



**Université Lille 2**  
**Droit et Santé**

UNIVERSITE LILLE 2 DROIT ET SANTE  
**FACULTE DE MEDECINE HENRI WAREMBOURG**

Année : 2017

THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT  
DE DOCTEUR EN MEDECINE

**Préservation de la fertilité par vitrification ovocytaire après cancer :  
étude chez 20 patientes au CHRU de Lille**

Présentée et soutenue publiquement le 09 Mai 2017 à 16h00

Au Pôle Formation

**Par Caroline KOWALSKI**

---

**JURY**

**Président :**

**Monsieur le Professeur Didier DEWAILLY**

**Assesseurs :**

**Madame le Professeur Sophie JONARD-CATTEAU**

**Madame le Docteur Brigitte LEROY-MARTIN**

**Monsieur le Docteur Geoffroy ROBIN**

**Madame le Docteur Agathe DUMONT**

**Directeur de Thèse :**

**Madame le Docteur Christine DECANTER**

---

## **Avertissement**

**La Faculté n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses : celles-ci sont propres à leurs auteurs.**



## Liste des abréviations

AFSOS	Association Francophone pour les Soins Oncologiques de Support
AJA	Adolescents et Jeunes Adultes
AMH	Hormone Antimüllérienne
CECOS	Centre d'Etude et de Conservation du Sperme
CFA	Comptage des Follicules Antraux
CHRU	Centre Hospitalier Régional Universitaire
DGOS	Direction Générale de l'Offre de Soins
FIV	Fécondation In Vitro
FSH	Hormone Folliculo-Stimulante
GnRH	Gonadotrophin Releasing Hormone
hCG	Hormone Chorionique Gonadotrope humaine
ICSI	Injection Intra Cytoplasmique de Spermatozoïde
IMC	Index de Masse Corporelle
INCa	Institut National du Cancer
IOP	Insuffisance Ovarienne Prématuration
INSEE	Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques
LH	Hormone Lutéinisante
NGF	Non Growing Follicle
TIS	Taux d'Incidence Standardisé

## Table des Matières

Résumé .....	1
Introduction .....	3
<b>.I. CANCERS CHEZ L'ADOLESCENTE ET LA FEMME JEUNE ADULTE.....</b>	<b>3</b>
A. EPIDEMIOLOGIE.....	3
B. OUTILS D'EVALUATION DE LA RESERVE OVARIENNE.....	4
1. Estradiolémie et taux de FSH en début de cycle.....	4
2. AMH.....	5
3. Comptage des follicules antraux en échographie .....	7
C. CHIMIOThERAPIE ET IMPACT SUR LA FERTILITE.....	8
D. GROSSESSE APRES CANCER.....	11
1. Fertilité spontanée après traitement gonadotoxique .....	11
2. Possibilités de grossesses après cancer .....	12
<b>.II. PRESERVATION DE LA FERTILITE.....</b>	<b>12</b>
A. HISTORIQUE.....	13
B. REGLEMENTATION FRANCAISE.....	14
1. La Loi de Bioéthique.....	14
2. Plan Cancer 2014-2019 .....	15
3. Agence de Biomédecine et de l'INCa .....	15
a) Recommandations .....	15
b) Difficultés actuelles en France.....	16
c) Des pistes d'amélioration.....	16
C. INDICATIONS.....	19
1. Cancers.....	19
2. Hémopathies non malignes.....	20
3. Maladies génétiques.....	21
4. Maladies auto-immunes .....	21
5. Endométriose.....	22
D. TECHNIQUES DE PRESERVATION DE LA FERTILITE.....	22
1. Préservation médicamenteuse .....	22
2. Protection chirurgicale.....	24
3. Cryoconservation embryonnaire .....	24
4. Cryopréservation d'ovocytes matures.....	25
5. Congélation de tissu ovarien.....	26
6. Maturation ovocytaire In Vitro .....	29
<b>.III. PRESERVATION POST-TRAITEMENT.....</b>	<b>30</b>
A. OBSERVATOIRE DE LA FERTILITE .....	30
B. PRESERVATION DE FERTILITE POST-CANCER.....	31
<b>.IV. OBJECTIFS DE L'ETUDE.....</b>	<b>31</b>
Matériels et méthodes .....	33
RESULTATS .....	38
<b>.I. DESCRIPTION DE LA POPULATION ETUDIEE.....</b>	<b>38</b>
A. CARACTERISTIQUES CLINICO-BIOLOGIQUES.....	41
B. CYCLES DE STIMULATION.....	41
C. COHORTE OVOCYTAIRE.....	42
<b>.II. APPARIEMENT .....</b>	<b>43</b>
<b>.III. COMPARAISON DES CYCLES DE STIMULATION CAS-TEMOINS.....</b>	<b>44</b>

<b>.IV. ANALYSE EN SOUS-GROUPE .....</b>	<b>45</b>
A. COMPARAISON CYCLES 1 et 2.....	45
B. SELON LES TYPES DE CANCERS.....	47
<b>.V. FACTEURS PREDICTIFS D'OBTENTION D'OVOCYTES MATURES .....</b>	<b>48</b>
DISCUSSION .....	50
Conclusion .....	64
Références bibliographiques .....	65

## RESUME

**Contexte** : L'amélioration de la survie chez les patients traitées pour un cancer dans l'enfance ou à un âge jeune implique la gestion des troubles de la fertilité liés à ces traitements. La préservation de la fertilité après cancer tend à devenir plus fréquente et son intérêt pronostic ainsi que sa faisabilité nécessitent d'être étudiés.

**Méthode** : Etude prospective comparative, de janvier 2014 à décembre 2016, des tentatives de préservation de fertilité par vitrification ovocytaire de 20 patientes ayant été traitées par chimiothérapie pour cancer et de patientes « contrôle », appariées sur l'âge et l'AMH, et ayant bénéficié d'une FIV-ICSI. Les caractéristiques cliniques, biologiques, les paramètres de stimulation et les caractéristiques ovocytaires ont été analysés et comparés dans les deux groupes.

**Résultats** : 17 patientes ont bénéficié d'une préservation de fertilité, réalisant 39 cycles de stimulation soit 2,3 cycles par patiente. 15,4% des cycles ont été annulés pour hypo-réponse. Les groupes étaient comparables sur le bilan hormonal à J3 et l'IMC. Les patientes du groupe « après-cancer » avaient un CFA plus bas que les patientes « contrôle ». Lors des stimulations, le taux d'estradiol au déclenchement était significativement plus bas chez les patientes du groupe « après-cancer » mais le développement folliculaire était comparable. Aucune différence entre les groupes n'a été retrouvée concernant les caractéristiques des cohortes ovocytaires. A l'issue du 2<sup>e</sup> cycle et après accumulation ovocytaire, 7,2 ( $\pm$  4,7) ovocytes matures par patiente ont été vitrifiés et 50% des patientes avaient au moins 8 ovocytes matures cryopréservés.

**Conclusion** : Les patientes survivantes d'un cancer ont eu une bonne adhésion à la stratégie de préservation de fertilité par vitrification ovocytaire. Ces patientes « après-cancer » avaient une réponse ovarienne à la stimulation comparable à des patientes de même âge, ayant une baisse de réserve idiopathique.

## INTRODUCTION

### **.I. CANCERS CHEZ L'ADOLESCENTE ET LA FEMME JEUNE ADULTE**

#### **A. EPIDEMIOLOGIE**

L'incidence des cancers chez les femmes a augmenté de près de 20% durant les dernières décennies, avec cependant un déclin du taux de mortalité en regard (1). Les adolescents (entre 15 et 19 ans) et les jeunes adultes (entre 20 et 25 ans) représentent une population particulière en cancérologie, que ce soit en terme d'incidence des maladies, de taux de survie ou encore de gestion des effets secondaires.

Cette population d'adolescents et de jeunes adultes (AJA) a pu être étudiée grâce aux registres généraux et spécialisés du réseau Francim (2). Ainsi entre 2000 et 2008, 2418 cancers ont été rapportés à ces registres. Les cancers les plus fréquemment retrouvés dans la population féminine de cet âge (15-24 ans) étaient les lymphomes hodgkiniens (TIS=56,5/106), puis les carcinomes thyroïdiens (TIS=39,4/106) suivis des mélanomes malins (TIS=27,9/106) (2).

Sur cette même période, le taux d'incidence mondial, tous cancers confondus, était de 254,1 par an et par million d'adolescentes et jeunes adultes.

Malgré l'amélioration des thérapeutiques, le cancer reste la première cause de décès non accidentel dans cette population jeune, dans les pays développés (3). Cependant, la survie à 5 ans des AJA a nettement augmenté lors des deux dernières décennies, passant de 62% environ à 82%, tous âges et sexes confondus.

La survie à 5 ans chez les adolescentes et les jeunes femmes était de 85,2% au début des années 2000, tous cancers confondus (2).

Ainsi, en 2010, un adulte sur 250 était en rémission d'un cancer survenu et ayant été traité dans l'enfance (4).

Cette augmentation de l'espérance de vie chez ces patientes traitées pour un cancer dans l'enfance (5) implique la gestion à long terme des effets secondaires, et notamment des troubles de la fertilité. En effet, certaines de ces patientes n'ont pas encore accompli leur désir de famille, et ce risque d'hypofertilité ultérieure devient une préoccupation à part entière dans la prise en charge de leur maladie.

En France, l'âge au premier enfant est en moyenne de 28 ans selon l'INSEE en 2010 (6). Les patientes jeunes ayant survécu à leur cancer auront donc le plus souvent un désir de grossesse dans les années suivant la rémission, désir rendu compliqué par les effets gonadotoxiques des traitements entrepris.

Selon une étude new-yorkaise sur plus de 20000 femmes, les patientes ayant été traitées dans l'enfance par chimiothérapie ont un risque relatif d'insuffisance ovarienne prématurée 10 fois supérieur à celui de la population générale (7).

L'objectif 8.1 du Plan Cancer 2014-2019 est d'assurer l'accès à la préservation de la fertilité pour les patients atteints du cancer, preuve en est qu'il s'agit d'une réelle préoccupation dans cette population (8).

## **B. OUTILS D'ÉVALUATION DE LA RÉSERVE OVARIENNE**

### **1. Estradiolémie et taux de FSH en début de cycle**

La FSH est une hormone sécrétée par l'hypophyse pour stimuler la croissance folliculaire au cours du cycle menstruel. Cette croissance folliculaire entraîne une

élévation du taux d'estradiol, sécrété par les follicules dominants. Lorsque la réserve ovarienne diminue, le taux de FSH en début de cycle augmente, témoignant d'un besoin de stimulation plus important des ovaires. L'estradiolémie peut aussi être augmentée, signe d'un recrutement folliculaire prématuré.

Cependant, ce couple FSH/Estradiol est peu précis et peu reproductible. Dans le cadre d'un bilan de réserve ovarienne avant stimulation, il est donc complété d'une mesure du taux d'AMH et d'un comptage des follicules antraux.

Il est cependant à la base de la définition de l'insuffisance ovarienne prématurée, définie par l'ESHRE (9) comme la survenue chez une patiente de moins de 40 ans d'une aménorrhée (ou oligoménorrhée) d'au moins 4 mois et de deux dosages de FSH > 25 UI/l à au moins 4 semaines d'intervalle.

## **2. AMH**

L'hormone antimüllérienne (AMH) est actuellement le marqueur le plus pertinent pour évaluer le statut folliculaire des femmes (10,11).

Cette hormone est sécrétée au niveau ovarien par les cellules de la granulosa des follicules en croissance, du stade de follicule primaire jusqu'au stade de petit follicule antral. Les follicules au-delà du stade antral précoce n'expriment plus l'AMH (12). En dehors de certaines situations (comme par exemple le syndrome des ovaires polykystiques), le taux plasmatique de cette hormone est un reflet indirect du nombre de follicules primordiaux de la réserve ovarienne.



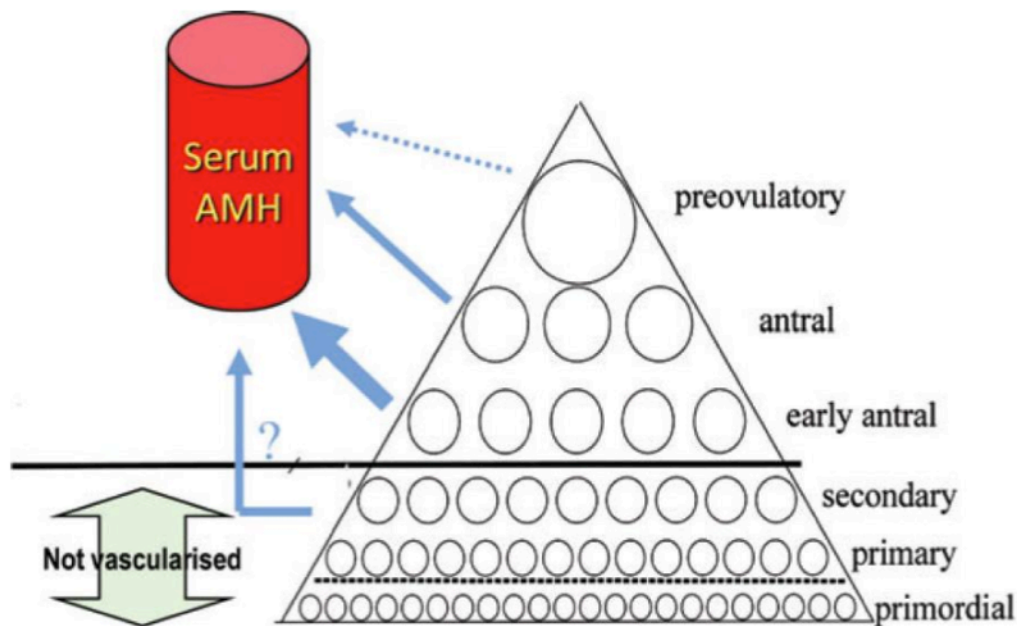


Figure 1. Physiologie de la sécrétion d'AMH

Après plusieurs variations dans la période fœtale et dans l'enfance, la concentration sérique d'AMH atteint son pic à 25 ans, pour décliner progressivement jusqu'à la ménopause (13).

Le taux plasmatique d'AMH se révèle être un excellent reflet de la réserve ovarienne (14), avec une très bonne relation avec le taux de recrutement des follicules primordiaux à partir de 25 ans. Elle ne possède pas ou peu de variabilité intra-individuelle, avec des taux qui ne semblent pas varier selon le cycle menstruel notamment, rendant très pratique son utilisation (15,16).

La variation des taux d'AMH au cours d'un traitement gonadotoxique permet donc d'évaluer les effets néfastes des traitements gonadotoxiques anticancéreux.

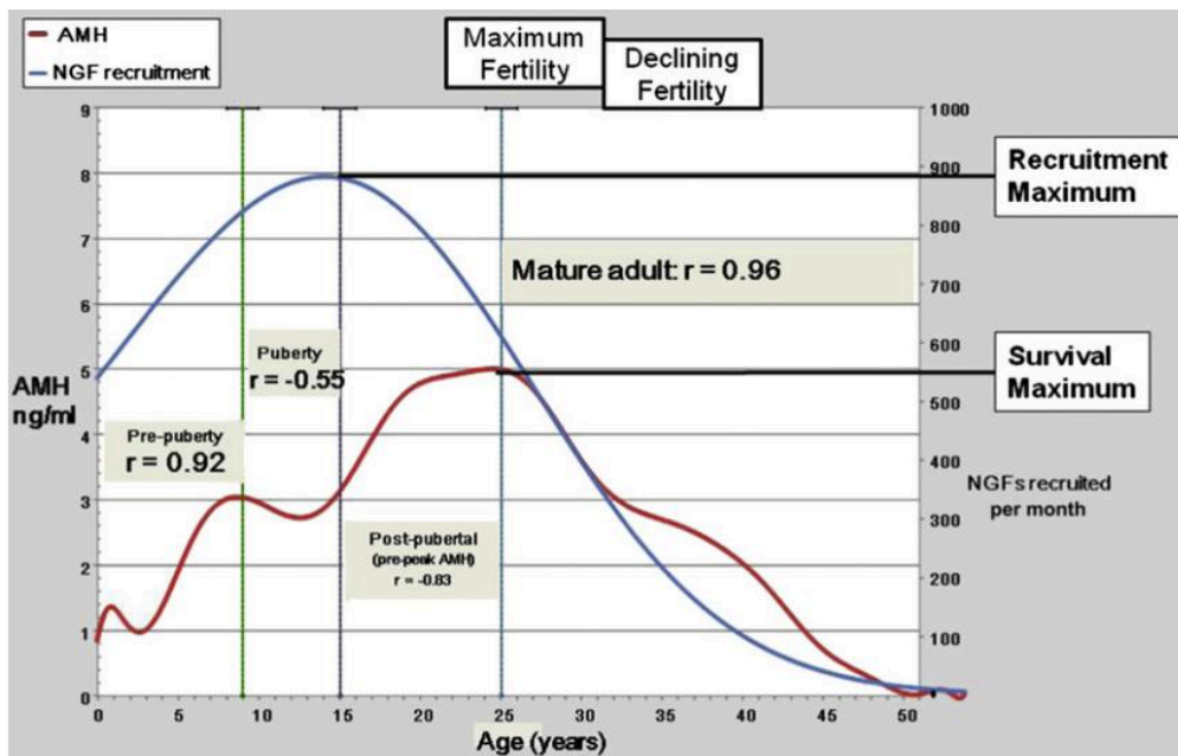


Figure 2. Corrélation entre AMH plasmatique et recrutement des follicules primordiaux (NGF = non growing follicle). D'après Fleming et al. (17).

Rosendahl et al. ont étudié les taux d'AMH avant, pendant et après le traitement de 30 patientes présentant un cancer (lymphome, cancer du sein ou sarcome d'Ewing) (18). Ils ont ainsi pu observer un effondrement de l'AMH dès l'initiation de la chimiothérapie. L'AMH était indosable pour la majorité des patientes à la fin de la chimiothérapie, et le restait pendant une moyenne de 8 mois après la fin du traitement. Le taux d'AMH remontait ensuite mais n'atteignait jamais les taux pré-thérapeutiques (18–20).

### 3. Comptage des follicules antraux en échographie

Cette méthode d'évaluation de la réserve ovarienne consiste au décompte en échographie des follicules visibles au troisième jour du cycle menstruel. Il s'agit des follicules antraux, précisément ceux qui sécrètent le plus d'AMH. Le CFA est donc

fortement corrélé au taux d'AMH plasmatique, et la mesure de ces 2 paramètres permet de confronter les résultats en cas de difficultés de réalisation.

Pour qu'il soit reproductible et validé, le CFA doit être réalisé sur des appareils d'échographie équipés de sondes haute résolution (>6 MHz), permettant de décompter tous les follicules mesurant moins de 10 mm sur chacun des deux ovaires. Il existe évidemment une courbe d'apprentissage et il existe indéniablement une certaine variabilité inter-opérateur. L'échographie doit être réalisée par voie vaginale, sauf pour les patientes vierges où l'échographie est pratiquée par voie sus-pubienne. Dans cette situation, il peut exister une sous-estimation du CFA qui le rend beaucoup moins pertinent.

### **C. CHIMIOThERAPIE ET IMPACT SUR LA FERTILITE**

Parmi les effets secondaires des traitements anticancéreux, le risque d'infertilité apparaît comme l'un des plus importants pour les patients. En effet, plusieurs études ont montré que la perte de fertilité est parfois aussi difficile à gérer que le cancer en lui-même (21).

Les traitements du cancer impactent la fertilité en entraînant une insuffisance ovarienne prématurée (IOP) définie en France par une aménorrhée supérieure ou égale à 4 mois chez une patiente de moins de 40 ans avec un dosage de FSH>20UI/L à deux reprises (22). En dehors d'une véritable IOP, les traitements entraînent pratiquement tous une altération de la réserve ovarienne, et diffèrent les projets de grossesse, réduisant ainsi la fenêtre de conception des patientes.

La chimiothérapie consiste en l'administration de médicaments agissant sur les cellules à fort potentiel mitotique telles que les cellules cancéreuses, et empêche leur division ou les détruit. La fréquence et la durée de la chimiothérapie dépendent du type de cancer, de l'avancée de la maladie, des objectifs à atteindre (réduction de la masse tumorale, rémission, palliatif à visée de confort), des médicaments et enfin de la tolérance du patient à son administration.

Le principe même d'atteinte des cellules en division rapide explique l'effet apoptotique sur les cellules de la granulosa des follicules primordiaux ou en croissance, entraînant une perte de ceux-ci de manière dose-dépendante (23). Les effets gonadotoxiques de la chimiothérapie ne sont généralement pas prévisibles, mais certaines molécules sont reconnues pour avoir un effet délétère plus important que les autres. Une classification des molécules selon le risque d'insuffisance ovarienne prématurée induite a été réalisée afin d'évaluer au mieux ce risque (24).

L'équipe de Sudour-Bonnange a résumé le risque d'altération de la fertilité des patientes en fonction de leurs traitements et de la dose reçue (Tableau1).

Non évalué	Risque faible	Risque modéré d'infertilité et/ou d'insuffisance ovarienne prématurée	Risque élevé d'insuffisance ovarienne dès l'administration du traitement
			Discussion d'une conservation de cortex ovarien avant ces traitements
<b>Taxane</b> <b>Oxaliplatine</b> <b>Thérapies ciblées</b> <b>Carboplatine</b> <b>Cisplatine</b>	<b>Antimétabolites</b> - Azathioprine - Fludarabine - Méthotrexate - 6-mercaptopurine - Cytarabine <b>Vinca-alkaloïdes</b> - Vincristine - Vinblastine <b>Antibiotiques</b> - Bléomycine - Actinomycine D <b>Anthracyclines</b> - Doxorubicine <b>Epipodophylotoxines</b> - Etoposide	<b>Alkylants</b> - Cyclophosphamide (> 6g/m <sup>2</sup> ) - Ifosfamide (> 60 g/m <sup>2</sup> ) - Lomustine (360 mg/m <sup>2</sup> ) - Procarbazine (> 6g/m <sup>2</sup> ) - Melphalan (140 mg/m <sup>2</sup> )	<b>Alkylants</b> - Busulfan (doses myéloablatives) - Thiotépa (>600mg/m <sup>2</sup> )  <b>Radiothérapie</b> - Irradiation corporelle totale (12 Gy) - Pelvienne (≥ 4Gy sur 2 ovaires, sans transportation possible)

Tableau 1. Gonadotoxicité dose-dépendante selon la molécule de chimiothérapie. D'après Sudour-Bonnange et al. (25) et les Référentiels AFSOS juillet 2013

Les agents alkylants, regroupant Cyclophosphamide, Chlorambucil, Procarbazine, Dacarbazine, Carboplatine, Cisplatine etc. sont reconnus comme étant les molécules les plus agressives et les plus gonadotoxiques (26,27).

Indépendamment de la molécule de chimiothérapie utilisée, l'âge de la patiente au moment de l'administration du traitement gonadotoxique semble jouer un rôle primordial dans le pronostic sur la réserve ovarienne de la patiente. Ainsi, plus la patiente est jeune au moment du traitement, meilleur sera le pronostic (20). En fait, ceci serait lié au fait que les femmes âgées ont une réserve ovarienne moins bonne au moment du traitement que les jeunes femmes, et donc que l'élément important ne

serait pas tellement l'âge au moment du traitement mais bien la réserve ovarienne (28,29) . Anderson et al. ont ainsi pu mettre en évidence un seuil d'AMH (hormone antimüllérienne) pré-thérapeutique à 20,3pmol/L, permettant une reprise des cycles deux ans après l'arrêt du traitement chimiothérapique. En dessous de ce seuil, la reprise des menstruations dépendrait de l'âge de la patiente au moment du traitement, avec un âge limite à 38,6ans. De même, l'étude lilloise de Decanter et al. a retrouvé une valeur prédictive cible d'AMH pré-thérapeutique pour un retour de cycles à deux ans à 16pmol/L (Communication orale Bruxelles 2010, travail en cours).

Une autre explication à l'altération de la réserve ovarienne après chimiothérapie est la constitution de lésions vasculaires et de fibrose tissulaire. Cette notion est assez ancienne et remonte à 1985 (30). Meiorow et al. (31) ont décrit en 2007 trois mécanismes de modification tissulaire ovarienne des patientes ayant été traitées par chimiothérapie: (i) l'oblitération de la lumière vasculaire par épaissement de la couche musculaire avec fibrose de l'intima et hyalinisation du vaisseau, (ii) la néovascularisation du cortex ovarien et (iii) la fibrose sous capsulaire.

## **D. GROSSESSE APRES CANCER**

### **1. Fertilité spontanée après traitement gonadotoxique**

Une large étude rétrospective épidémiologique menée par Letourneau et al. (32) s'est intéressée à la fertilité de patientes âgées de 18 à 40 ans au moment du diagnostic de leucémie, lymphome, cancer du sein ou tumeur gastro-intestinale. Cette étude montre que l'incidence de l'insuffisance ovarienne prématurée, définie dans cette étude comme une persistance de l'aménorrhée 12 mois après la fin de la

chimiothérapie, est de 10% environ et est liée à l'âge des patientes au moment du traitement gonadotoxique. Cependant, la réapparition des cycles menstruels ne semble pas un signe fiable de la restauration de la fertilité. En effet, l'incidence de l'infertilité resterait de 40% à 35 ans chez les patientes ayant retrouvé des cycles, avec une corrélation linéaire en fonction de l'âge. Parmi les patientes jeunes traitées pour lymphome dans la cohorte de Decanter et al. (33), 80% des patientes ayant retrouvé des cycles présentent néanmoins des dosages d'AMH significativement plus bas 12 mois après leur chimiothérapie qu'avant traitement.

## **2. Possibilités de grossesses après cancer**

En parallèle de cette diminution de la fenêtre de fertilité, le projet de grossesse est bien souvent différé par l'annonce du cancer, et l'attente d'une rémission. En cas de succès des traitements contre le cancer, les équipes d'oncologie conseillent souvent un délai de 2 à 5 ans après la fin des traitements, correspondant au délai de persistance de l'effet mutagène des agents cytotoxiques de la chimiothérapie sur les gamètes.

A noter que plusieurs études ont mis en évidence les bienfaits d'une grossesse après cancer du sein sur le taux de récurrence, appelé « the healthy mother concept » : les patientes ayant eu une grossesse après traitement de leur cancer ont 40% de risque de mortalité en moins (34,35).

## **.II. PRESERVATION DE LA FERTILITE**

L'incidence du cancer mais aussi les taux de survie chez les sujets jeunes sont en augmentation dans cette population, et la question de la fertilité future chez ces

patients prend une place importante dans l'information qui doit leur être apportée. Ainsi depuis le décret de 2006, tout patient dont la fertilité est menacée par son traitement devrait avoir accès aux différentes techniques de préservation de la fertilité. Les techniques de préservation sont nombreuses et doivent être discutées de manière pluridisciplinaire pour prendre en compte l'urgence du traitement anticancéreux, le risque d'infertilité lié à ce traitement, la durée de celui-ci, l'âge du patient, la réserve ovarienne de la patiente, le souhait du patient, etc.

## **A. HISTORIQUE**

La préservation des gamètes humains est une technique récente, dont la recherche a seulement commencé au milieu du XXe siècle.

La cryoconservation de spermatozoïdes a débuté dans les années 1970, bien avant celle des ovocytes, rendue plus difficile par la teneur importante en eau des gamètes féminins.

Dans les années 1965-1969, Edwards établit le concept de maturation in vitro et de fécondation de ces ovocytes (36).

En 1983, cette technique permet la première naissance mondiale après maturation in vitro d'un ovocyte recueilli au cours d'une césarienne.

La première congélation ovocytaire est réalisée par Chen en 1986.

Si la congélation de tissu ovarien est maîtrisée depuis quelques années, il faudra attendre l'an 2000 pour voir la première technique de greffe orthotopique de tissu ovarien chez la femme par Oktay, permettant une reprise de la sécrétion hormonale et l'apparition de cycles après induction d'une puberté (37). C'est aussi Oktay qui obtient un embryon après greffe hétérotopique en FIV (38).



En 2004, Donnez et al. ont publié le cas d'une naissance après grossesse spontanée chez une patiente ayant bénéficié d'une greffe orthotopique (39).

Le problème de la teneur importante en eau du gamète féminin sera finalement contourné par la technique de vitrification. Bien que cette technique soit réalisée et maîtrisée depuis des années dans le monde, il a fallu attendre 2011 afin que celle-ci soit autorisée en France.

## **B. REGLEMENTATION FRANCAISE**

### **1. La Loi de Bioéthique**

Les techniques d'Assistance Médicale à la Procréation (AMP) ainsi que les techniques de préservation de la fertilité sont encadrées par la loi de Bioéthique, qui régit l'utilisation des gamètes et tissus germinaux.

La première Loi de Bioéthique est parue en 1994, puis révisée en 2004 et 2011.

Sa dernière version, et notamment l'article L2141-11, définit les conditions pour accéder à une préservation de fertilité.

« Toute personne dont la prise en charge médicale est susceptible d'altérer la fertilité, ou dont la fertilité risque d'être prématurément altérée, peut bénéficier du recueil et de la conservation de ses gamètes ou de ses tissus germinaux, en vue de la réalisation ultérieure, à son bénéfice, d'une assistance médicale à la procréation, ou en vue de la préservation et de la restauration de sa fertilité. Ce recueil et cette conservation sont subordonnés au consentement de l'intéressé et, le cas échéant, de celui de l'un des titulaires de l'autorité parentale, ou du tuteur, lorsque l'intéressé, mineur ou majeur, fait l'objet d'une mesure de tutelle ».

Cette loi précise aussi les conditions de recueil des gamètes ou tissus germinaux, leur conservation, et enfin les conditions de leur utilisation ultérieure.

Ainsi, cette loi de Bioéthique précise que l'usage ne pourra être qu'autologue, dans le cadre de prise en charge en PMA ou pour restaurer la fertilité des patients. (Article III-4.1).

Elle conditionne de plus l'usage d'embryons, appartenant aux deux membres d'un couple : le décès d'un membre du couple, la séparation du couple ou la révocation par écrit d'un des membres du couple font obstacle à l'utilisation des embryons conservés.

Enfin, c'est cette loi qui autorise la vitrification, technique de congélation ultra-rapide des ovocytes, permettant de meilleurs résultats.

## **2. Plan Cancer 2014-2019**

Le Plan Cancer met en exergue les problèmes actuels et fixe les moyens pour améliorer la prise en charge des patients atteints d'un cancer.

Dans sa nouvelle version, l'objectif 8.1 est d'assurer l'accès à la préservation de la fertilité. Les responsables de ces actions sont l'Agence de Biomédecine, l'INCa (Institut National du Cancer), la DGOS (Direction Générale de l'Offre de Soins) et la Ligue contre le Cancer. Il est également encadré par le dispositif d'autorisation des établissements de santé pour le traitement des cancers et par les critères d'agrément spécifiques pour la prise en charge des patients de moins de 18 ans."

## **3. Agence de Biomédecine et de l'INCa**

### ***a) Recommandations***

Les recommandations émises dans le rapport de 2012 (40) font état d'obligations pour la préservation de la fertilité:

-Conditions liées à la sécurité sanitaire : nécessité de sérologies de moins de 6 mois

-Consentement : information adaptée, complète et compréhensible, puis consentement écrit du patient

-Conservation des gamètes et/ou des tissus germinaux : confirmation annuelle écrite de la volonté de poursuivre la conservation, tant que le patient est en âge de procréer. Les produits conservés peuvent être détruits ou cédés à la recherche sur demande du patient. Ils seront automatiquement détruits en cas de décès de ce dernier.

-Nécessité d'une consultation préalable à la cryopréservation des gamètes

### ***b) Difficultés actuelles en France***

Dans son rapport, l'INCa déplore une grande inégalité de prise en charge des patients. Ces disparités sont particulièrement ressenties au niveau de l'information faite aux patients, en quantité mais aussi en qualité. La question de la fertilité ultérieure, au moment de l'annonce du cancer, apparaissant comme une double peine, représente une difficulté aisément exprimée par le personnel médical en charge de cette annonce.

L'autre aspect mis en exergue par l'INCa est le manque d'information sur les différentes options disponibles en préservation de la fertilité.

### ***c) Des pistes d'amélioration***

Afin d'améliorer la prise en charge des patients pouvant bénéficier d'une préservation de la fertilité avant un traitement lourd, l'INCa insiste sur la nécessité d'une information complète, par les oncologues souvent en première ligne, mais aussi par les autres professionnels pouvant être en relation avec le patient entre l'annonce et le début du traitement anticancéreux. Afin de ne pas générer de stress supplémentaire, l'implication de psychologues et une prise en charge spécifique des

enfants est conseillée. Plusieurs supports de communication, adaptés aux différents âges des patients sont proposés et diffusés dans les centres spécialisés. L'Agence de Biomédecine et l'INCa sont engagés dans l'élaboration d'un programme d'information des professionnels et des patients avec la mise en place notamment d'un site dédié.

Le rapport Grünfeld, dans le Plan Cancer 2009-2013, propose une liste de sujets à aborder, qui doit comprendre les conséquences des traitements, les complications possibles du prélèvement pour la préservation de gamètes, les limites de l'utilisation ultérieure des tissus ou gamètes prélevés et les alternatives en cas d'échec de la restauration de fertilité (41).

Afin d'améliorer l'accès aux structures et aux professionnels spécialisés, ceux-ci doivent être répartis sur le territoire.

**Répartition sur le territoire national des établissements ayant assuré en 2010  
une activité de conservation à usage autologue des spermatozoïdes  
et des tissus ovariens**

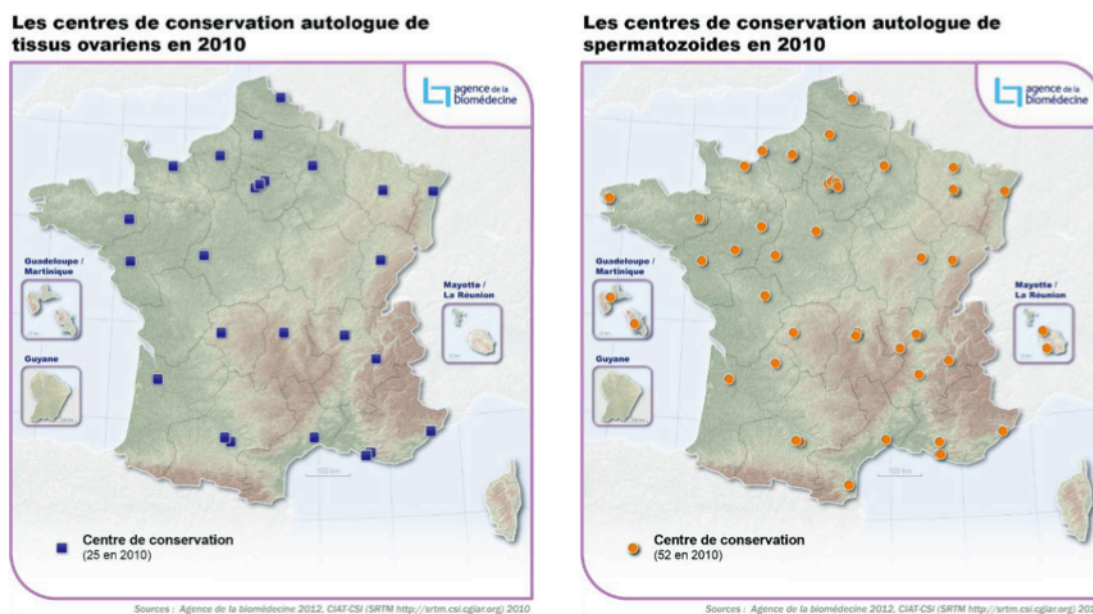


Figure 3. Répartition sur le territoire national des établissements assurant la conservation de spermatozoïdes et de tissus ovariens. D'après l'Agence de Biomédecine.

De plus, il est nécessaire de continuer à former les médecins et le personnel paramédical, afin d'acquérir de nouvelles connaissances et d'améliorer les techniques déjà maîtrisées.

Le dernier point évoqué par l'INCa et qui paraît essentiel est la nécessité d'instaurer un suivi de ces patients, afin d'évaluer à distance les conséquences sur la fertilité résiduelle.

## **C. INDICATIONS**

### **1. Cancers**

La première indication pour la préservation de la fertilité est la pathologie cancéreuse, avec des traitements chimiothérapeutiques et radiothérapeutiques altérant la fonction de reproduction.

L'équipe de Trèves et al. (21) a montré l'influence psychologique positive de la préservation de fertilité dans le contexte d'annonce et de traitement du cancer. Ils ont ainsi prouvé grâce aux données collectées par un questionnaire, que la possibilité de bénéficier d'une préservation de fertilité, prise en charge par l'assurance maladie en France, avait réellement amélioré l'état d'esprit des patients. En effet, cette perspective d'un « après cancer » modifierait la façon d'accepter la chimiothérapie, soulagerait les patients du poids de la perte de fertilité, leur permettant de mettre leur énergie dans le combat contre le cancer. La proposition de préserver la fertilité rassure les patients car, en envisageant leur avenir reproductif, ils perçoivent la confiance en la réussite du traitement et l'éventualité d'une famille future, rendue concrète par cette préservation.

Les patientes traitées pour un cancer présentent un risque relatif de présenter une insuffisance ovarienne prématurée (IOP) 4 fois supérieur chez les adolescentes et 27 fois supérieur chez l'adulte jeune, comparé à la population générale (42). Ce risque d'IOP est proportionnel à la durée de traitement, à la dose, et dépend des molécules utilisées. Ainsi, après un conditionnement pour autogreffe de moelle osseuse, 92% des patientes présenteront une IOP (20).

Pour aider les cliniciens dans les décisions de traitement et de préservation de fertilité, les molécules de chimiothérapies ont été classées selon leur gonadotoxicité (Tableau 1 et 3)

Risque faible	Risque modéré	Risque élevé	Risque très élevé
<b>Antimétaboliques</b> Azathioprine, Fludarabine, Methotrexate, 6-Mercaptopurine Cytarabine <b>Vinca-alkaloïdes</b> Vincristine, Vinblastine <b>Antibiotiques</b> Bleomycine, Actinomycine D <b>Étoposide</b>	<b>Alkylants</b> Cyclophosphamide (3,5-9 g/m <sup>2</sup> ) Procarbazine (< 4 g/m <sup>2</sup> ) Ifosfamide (>36 g/m <sup>2</sup> ) Dacarbazine Temozolomide <b>Nitrosourés</b> Lomustine Carmustine <b>Anthracyclines</b> Doxorubicine, Daunorubicine Mitoxantrone	<b>Alkykants</b> Cyclophosphamide (>9 g/m <sup>2</sup> ) Procarbazine (> 4 g/m <sup>2</sup> ) Thiotépa (400mg/m <sup>2</sup> ) <b>Dérivés du platine</b> Cisplatine Carboplatine	<b>Alkylants à fortes doses</b> Busulfan Melphalan Thiotépa

Tableau 2. Risque de toxicité gonadique selon les chimiothérapies anticancéreuses reçues.

A ce risque d'altération de la fertilité lié au traitement, s'ajoute le décalage de la fenêtre de la fertilité. En effet il convient de respecter le délai imposé par les cancérologues en raison des effets mutagènes de la chimiothérapie et radiothérapie, mais aussi celui pour obtenir une rémission complète avant d'envisager la mise en route d'une grossesse. Ce délai en lui-même, pouvant aller de 2 à 5 ans altère de manière indépendante la réserve ovarienne de la patiente.

## 2. Hémopathies non malignes

Certaines hémopathies non malignes, telles que la drépanocytose, l'alpha ou beta-thalassémie ou encore l'aplasie médullaire idiopathique, peuvent nécessiter dans leur prise en charge une allogreffe de moelle osseuse ou une autogreffe de cellules souches. Les patientes sont alors conditionnées par chimiothérapie alkylante

à haute dose, voire irradiation corporelle totale en pré-greffe, engendrant des risques pour la fertilité future (43).

### **3. Maladies génétiques**

Certaines maladies génétiques, parfois familiales, peuvent entraîner une insuffisance ovarienne prématurée et faire proposer une préservation de la fertilité. Par exemple, le Syndrome de Turner (45 X0) ou le Syndrome de Klinefelter (47XXY), entraînent un risque d'insuffisance ovarienne prématurée ou d'azoospermie. Seuls 2 à 5% des femmes atteintes d'un syndrome de Turner présenteront une grossesse spontanée. Ces grossesses spontanées sont le plus souvent rencontrées dans les formes moins sévères, en mosaïque. Mais une préservation dans ce contexte, bien qu'envisageable, pose le problème du risque de transmission de l'anomalie chromosomique.

Chez les hommes présentant un syndrome de Klinefelter, si des spermatozoïdes sont retrouvés dans l'éjaculat ou à la biopsie testiculaire, des paillettes seront conservées au CECOS et utilisées si nécessaire car il n'y a pas de risque de transmission de l'anomalie génétique.

### **4. Maladies auto-immunes**

Certaines maladies auto-immunes, telles que le lupus, la polyarthrite rhumatoïde, la néphropathie auto-immune, la sclérose en plaque ou encore la granulomatose de Wegener, nécessitent l'utilisation du cyclophosphamide, qui fait partie des agents alkylants (43). Une préservation de la fertilité peut de ce fait se justifier.



## **5. Endométriose**

Les patientes atteintes d'endométriose pelvienne ont une fertilité diminuée, probablement secondaire à l'inflammation pelvienne caractéristique de cette affection (44,45). Mais c'est la réalisation de chirurgies pelviennes, parfois répétées et impliquant l'ovaire qui entraîne une baisse significative de la réserve ovarienne pouvant faire craindre une insuffisance ovarienne prématurée (46). Dans ce contexte, il peut être proposé une préservation de la fertilité (47).

### **D. TECHNIQUES DE PRESERVATION DE LA FERTILITE**

Le risque d'infertilité, la réserve ovarienne actuelle, la possibilité de stimuler les ovaires mais surtout le délai pour la mise en application du traitement gonadotoxique sont à prendre en compte pour le choix de la méthode.

Il existe différentes stratégies de préservation de la fertilité féminine : la préservation médicamenteuse, la cryopréservation de tissu ovarien, la cryopréservation embryonnaire ou la cryoconservation ovocytaire. Ces méthodes peuvent être associées dans certaines situations.

#### **1. Préservation médicamenteuse**

Bien que l'efficacité des traitements médicamenteux par agoniste de la GnRH ait été démontrée chez les animaux, celle-ci reste controversée chez l'Homme (48–51). Le principe physiopathologique de cette protection ovocytaire serait une diminution du recrutement folliculaire par inhibition de la sécrétion de FSH, une hypo-œstrogénie et une hypo perfusion ovarienne, ce qui diminuerait l'exposition des ovaires aux toxiques. Un effet anti-apoptotique de la sphingosine-1-phosphate médié par la GnRH a aussi été décrit (52).

En 2011, une méta-analyse de la Cochrane conclut à une relative efficacité de ce traitement sur la préservation du capital folliculaire et les chances de reprise d'une fonction ovulatoire satisfaisante à distance de l'arrêt de la chimiothérapie (48,53), mais aucune différence significative sur l'incidence des grossesses spontanées n'a pu être mise en évidence (54). Plus récemment, Lambertini et al. (55) ont réalisé une méta-analyse concluant à l'efficacité de cette méthode, aussitôt contredite par Oktay (56). Les agonistes de la GnRH sont donc largement utilisés en parallèle d'une préservation devant une facilité d'accessibilité et une bonne tolérance. Ils peuvent être utilisés dans toutes les situations où une chimiothérapie gonadotoxique est envisagée et même si les traitements doivent être commencés en urgence. Un avantage non négligeable de ce traitement est l'obtention d'une aménorrhée, confortable pendant les traitements à risque de thrombopénie. Un autre avantage est l'assurance d'une efficacité contraceptive. Cependant, cette technique de préservation entraîne aussi des effets indésirables tels que l'« effet flare-up » (stimulation initiale de la libération des gonadotrophines et des stéroïdes sexuels) pouvant être indésirable lors d'une maladie hormono-dépendante. Dans un second temps, le caractère apulsatile de la stimulation entraîne une inhibition de la fonction gonadotrope et un effondrement des stéroïdes sexuels, à l'origine d'effets secondaires invalidants telles que les bouffées de chaleur, sécheresse cutanéovulvaire etc., ou exposant les patientes à des risques de perte de densité osseuse (57). Ces effets indésirables peuvent alors être limités par l'adjonction d'oestrogènes (en l'absence de contre-indication), appelée « add-back therapy ».

Les agonistes de la GnRH ne peuvent cependant être proposés que si l'axe gonadotrope est mature, donc seulement si la patiente est pubère.

## **2. Protection chirurgicale**

Cette méthode est indiquée en cas de radiothérapie abdomino-pelvienne ou de curiethérapie, et seulement s'il n'y a pas d'atteinte ovarienne de la maladie. Cette méthode permet de préserver la fonction hormonale chez 60% des patientes (58). Elle consiste à la transposition d'un des ovaires en dehors du champ d'irradiation, c'est-à-dire un éloignement de 2cm qui permet de réduire de 90% la dose reçue par les ovaires (59).

Cependant, le taux de grossesse spontanée après cette méthode est assez faible et la réalisation d'une fécondation in vitro est rendue difficile par l'accessibilité des ovaires.

## **3. Cryoconservation embryonnaire**

Cette technique est celle qui offre les meilleures chances de grossesse actuellement. Cette technique est maîtrisée depuis plusieurs années, et a permis une première naissance il y a plus de 30 ans (60). Depuis l'autorisation de la vitrification en 2011, le nombre d'embryons récupérés après décongélation a largement augmenté, permettant une augmentation des chances de grossesses avec un taux de grossesse de 25 à 35% (61).

Le principe de cette technique repose sur la stimulation ovarienne suivie d'une ponction ovocytaire et d'une fécondation in-vitro avec les spermatozoïdes du conjoint de la patiente. Il y a donc deux inconvénients majeurs à cette technique : la nécessité pour la patiente d'être en couple et de présenter un projet d'enfant, et le délai nécessaire à la stimulation de 15 jours environ. Une autre problématique intervient devant des tumeurs hormono dépendantes, comme les cancers du sein, étant donné le climat d'hyperoestradolémie induit par la stimulation. Dans ce cas, Oktay et al. (62) conseillent l'utilisation d'un anti-estrogène (le Tamoxifène) ou d'une

anti-aromatase (le létrozole) pendant la stimulation, permettant un taux d'estradiol plus proche des taux physiologiques. L'utilisation du letrozole en France n'est cependant pas autorisée en cours de stimulation ovarienne.

La conservation et le transfert des embryons nécessitant l'accord des deux membres du couple, la patiente doit prendre en compte l'éventualité d'une séparation voire d'un décès de son conjoint, ce qui rendrait impossible toute utilisation des embryons du couple. Cette réflexion est parfois très difficile à mener, dans un contexte difficile d'annonce du cancer et d'urgence du traitement, le couple n'ayant parfois même pas envisagé de projet.

La cryopréservation embryonnaire est de plus en plus délaissée au profit de la cryopréservation ovocytaire, permettant une indépendance de la patiente dans son projet futur.

#### **4. Cryopréservation d'ovocytes matures**

Cette technique repose, elle aussi, sur une stimulation ovarienne suivie d'une ponction ovocytaire, mais les ovocytes matures recueillis seront directement vitrifiés après le recueil.

Les ovocytes matures sont définis comme les ovocytes dont le noyau est bloqué en métaphase de deuxième division de méiose. Seuls ces ovocytes matures sont fécondables. La fécondation de ces ovocytes sera réalisée ultérieurement, lorsque les ovocytes seront dévitrifiés en vue d'une AMP.

Cette technique impose donc les mêmes contraintes que la cryopréservation embryonnaire, à savoir le délai du traitement anticancéreux et le risque de l'hyperoestradiolémie dans le cadre des tumeurs hormono dépendantes.

Depuis l'autorisation de la vitrification, le taux de grossesse par ovocyte recueilli a augmenté, pour atteindre en moyenne 4,48% par ovocytes chez les patientes de

moins de 37 ans (63). Rienzi et al.(61) et Cobo et al. (64) ont démontré l'absence d'infériorité des ovocytes matures vitrifiés comparés aux ovocytes frais. La vitrification ovocytaire offrirait ainsi des chances de conception identiques à celles des FIV réalisées à partir d'ovocytes frais. Rienzi et al. (65) ont étudié 486 cycles d'ICSI et estiment que pour offrir une réelle chance de grossesses et atteindre un taux d'accouchement de 46%, il faudrait pouvoir congeler au moins 8 ovocytes matures. Cependant ces données sont difficilement extrapolables dans le contexte de préservation pour cancer.

En effet, bien qu'elle soit désormais la technique de première intention dans la préservation de fertilité féminine (66,67), il n'y a que peu d'études dans ce contexte où la qualité ovocytaire pourrait être altérée.

L'avantage majeur de cette technique est d'offrir de réelles chances de grossesse après chimiothérapie pour des patientes sans conjoint ou sans projet de grossesse au moment du diagnostic.

Grâce à l'évolution des protocoles, cette préservation peut être réalisée à n'importe quel moment du cycle avec des résultats comparables : c'est le principe du « random-start protocol » (68,69). Elle reste cependant impossible en cas de chimiothérapie urgente (70).

## **5. Congélation de tissu ovarien**

La cryoconservation de cortex ovarien est la technique de choix proposée aux patientes pré pubères et aux petites filles (71). Elle peut aussi être proposée aux femmes adultes, en cas de contre-indication à la stimulation ovarienne ou lorsque l'urgence du traitement ne permet pas de le repousser suffisamment pour effectuer une stimulation. Enfin, elle peut être proposée en plus d'une cryoconservation ovocytaire en cas de traitements à très haut risque d'infertilité, comme les irradiations

importantes ou l'utilisation d'agents alkylants. Cette technique peut être réalisée à n'importe quel moment du cycle.

Cette technique nécessite cependant une opération chirurgicale ainsi qu'une anesthésie, pouvant être difficile dans un contexte d'altération de l'état général ou des paramètres hémostatiques (72,73).

L'opération consiste en la réalisation d'une cœlioscopie avec prélèvement ovarien, allant de la biopsie à l'ovariectomie totale selon les équipes. Le cortex ovarien est alors isolé, préparé et détaillé en fragments de 1mm environ. Le prélèvement de l'ovaire entier avec son pédicule vasculaire permettrait de lutter contre l'ischémie tissulaire mais nécessite une opération bien plus lourde et l'accessibilité d'une microchirurgie pour l'anastomose vasculaire.

A distance du cancer, après la période de rémission, ces fragments ovariens peuvent être réintroduits chez la patiente. La greffe peut être réalisée de manière orthotopique, c'est-à-dire au niveau de la médulla de l'ovaire restant. En cas d'ovariectomie bilatérale, les fragments ovariens sont placés dans le ligament large, en contact étroit avec le réseau vasculaire de l'artère utérine ascendante. Cette technique permet théoriquement de restaurer une fertilité spontanée. La greffe peut aussi être réalisée de manière hétérotopique, c'est-à-dire dans un site éloigné de l'étage pelvien, le plus souvent au niveau sous-cutané de l'avant-bras ou abdominal. Le principal avantage de cette technique est la facilité de la procédure, mais le projet de grossesse nécessitera une stimulation et une fécondation in vitro.

Cette technique est très récente, puisque la première conservation de cortex ovarien a été réalisée en 1996. En 2000, l'équipe d'Oktay publie la reprise de la puberté et des cycles menstruels chez une patiente ayant subi une ovariectomie

bilatérale, après greffe de cortex ovarien humain (74). Cette technique est la seule restaurant la fonction endocrine et exocrine de l'ovaire (75,76).

Les avantages de cette technique sont nombreux : récupération de nombreux ovocytes immatures, absence de stimulation ovarienne, possibilité de réalisation après le début de la chimiothérapie, pas de report du début des traitements anticancéreux, et réalisable chez les jeunes filles pré pubères.

Le principal inconvénient de cette technique est le risque de réintroduction de la maladie, lors de l'utilisation de tissu ultérieure pour autogreffe. De ce fait, certaines maladies étant trop à risque de dissémination ovarienne, contre-indiquent une préservation de ce type. (Tableau 3.)

RISQUE FAIBLE	Maladie de Hodgkin, Cancers du sein stades I à III Pathologies non cancéreuses
RISQUE MODERE	Sarcome d'Ewing, Lymphome Malin Non Hodgkinien, Cancer du colon
RISQUE ELEVE	Leucémies, Lymphome de Burkitt, Neuroblastome, Cancer du sein stade IV, Rhabdomyosarcome génital

Tableau 3. Risque de récurrence de la maladie en cas d'autogreffe selon les pathologies (77).

Un autre inconvénient est l'amputation volontaire du capital folliculaire, avec une balance bénéfice-risque sur la fertilité difficile à évaluer. En effet, les ovocytes étant immatures et la technique de croissance folliculaire in vitro nécessaire étant encore au stade de la recherche (78), cette technique doit être réservée à certaines situations bien particulières.

La première naissance grâce à une greffe orthotopique a été décrite en 2004 par Donnez et al. (39). Il s'agissait d'une grossesse spontanée, chez une patiente ayant récupéré un cycle menstruel. L'année d'après, la première naissance obtenue grâce à une FIV à partir d'une greffe était obtenue par Meirou et al. (79).

En tout, une soixantaine de grossesses ont été décrites chez des patientes ayant bénéficié de cryoconservation de cortex ovarien suivi d'une greffe en position orthotopique.

Une des pistes de recherche actuelles dans le contexte de préservation de la fertilité est la folliculogénèse in vitro de ces fragments ovariens (80). L'obtention d'un follicule ovulatoire contenant un ovocyte mature à partir d'un follicule primordial, en milieu de culture adapté, n'a été réalisé que chez les souris (81). Il n'y a que très peu de structures dans le monde ayant les capacités et les autorisations pour mener des études sur des tissus humains dans le contexte de fertilité.

## **6. Maturation ovocytaire In Vitro**

La maturation ovocytaire in vitro, à partir d'ovocytes immatures congelés, sont des pistes de recherche actuelle pour la préservation de fertilité dans le cadre du cancer. Cette technique consiste au recueil d'ovocytes sans stimulation préalable, puis maturation in vitro et vitrification dans un second temps. Cette méthode permettrait de révolutionner la préservation de fertilité, en permettant le prélèvement sans délai et sans stimulation, de toutes les patientes avant chimiothérapie (82). Actuellement, aucune grossesse après maturation in vitro d'ovocytes recueillis dans le cadre d'une préservation n'a été publiée (83).

Cette technique est cependant déjà utilisée avec succès depuis les années 1990 chez les patientes atteintes du syndrome des ovaires polykystiques (84), ayant permis environ 5000 naissances (83). Les études récentes prouvent qu'il n'y a pas



d'augmentation du risque obstétrical ou périnatal avec cette méthode (85). D'autres études sont en cours pour évaluer le risque à plus long terme chez ces enfants (86), notamment le risque d'anomalies de l'empreinte parentale pouvant induire la survenue de maladies épigénétiques.

### **.III.      PRESERVATION POST-TRAITEMENT**

Avec la démocratisation de la préservation ovocytaire et l'amélioration de l'information des médecins et patients sur les risques pour la fertilité des traitements du cancer, le nombre de patientes demandant une évaluation de leur réserve ovarienne après les traitements va probablement croître dans les années à venir.

Un bilan complet comporte une évaluation clinique, des dosages hormonaux et une échographie pelvienne permettant d'apprécier la réserve ovarienne.

#### **A.      OBSERVATOIRE DE LA FERTILITE**

A Lille, depuis 2006, le service d'Aide Médicale à la Procréation du CHRU dispose d'un observatoire de la fertilité après cancer. Toutes les patientes souhaitant un suivi de leur fertilité après traitement du cancer se voient proposer des consultations régulières avec une équipe spécialisée.

Lors de ces consultations, l'interrogatoire recherche la réapparition des cycles menstruels, mais aussi les signes d'hypo oestrogénie pouvant faire craindre l'effet délétère des traitements sur la sécrétion hormonale par les ovaires.

## **B. PRESERVATION DE FERTILITE POST-CANCER**

La loi de Bioéthique de 2004 précise que « toute personne peut bénéficier du recueil et de la conservation de ses gamètes ou de tissu germinale [...] lorsqu'une prise en charge médicale est susceptible d'altérer sa fertilité ou lorsque sa fertilité risque d'être prématurément altérée... ».

Ainsi certaines patientes participant à l'observatoire de la fertilité et n'ayant pu bénéficier d'une préservation avant le traitement, devant une chimiothérapie trop urgente ou à un âge pré-pubère ne permettant pas celle-ci, peuvent bénéficier de cette application de décret.

Ainsi après un délai prévu avec l'oncologue, les patientes ayant subi un traitement gonadotoxique et ayant récupéré des cycles menstruels, sont éligibles à une cryopréservation ovocytaire, et notamment par accumulation ovocytaire.

L'accumulation ovocytaire consiste à la réalisation de plusieurs cycles de stimulation avec recueil ovocytaire, permettant de constituer un pool d'ovocytes vitrifiés plus conséquent. Cobo et al. (87) ont étudié cette technique dans le cas des mauvaises répondeuses, permettant d'obtenir des conditions similaires en terme de chances de grossesses à celles des normo répondeuses.

## **.IV. OBJECTIFS DE L'ETUDE**

Très peu d'études s'intéressent à la réponse ovarienne et la qualité ovocytaire après stimulation ovarienne pour préservation ovocytaire chez les patientes atteintes de cancer. A ce jour, plusieurs études comparatives ont été publiées sur le sujet (88-98), mais il s'agit de préservation ovocytaire avant traitement du cancer.

Dans notre étude, nous nous sommes intéressés aux patientes suivies dans le cadre de l'observatoire de la fertilité, qui avaient subi un traitement par

chimiothérapie gonadotoxique et dont la préservation ovocytaire n'avait pu être réalisée avant celui-ci.

Nous avons réalisé une étude prospective comparative dans le but d'étudier la réponse ovarienne (croissance folliculaire, cohorte ovocytaire) chez ces patientes ayant subi un traitement gonadotoxique, afin d'évaluer l'impact de cet antécédent sur l'issue clinico-biologique d'un protocole d'hyperstimulation ovarienne contrôlée. Les objectifs secondaires de cette étude étaient la faisabilité de la préservation de fertilité dans cette population jeune aux lourds antécédents et de juger de l'intérêt de cette préservation de fertilité en terme de résultats dans ce contexte.

## MATERIELS ET METHODES

### *Design de l'étude*

Il s'agit d'une étude de cohorte prospective comparative dans le service de Médecine de la Reproduction et de Préservation de la Fertilité du CHRU de Lille, de janvier 2014 à décembre 2016.

### *Population étudiée*

Les critères d'inclusion des patientes étaient les suivants :

- Antécédent de pathologie oncologique, ayant nécessité une chimiothérapie
- Femmes âgées d'au moins 18 ans, et de moins de 35 ans
- Persistance de cycles menstruels
- Présence des deux ovaires
- Pathologie oncologique en rémission complète depuis au moins 3 ans
- Accord de l'oncologue pour une stimulation ovarienne en vue d'une préservation ovocytaire

Les critères d'exclusion étaient les suivants :

- Insuffisance ovarienne prématurée définie par une aménorrhée de plus de 4 mois avant 40 ans, un taux de gonadotrophines élevé et un taux d'oestradiol abaissé (9).
- Mauvaise compréhension orale ou écrite de la langue française, ne permettant pas une information éclairée

### *Parcours d'inclusion et Observatoire de la fertilité*

Une consultation d' « Observatoire de la fertilité » était proposée par l'oncologue, après une rémission de plus de trois ans. Les démarches de prise de contact avec

l'Observatoire de la fertilité étaient faites par la patiente elle-même, si elle le désirait. Lors de cette consultation, la réalisation d'un bilan de réserve ovarienne était proposée à chaque patiente, comprenant un bilan hormonal entre J2 et J4 d'un cycle spontané, à au moins deux mois de l'arrêt d'un éventuel traitement antigonadotrope (AMH, Oestradiol, LH, FSH) et une échographie pelvienne avec un comptage des follicules antraux (CFA). Une synthèse des résultats était réalisée lors d'une consultation un mois plus tard par un médecin de reproduction.

L'AMH était mesurée par le kit immuno-enzymatique AMH-EIA kit fourni par Beckman Coulter Immunotech (Villepinte, France). Le comptage folliculaire, c'est à dire des follicules entre 2 et 9mm visible en échographie, était réalisé sur un échographe Voluson E8 Expert (GE Systems) avec une sonde intra vaginale de fréquence 5-9 MHz, par un nombre limité d'opérateurs.

Une préservation ovocytaire était proposée si la réserve ovarienne était jugée faible par rapport à l'âge.

Si la patiente répondait aux critères d'inclusion et d'exclusion, une information écrite lui était délivrée sur le principe, les bénéfices attendus de la procédure et sur les risques de la stimulation ovarienne, de la ponction ovocytaire et de la vitrification ovocytaire. Si la patiente souhaitait bénéficier d'une préservation ovocytaire, elle était alors incluse dans l'étude dans le groupe « après-cancer ».

Si la réserve ovarienne était jugée satisfaisante ou si la patiente ne souhaitait pas réaliser de préservation ovocytaire, un simple suivi à long terme avec une consultation annuelle permettant d'évaluer la réserve ovarienne lui était proposée.

#### *Groupe contrôle*

Afin de comparer et d'analyser les résultats des cycles de stimulation des patientes du groupe « après-cancer », nous les avons comparé à des patientes « contrôle »

appariées sur l'âge (+/- 4 ans) et sur le taux d'AMH (+/-3pmol/L).

Les critères d'inclusion des patientes « contrôle » étaient :

- Infertilité d'étiologie masculine
- Première tentative de Fécondation In Vitro avec ICSI (Injection Intra-Cytoplasmique de Spermatozoïde)
- Tentative réalisée sur la même période

La recherche des patientes « contrôle » et de leur résultat de première tentative de FIV-ICSI a été réalisée grâce au logiciel JFIV.

#### *Stimulation ovarienne et monitoring échographique*

La dose de départ de gonadotrophines était déterminée en fonction de l'âge, de l'IMC et de la réserve ovarienne déterminée par le CFA et le dosage de l'AMH.

La première échographie de monitoring était réalisée au 6e ou 7e jour de traitement par gonadotrophines, puis tous les 2 ou 3 jours jusqu'à la décision de déclenchement. Un dosage du taux d'oestradiol et de LH était réalisé à chaque monitoring de la stimulation.

Le déclenchement était décidé dès que 3 follicules atteignaient un diamètre moyen supérieur ou égal à 18mm et que les follicules intermédiaires atteignaient un diamètre moyen  $\geq 14$ mm. Le déclenchement de l'ovulation était réalisé par hCG recombinante (Ovitrelle®, choriogonadotrophine alpha, Serono Europe Limited) ou un agoniste de la GnRH (Décapeptyl® 0,2mg, triptoréline, Ipsen pharma).

Le nombre de follicules au jour du déclenchement était recueilli et classé d'après un protocole standardisé en <12mm, entre 12 et 15mm et  $\geq 15$ mm.

#### *Ponction ovocytaire*

*La ponction ovocytaire était réalisée sous échoguidage par voie endovaginale au*

*bloc opératoire sous neuroleptanalgie au moins 36h après le déclenchement.*

*La récupération des ovocytes était effectuée au laboratoire de Médecine de la Reproduction sous hotte stérile au microscope, à 37°C. Les ovocytes atrétiques étaient écartés de toute manipulation ultérieure. Deux heures après le recueil, les ovocytes étaient décoronisés (retrait des cellules de la corona radiata) par exposition des complexes cumulo-ovocytaires à une solution de hyaluronidase à 80UI/mL (Hyaluronidase in Ferticult TM flushing medium FertiPro, Belgique) puis par dénudation manuelle avec micro-pipette.*

*La vitrification ovocytaire pour le groupe « après-cancer » était réalisée après cette dénudation et après appréciation de la maturité nucléaire. Tous les ovocytes matures intacts, en Métaphase 2, étaient vitrifiés. Les ovocytes immatures, en Métaphase 1 et les vésicules germinales, étaient également vitrifiés en vue d'une éventuelle maturation in vitro ultérieure. Les ovocytes étaient cryoconservés dans un système de vitrification fermé (Rapid-I-Kit Vitrolife, Suède). Les solutions de vitrifications utilisées (RapidVit, Vitrolife, Suède) contenaient des concentrations croissantes en propanediol et éthylène glycol. La vitrification était réalisée à 37°C sous hotte stérile. Après vitrification, les pailles étaient conservées dans des cuves spécifiques contenant de l'azote liquide à -196°C en continu.*

*En fonction de la cohorte ovocytaire recueillie et du souhait de la patiente, une proposition de cumul ovocytaire était formulée. Trois cycles consécutifs maximum pouvaient ainsi être réalisés.*

### *Analyse statistique*

Les paramètres qualitatifs ont été exprimés en termes de fréquences et de pourcentages. Les paramètres quantitatifs ont été présentés en termes de moyenne et d'écart-type ainsi que de médiane et d'intervalle percentile. La distribution des

paramètres quantitatifs a été étudiée graphiquement et par le test de Shapiro Wilk.

La comparaison des variables quantitatives entre le premier et le deuxième cycle des patientes cancéreuses a été réalisée par le test des rangs signés de Wilcoxon. Ce même test a été utilisé pour comparer les variables quantitatives entre le premier cycle des patientes cancéreuses et le seul cycle des patientes saines qui leur ont été appariées.

Le lien entre le nombre total d'ovocytes méta II obtenus sur 2 cycles et les caractéristiques de base chez les patientes cancéreuses, a été étudié par un coefficient de corrélation de Spearman. Ces mêmes analyses ont été réalisées chez les patientes saines sur leur seul cycle étudié.

La comparaison entre les patientes cancéreuses et les patientes saines sur la présence d'au moins une mauvaise réponse sur l'ensemble de leurs cycles a été réalisée par le test du Chi-2 ou par le test exact de Fisher en cas d'effectifs théoriques < 5. Le test t de Student ou le test U de Mann-Whitney a été utilisé pour la comparaison des deux groupes sur les variables quantitatives.

Le niveau de significativité a été fixé à 5%. Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel SAS (SAS Institute version 9.3).



## RESULTATS

### .I. DESCRIPTION DE LA POPULATION ETUDIEE

Parmi les patientes suivies à l' « Observatoire de la Fertilité » après traitement d'un cancer entre janvier 2014 et décembre 2016, 20 patientes correspondaient aux critères d'inclusion et 17 ont souhaité bénéficier d'une préservation de fertilité par cryopréservation ovocytaire. Trois patientes ont préféré bénéficier d'un suivi de leur réserve ovarienne une fois par an avec éventuelle préservation ovocytaire dans un second temps.

Nos patientes avaient pour la plupart un antécédent de pathologie oncologique dans l'enfance, et quelques patientes avaient un antécédent de cancer du sein. Les patientes avaient toutes reçues des agents alkylants au cours de leur protocole de traitement du cancer.

La figure 4. synthétise l'organisation de la population au sein du groupe « après-cancer ».

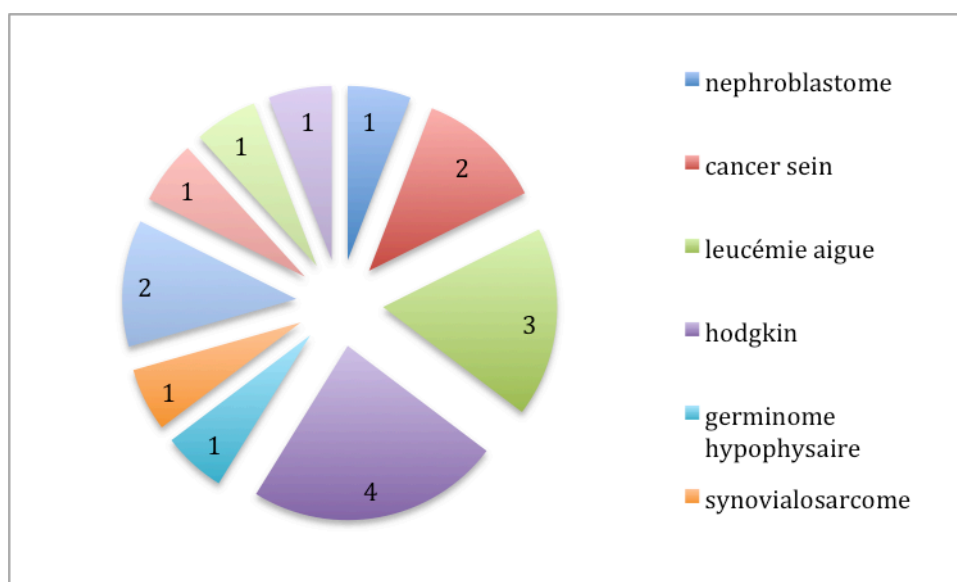


Figure 4. Distribution des pathologies oncologiques dans notre population

Parmi ces patientes, deux (soit 11,7%) n'ont pu bénéficier d'une préservation ovocytaire, en raison d'une hypo réponse ovarienne, ne permettant pas la réalisation d'une ponction ovarienne, sur plusieurs cycles consécutifs. Ces deux patientes n'ont donc pas été incluses dans l'analyse statistique :

-la première était âgée de 20 ans, survivante d'une leucémie aigue ayant nécessité un conditionnement pré-greffe par chimiothérapie, possédait une AMH=3pmol/L, un CFA à 6, une FSH à 7UI/L en regard d'une estradiolémie à 74pg/mL lors du bilan de réserve ovarienne et a bénéficié de deux tentatives de stimulation n'ayant pas permis de recrutement folliculaire ni d'élévation de l'estradiolémie.

-la deuxième était âgée de 25 ans, survivante d'un Lymphome de Hodgkin, possédait une AMH= 6pmol/L, un CFA à 10, une FSH à 6.4UI/L en regard d'une estradiolémie à 56pg/mL lors du bilan de réserve ovarienne, et a bénéficié d'une tentative de stimulation n'ayant pas permis de recrutement folliculaire ni d'élévation de l'estradiolémie.

Au total, 39 cycles de stimulation ont été réalisés dans le groupe « après-cancer ». Six cycles (15,4%) ont été annulés, n’ayant pas permis de réponse ovarienne suffisante à une ponction ovarienne.

Les patientes ont réalisé en moyenne 2,3 cycles chacune.

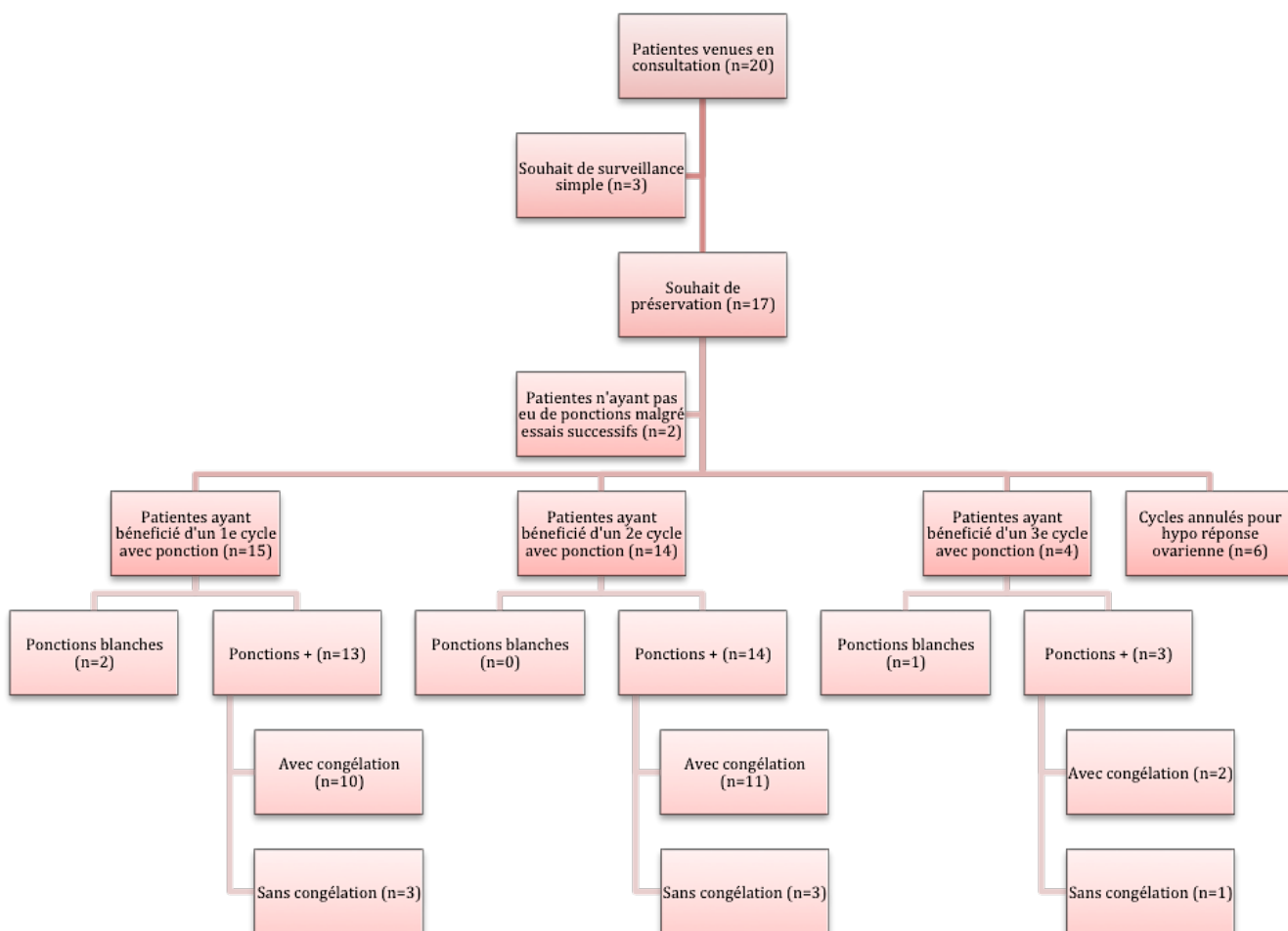


Figure 5. Flow-Chart de l’étude

## A. CARACTERISTIQUES CLINICO-BIOLOGIQUES

Les caractéristiques clinico-biologiques sont résumées dans le Tableau 4.

Caractéristiques du groupe " après-cancer "		
Variable	Moyenne $\pm$ DS	Médiane [min-max]
AGE (ans)	23.9 $\pm$ 3.4	24.0 [20.0-31.0]
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	21.5 $\pm$ 3.5	20.7 [17.9-31.0]
FSH (UI/L)	7.0 $\pm$ 3.4	7.1 [0.2-12.4]
ESTRADIOL (pg/ml)	35.6 $\pm$ 24.1	25.0 [14.0-88.0]
AMH (pmol/L)	7.4 $\pm$ 4.3	5.3 [3.0-15.7]
CFA	9.4 $\pm$ 3.8	10.0 [4.0-16.0]

Tableau 4. Descriptif des caractéristiques du groupe « après-cancer »

## B. CYCLES DE STIMULATION

Le Tableau 5. résume les données concernant les cycles stimulés du groupe « après-cancer ».

Cycles stimulation groupe " Après-cancer "		
Variable	Moyenne $\pm$ DS	Médiane [min-max]
Dose FSH départ	343.2 $\pm$ 82.7	300 [150-450]
Dose FSH totale	4332.0 $\pm$ 1488.8	4250 [1500-8250]
Nombre jours de stimulation	12.6 $\pm$ 2.8	12 [8-20]
E2 le jour du déclenchement	1152.1 $\pm$ 917.0	914 [176-4306]
Foll<12mm	0.7 $\pm$ 1.0	0 [0-4]
Foll 12-15mm	1.9 $\pm$ 2.4	1 [0-8]
Foll $\geq$ 15mm	4.9 $\pm$ 3.5	4 [1-14]

Tableau 5. Cycles de stimulation du groupe « Après-cancer »

### C. COHORTE OVOCYTAIRE

Le Tableau 6. résume les caractéristiques des cohortes ovocytaires recueillies lors de l'ensemble des ponctions du groupe « après-cancer ».

Cohorte ovocytaire groupe " après-cancer "		
Variable	Moyenne±DS	Médiane [min-max]
Ovocytes recueillis	5.1±5.1	4 [0-22]
Ovocytes lysés	0.9±2.1 (19,5%)	0 [0-10]
Ovocytes Métall	3.3±3.1	2 [0-12]
Ovocytes congelés	3.9±3.8	2 [0-14]
Taux de maturité ovocytaire	0.6±0.4	0.8 [0.0-1.0]
MII/Foll≥15mm	0.6±0.4	0.6 [0.0-1.5]

Tableau 6. Cohortes ovocytaires du groupe « après-cancer »

Le Tableau 7. résume les résultats après accumulation ovocytaire par patiente.

A l'issue du 2e cycle, les patientes ont en moyenne 7.2±4.7 [0-14] ovocytes en métaphase II et 8.6±5.9 [0-21] ovocytes congelés en tout.

Sur les 14 patientes ayant bénéficié d'un deuxième cycle de stimulation, sept (soit 50%) avaient au moins 8 ovocytes en métaphase II vitrifiés à l'issue de ce cycle.

Parmi les 4 patientes ayant réalisé un troisième cycle, deux (soit 50%) avaient elles aussi atteint ou dépassé l'objectif de 8 ovocytes en métaphase II.

Accumulation ovocytaire par patiente				
		Ovocytes recueillis	Ovocytes métaphase II	Ovocytes congelés
A l'issue du 2e cycle (n=14)	moyenne±DS	11.4±9.1	7.2±4.7	8.6±5.9
	médiane [min-max]	11.5 [2-34]	7.5 [0-14]	11.0 [0-21]
A l'issue du 3e cycle (n=4)	moyenne±DS	10.2±7.8	8.6±6.6	9.3±6.8
	médiane [min-max]	8.5 [4-20]	8.0 [3-16]	8.5 [3-17]

Tableau 7. Résultats du nombre moyen d'ovocytes par patiente après accumulation ovocytaire

## .II. APPARIEMENT

L'appariement n'a pu être réalisé chez trois patientes, particulièrement jeunes et avec des AMH très basses. En effet, il n'a pas été possible, par définition, d'apparier des patientes « contrôle » de moins de 24 ans avec une AMH inférieure à 5pmol/L, et ayant bénéficié d'une fécondation in vitro avec ICSI. Notre analyse en appariement a donc été réalisée sur 12 patientes appariées à 12 patientes « contrôle ».

Seuls les premiers cycles ayant abouti à une ponction ovocytaire chez les patientes du groupe « après-cancer » étaient comparés aux cycles des patientes « contrôle ».

Le tableau 5 résume les caractéristiques clinico-biologiques des patientes du groupe «après-cancer » et des patientes « contrôle ».

Nos patientes étaient appariées selon l'âge et l'AMH.

Les patientes du groupe « après-cancer » présentaient significativement moins de follicules en échographie (CFA=10.0 [4.0-15.0] vs 15.0 [5.0-37.0], p=0.043).

Caractéristiques du groupe " après-cancer " vs " patientes « contrôle » "				
		« après-cancer » appariés (n=12)	patientes « contrôle » (n=12)	p
AGE (années)	Moy±DS	25.0±3.6	26.0±3.2	0.48
	Médiane [min-max]	24.5 [20.0-31.0]	25.5 [21.0-31.0]	
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	Moy±DS	21.1±2.8	22.8±4.3	0.29
	Médiane [min-max]	20.4 [19.0-29.4]	22.5 [17.0-30.0]	
FSH (UI/L)	Moy±DS	7.4±3.8	6.9±2.6	0.65
	Médiane [min-max]	7.4 [0.2-12.4]	6.0 [3.9-12.0]	
ESTRADIOL (pg/mL)	Moy±DS	31.6±23.2	39.0±11.0	0.19
	Médiane [min-max]	22.5 [14.0-88.0]	37.5 [22.0-57.0]	
AMH (pmol/L)	Moy±DS	8.8±4.4	9.7±3.6	0.47
	Médiane [min-max]	8.6 [3.0-15.7]	8.6 [4.2-16.1]	
CFA	Moy±DS	9.3±3.9	15.5±8.7	0.043
	Médiane [min-max]	10.0 [4.0-15.0]	15.0 [5.0-37.0]	

Tableau 8. Comparaison des caractéristiques des groupes « après-cancer » vs patientes « contrôle »

Parmi les patientes du groupe « après-cancer », huit (soit 47%) prenaient une contraception hormonale avant et entre leurs cycles de stimulation.

### **.III. COMPARAISON DES CYCLES DE STIMULATION CAS-TEMOINS**

Les cycles de stimulation étaient comparables dans les deux groupes (Tableau 9), avec cependant un taux d'estradiol significativement plus bas le jour du déclenchement chez les patientes du groupe « après-cancer » (581 pg/mL [185-2476] vs 1600 [461-4500],  $p=0.021$ ).

Les résultats de la cohorte ovocytaire étaient similaires, avec une absence de différence statistique sur le nombre d'ovocytes recueillis et la maturation ovocytaire notamment.

Comparaison résultats cycles Cas-Témoins				
		« après-cancer » appariés (n=12)	patientes « contrôle » (n=12)	p
Dose Départ FSH	Moy±DS	341.7±75.6	332.3±96.3	0.79
	Médiane [min-max]	325 [200-450]	362.5 [150-450]	
Dose Totale FSH	Moy±DS	4439.6 ±1509.2	4010.4 ±1368.2	0.47
	Médiane [min-max]	4125 [2400-8250]	4350 [1500-5600]	
Nombre de jours	Moy±DS	12.8±3.6	11.9±2.2	0.47
	Médiane [min-max]	12.5 [8.0-20.0]	12.0 [8.0-16.0]	
Estradiol au déclenchement	Moy±DS	789 ±673	1769 ±1039	0.021
	Médiane [min-max]	581 [185-2476]	1600 [461-4500]	
Foll<12mm	Moy±DS	1.2±1.1	1.0±1.4	0.70
	Médiane [min-max]	1.0 [0.0-4.0]	0.5 [0.0-4.0]	
Foll12-15mm	Moy±DS	2.6±2.4	1.9±2.0	0.43
	Médiane [min-max]	2.0 [0.0-7.0]	1.0 [1.0-8.0]	
Foll≥15mm	Moy±DS	4.0±2.8	6.1±2.9	0.09
	Médiane [min-max]	3,5[1.0-9.0]	5.5 [2.0-14.0]	
Ovocytes recueillis	Moy±DS	4.7±4.8	6.7±4.1	0.31
	Médiane [min-max]	2.0 [0.0-13.0]	6.0 [1.0-14.0]	
Ovocytes MII	Moy±DS	2.7±2.3	4.2±3.5	0.19
	Médiane [min-max]	2.0 [0.0-7.0]	4.0 [0.0-13.0]	
Taux de maturité ovocytaire	Moy±DS	0.7±0.4	0.6±0.4	0.38
	Médiane [min-max]	1.0 [0.0-1.0]	0.6 [0.0-1.0]	
MII/Foll≥15mm	Moy±DS	0.7±0.4	0.6±0.4	0.65
	Médiane [min-max]	0.7 [0.0-1.25]	0.7 [0.0-1.0]	

Tableau 9. Comparaison résultats des cycles Après-cancer vs patientes « contrôle »

Bien que la différence ne soit pas significative, 33.4% des patientes « contrôle » ont eu des cycles avec une « mauvaise réponse », définie par l'obtention de moins de 4 ovocytes à la ponction (cf Critères de Bologne (98)), contre 66.7% des patientes du groupe « après-cancer » (p=0.08).

## .IV. ANALYSE EN SOUS-GROUPE

### A. COMPARAISON CYCLES 1 et 2

Quatorze patientes ont bénéficié de deux cycles avec ponction ovocytaire.



Nous avons comparé les résultats sur la cohorte ovocytaire du premier cycle et du deuxième cycle. Il n'existait pas de différence significative en terme de dose de FSH de départ ou totale ni sur le nombre de follicules  $\geq 15\text{mm}$ . Seul le taux d'oestradiol moyen le jour du déclenchement était significativement plus bas lors du 1e cycle que lors du déclenchement du 2e cycle ( $814.9 \pm 684.1 \text{ pg/mL}$  vs  $1528.1 \pm 1036.4 \text{ pg/mL}$   $p=0.042$ ). Les résultats sur la cohorte ovocytaire n'étaient pas statistiquement différents, avec des valeurs comparables en terme de nombre d'ovocytes et de maturité (Tableau.10).

Comparaison résultats cycles 1 et cycles 2				
		1e CYCLES	2e CYCLES	p
Dose Départ FSH	Moy $\pm$ DS	346.4 $\pm$ 76.5	353.6 $\pm$ 79.0	0.91
	Médiane [min-max]	325 [200-450]	337.5 [200-450]	
Dose Totale FSH	Moy $\pm$ DS	4271.2 $\pm$ 1567.3	4328.9 $\pm$ 1451.9	0.74
	Médiane [min-max]	4050 [2250-8250]	4500 [1650-6300]	
Nombre de jours	Moy $\pm$ DS	12.8 $\pm$ 3.3	12.0 $\pm$ 2.2	0.54
	Médiane [min-max]	12.5 [8.0-20.0]	12.0 [8.0-17.0]	
Estradiol au déclenchement	Moy $\pm$ DS	814.9 $\pm$ 684.1	1528.1 $\pm$ 1036.4	0.042
	Médiane [min-max]	581 [185-2476]	1261 [298-4306]	
Foll<12mm	Moy $\pm$ DS	1.0 $\pm$ 1.1	0.5 $\pm$ 1.1	0.17
	Médiane [min-max]	1.0 [0.0-4.0]	0.0 [0.0-4.0]	
Foll12-15mm	Moy $\pm$ DS	2.4 $\pm$ 2.3	1.4 $\pm$ 2.2	0.19
	Médiane [min-max]	2.0 [0.0-7.0]	0.0 [0.0-7.0]	
Foll $\geq$ 15mm	Moy $\pm$ DS	4.2 $\pm$ 2.6	6.5 $\pm$ 4.0	0.055
	Médiane [min-max]	4.0 [1.0-9.0]	5.0 [1.0-14.0]	
Ovocytes recueillis	Moy $\pm$ DS	4.7 $\pm$ 4.4	6.6 $\pm$ 6.0	0,31
	Médiane [min-max]	3.5 [0.0-13.0]	5.0 [1.0-22.0]	
Ovocytes MII	Moy $\pm$ DS	2.7 $\pm$ 2.3	4.4 $\pm$ 3.8	0.16
	Médiane [min-max]	2.0 [0.0-7.0]	4.0 [0.0-12.0]	
Ovocytes Congelés	Moy $\pm$ DS	3.3 $\pm$ 3.0	5.1 $\pm$ 4.5	0.21
	Médiane [min-max]	2.0 [0.0-9.0]	5.0 [0.0-14.0]	
Taux de maturité ovocytaire	Moy $\pm$ DS	0.6 $\pm$ 0.4	0.6 $\pm$ 0.4	0.70
	Médiane [min-max]	1.0 [0.0-1.0]	0.7 [0.0-1.0]	
MII/Foll $\geq$ 15mm	Moy $\pm$ DS	0.6 $\pm$ 0.4	0.6 $\pm$ 0.5	0.83
	Médiane [min-max]	0.7 [0.0-1.3]	0.6 [0.0-1.5]	

Tableau 10. Comparaison des cycle de stimulation et de la cohorte ovocytaire entre les cycles n°1 et les cycles n°2.

## B. SELON LES TYPES DE CANCERS

Nous avons différencié les cancers solides des hémopathies malignes pour notre analyse.

Cependant, nos effectifs ne nous ont pas permis de réaliser d'analyse statistique en sous groupe.

Les résultats sur les cycles de stimulation et la cohorte ovocytaire sont détaillés dans le Tableau 11.

Comparaison selon type de cancer				
	Hémopathies malignes		Cancers solides	
	Moy ±DS	Médiane [min-max]	Moy ±DS	Médiane [min-max]
Dose FSH Totale	4769.2 ±1906.2	4875 [1500-8250]	4032.9 ±1078.1	4150 [1650-5900]
E2 déclenchement	1008.9 ±1102.9	879 [176-4306]	1245.3 ±790.5	1023 [189-2485]
Foll≥15mm	4.2 ±3.6	3.0 [1.0-14.0]	5.5 ±3.3	5.0 [1.0-12.0]
Ovocytes recueillis	3.9 ±4.1	2.0 [0.0-13.0]	5.9 ±5.6	4.5 [0.0-22.0]
Ovocytes MII	2.8 ±2.6	2.0 [0.0-8.0]	3.7 ±3.4	3.0 [0.0-12.0]
Taux de maturité ovocytaire	0.8 ±0.4	1.0 [0.0-1.0]	0.6 ±0.4	0.8 [0.0-1.0]
MIIFoll≥15mm	0.7 ±0.4	0.7 [0.0-1.5]	0.6 ±0.4	0.6 [0.0-1.33]

Tableau 11. Comparaison des cycles et des cohortes ovocytaires selon le type de cancer

## C. COMPARAISON CYCLES SOUS PILULE et SANS PILULE

Les cycles débutés sous contraception oestro-progestative ont été comparés à ceux débutés en dehors de toute influence hormonale, afin d'évaluer l'incidence de ce facteur.

Cependant, nos effectifs ne nous ont pas permis de réaliser d'analyse statistique en sous groupe.

Les résultats sur les cycles de stimulation et la cohorte ovocytaire sont détaillés dans le Tableau 12.

Comparaison des résultats des cycles commencés sous pilule ou non				
	PILULE =1 (n=11)		PILULE = 0 (n=22)	
	Moy ± DS	Médiane [min-max]	Moy ± DS	Médiane [min-max]
Dose FSH Totale	4787.5 ±1159.2	4687.5 [2250-6300]	4125.0 ±1597.6	3912.5 [1500-8250]
E2 déclenchement	1295.4 ±1195.2	944.0 [189-4306]	1080.6 ±764.9	771.5 [176-2476]
Foll≥15mm	5.1 ±4.2	4.0 [1.0-14.0]	4.9 ±3.1	4.5 [1.0-11.0]
Ovocytes recueillis	3.6 ±3.2	2.0 [0.0-11.0]	5.9 ±5.8	4.5 [0.0-22.0]
Ovocytes MII	2.6 ±2.8	2.0 [0.0-8.0]	3.6 ±3.2	3.0 [10.0-12.0]
Taux de maturité ovocytaire	0.6 ±0.4	0.7 [0.0-1.0]	0.7 ±0.4	0.9 [0.0-1.0]
MI/II/Foll≥15mm	0.5 ±0.4	0.6 [0.0-1.0]	0.7 ±0.4	0.7 [0.0-1.5]

Tableau 12. Comparaison des cycles et des cohortes ovocytaires selon la prise d'une contraception hormonale ou non au début du cycle

## **.V. FACTEURS PREDICTIFS D'OBTENTION D'OVOCYTES MATURES**

Afin de rechercher une corrélation entre le nombre d'ovocytes matures recueillis et les caractéristiques clinico-biologiques des patientes et le taux d'estradiol au déclenchement, une corrélation de Spearman a été réalisée. (Tableau 13)

Dans le groupe « après-cancer », l'âge est corrélé négativement au nombre d'ovocytes matures obtenus, avec une force de corrélation moyenne. Il existe une corrélation positive à la limite de la significativité entre le taux d'AMH et le nombre d'ovocytes en métaphase II recueillis. Il existe aussi une corrélation positive entre le nombre d'ovocytes matures et l'estradiolémie le jour du déclenchement.

Dans le groupe « contrôle », le CFA ( $\rho = 0.82$ ,  $r < 0.001$ ) et le taux de FSH en début de cycle ( $\rho = -0.67$ ,  $r = 0.02$ ) sont fortement corrélés au nombre d'ovocytes matures obtenus chez les patientes du groupe « contrôle ».

Cette corrélation n'est pas retrouvée dans le groupe « après-cancer ».

Corrélation avec le nombre d'ovocytes matures							
		CFA	AMH	AGE	BMI	FSH	Estradiol Dec
Après-Cancer	Coef Corr = $\rho^*$	0.04	0.38	-0.42	0.14	0.11	0.63
	r**	0.89	0.16	0.12	0.62	0.71	0.004
Contrôle	Coef Corr = $\rho^*$	0.82	0.56	-0.15	0.06	-0.67	0.47
	r**	<0.001	0.06	0.64	0.83	0.02	0.12
*Corrélation forte si $\rho \geq 0.65$ **seuil significativité = <0.15							

Tableau 13. Corrélation entre les caractéristiques clinico-biologiques et le nombre d'ovocytes matures obtenus.

## DISCUSSION

Cette étude est, à notre connaissance, la première comparant les résultats de stimulation ovarienne de patientes ayant subi un traitement gonadotoxique à des patientes saines de réserve ovarienne identique. C'est également l'une des premières études à s'intéresser à la préservation de fertilité après traitement du cancer.

Or, les patientes consultant dans ce contexte sont de plus en plus nombreuses, conséquence d'une information plus largement diffusée par les praticiens lors de la prise en charge du cancer. Ainsi, nous serons amenés à devoir répondre plus fréquemment aux questions de ces femmes concernant l'efficacité de nos techniques de préservation.

### Synthèse des résultats

Les objectifs de notre étude étaient de comparer la réponse ovarienne et la cohorte ovocytaire obtenue après stimulation chez les patientes ayant une baisse de réserve ovarienne secondaire à un traitement par chimiothérapie aux patientes ayant une baisse de réserve ovarienne idiopathique, puis d'évaluer la faisabilité d'une préservation de fertilité par cryoconservation ovocytaire dans cette population ainsi que sa rentabilité.

Nos résultats montrent que les patientes qui ont subi une chimiothérapie ayant entraîné une baisse de réserve ovarienne ont une réponse ovarienne à la stimulation comparable aux patientes du groupe « contrôle » de même âge et de même réserve ovarienne, exceptée l'oestradiolémie lors du déclenchement qui est significativement

plus élevée dans ce dernier groupe ( $789\pm673$  vs  $1769\pm1039$ ,  $p=0.021$ ). Le nombre d'ovocytes totaux et d'ovocytes matures dans le groupe de femmes ayant un antécédent de traitement gonadotoxique est comparable à celui obtenu chez les patientes du groupe « contrôle ».

Les patientes survivantes du cancer ont fortement adhéré à notre proposition de fertilité puisque sur les 20 patientes éligibles, 17 (soit 85%) ont souhaité en bénéficier. De plus, les patientes ont bien vécu le processus nécessaire à la cryoconservation ovocytaire puisque nos patientes ont réalisé en moyenne 2,3 cycles de stimulation.

Quinze patientes ont pu bénéficier d'au moins une ponction ovarienne, avec une moyenne de 2,2 cycles avec ponction par patiente.

Cette stratégie a permis de cryoconserver en moyenne  $8.6\pm5.9$  ovocytes par patiente dont  $7.2\pm4.7$  ovocytes en métaphase II au bout de deux cycles, ce nombre montant à  $9.3\pm6.8$  dont  $8.6\pm6.6$  ovocytes en métaphase II à l'issue du troisième cycle de stimulation.

#### Données actuelles de la littérature

Une seule étude s'est intéressée à la réponse ovarienne à la stimulation après traitement par chimiothérapie. Chan et al. (100) ont comparé les réponses ovariennes et les cohortes ovocytaires de patientes atteintes de pathologies nécessitant le recours à un traitement gonadotoxique avant son initiation et de patientes ayant déjà bénéficié d'une chimiothérapie. Cette étude rétrospective a inclus 130 femmes (dont 95 avant chimiothérapie) âgées entre 18 et 43 ans ayant bénéficié d'une stimulation et d'une ponction ovarienne pour fécondation in vitro avec ICSI ou cryoconservation ovocytaire. Contrairement à notre étude, les patientes du groupe « contrôle » n'étaient pas des patientes saines mais des patientes ayant une

pathologie oncologique et n'ayant pas encore subi de chimiothérapie, or certaines données indiquent que cette situation (notamment dans le cadre des hémopathies) pourrait être un facteur de faible réponse ovarienne (95-97). Certaines patientes avaient reçu du Létrozole concomitamment à la stimulation, pouvant modifier la réponse ovarienne. Les patientes du groupe « post-chimio » étaient en moyenne à 18 mois de la fin de leur chimiothérapie, et pour un tiers d'entre elles, seulement 6 mois. En accord avec nos résultats, Chan et al. ont retrouvé un CFA plus bas chez les patientes ayant subi une chimiothérapie (9 vs 17,  $p < 0.001$ ), à réserve ovarienne identique (pas de différence statistiquement significative concernant les taux d'AMH entre les deux groupes). Contrairement à notre étude, lors de la stimulation, les patientes du groupe « post-chimiothérapie » avaient un nombre de follicules le jour du déclenchement plus bas, sans différence sur le taux d'estradiol. La ponction permettait d'obtenir une cohorte ovocytaire sans différence sur le nombre d'ovocyte ou leur maturation, de façon similaire à notre étude. Il y avait cependant un taux d'annulation plus important chez les patientes ayant un antécédent de chimiothérapie (4% vs 23%,  $p = 0.003$ ), critère pour lequel nous n'avons pas trouvé de différence significative (33.4% vs 66.7%,  $p = 0.08$ ), peut-être en raison du faible effectif de notre population.

#### Comparaison à la littérature

Selon l'étude de Chemaitilly et al. publiée en 2017 (101), l'insuffisance ovarienne prématurée survient chez environ 11% des patientes ayant été traitées pour un cancer dans l'enfance. C'est pourquoi il nous paraît primordial de pouvoir informer les patientes sur ce risque et de proposer une préservation de leur fertilité tant que cela est encore possible.

En accord avec le contexte de notre étude, nos patientes étaient jeunes (24 ans [20-31]) et avaient un taux d'AMH bas (5.3pmol/L [3.0-15.7]). En effet, la cryopréservation ovocytaire était proposée aux patientes dont le désir de grossesse n'était pas présent à court terme, donc le plus souvent des patientes très jeunes, et au dosage d'AMH jugé trop altéré et faisant craindre une difficulté dans un désir de conception futur.

Cette notion d'AMH « trop basse » nous a mis en difficulté car le dosage d'AMH post-thérapeutique est clairement lié au taux pré-thérapeutique (102) et nos patientes n'avaient pas bénéficié de ce dosage avant leur chimiothérapie. De plus, le dosage de l'AMH perd de sa précision dans les valeurs basses et diffère selon les techniques de mesure, rendant difficile son interprétation (10). Autre difficulté rencontrée, celle du choix de la limite d'AMH considérée comme « trop basse » dans notre population. D'après l'étude de Kelsey et al. (103), l'AMH atteint un pic maximal vers 25 ans, avec une phase relativement stable entre 20 et 30 ans, où l'AMH moyenne est de 5ng/mL soit 35.7 pmol/L, avec une AMH à -1DS à 17pmol/L et à -2DS (95e percentile) à 6.4 pmol/L. Martyn et al. (104) ont quant à eux retrouvé 15% de patientes avec une AMH<5pmol/L avant 30 ans, dans une population de patientes consultant pour infertilité.



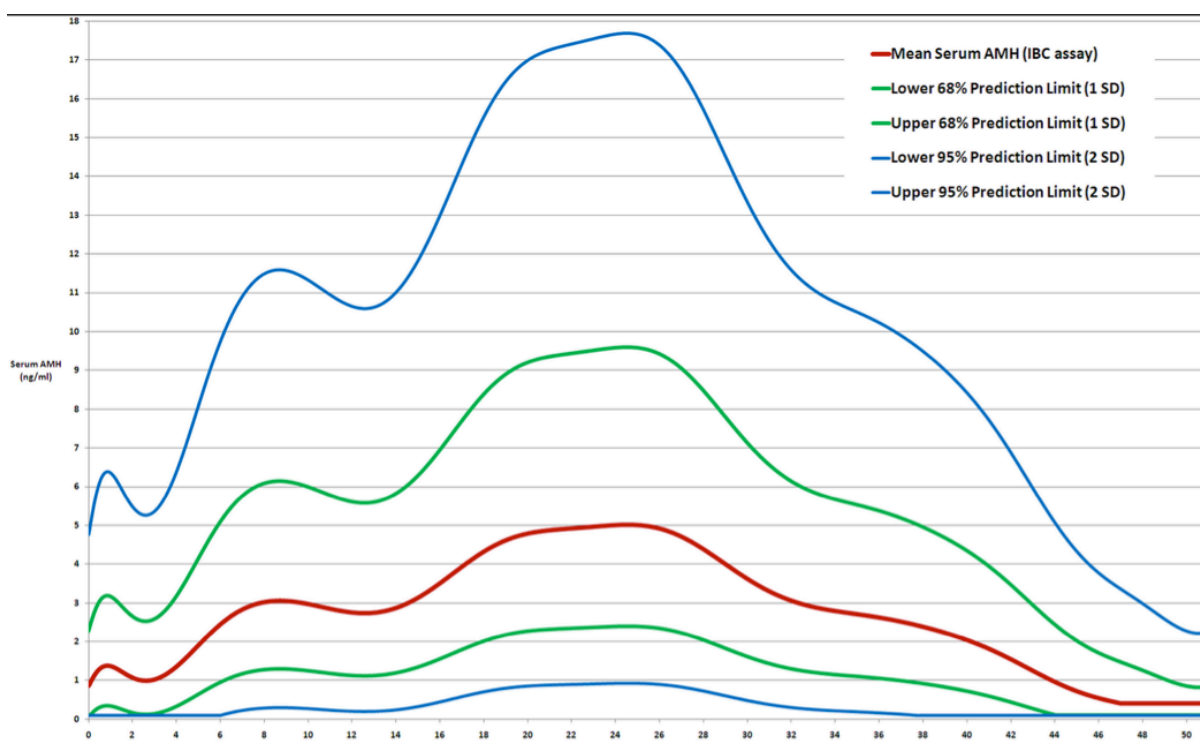


Figure 6. Courbes d'évolution de l'AMH en fonction de l'âge. D'après Kelsey et al. (103).

Les résultats de notre étude sont cohérents avec les données de la littérature, bien qu'elles ne concernent pour la plupart que des patientes atteintes de cancer avant leur traitement gonadotoxique. Plusieurs études ont été réalisées pour évaluer la réponse ovarienne des patientes atteintes de cancer en vue d'une préservation de fertilité, cependant toutes sont rétrospectives, pouvant rendre les résultats difficiles à interpréter. Certaines mettent en évidence une diminution de l'hormone antimüllérienne (AMH) avant même le traitement gonadotoxique (100), ce dont nous nous sommes affranchis en appariant nos patientes sur l'âge et l'AMH.

- *Comparaison des groupes*

Seule différence entre nos deux groupes, les patientes du groupe « après-cancer » avaient un comptage des follicules antraux (CFA) inférieur à celui des témoins (9.3 vs 15.5,  $p=0.043$ ), pour une AMH et une FSH non statistiquement

différentes. Cette différence pourrait être expliquée par la prise de contraception hormonale antigonadotrope au moment du bilan de réserve ovarienne chez 47% des patientes du groupe « après-cancer ». Cette baisse du comptage folliculaire chez les patientes atteintes de cancer avait déjà été mise en évidence dans les études de Chan et al. et Johnson et al. (100,105) restant significative après analyse multivariée sur la prise de contraception hormonale. L'étude de Johnson et al. retrouvait aussi une différence significative sur l'AMH de ces patientes ayant un traitement antigonadotrope. Cependant Johnson et al. (94) n'avaient pas retrouvé cette différence dans leur étude de 2013 comparant des patientes atteintes d'un cancer à des patientes « témoin » saines appariées sur l'âge.

- *Réponses ovariennes lors de la stimulation*

Lors des cycles de stimulation, les patientes du groupe « après-cancer » ont été stimulées avec des doses de gonadotrophines similaires au groupe témoin (dose départ : 325 UI/L [200-450] vs 362.5 UI/L [150-450], dose totale: 4125 UI/L [2400-8250] vs 4350 UI/L [1500-5600],  $p=0.47$ ) mais avaient des taux d'estradiol au déclenchement inférieurs (581 pg/ml [185-2476] vs 1600 pg/ml [461-4500],  $p=0.021$ ) (tableau 6). L'absence de différence sur la dose de départ et la dose totale de gonadotrophines reçues nous permet d'éviter un biais concernant les résultats de la stimulation. Une explication possible de cette diminution du taux d'estradiol au moment du déclenchement pourrait s'expliquer par la prise d'une contraception hormonale anti gonadotrope avant de démarrer le protocole d'hyperstimulation ovarienne chez 47% des patientes du groupe « après-cancer ». Celle-ci pourrait induire par inertie un freinage encore plus important sur la LH comme cela a été retrouvé dans l'étude de Meldrum et al. (106). Cependant, Kolibianakis et al. (107) ont étudié la réponse à la stimulation des patientes ayant reçu un traitement anti

gonadotrope avant la stimulation et n'ont pas retrouvé de différence sur le taux d'estradiol au déclenchement, comparativement aux patientes ayant commencé la stimulation sur un cycle naturel.

Dans le groupe « après-cancer », le taux d'estradiol au déclenchement était aussi statistiquement supérieur lors du deuxième cycle de stimulation que lors de leur premier cycle (581 [185-2476] vs 1261 [298-4306],  $p=0.042$ ) alors que les patientes qui réalisaient leur premier cycle sous pilule ne l'ont pas arrêté pour le deuxième cycle (tableau 7). Pour ce qui est de l'influence de la prise de pilule au moment de la stimulation, un tiers des cycles totaux étudiés dans le groupe cancer ont été débutés sous contraception oestroprogestative. Nous n'avons pas pu faire d'analyse statistique en raison des petits effectifs, mais les résultats sur le taux d'estradiol semblaient similaires (1295.4pg/ml avec pilule vs 1080.6pg/ml sans pilule) (tableau 9). Cette différence entre les taux d'estradiol du premier et du deuxième cycle pourrait probablement être liée au hasard en raison du faible effectif de notre population.

Cette différence sur le taux d'estradiol n'est pas non plus liée au nombre de follicules en croissance, intermédiaires ou dominants, similaire dans le groupe « après-cancer » et les patientes « contrôle » ainsi que dans les premiers et deuxièmes cycles.

Cette modification de la réponse hormonale des ovaires lors de la stimulation a déjà été mise en évidence dans certaines études réalisées chez des patientes atteintes de cancer non encore traitées par chimiothérapie (87,90,92,96,97), mais avec certains facteurs confondants tels que l'utilisation d'inhibiteurs de l'aromatase. Les cellules de la granulosa en étant la principale source de production, cette diminution persistante de la production d'estradiol signerait une atteinte à long terme

de ces cellules par le cancer, probablement secondaire à la fibrose tissulaire et aux lésions vasculaires irréversibles de la chimiothérapie décrites par Meiorow et al. (31).

- *Cohortes ovocytaires*

Le nombre d'ovocytes recueillis n'était pas différent entre les deux groupes (2 [0-13] vs 6 [1-14],  $p=0.31$ ), tout comme le nombre d'ovocytes matures obtenus (2 [0-7] vs 4 [0-13],  $p=0.19$ ) et le taux de maturation (0.7 vs 0.6,  $p=0.38$ ). Les patientes « après-cancer » répondaient ainsi de manière identique aux patientes saines du même âge et de même taux d'AMH, l'antécédent de cancer n'influençant pas les résultats sur la cohorte ovocytaire.

Le nombre d'ovocytes recueillis était semblable aux chiffres retrouvés dans la littérature, notamment dans l'étude de Cobo et al. (87) ayant analysé l'accumulation ovocytaire chez 242 patientes ayant une baisse de réserve ovarienne idiopathique, qui retrouvait une moyenne de 3.2 ovocytes recueillis par cycle avec une moyenne d'âge de population à 36,5 ans et une AMH de 3,1 pmol/L. Notre étude a retrouvé des résultats similaires avec 5,1 ovocytes recueillis par cycles pour une moyenne d'âge de 23,9 ans et une AMH de 7,4pmol/L en moyenne.

Cependant, dans notre cohorte, le taux d'ovocytes lysés était de 19.5%, avec un taux de maturation ovocytaire de 60%, tandis que généralement ces taux sont respectivement de 10% et 78% (108,109), ces résultats étant probablement secondaire à notre petit effectif.

Concernant les résultats sur la cohorte ovocytaire des patientes atteintes de cancer, la plupart des études menées avant traitement gonadotoxique (89,90,92–94,100,110) ne retrouvaient pas de différence avec leurs patientes « contrôle » sur le nombre d'ovocytes obtenus, totaux et matures.

Dans la méta-analyse de Friedler (97) portant sur 7 études, une différence sur le nombre d'ovocytes recueillis mais sans incidence sur le nombre d'ovocytes matures préservés était retrouvée. Decanter et al. (111) ont retrouvé des résultats opposés, c'est-à-dire un nombre d'ovocytes recueillis totaux identique mais une diminution du nombre d'ovocytes matures dans la cohorte ovocytaire. L'étude de Domingo et al. (96), menée sur 223 patientes atteintes de cancer versus 98 patientes témoins saines, est la seule à avoir retrouvé une différence significative sur ces deux paramètres : les patientes atteintes de cancer ayant une diminution du nombre d'ovocytes totaux et matures lors de leur ponction, comparées aux témoins.

Parmi de récentes études, réalisées sur de grandes cohortes, plusieurs ont retrouvé un taux de maturation diminué chez les patientes atteintes d'un cancer avant traitement (96,97,110) pouvant faire craindre une perturbation dans la croissance et la maturation folliculaire chez ces patientes, responsables d'une réponse ovarienne altérée secondaire à un potentiel effet « toxique » du cancer en lui-même.

Notre étude, réalisée chez des patientes en rémission, n'a pas retrouvé cette différence, en comparaison à des patientes avec la même réserve ovarienne de manière idiopathique.

Les taux d'annulation n'ont pas pu être étudiés dans notre cohorte d'une part parce que les patientes « contrôle » étaient incluses au moment du déclenchement, d'autre part car les critères de déclenchement pour les patientes en cycle de préservation sont généralement plus souples, en terme de nombre de follicules minimum notamment.

Toutes nos patientes du groupe « après-cancer » ont été déclenchées avec un agoniste de la GnRH. Dans notre groupe « contrôle », nous n'avons pas différencié les patientes « contrôle » déclenchées avec un agoniste de la GnRH de celles

déclenchées avec une hCG recombinante, cependant plusieurs études ont démontré l'absence d'incidence sur les résultats des stimulations en terme de cohorte ovocytaire (112,113).

En raison du faible effectif, nous n'avons pas pu effectuer d'études en sous-groupes selon le type de cancer ou selon la prise de pilule. Lawrenz et al. (95) ont trouvé une différence sur le nombre d'ovocytes recueillis, avant chimiothérapie, entre les patientes atteintes de lymphomes et celles atteintes par un cancer du sein, faisant supposer une altération de la qualité ovocytaire préexistante aux traitements plus importante dans les cancers à forme systémique que dans les cancers à forme localisée. Cette différence n'a pas été retrouvée dans les études de Decanter et al. (111) et Almog et al. (93), avec un effectif plus restreint cependant.

- *Accumulation ovocytaire*

Le nombre d'ovocytes en métaphase II recueillis au premier cycle était en moyenne de 3,3 ( $\pm 3,1$ ). Ce nombre était comparable entre le premier et le deuxième cycle de stimulation (2,7 ( $\pm 2,3$ ) vs 4,4 ( $\pm 3,8$ ),  $p=0.16$ ).

Bien que notre étude soit limitée par le petit effectif de notre cohorte, en rapport avec le nombre encore restreint de patientes consultant dans ce contexte, nos résultats sont plutôt encourageants pour nos patientes.

Dans notre étude, une moyenne de  $7.2 \pm 4.7$  ovocytes matures par patiente étaient vitrifiés à l'issue du deuxième cycle de stimulation. Cinquante pourcent des patientes atteignaient cet objectif de 8 ovocytes en métaphase II vitrifiés à l'issue du deuxième cycle de stimulation. Et sur les 4 patientes ayant bénéficié d'un troisième cycle, 2 ont elles aussi pu atteindre cet objectif, avec une moyenne de  $8.6 \pm 6.6$  ovocytes en métaphase II vitrifiés, leur offrant de réelles chances de grossesse dans l'avenir.

En effet, indépendamment de la préservation de fertilité, la grande étude de Rienzi et al. (65) a récemment mis en évidence que 8 ovocytes en métaphase II étaient nécessaires pour obtenir 45% de taux d'accouchement chez les patientes de moins de 38 ans en FIV-ICSI. Ces résultats ont été confirmés par l'équipe de Cobo et al. (87,114) dans une population de patientes réalisant une préservation ovocytaire pour des raisons autres qu'un cancer, avec un taux de naissance vivante de 41% pour 8 ovocytes métaphase II vitrifiés, et avec une augmentation de chance de 8,4% par ovocyte supplémentaire, avec un plateau maximal de 85,2% avec 10-12 ovocytes.

• *Corrélation entre bilan de réserve ovarienne et nombre d'ovocytes matures*

Notre analyse a confirmé la corrélation entre le comptage des follicules antraux et le nombre d'ovocytes matures obtenus dans le groupe témoin, déjà démontré par Hsu et al. (115) contrairement au groupe « après-cancer » où aucune corrélation marquée n'était retrouvée.

Dans le groupe témoin, la corrélation entre taux d'AMH et nombre d'ovocytes n'est pas significative, bien que démontrée par de nombreuses études, dont la méta-analyse de Broer et al. (116).

L'analyse de corrélation réalisée pour ces données a probablement été mise en défaut par le petit effectif de notre étude.

*Points forts et limites de notre étude*

Les points forts de notre étude sont le caractère prospectif et l'appariement à la fois sur l'âge et l'AMH, nous permettant d'étudier des patientes a priori comparables en terme de potentiel ovocytaire.

Notre étude est cependant limitée par notre petit effectif, en relation avec le peu de patientes rencontrées en consultation dans ce contexte de préservation à distance de leur traitement par chimiothérapie.

La préservation ovocytaire se réalisant dans un contexte d'absence de projet parental immédiat, nous n'avons pas de données sur la réutilisation des ovocytes vitrifiés.

Dans son étude, Cobo et al. (114) livrent un taux d'utilisation des ovocytes de seulement 9,3%.

Dans l'étude de Garcia-Velasco et al. (110), qui a analysé les résultats de vitrification ovocytaire pour raison médicale ou non chez 1035 patientes, seulement 4 des 355 patientes avec une pathologie oncologique avaient utilisé leurs ovocytes vitrifiés sur une période de 4 ans, permettant à deux de ces patientes d'obtenir une grossesse.

### Ouverture

La préservation de fertilité pré et post traitement du cancer tend à devenir une pratique moins marginale, et nous serons amenés à répondre aux questions de ces patientes en terme de résultats des techniques que nous leur proposons. La prise en charge à 100% de la préservation de fertilité dans une indication médicale en France nous permettra d'avoir probablement un plus grand nombre de patientes qui souhaiteront faire cette démarche, et dont nous pourrons étudier les résultats. Cependant, cette prise en charge nécessite de vérifier l'efficacité de la préservation ovocytaire dans ce contexte. Notre étude a permis de montrer que les patientes sont plutôt motivées pour réaliser cette préservation, mais il nous faut mettre en balance les avantages et les inconvénients de cette préservation pour en évaluer l'intérêt. Nous avons pu montrer qu'avec la réalisation de 2 cycles de préservation ovocytaire,



nous étions capables d'offrir environ 40% de chance de grossesse pour la moitié des patientes. Ce chiffre augmentera probablement avec la réalisation d'un troisième cycle, mais nos données actuelles ne nous permettent pas d'étudier ce critère.

Si l'objectif de préserver au moins 8 ovocytes matures faisait partie de nos critères, pour les patientes, il s'agit bien d'une réflexion en terme de chance de grossesse et de naissance vivante. Et nous n'avons pour le moment aucune donnée sur le taux de réutilisation des ovocytes cryopréservés dans cette population, ni le taux de grossesse après utilisation.

Il faut évidemment aussi penser au coût d'une telle démarche, que cela soit en terme financier, avec la réalisation systématique de plusieurs cycles de stimulation avec des doses élevées de gonadotrophines et le stockage des ovocytes, mais aussi en terme de morbi-mortalité inhérente à la stimulation et à la ponction ovarienne. Il serait aussi intéressant de réaliser une enquête à l'aide de questionnaires sur le ressenti des patientes et l'anxiété pouvant être générée par la consultation de l'Observatoire de fertilité, les résultats du bilan de réserve ovarienne et l'éventuelle préservation qui en découle.

Il faut alors sélectionner les patientes à qui proposer une préservation de fertilité : des patientes pour qui l'insuffisance ovarienne prématurée est prévisible et dont le désir de grossesse est suffisamment éloigné pour apporter un bénéfice à la préservation ovocytaire plutôt qu'à une éventuelle prise en charge en procréation médicalement assistée classique.

Afin de créer une plus grosse cohorte dont nous aurions des renseignements pré-thérapeutiques, il serait intéressant de recontacter toutes les patientes étant venues à l'Observatoire de la Fertilité depuis sa création et dont l'indication d'une préservation ovocytaire pré-chimiothérapie n'avait pas été retenue, afin de mettre à

jour le bilan de réserve ovarienne de ces patientes si elles le souhaitent et d'envisager une préservation ovocytaire si le bilan nous y incitait. Il serait aussi intéressant de faire une étude prospective à long terme pour connaître les issues obstétricales des patientes ayant bénéficié d'une préservation de fertilité, que les grossesses soient survenues spontanément ou grâce à l'utilisation des ovocytes vitrifiés.

## CONCLUSION

Cette étude prospective longitudinale permet d'obtenir des données préliminaires quant à l'efficacité de la préservation ovocytaire chez les patientes ayant été exposées à des agents alkylants fortement gonadotoxiques et ayant des réserves ovariennes abaissées pour leur âge. Nous pouvons ainsi espérer obtenir une croissance folliculaire et une cohorte ovocytaire identiques à celles de patientes du même âge et de même réserve ovarienne. Nous pouvons donc commencer à répondre aux questions de ces patientes sur les chances de grossesse que leur offre l'accumulation ovocytaire dans ce contexte : l'obtention de 8 ovocytes en métaphase II après 2 cycles en moyenne, leur offrant 40% de chance de grossesse, et la possibilité de réaliser un troisième cycle, dont nous ne pouvons pour le moment pas établir de pronostic en terme de rentabilité, au vue de notre faible effectif.

Une étude avec un suivi au long cours des patientes bénéficiant d'une préservation ovocytaire est nécessaire afin de pouvoir conclure sur l'efficience de cette technique en terme de réutilisation des ovocytes vitrifiés et des taux de grossesse secondaires à cette réutilisation.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Murphy SL, Kochanek KD, Xu J, Heron M. Deaths: Final Data for 2012. Natl Vital Stat Rep Cent Dis Control Prev Natl Cent Health Stat Natl Vital Stat Syst. 31 août 2015;63(9):1-117.
2. Desandes E, Lacour B, Belot A, Molinie F, Delafosse P, Tretarre B, et al. Cancer incidence and survival in adolescents and young adults in France, 2000-2008. *Pediatr Hematol Oncol.* mai 2013;30(4):291-306.
3. Desandes E. Survival from adolescent cancer. *Cancer Treat Rev.* nov 2007;33(7):609-15.
4. Blatt J. Pregnancy outcome in long-term survivors of childhood cancer. *Med Pediatr Oncol.* juill 1999;33(1):29-33.
5. Quaresma M, Coleman MP, Rachet B. 40-year trends in an index of survival for all cancers combined and survival adjusted for age and sex for each cancer in England and Wales, 1971-2011: a population-based study. *Lancet Lond Engl.* 28 mars 2015;385(9974):1206-18.
6. Un premier enfant à 28 ans | Insee. Disponible sur: <https://www.insee.fr/fr/statistiques/1281068>
7. Sklar CA, Mertens AC, Mitby P, Whitton J, Stovall M, Kasper C, et al. Premature menopause in survivors of childhood cancer: a report from the childhood cancer survivor study. *J Natl Cancer Inst.* 5 juill 2006;98(13):890-6.
8. Objectif 8 : Réduire les risques de séquelles et de second cancer - Les 17 objectifs du Plan | Institut National Du Cancer. Disponible sur: <http://www.e->

cancer.fr/Plan-cancer/Plan-cancer-2014-2019-priorites-et-objectifs/Les-17-objectifs-du-Plan/Objectif-8-Reduire-les-risques-de-sequelles-et-de-second-cancer

9. European Society for Human Reproduction and Embryology (ESHRE) Guideline Group on POI, Webber L, Davies M, Anderson R, Bartlett J, Braat D, et al. ESHRE Guideline: management of women with premature ovarian insufficiency. *Hum Reprod Oxf Engl.* mai 2016;31(5):926-37.

10. Dewailly D, Andersen CY, Balen A, Broekmans F, Dilaver N, Fanchin R, et al. The physiology and clinical utility of anti-Müllerian hormone in women. *Hum Reprod Update.* 5 janv 2014;20(3):370-85.

11. Fanchin R, Schonäuer LM, Righini C, Guibourdenche J, Frydman R, Taieb J. Serum anti-Müllerian hormone is more strongly related to ovarian follicular status than serum inhibin B, estradiol, FSH and LH on day 3. *Hum Reprod Oxf Engl.* févr 2003;18(2):323-7.

12. Weenen C, Laven JSE, Von Bergh ARM, Cranfield M, Groome NP, Visser JA, et al. Anti-Müllerian hormone expression pattern in the human ovary: potential implications for initial and cyclic follicle recruitment. *Mol Hum Reprod.* févr 2004;10(2):77-83.

13. Nelson SM, Messow MC, McConnachie A, Wallace H, Kelsey T, Fleming R, et al. External validation of nomogram for the decline in serum anti-Müllerian hormone in women: a population study of 15,834 infertility patients. *Reprod Biomed Online.* août 2011;23(2):204-6.

14. Fouquet A, Catteau-Jonard S, Peigné M, Pigny P, Dewailly D. [Usefulness and indications of AMH assay in women]. *Ann Biol Clin (Paris).* déc 2014;72(6):681-8.

15. Hehenkamp WJK, Looman CWN, Themmen APN, de Jong FH, Te Velde ER, Broekmans FJM. Anti-Müllerian hormone levels in the spontaneous

menstrual cycle do not show substantial fluctuation. *J Clin Endocrinol Metab.* oct 2006;91(10):4057-63.

16. La Marca A, Stabile G, Artenisio AC, Volpe A. Serum anti-Müllerian hormone throughout the human menstrual cycle. *Hum Reprod Oxf Engl.* déc 2006;21(12):3103-7.

17. Fleming R, Kelsey TW, Anderson RA, Wallace WH, Nelson SM. Interpreting human follicular recruitment and antimüllerian hormone concentrations throughout life. *Fertil Steril.* nov 2012;98(5):1097-102.

18. Rosendahl M, Andersen CY, la Cour Freiesleben N, Juul A, Løssl K, Andersen AN. Dynamics and mechanisms of chemotherapy-induced ovarian follicular depletion in women of fertile age. *Fertil Steril.* juin 2010;94(1):156-66.

19. Fréour T, Barrière P, Masson D. Anti-müllerian hormone levels and evolution in women of reproductive age with breast cancer treated with chemotherapy. *Eur J Cancer Oxf Engl* 1990. mars 2017;74:1-8.

20. Meirow D, Nugent D. The effects of radiotherapy and chemotherapy on female reproduction. *Hum Reprod Update.* déc 2001;7(6):535-43.

21. Trèves R, Grynberg M, Parco S le, Finet A, Poulain M, Fanchin R. Female fertility preservation in cancer patients: an instrumental tool for the envisioning a postdisease life. *Future Oncol Lond Engl.* mai 2014;10(6):969-74.

22. Goswami D, Conway GS. Premature ovarian failure. *Hum Reprod Update.* août 2005;11(4):391-410.

23. Meirow D, Lewis H, Nugent D, Epstein M. Subclinical depletion of primordial follicular reserve in mice treated with cyclophosphamide: clinical importance and proposed accurate investigative tool. *Hum Reprod Oxf Engl.* juill 1999;14(7):1903-7.

24. Sonmezer M, Oktay K. Fertility preservation in young women undergoing breast cancer therapy. *The Oncologist*. mai 2006;11(5):422-34.
25. Sudour-Bonnange H, Tabone M-D, Thomas-Teinturier C, Pacquement H, Oberlin O, Marec-Berard P, et al. [Fertility preservation in children and teenagers with cancer]. *Bull Cancer (Paris)*. août 2013;100(7-8):727-35.
26. Schein PS, Winokur SH. Immunosuppressive and cytotoxic chemotherapy: long-term complications. *Ann Intern Med*. janv 1975;82(1):84-95.
27. Bokemeyer C, Schmoll HJ, van Rhee J, Kuczyk M, Schuppert F, Poliwoda H. Long-term gonadal toxicity after therapy for Hodgkin's and non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Hematol*. mars 1994;68(3):105-10.
28. Wallace WHB, Kelsey TW. Human ovarian reserve from conception to the menopause. *PloS One*. 27 janv 2010;5(1):e8772.
29. Sanders JE, Buckner CD, Amos D, Levy W, Appelbaum FR, Doney K, et al. Ovarian function following marrow transplantation for aplastic anemia or leukemia. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. mai 1988;6(5):813-8.
30. Nicosia SV, Matus-Ridley M, Meadows AT. Gonadal effects of cancer therapy in girls. *Cancer*. 15 mai 1985;55(10):2364-72.
31. Meirow D, Dor J, Kaufman B, Shrim A, Rabinovici J, Schiff E, et al. Cortical fibrosis and blood-vessels damage in human ovaries exposed to chemotherapy. Potential mechanisms of ovarian injury. *Hum Reprod Oxf Engl*. juin 2007;22(6):1626-33.
32. Letourneau JM, Ebbel EE, Katz PP, Oktay KH, McCulloch CE, Ai WZ, et al. Acute ovarian failure underestimates age-specific reproductive impairment for young women undergoing chemotherapy for cancer. *Cancer*. 1 avr 2012;118(7):1933-9.

33. 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*. févr 2010;20(2):280-5.
34. Azim HA, Santoro L, Pavlidis N, Gelber S, Kroman N, Azim H, et al. Safety of pregnancy following breast cancer diagnosis: a meta-analysis of 14 studies. *Eur J Cancer Oxf Engl* 1990. janv 2011;47(1):74-83.
35. Sankila R, Heinävaara S, Hakulinen T. Survival of breast cancer patients after subsequent term pregnancy: « healthy mother effect ». *Am J Obstet Gynecol*. mars 1994;170(3):818-23.
36. Edwards RG. Maturation in vitro of human ovarian oocytes. *Lancet Lond Engl*. 6 nov 1965;2(7419):926-9.
37. Oktay K, Aydin BA, Karlikaya G. A technique for laparoscopic transplantation of frozen-banked ovarian tissue. *Fertil Steril*. juin 2001;75(6):1212-6.
38. Oktay K, Buyuk E, Veeck L, Zaninovic N, Xu K, Takeuchi T, et al. Embryo development after heterotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. *Lancet Lond Engl*. 13 mars 2004;363(9412):837-40.
39. Donnez J, Dolmans MM, Demylle D, Jadoul P, Pirard C, Squifflet J, et al. Livebirth after orthotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. *Lancet Lond Engl*. 16 oct 2004;364(9443):1405-10.
40. Introduction - INCa\_rapport\_fertilite\_et\_cancer\_2012.pdf Disponible sur:[http://www.oncolr.org/upload/Espace\\_professionnel/Cancers%20et%20fertilite%20C3%A9/INCa\\_rapport\\_fertilite\\_et\\_cancer\\_2012.pdf](http://www.oncolr.org/upload/Espace_professionnel/Cancers%20et%20fertilite%20C3%A9/INCa_rapport_fertilite_et_cancer_2012.pdf)
41. rapport\_grunfeld\_104pges\_srm\_mars\_2009\_v3.pdf Disponible sur:  
[http://www.e-cancer.fr/content/download/58803/535448/file/rapport\\_grunfeld\\_104pges\\_srm\\_mars\\_2009\\_v3.pdf](http://www.e-cancer.fr/content/download/58803/535448/file/rapport_grunfeld_104pges_srm_mars_2009_v3.pdf)



42. Balachandar S, Dunkel IJ, Khakoo Y, Wolden S, Allen J, Sklar CA. Ovarian function in survivors of childhood medulloblastoma: Impact of reduced dose craniospinal irradiation and high-dose chemotherapy with autologous stem cell rescue. *Pediatr Blood Cancer*. févr 2015;62(2):317-21.
43. Ott J, Nouri K, Stögbauer L, Fischer EM, Lipovac M, Promberger R, et al. Ovarian tissue cryopreservation for non-malignant indications. *Arch Gynecol Obstet*. avr 2010;281(4):735-9.
44. Bulun SE. Endometriosis. *N Engl J Med*. 15 janv 2009;360(3):268-79.
45. Lebovic DI, Mueller MD, Taylor RN. Immunobiology of endometriosis. *Fertil Steril*. janv 2001;75(1):1-10.
46. Donnez J, Nisolle M, Gillet N, Smets M, Bassil S, Casanas-Roux F. Large ovarian endometriomas. *Hum Reprod Oxf Engl*. mars 1996;11(3):641-6.
47. Carrillo L, Seidman DS, Cittadini E, Meirow D. The role of fertility preservation in patients with endometriosis. *J Assist Reprod Genet*. mars 2016;33(3):317-23.
48. Badawy A, Elnashar A, El-Ashry M, Shahat M. Gonadotropin-releasing hormone agonists for prevention of chemotherapy-induced ovarian damage: prospective randomized study. *Fertil Steril*. mars 2009;91(3):694-7.
49. 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*. 20 juill 2011;306(3):269-76.
50. 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*. 10 juin 2011;29(17):2334-41.

51. 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*. 10 févr 2012;30(5):533-8.
52. Decanter C, de Ziegler D. Préservation de la fertilité dans le cadre du cancer du sein. *Médecine Thérapeutique Médecine Reprod Gynécologie Endocrinol*. 2012;14(2):113–116.
53. 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*. 9 nov 2011;(11):CD008018.
54. Thomin A, Torre A, Daraï É, Chabbert-Buffet N. [Role of GnRH agonists in preserving female fertility]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*. avr 2014;43(4):267-74.
55. Lambertini M, Falcone T, Unger JM, Phillips K-A, Del Mastro L, Moore HCF. Debated Role of Ovarian Protection With Gonadotropin-Releasing Hormone Agonists During Chemotherapy for Preservation of Ovarian Function and Fertility in Women With Cancer. *J Clin Oncol*. 28 nov 2016;35(7):804-5.
56. Oktay K, Turan V, Bedoschi G. Reply to M. Lambertini et al. *J Clin Oncol*. 28 nov 2016;35(7):807-9.
57. Moroni RM, Martins WP, Ferriani RA, Vieira CS, Nastri CO, Candido Dos Reis FJ, et al. Add-back therapy with GnRH analogues for uterine fibroids. In: *Cochrane Database of Systematic Reviews [Internet]*. John Wiley & Sons, Ltd; 2015 [cité 22 avr 2017]. Disponible sur: <http://onlinelibrary.wiley.com.gate2.inist.fr/doi/10.1002/14651858.CD010854.pub2/abstract>

58. Rodriguez-Wallberg KA, Oktay K. Options on fertility preservation in female cancer patients. *Cancer Treat Rev.* août 2012;38(5):354-61.
59. Chargari C, Castadot P, Gillion N, Bauduceau O, Védrine L, Haie-Meder C, et al. [Impact of radiotherapy on fertility in female patients]. *Bull Cancer (Paris).* oct 2009;96(10):1005-11.
60. Trounson A, Mohr L. Human pregnancy following cryopreservation, thawing and transfer of an eight-cell embryo. *Nature.* 20 oct 1983;305(5936):707-9.
61. Rienzi L, Gracia C, Maggiulli R, LaBarbera AR, Kaser DJ, Ubaldi FM, et al. Oocyte, embryo and blastocyst cryopreservation in ART: systematic review and meta-analysis comparing slow-freezing versus vitrification to produce evidence for the development of global guidance. *Hum Reprod Update.* 8 nov 2016;
62. Oktay K, Hourvitz A, Sahin G, Oktem O, Safro B, Cil A, et al. Letrozole reduces estrogen and gonadotropin exposure in women with breast cancer undergoing ovarian stimulation before chemotherapy. *J Clin Endocrinol Metab.* oct 2006;91(10):3885-90.
63. Stoop D, Ermini B, Polyzos NP, Haentjens P, De Vos M, Verheyen G, et al. Reproductive potential of a metaphase II oocyte retrieved after ovarian stimulation: an analysis of 23 354 ICSI cycles. *Hum Reprod.* 1 juill 2012;27(7):2030-5.
64. Cobo A, Diaz C. Clinical application of oocyte vitrification: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Fertil Steril.* août 2011;96(2):277-85.
65. 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.* 6 janv 2012;27(6):1606-12.

66. Lee SJ, Schover LR, Partridge AH, Patrizio P, Wallace WH, Hagerty K, et al. American Society of Clinical Oncology recommendations on fertility preservation in cancer patients. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 20 juin 2006;24(18):2917-31.
67. 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*. juin 2012;29(6):465-8.
68. Mangili G, Papaleo E, Sigismondi C, Masciangelo R, Sarais V, Giorgione V, et al. Timing should no longer be an obstacle to oocyte cryopreservation in patients with cancer. *Tumori*. 28 nov 2016;0.
69. Cakmak H, Katz A, Cedars MI, Rosen MP. Effective method for emergency fertility preservation: random-start controlled ovarian stimulation. *Fertil Steril*. déc 2013;100(6):1673-80.
70. Courbiere B, Decanter C. [Practical clinical aspects of oocyte vitrification for fertility preservation]. *Gynecol Obstet Fertil*. sept 2014;42(9):653-6.
71. 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*. mai 2013;99(6):1503-13.
72. Dolmans M-M, Jadoul P, Gilliaux S, Amorim CA, Luyckx V, Squifflet J, et al. A review of 15 years of ovarian tissue bank activities. *J Assist Reprod Genet*. mars 2013;30(3):305-14.
73. Rosendahl M, Greve T, Andersen CY. The safety of transplanting cryopreserved ovarian tissue in cancer patients: a review of the literature. *J Assist Reprod Genet*. janv 2013;30(1):11-24.

74. Oktay K, Economos K, Kan M, Rucinski J, Veeck L, Rosenwaks Z. Endocrine function and oocyte retrieval after autologous transplantation of ovarian cortical strips to the forearm. *JAMA*. 26 sept 2001;286(12):1490-3.
75. Poirot C, Abirached F, Prades M, Coussieu C, Bernaudin F, Piver P. Induction of puberty by autograft of cryopreserved ovarian tissue. *Lancet Lond Engl*. 11 févr 2012;379(9815):588.
76. Anderson RA, Hindmarsh PC, Wallace WHB. Induction of puberty by autograft of cryopreserved ovarian tissue in a patient previously treated for Ewing sarcoma. *Eur J Cancer Oxf Engl* 1990. sept 2013;49(13):2960-1.
77. Keller L. Thèse de Doctorat en Médecine. « Préservation ovocytaire par la technique de vitrification chez les patientes à risque d'infertilité : bilan de cette activité au laboratoire de biologie de la reproduction du CHRU de Lille ». Disponible sur: <http://pepite.univ-lille2.fr/notice/view/UDSL2-workflow-1323>
78. Wallace WHB, Anderson RA, Irvine DS. Fertility preservation for young patients with cancer: who is at risk and what can be offered? *Lancet Oncol*. avr 2005;6(4):209-18.
79. Meirow D, Levron J, Eldar-Geva T, Hardan I, Fridman E, Zalel Y, et al. Pregnancy after transplantation of cryopreserved ovarian tissue in a patient with ovarian failure after chemotherapy. *N Engl J Med*. 21 juill 2005;353(3):318-21.
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*. août 2010;16(4):395-414.
81. O'Brien MJ, Pendola JK, Eppig JJ. A revised protocol for in vitro development of mouse oocytes from primordial follicles dramatically improves their developmental competence. *Biol Reprod*. mai 2003;68(5):1682-6.

82. Shalom-Paz E, Almog B, Shehata F, Huang J, Holzer H, Chian R-C, et al. Fertility preservation for breast-cancer patients using IVM followed by oocyte or embryo vitrification. *Reprod Biomed Online*. oct 2010;21(4):566-71.
83. Chian R-C, Uzelac PS, Nargund G. In vitro maturation of human immature oocytes for fertility preservation. *Fertil Steril*. avr 2013;99(5):1173-81.
84. Trounson A, Wood C, Kausche A. In vitro maturation and the fertilization and developmental competence of oocytes recovered from untreated polycystic ovarian patients. *Fertil Steril*. août 1994;62(2):353-62.
85. Fadini R, Mignini Renzini M, Guarnieri T, Dal Canto M, De Ponti E, Sutcliffe A, et al. Comparison of the obstetric and perinatal outcomes of children conceived from in vitro or in vivo matured oocytes in in vitro maturation treatments with births from conventional ICSI cycles. *Hum Reprod Oxf Engl*. déc 2012;27(12):3601-8.
86. Basatemur E, Sutcliffe A. Health of IVM children. *J Assist Reprod Genet*. juin 2011;28(6):489-93.
87. Cobo A, Garrido N, Crespo J, José R, Pellicer A. Accumulation of oocytes: a new strategy for managing low-responder patients. *Reprod Biomed Online*. avr 2012;24(4):424-32.
88. Knopman JM, Noyes N, Talebian S, Krey LC, Grifo JA, Licciardi F. Women with cancer undergoing ART for fertility preservation: a cohort study of their response to exogenous gonadotropins. *Fertil Steril*. avr 2009;91(4 Suppl):1476-8.
89. Quintero RB, Helmer A, Huang JQ, Westphal LM. Ovarian stimulation for fertility preservation in patients with cancer. *Fertil Steril*. févr 2010;93(3):865-8.
90. Noyes N, Labella PA, Grifo J, Knopman JM. Oocyte cryopreservation: a feasible fertility preservation option for reproductive age cancer survivors. *J Assist Reprod Genet*. août 2010;27(8):495-9.

91. Robertson AD, Missmer SA, Ginsburg ES. Embryo yield after in vitro fertilization in women undergoing embryo banking for fertility preservation before chemotherapy. *Fertil Steril.* févr 2011;95(2):588-91.
92. Das M, Shehata F, Moria A, Holzer H, Son W-Y, Tulandi T. Ovarian reserve, response to gonadotropins, and oocyte maturity in women with malignancy. *Fertil Steril.* juill 2011;96(1):122-5.
93. Almog B, Azem F, Gordon D, Puzner D, Amit A, Barkan G, et al. Effects of cancer on ovarian response in controlled ovarian stimulation for fertility preservation. *Fertil Steril.* oct 2012;98(4):957-60.
94. Johnson LNC, Dillon KE, Sammel MD, Efymow BL, Mainigi MA, Dokras A, et al. Response to ovarian stimulation in patients facing gonadotoxic therapy. *Reprod Biomed Online.* avr 2013;26(4):337-44.
95. 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.* juill 2012;98(1):141-4.
96. 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.* avr 2012;97(4):930-4.
97. 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.* janv 2012;97(1):125-33.
98. 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.* avr 2015;32(4):587-96.

99. Ferraretti AP, La Marca A, Fauser BCJM, Tarlatzis B, Nargund G, Gianaroli L, et al. ESHRE consensus on the definition of « poor response » to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria. *Hum Reprod Oxf Engl.* juill 2011;26(7):1616-24.
100. Chan JL, Johnson LNC, Efymow BL, Sammel MD, Gracia CR. Outcomes of ovarian stimulation after treatment with chemotherapy. *J Assist Reprod Genet.* 1 oct 2015;32(10):1537-45.
101. Chemaitilly W, Li Z, Krasin MJ, Brooke RJ, Wilson CL, Green DM, et al. Premature Ovarian Insufficiency in Childhood Cancer Survivors: A Report from the St. Jude Lifetime Cohort. *J Clin Endocrinol Metab.* 24 mars 2017;
102. Anderson RA, Rosendahl M, Kelsey TW, Cameron DA. Pretreatment anti-Müllerian hormone predicts for loss of ovarian function after chemotherapy for early breast cancer. *Eur J Cancer Oxf Engl* 1990. nov 2013;49(16):3404-11.
103. Kelsey TW, Wright P, Nelson SM, Anderson RA, Wallace WHB. A Validated Model of Serum Anti-Müllerian Hormone from Conception to Menopause. *PLOS ONE.* juil 2011;6(7):e22024.
104. Martyn F, O'Brien Y, Wingfield M. Review of clinical indicators, including serum anti-Müllerian hormone levels, for identification of women who should consider egg freezing. *Int J Gynecol Obstet.* :n/a-n/a.
105. Johnson LNC, Sammel MD, Dillon KE, Lechtenberg L, Schanne A, Gracia CR. Antimüllerian hormone and antral follicle count are lower in female cancer survivors and healthy women taking hormonal contraception. *Fertil Steril.* sept 2014;102(3):774-781.e3.
106. Meldrum DR, Scott Jr. RT, Levy MJ, Alper MM, Noyes N. Oral contraceptive pretreatment in women undergoing controlled ovarian stimulation in ganirelix acetate cycles may, for a subset of patients, be associated with low serum



luteinizing hormone levels, reduced ovarian response to gonadotropins, and early pregnancy loss. *Fertil Steril*. mai 2009;91(5):1963-5.

107. Kolibianakis EM, Papanikolaou EG, Camus M, Tournaye H, Steirteghem V, C A, et al. Effect of oral contraceptive pill pretreatment on ongoing pregnancy rates in patients stimulated with GnRH antagonists and recombinant FSH for IVF. A randomized controlled trial. *Hum Reprod*. 1 févr 2006;21(2):352-7.

108. Keller L. Thèse Disponible sur: <http://pepite-depot.univ-lille2.fr/nuxeo/site/esupversions/5010f725-bc12-45d9-9391-03b7cb201384>

109. 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*. juin 2012;27(6):1606-12.

110. 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*. juin 2013;99(7):1994-9.

111. Decanter C, Keller L, What is the efficiency of controlled ovarian hyperstimulation for fertility preservation in young cancer patients? A prospective study comparing 90 patients to 180 date and age-matched controls. En cours de publication.

112. Acevedo B, Gomez-Palomares JL, Ricciarelli E, Hernández ER. Triggering ovulation with gonadotropin-releasing hormone agonists does not compromise embryo implantation rates. *Fertil Steril*. déc 2006;86(6):1682-7.

113. Bodri D, Guillén JJ, Galindo A, Mataró D, Pujol A, Coll O. Triggering with human chorionic gonadotropin or a gonadotropin-releasing hormone agonist in gonadotropin-releasing hormone antagonist-treated oocyte donor cycles: findings of a large retrospective cohort study. *Fertil Steril*. févr 2009;91(2):365-71.

114. Cobo A, García-Velasco JA, Coello A, Domingo J, Pellicer A, Remohí J. Oocyte vitrification as an efficient option for elective fertility preservation. *Fertil Steril.* mars 2016;105(3):755-764.e8.

115. Hsu A, Arny M, Knee AB, Bell C, Cook E, Novak AL, et al. Antral follicle count in clinical practice: analyzing clinical relevance. *Fertil Steril.* févr 2011;95(2):474-9.

116. Broer SL, Mol BWJ, Hendriks D, Broekmans FJM. The role of antimullerian hormone in prediction of outcome after IVF: comparison with the antral follicle count. *Fertil Steril.* mars 2009;91(3):705-14.

**AUTEUR : KOWALSKI Caroline**

**Date de Soutenance : 09 Mai 2017**

**Titre de la Thèse : Préservation de Fertilité par vitrification ovocytaire après cancer : étude chez 20 patientes au CHRU de Lille**

**Thèse - Médecine - Lille 2017**

**Cadre de classement : Médecine de la Reproduction**

**DES + spécialité : Gynécologie Médicale**

**Mots-clés : Préservation de fertilité, Cancer, Vitrification ovocytaire, Accumulation ovocytaire**

**Contexte :** L'augmentation de la survie chez les patients traités pour un cancer dans l'enfance ou à un âge jeune implique la gestion des troubles de la fertilité liés à leur traitement. La préservation de fertilité après cancer tend à devenir plus fréquente et son intérêt pronostic ainsi que sa faisabilité nécessitent d'être étudiés.

**Méthode :** Etude prospective comparative, de janvier 2014 à décembre 2016, des résultats de tentatives de préservation de fertilité par vitrification ovocytaire de 20 patientes ayant été traitées par chimiothérapie pour un cancer et de patientes « contrôle » ayant bénéficié d'une FIV-ICSI appariées sur l'âge et l'AMH. Les caractéristiques cliniques, biologiques, les paramètres de stimulation et les résultats sur la cohorte ovocytaire ont été analysés pour les deux groupes.

**Résultats :** 17 patientes ont bénéficié d'une préservation de fertilité, réalisant 39 cycles de stimulation soit 2,3 cycles par patiente. 15,4% des cycles ont été annulés pour hypo-réponse. Les groupes étaient comparables sur le bilan hormonal à J3 et l'IMC. Les patientes du groupe cancer avaient un CFA plus bas que les patientes « contrôle ». Lors des stimulations, le taux d'estradiol au déclenchement était significativement plus bas chez les patientes du groupe « après-cancer » avec un développement folliculaire comparable. Aucune différence n'est retrouvée sur la cohorte ovocytaire recueillie entre les deux groupes. A l'issue du 2<sup>e</sup> cycle et après accumulation ovocytaire, 7,2 ovocytes matures par patiente étaient vitrifiés en moyenne et 50% des patientes avaient au moins 8 ovocytes matures cryopreservés.

**Conclusion :** Les patientes survivantes du cancer ont eu une bonne adhésion à la stratégie de préservation de fertilité par vitrification ovocytaire. Ces patientes « après-cancer » ont une réponse ovarienne à la stimulation comparable à des patientes ayant une baisse de réserve idiopathique de même âge.

#### **Composition du Jury**

**Président : Monsieur le Professeur Didier DEWAILLY**

**Assesseurs : Madame le Professeur Sophie CATTEAU-JONARD**

**Madame le Docteur Brigitte LEROY-MARTIN**

**Monsieur le Docteur Geoffroy ROBIN**

**Madame le Docteur Agathe DUMONT**

**Directeur : Madame le Docteur Christine DECANter**