériques en fin de stimulation. L'investigation de cette hypothèse par des travaux *in vitro* sur les cellules de granulosa semble intéressante.

## Bibliographie

---

1. République française. Plan Cancer 2014 - 2019. [Internet]. 2014. Available from: [www.e-cancer.fr](http://www.e-cancer.fr)
2. 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.
3. Deshpande NA, Braun IM, Meyer FL. Impact of fertility preservation counseling and treatment on psychological outcomes among women with cancer: A systematic review. *Cancer.* 2015 Aug 11.
4. Friedler S, Koc O, Gidoni Y, Raziel A, Ron-El R. Ovarian response to stimulation for fertility preservation in women with malignant disease: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril.* 2012 Jan;97(1):125–33.
5. Institut National du Cancer. Les cancers en France / Edition 2014. [Internet]. 2015. Available from: [e-cancer.fr](http://e-cancer.fr)
6. Survie des personnes atteintes de cancer en France, 1989-2007: étude à partir des registres des cancers du réseau Francim : étude collaborative. [Saint-Maurice]: Institut de veille sanitaire; 2013.
7. Institut National du Cancer. Estimation nationale de l'incidence et de la mortalité par cancer en France entre 1980 et 2012. Partie 1 - Tumeurs solides. 2013.
8. Institut National du Cancer, Haute Autorité de Santé. Guide du parcours de soin.

Lymphome de Hodgkin classique de l'adulte. [Internet]. 2013. Available from: [has-sante.fr](http://has-sante.fr)

9. Rancea M, Engert A, von Tresckow B, Halbsguth T, Behringer K, Skoetz N. Hodgkin's lymphoma in adults: diagnosis, treatment and follow-up. *Dtsch Arztebl Int*. 2013 Mar;110(11):177–83, 183e1–3.
10. Institut National du Cancer. Situation de la chimiothérapie des cancers. Rapport 2013. [Internet]. 2014. Available from: [e-cancer.fr](http://e-cancer.fr)
11. Institut National du Cancer, Haute Autorité de Santé. Guide Affection de Longue Durée. Cancer du sein. 2010.
12. M. Espié, S. Giacchetti, E. Boursstyn, C. Hennequin, C. Cuvier, A.-S. Hamy, et al. Prise en charge thérapeutique des cancers du sein infiltrants localisés. *EMC - Gynécologie*. 2013;8(3):1-21:[Article 874 – A – 10].
13. Collège National des Gynécologues et Obstétriciens Français. Extrait des mises à jour en Gynécologie médicale. Chimiothérapie néo-adjuvante. 2008.
14. Han W, Kim SW, Park IA, Kang D, Kim S-W, Youn Y-K, et al. Young age: an independent risk factor for disease-free survival in women with operable breast cancer. *BMC Cancer*. 2004 Nov 17;4:82.
15. Ward S, Simpson E, Davis S, Hind D, Rees A, Wilkinson A. Taxanes for the adjuvant treatment of early breast cancer: systematic review and economic evaluation. *Health Technol Assess Winch Engl*. 2007 Oct;11(40):1–144.
16. Institut National du Cancer. Cancer du sein infiltrant non métastatique. Questions d'actualité. 2012.

17. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG), Davies C, Godwin J, Gray R, Clarke M, Cutter D, et al. Relevance of breast cancer hormone receptors and other factors to the efficacy of adjuvant tamoxifen: patient-level meta-analysis of randomised trials. *Lancet Lond Engl*. 2011 Aug 27;378(9793):771–84.
18. Davies C, Pan H, Godwin J, Gray R, Arriagada R, Raina V, et al. Long-term effects of continuing adjuvant tamoxifen to 10 years versus stopping at 5 years after diagnosis of oestrogen receptor-positive breast cancer: ATLAS, a randomised trial. *Lancet*. 2013 Mar 9;381(9869):805–16.
19. Institut National du Cancer, Haute Autorité de Santé. Lymphome de Hodgkin classique de l'adulte. Guide du parcours de soins. 2013.
20. Fermé C., Reman O. Lymphome de Hodgkin de l'adulte. EMC - Hématologie. 2011;1-17:[Article 13–016 – A – 05].
21. Gougeon A. Regulation of ovarian follicular development in primates: facts and hypotheses. *Endocr Rev*. 1996 Apr;17(2):121–55.
22. Reddy P, Zheng W, Liu K. Mechanisms maintaining the dormancy and survival of mammalian primordial follicles. *Trends Endocrinol Metab TEM*. 2010 Feb;21(2):96–103.
23. Durlinger AL, Kramer P, Karels B, de Jong FH, Uilenbroek JT, Grootegoed JA, et al. Control of primordial follicle recruitment by anti-Müllerian hormone in the mouse ovary. *Endocrinology*. 1999 Dec;140(12):5789–96.
24. Pache TD, Wladimiroff JW, de Jong FH, Hop WC, Fauser BC. Growth patterns of nondominant ovarian follicles during the normal menstrual cycle. *Fertil Steril*. 1990 Oct;54(4):638–42.

25. Yamoto M, Shima K, Nakano R. Gonadotropin receptors in human ovarian follicles and corpora lutea throughout the menstrual cycle. *Horm Res.* 1992;37 Suppl 1:5–11.
26. Hillier SG, Reichert LE, Van Hall EV. Control of preovulatory follicular estrogen biosynthesis in the human ovary. *J Clin Endocrinol Metab.* 1981 May;52(5):847–56.
27. Giudice LC. Insulin-like growth factors and ovarian follicular development. *Endocr Rev.* 1992 Nov;13(4):641–69.
28. McGee EA, Hsueh AJ. Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles. *Endocr Rev.* 2000 Apr;21(2):200–14.
29. Ben-Aharon I, Shalgi R. What lies behind chemotherapy-induced ovarian toxicity? *Reprod Camb Engl.* 2012 Aug;144(2):153–63.
30. Ben-Aharon I, Granot T, Meizner I, Hasky N, Tobar A, Rizel S, et al. Long-Term Follow-Up of Chemotherapy-Induced Ovarian Failure in Young Breast Cancer Patients: The Role of Vascular Toxicity. *The Oncologist.* 2015 Jun 22;
31. Meiorow D, Biederman H, Anderson RA, Wallace WHB. Toxicity of chemotherapy and radiation on female reproduction. *Clin Obstet Gynecol.* 2010 Dec;53(4):727–39.
32. Donnez J, Martinez-Madrid B, Jadoul P, Van Langendonck A, Demylle D, Dolmans M-M. Ovarian tissue cryopreservation and transplantation: a review. *Hum Reprod Update.* 2006 Oct;12(5):519–35.
33. Meiorow D, Schiff E. Appraisal of chemotherapy effects on reproductive outcome according to animal studies and clinical data. *J Natl Cancer Inst Monogr.* 2005;(34):21–5.
34. Dunlop CE, Anderson RA. Uses of anti-Müllerian hormone (AMH) measurement

before and after cancer treatment in women. *Maturitas*. 2015 Mar;80(3):245–50.

35. Pérez-Fidalgo JA, Roselló S, García-Garré E, Jordá E, Martín-Martorell P, Bermejo B, et al. Incidence of chemotherapy-induced amenorrhea in hormone-sensitive breast cancer patients: the impact of addition of taxanes to anthracycline-based regimens. *Breast Cancer Res Treat*. 2010 Feb;120(1):245–51.

36. Tham Y-L, Sexton K, Weiss H, Elledge R, Friedman LC, Kramer R. The rates of chemotherapy-induced amenorrhea in patients treated with adjuvant doxorubicin and cyclophosphamide followed by a taxane. *Am J Clin Oncol*. 2007 Apr;30(2):126–32.

37. Swain SM, Land SR, Ritter MW, Costantino JP, Cecchini RS, Mamounas EP, et al. Amenorrhea in premenopausal women on the doxorubicin-and-cyclophosphamide-followed-by-docetaxel arm of NSABP B-30 trial. *Breast Cancer Res Treat*. 2009 Jan;113(2):315–20.

38. Oven Ustaalioglu BB, Bilici A, Kefeli U, Seker M, Salepci T, Unal O, et al. A retrospective analysis of women's chances to become pregnant after completion of chemotherapy: a single center experience. *J BUON Off J Balk Union Oncol*. 2011 Jun;16(2):349–52.

39. Brusamolino E, Lunghi F, Orlandi E, Astori C, Passamonti F, Baraté C, et al. Treatment of early-stage Hodgkin's disease with four cycles of ABVD followed by adjuvant radio-therapy: analysis of efficacy and long-term toxicity. *Haematologica*. 2000 Oct;85(10):1032–9.

40. Decanter C, Morschhauser F, Pigny P, Lefebvre C, Gallo C, Dewailly D. Anti-Müllerian hormone follow-up in young women treated by chemotherapy for lymphoma: preliminary results. *Reprod Biomed Online*. 2010 Feb;20(2):280–5.

41. Cooke R, Jones ME, Cunningham D, Falk SJ, Gilson D, Hancock BW, et al. Breast cancer risk following Hodgkin lymphoma radiotherapy in relation to menstrual and reproductive factors. *Br J Cancer*. 2013 Jun 11;108(11):2399–406.
42. Behringer K, Mueller H, Goergen H, Thielen I, Eibl AD, Stumpf V, et al. Gonadal function and fertility in survivors after Hodgkin lymphoma treatment within the German Hodgkin Study Group HD13 to HD15 trials. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2013 Jan 10;31(2):231–9.
43. Blumenfeld Z. How to preserve fertility in young women exposed to chemotherapy? The role of GnRH agonist cotreatment in addition to cryopreservation of embryos, oocytes, or ovaries. *The Oncologist*. 2007 Sep;12(9):1044–54.
44. 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.
45. 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.
46. Chen H, Li J, Cui T, Hu L. Adjuvant gonadotropin-releasing hormone analogues for the prevention of chemotherapy induced premature ovarian failure in premenopausal women. *Cochrane Database Syst Rev*. 2011;(11):CD008018.
47. Munster PN, Moore AP, Ismail-Khan R, Cox CE, Lacey 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 Off J Am Soc Clin Oncol. 2012 Feb 10;30(5):533–8.

48. 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.

49. Elgindy E, Sibai H, Abdelghani A, Mostafa M. Protecting Ovaries During Chemotherapy Through Gonad Suppression: A Systematic Review and Meta-analysis. *Obstet Gynecol*. 2015 Jul;126(1):187–95.

50. Kim SS, Lee JR, Jee BC, Suh CS, Kim SH, Ting A, et al. Use of hormonal protection for chemotherapy-induced gonadotoxicity. *Clin Obstet Gynecol*. 2010 Dec;53(4):740–52.

51. Code de la santé publique - Article L2141-1. Code de la santé publique.

52. 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.

53. 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.

54. 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.

55. 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.

56. 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.
57. Baerwald AR, Adams GP, Pierson RA. Characterization of ovarian follicular wave dynamics in women. *Biol Reprod*. 2003 Sep;69(3):1023–31.
58. 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.
59. 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.
60. Kumar P, Sait SF, Sharma A, Kumar M. Ovarian hyperstimulation syndrome. *J Hum Reprod Sci*. 2011 May;4(2):70–5.
61. Oktay K, Türkçüoğlu I, Rodriguez-Wallberg KA. GnRH agonist trigger for women with breast cancer undergoing fertility preservation by aromatase inhibitor/FSH stimulation. *Reprod Biomed Online*. 2010 Jun;20(6):783–8.
62. Blazquez A, Guillén JJ, Colomé C, Coll O, Vassena R, Vernaev V. Empty follicle syndrome prevalence and management in oocyte donors. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2014 Oct 10;29(10):2221–7.
63. 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.

64. 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.
65. Oktay K, Turan V, Bedoschi G, Pacheco FS, Moy F. Fertility Preservation Success Subsequent to Concurrent Aromatase Inhibitor Treatment and Ovarian Stimulation in Women With Breast Cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2015 Aug 1;33(22):2424–9.
66. Tulandi T, Martin J, Al-Fadhli R, Kabli N, Forman R, Hitkari J, et al. Congenital malformations among 911 newborns conceived after infertility treatment with letrozole or clomiphene citrate. *Fertil Steril*. 2006 Jun;85(6):1761–5.
67. Legro RS, Brzyski RG, Diamond MP, Coutifaris C, Schlaff WD, Casson P, et al. Letrozole versus clomiphene for infertility in the polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med*. 2014 Jul 10;371(2):119–29.
68. 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.
69. Lane G. Principles and Practice of Fertility Preservation edited by Jacques Donnez and S Samuel Kim. *Obstet Gynaecol*. 2012 Jan;14(1):E1–E1.
70. Sonigo C, Grynberg M. Maturation in vitro des ovocytes en préservation de la fertilité féminine. *Gynécologie Obstétrique Fertil*. 2014 Sep;42(9):657–60.
71. Azim AA, Costantini-Ferrando M, Oktay K. Safety of fertility preservation by ovarian stimulation with letrozole and gonadotropins in patients with breast cancer: a prospective controlled study. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2008 Jun 1;26(16):2630–5.

72. 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.
73. Poirot C, Abirached F, Prades M, Coussieu C, Bernaudin F, Piver P. Induction of puberty by autograft of cryopreserved ovarian tissue. *Lancet Lond Engl*. 2012 Feb 11;379(9815):588.
74. Poirot C, Martelli H, Lichtblau I, Dhedin N, Abirached F, Faraguet C, et al. [Female fertility preservation before sterilizing treatment: contribution of ovarian tissue cryopreservation]. *J Gynécologie Obstétrique Biol Reprod*. 2002 Dec;31(8):717–23.
75. 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.
76. 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;
77. 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.
78. 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.

79. Bittinger SE, Nazaretian SP, Gook DA, Parmar C, Harrup RA, Stern CJ. Detection of Hodgkin lymphoma within ovarian tissue. *Fertil Steril*. 2011 Feb;95(2):803.e3–6.
80. Smitz J, Dolmans MM, Donnez J, Fortune JE, Hovatta O, Jewgenow K, et al. Current achievements and future research directions in ovarian tissue culture, in vitro follicle development and transplantation: implications for fertility preservation. *Hum Reprod Update*. 2010 Jul 1;16(4):395–414.
81. 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.
82. 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;
83. Gougeon A, Testart J. Influence of human menopausal gonadotropin on the recruitment of human ovarian follicles. *Fertil Steril*. 1990 Nov;54(5):848–52.
84. Durlinger AL, Gruijters MJ, Kramer P, Karels B, Kumar TR, Matzuk MM, et al. Anti-Müllerian hormone attenuates the effects of FSH on follicle development in the mouse ovary. *Endocrinology*. 2001 Nov;142(11):4891–9.
85. Genro VK, Grynberg M, Scheffer JB, Roux I, Frydman R, Fanchin R. Serum anti-Müllerian hormone levels are negatively related to Follicular Output RaTe (FORT) in normo-cycling women undergoing controlled ovarian hyperstimulation. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2011 Mar;26(3):671–7.

86. Gallot V, Silva ALB da, Genro V, Grynberg M, Frydman N, Fanchin R. Antral follicle responsiveness to follicle-stimulating hormone administration assessed by the Follicular Output RaTe (FORT) may predict in vitro fertilization-embryo transfer outcome. *Hum Reprod.* 2012 Apr 1;27(4):1066–72.
87. Zhang N, Hao C-F, Zhuang L-L, Liu X-Y, Gu HF, Liu S, et al. Prediction of IVF/ICSI outcome based on the follicular output rate. *Reprod Biomed Online.* 2013 Aug;27(2):147–53.
88. S. Duros, C. Sonigo, I. Cedrin-Durnerin, J.N Hugues, C. Sifer, M. Grynberg. Controlled ovarian hyperstimulation in cancer patients candidates for fertility preservation is not associated with changes in the Follicular Output RaTe (FORT). Poster P-446 presented at: Annual Meeting of ESHRE; 2015 Jun 14; Lisbon, Portugal.
89. Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS consensus workshop group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum Reprod Oxf Engl.* 2004 Jan;19(1):41–7.
90. 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.
91. Domingo J, Guillén V, Ayllón Y, Martínez M, Muñoz E, Pellicer A, et al. Ovarian response to controlled ovarian hyperstimulation in cancer patients is diminished even before oncological treatment. *Fertil Steril.* 2012 Apr;97(4):930–4.
92. Quintero RB, Helmer A, Huang JQ, Westphal LM. Ovarian stimulation for fertility preservation in patients with cancer. *Fertil Steril.* 2010 Feb;93(3):865–8.
93. Lawrenz B, Jauckus J, Kupka M, Strowitzki T, von Wolff M. Efficacy and safety of ovarian stimulation before chemotherapy in 205 cases. *Fertil Steril.* 2010 Dec;94(7):2871–3.

94. Cardozo ER, Thomson AP, Karmon AE, Dickinson KA, Wright DL, Sabatini ME. Ovarian stimulation and in-vitro fertilization outcomes of cancer patients undergoing fertility preservation compared to age matched controls: a 17-year experience. *J Assist Reprod Genet.* 2015 Apr;32(4):587–96.
95. Almog B, Azem F, Gordon D, Pauzner D, Amit A, Barkan G, et al. Effects of cancer on ovarian response in controlled ovarian stimulation for fertility preservation. *Fertil Steril.* 2012 Oct;98(4):957–60.
96. Tulandi T, Holzer H. Effects of malignancies on the gonadal function. *Fertil Steril.* 2012 Oct;98(4):813–5.
97. Devesa M, Martínez F, Coroleu B, Rodríguez I, González C, Barri PN. Ovarian response to controlled ovarian hyperstimulation in women with cancer is as expected according to an age-specific nomogram. *J Assist Reprod Genet.* 2014 May;31(5):583–8.
98. Pavone M, Smith K, Hirshfeld-Cytron J, Kazer R, Klock S, Lawson A. Fertility preservation outcomes may differ by cancer diagnosis. *J Hum Reprod Sci.* 2014;7(2):111.
99. Lawrenz B, Fehm T, von Wolff M, Soekler M, Huebner S, Henes J, et al. Reduced pretreatment ovarian reserve in premenopausal female patients with Hodgkin lymphoma or non-Hodgkin-lymphoma--evaluation by using antimüllerian hormone and retrieved oocytes. *Fertil Steril.* 2012 Jul;98(1):141–4.
100. Hamdine O, Eijkemans MJC, Lentjes EWG, Torrance HL, Macklon NS, Fauser BCJM, et al. Ovarian response prediction in GnRH antagonist treatment for IVF using anti-Müllerian hormone. *Hum Reprod Oxf Engl.* 2015 Jan;30(1):170–8.
101. Vigersky RA, Andersen AE, Thompson RH, Loriaux DL. Hypothalamic dysfunction

in secondary amenorrhea associated with simple weight loss. *N Engl J Med.* 1977 Nov 24;297(21):1141–5.

102. Schenker JG, Meirow D, Schenker E. Stress and human reproduction. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1992 Jun 16;45(1):1–8.

103. Marmor D, Elefant E, Dauchez C, Roux C. Semen analysis in Hodgkin's disease before the onset of treatment. *Cancer.* 1986 May 15;57(10):1986–7.

104. Botchan A, Hauser R, Gamzu R, Yogev L, Lessing JB, Paz G, et al. Sperm quality in Hodgkin's disease versus non-Hodgkin's lymphoma. *Hum Reprod Oxf Engl.* 1997 Jan;12(1):73–6.

105. Rueffer U, Breuer K, Josting A, Lathan B, Sieber M, Manzke O, et al. Male gonadal dysfunction in patients with Hodgkin's disease prior to treatment. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol ESMO.* 2001 Sep;12(9):1307–11.

106. Barr RD, Clark DA, Booth JD. Dyspermia in men with localized Hodgkin's disease. A potentially reversible, immune-mediated disorder. *Med Hypotheses.* 1993 Mar;40(3):165–8.

107. Fanchin R, Schonäuer LM, Cunha-Filho JS, Méndez Lozano DH, Frydman R. Coordination of antral follicle growth: basis for innovative concepts of controlled ovarian hyperstimulation. *Semin Reprod Med.* 2005 Nov;23(4):354–62.

## Annexes

---

### 1) Classification TNM du cancer du sein (7<sup>ème</sup> édition) et stade UICC.

Le système TNM distingue le stade clinique pré-thérapeutique noté "cTNM" et le stade anatomopathologique postchirurgical noté "pTNM".

#### Tumeur Primaire T

**Tx : la tumeur primitive ne peut pas être évaluée**

**T0 : la tumeur primitive n'est pas palpable**

*Tis : carcinome in situ*

*Tis (DCIS) : carcinome canalaire in situ*

*Tis (CLIS) : carcinome lobulaire in situ*

*Tis (Paget) : maladie de Paget du mamelon sans tumeur sous-jacente*

*NB : la maladie de Paget associée à une tumeur est classée en fonction de la taille de la tumeur*

**T1 : tumeur  $\leq$  2 cm dans sa plus grande dimension**

*T1mic : micro-invasion  $\leq$  1 mm dans sa plus grande dimension*

*T1a : 1 mm < tumeur  $\leq$  5 mm dans sa plus grande dimension*

*T1b : 5 mm < tumeur  $\leq$  1 cm dans sa plus grande dimension*

*T1c : 1 cm < tumeur  $\leq$  2 cm dans sa plus grande dimension*

**T2 : 2 cm < tumeur  $\leq$  5 cm dans sa plus grande dimension**

**T3 : tumeur > 5 cm dans sa plus grande dimension**

**T4 : tumeur, quelle que soit sa taille, avec une extension directe soit à la paroi thoracique, soit à la peau**

*T4a : extension à la paroi thoracique en excluant le muscle pectoral*

*T4b : oedème (y compris peau d'orange) ou ulcération de la peau du sein, ou nodules de perméation situés sur la peau du même sein*

*T4c : T4a + T4b*

*T4d : cancer inflammatoire*

#### Ganglions lymphatiques régionaux pN

**Nx : l'envahissement des ganglions lymphatiques régionaux ne peut pas être évalué**

**N0 : absence d'envahissement ganglionnaire régional histologique et absence d'examen complémentaire à la recherche de cellules tumorales isolées**

*N0(i-) : absence d'envahissement ganglionnaire régional histologique, étude immunohistochimique négative (IHC)*

*N0(i+) : absence d'envahissement ganglionnaire régional histologique, IHC positive, avec des amas cellulaires  $\leq$  0,2 mm (considéré comme sans métastase ganglionnaire)*

*N0(mol-) : absence d'envahissement ganglionnaire régional histologique, biologie moléculaire négative (RT-PCR : reverse transcriptase polymerase chain reaction)*

*N0(mol+) : absence d'envahissement ganglionnaire régional histologique, biologie moléculaire positive (RT-PCR)*

**N1mi : micrométastases > 0,2 mm et ≤ 2 mm**

**N1 : envahissement de 1 à 3 ganglions axillaires ou/et envahissement des ganglions de la CMI détecté sur ganglion sentinelle sans signe clinique**

*N1a : envahissement de 1 à 3 ganglions axillaires*

*N1b : envahissement des ganglions de la CMI détecté sur ganglion sentinelle*

*N1c : envahissement de 1 à 3 ganglions axillaires et envahissement des ganglions de la CMI détecté sur ganglion sentinelle sans signe clinique (pN1a +pN1b)*

**N2 : envahissement de 4 à 9 ganglions axillaires ou envahissement des ganglions mammaires internes homolatéraux suspects, en l'absence d'envahissement ganglionnaire axillaire**

*N2a : envahissement de 4 à 9 ganglions axillaires avec au moins un amas cellulaire > 2 mm*

*N2b : envahissement des ganglions mammaires internes homolatéraux suspects, en l'absence d'envahissement ganglionnaire axillaire*

**N3 : envahissement d'au moins 10 ganglions axillaires ou envahissement des ganglions sous-claviculaires (niveau III axillaire) ou envahissement des ganglions mammaires internes homolatéraux suspects avec envahissement ganglionnaire axillaire ou envahissement de plus de 3 ganglions axillaires et envahissement des ganglions de la CMI détecté sur ganglion sentinelle sans signe clinique ou envahissement des ganglions sus-claviculaires homolatéraux**

*N3a : envahissement d'au moins 10 ganglions axillaires (avec au moins un amas cellulaire > 2 mm) ou envahissement des ganglions sous-claviculaires*

*N3b : envahissement des ganglions mammaires internes homolatéraux suspects avec envahissement ganglionnaire axillaire ou envahissement de plus de 3 ganglions axillaires et envahissement des ganglions de la CMI détecté sur ganglion sentinelle sans signe clinique*

*N3c : envahissement des ganglions sus-claviculaires homolatéraux*

Métastases à distance (M)

**Mx : renseignements insuffisants pour classer les métastases à distance**

**M0 : absence de métastases à distance**

**M1 : présence de métastase(s) à distance**

Classification par stade UICC

0 Tis N0 M0

I T1 N0 M0

IIA T0 N1 M0 ; T1 N1 M0 ; T2 N0 M0 ;

IIB T2 N1 M0 ; T3 N0 M0

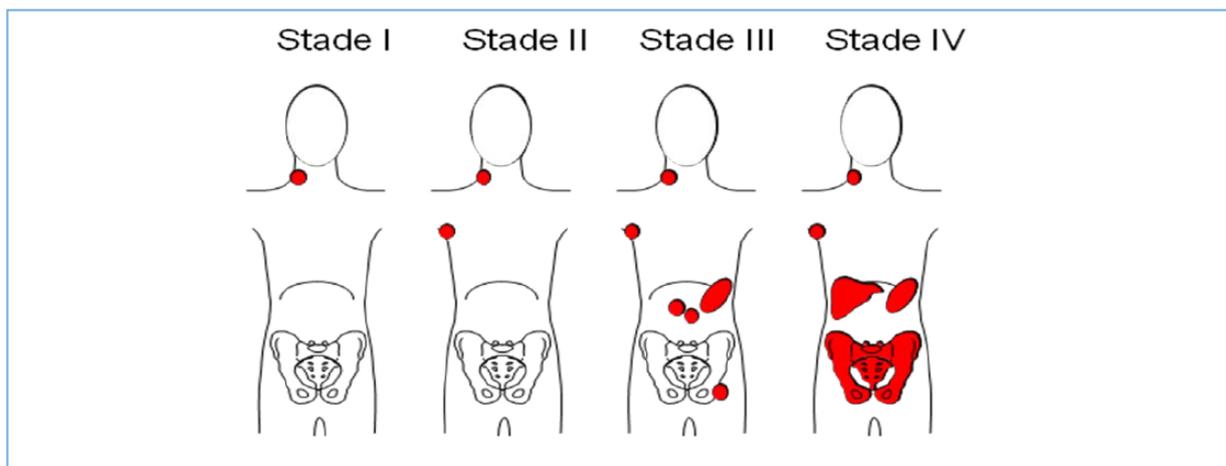
IIIA T0 N2 M0 ; T1 N2 M0 ; T2 N2 M0 ; T3 N1 M0 ; T3 N2 M0

IIIB T4 N0 M0 ; T4 N1 M0 ; T4 N2 M0 IIC Tous T N3 M0

IV Tous T Tous N M1

2) Classification d'Ann Arbor modifiée par Cotswolds.

Stade	Description
Stade I	Atteinte d'un seul groupe ganglionnaire ou d'une seule structure lymphoïde (médiastin = 1 ; cervical gauche = 1 ; rate = 1 ; anneau de Waldeyer = 1)
Stade II	Atteinte de deux ou plusieurs groupes ganglionnaires d'un seul côté du diaphragme (le médiastin représente un seul territoire, les deux hiles sont considérés indépendamment du médiastin comme des « régions » ganglionnaires). Le nombre de territoires ganglionnaires est indiqué en indice (II <sub>n</sub> ).
Stade III	Atteinte ganglionnaire des deux côtés du diaphragme
III 1	Atteinte sous-diaphragmatique limitée à la rate, aux ganglions du hile splénique, aux ganglions coeliaques ou du tronc porte
III 2	Atteinte des ganglions latéro-aortiques, iliaques, mésentériques s'associant ou non à l'atteinte détaillée dans le stade III 1
Stade IV	Atteinte extra-ganglionnaire distincte d'une localisation viscérale contiguë ou atteinte du foie ou de la moelle osseuse
A	Absence de signes généraux
B	Présence de fièvre, sueurs, ou amaigrissement
X	Importante masse tumorale : <ul style="list-style-type: none"> <li>• masse médiastinale de diamètre égal ou supérieur au tiers du diamètre transverse thoracique au niveau du disque intervertébral T5-T6 (sur un cliché thoracique de face)</li> <li>• masse ganglionnaire égale ou supérieure à 10 cm dans son diamètre maximum</li> </ul>
E	Atteinte d'un seul viscère contigu ou à proximité d'un territoire ganglionnaire atteint



3) Facteurs de risque et groupes pronostiques : Critères de l'EORTC et du GHSG.

	Critères de l'EORTC	Critères du GHSG
Facteurs de risque	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Masse ganglionnaire volumineuse (≥asse ganglionnaire volumine</li> <li>• Symptômes B et VS ≥ 30mm 1<sup>ère</sup> heure ou absence de symptômes et VS ≥ 50</li> <li>• Aires ganglionnaires envahies ≥ 4</li> <li>• Age ≥ 50 ans</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Masse médiastinale volumineuse (M/T &gt; 0,33)</li> <li>• Symptômes B et VS ≥ 30mm 1<sup>ère</sup> heure ou absence de symptômes et VS ≥ 50</li> <li>• Aires ganglionnaires envahies &gt; 3</li> <li>• Atteinte extra-ganglionnaire</li> </ul>
FORMES LOCALISEES		
Groupe favorable	Stade I ou II sus-diaphragmatique sans FP	Stade I ou II sans FP
Groupe intermédiaire ou défavorable	Stade I ou II sus-diaphragmatique ≥ 1 FP	Stade I ou IIA ≥ 1FP Stade IIB ≥ 1FP mais sans masse médiastinale volumineuse ni atteinte extra-ganglionnaire
FORMES DISSEMINÉES (OU AVANCÉES)		
	Stade I ou II sous-diaphragmatique Stade III ou IV	Stade IIB avec masse médiastinale volumineuse et /ou atteinte extra-ganglionnaire Stade III ou IV

# Résumé

---

## **Etude de la sensibilité des follicules antraux à la FSH exogène chez des patientes candidates à une préservation de la fertilité pour cancer du sein ou lymphome de Hodgkin.**

### **Objectif**

L'impact de la maladie cancéreuse sur la fonction ovarienne reste controversé. L'objectif principal de ce travail était de comparer la sensibilité des follicules antraux à la FSH exogène, évaluée par le Follicular Output RaTe (FORT), chez des patientes candidates à une préservation de la fertilité par vitrification ovocytaire dans un contexte de cancer du sein ou de Lymphome de Hodgkin (LyH).

### **Patientes et méthodes**

Il s'agissait d'une étude de cohorte prospective. 58 patientes atteintes d'un cancer du sein et 24 patientes atteintes d'un LyH ont été incluses. Une évaluation de la réserve ovarienne par l'AMH et un compte des follicules antraux était réalisée avant l'administration de FSH dans le cadre d'un protocole antagoniste de la GnRH. Le FORT était calculé par le ratio entre le nombre de follicules pré-ovulatoires supérieurs à 16 mm au jour du déclenchement de l'ovulation  $\times 100$  rapporté au nombre de follicules antraux vus à l'échographie de base.

### **Résultats**

Malgré un âge plus jeune et des paramètres de la réserve ovarienne plus élevés chez les patientes LyH en comparaison aux patientes atteintes de cancer du sein, le nombre d'ovocytes matures était identique dans les 2 groupes. Le FORT était significativement plus bas dans le groupe LyH comparativement au groupe cancer du sein ( $25 \pm 16\%$  vs  $37 \pm 19\%$ ,  $p < 0.02$ , respectivement).

### **Conclusion**

En dépit de paramètres de stimulation ovarienne comparables, la sensibilité des follicules antraux à la FSH exogène, évaluée par le FORT, est moindre en cas de LyH que chez des femmes atteintes de cancer du sein. Ces différences peuvent s'expliquer par un impact plus important des hémopathies sur le fonctionnement des cellules de la granulosa.

### **Mots-clés**

Préservation de la fertilité, Hyperstimulation ovarienne contrôlée, FORT, Vitrification ovocytaire, Cancer du sein, Lymphome de Hodgkin.

## **Small antral follicle responsiveness to FSH assessed by the Follicular Output RaTe (FORT) is altered in candidates for fertility preservation, suffering from Hodgkin Lymphoma in comparison with breast cancer.**

### **Objective**

Evidence indicates that the cancer status may impact on the capacity of ovaries to respond to controlled ovarian hyperstimulation (COH). The present investigation aims to compare the small antral follicle responsiveness to exogenous FSH, assessed by the FORT, in women suffering from Hodgkin lymphoma (LyH) or breast cancer (BC), candidates for fertility preservation using oocyte vitrification after COH.

### **Design**

Prospective cohort study.

### **Materials and Methods**

82 cancer patients suffering from LyH or BC were studied. All women underwent COH using GnRH antagonist protocols before oocyte vitrification. Evaluation of the follicular ovarian status by measurement of serum anti-Müllerian (AMH) levels and antral follicle count (AFC) was systematically performed before exogenous FSH administration. FORT was determined by the ratio between the pre-ovulatory follicle count (PFC, 16-22 mm) on the day of oocyte triggering (dOT)  $\times 100$ /AFC measured just before initiation of the stimulation (d0).

### **Results**

Overall, women in the LH group were significantly younger in comparison with BC patients. Despite higher d0 AFC ( $23 \pm 10$  vs  $18 \pm 14$ ,  $p < 0.02$ , respectively) but similar AMH, the FORT was significantly decreased in patients with LH when compared with BC group ( $25 \pm 16\%$  vs  $37 \pm 19\%$ ,  $p < 0.02$ , respectively), leading in the end to a comparable number of oocytes vitrified.

### **Conclusions**

That the responsiveness of antral follicle to FSH is diminished in cases of LH in comparison with BC, supports the hypothesis that cancer may affect the capacity of ovaries to respond to stimulation in different ways in localized tumors or systemic diseases.

### **Keywords**

Fertility Preservation, Controlled ovarian hyperstimulation, FORT, Oocyte vitrification, Breast cancer, Hodgkin lymphoma.

**Université Paris Descartes  
Faculté de Médecine Paris Descartes  
15, rue de l'Ecole de Médecine  
75270 Paris cedex 06**