



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

Année : 2017

THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT  
DE DOCTEUR EN MEDECINE

**Evaluation du développement pubertaire et de la fonction  
leydigienne chez les enfants greffés de moelle  
dans la région NPDC entre 1999 et 2013.**

*Etude rétrospective visant à optimiser le suivi et la prise en charge endocrinologique.*

Présentée et soutenue publiquement le 4 octobre 2017 à 18h  
au Pôle Formation

**Par Caroline TURLOTTE**

---

**JURY**

**Président :**

**Monsieur le Professeur Alain MARTINOT**

**Assesseurs :**

**Monsieur le Professeur Jean-Claude CAREL**

**Monsieur le Docteur Charles HERBAUX**

**Madame le Docteur Bénédicte BRUNO**

**Directeur de Thèse :**

**Madame le Docteur Clara LEROY**

---

## **AVERTISSEMENT**

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



## **ABREVIATIONS**

BMI : Body Mass Index

DS : Déviation standard

FSH : Hormone folliculo-stimulante

GH : Growth hormon, hormone de croissance

GnRH : Gonadotropin Releasing Hormone

GvH : Graft Versus Host disease, réaction du greffon contre l'hôte

ICT : Irradiation corporelle totale

IGF-1 : Insuline-like growth factor 1

IMC : Indice de masse corporelle

LAL : Leucémie aigue lymphoblastique

LH : Hormone lutéinisante

MVO : Maladie veino-occlusive

SAL : Sérum anti-lymphocytaire

SBP : Sex Binding Protein

SFGM-TC : Société française de greffe de moelle et de thérapie cellulaire

SOS : Syndrome d'obstruction sinusoïdale

VHR : Very high risk

<b>INTRODUCTION .....</b>	<b>7</b>
<b>I. La greffe de cellules souches hématopoïétiques chez l'enfant.....</b>	<b>8</b>
A. Généralités .....	8
B. Déroulement de la greffe .....	9
C. Différents types de greffe.....	10
1. Greffe autologue .....	10
2. Greffe allogénique.....	11
D. Les complications principales.....	12
1. Maladie du greffon contre l'hôte (GvH).....	12
2. Maladie Veino-Occlusive du foie (MVO) ou Syndrome d'Obstruction Sinusoïdale (SOS)....	13
3. Séquelles endocriniennes.....	13
4. Autres .....	14
<b>II. Puberté et fonction testiculaire chez le garçon.....</b>	<b>15</b>
A. Déclenchement de la puberté et régulation hormonale .....	15
B. Facteurs influençant la puberté .....	17
1. Facteurs intrinsèques .....	17
2. Facteurs extrinsèques.....	19
C. Croissance et puberté .....	20
<b>III. Contexte .....</b>	<b>20</b>
<b>IV. Objectifs .....</b>	<b>22</b>
<b>V. Matériels et méthodes .....</b>	<b>22</b>
<b>VI. Résultats.....</b>	<b>25</b>
A. Données épidémiologiques.....	25
B. Données auxologiques.....	27
C. Caractéristiques des thérapeutiques.....	29
1. Thérapeutiques pré-greffe .....	29
2. Conditionnements.....	30
D. Complications endocriniennes.....	31
1. Fonction leydigienne .....	31
2. Fonction sertolienne .....	33
3. Autres atteintes endocriniennes.....	34
D. Devenir sécrétoire des patients ayant bénéficié d'une cryopréservation de pulpe testiculaire..	35

<b>VII. Discussion.....</b>	<b>37</b>
A. Discussion méthodologique : forces et limites de l'étude .....	37
B. Discussion des résultats en regard des données de la littérature .....	39
1. Evaluation phénotypique de la population .....	39
2. Puberté.....	40
3. Fonction sertolienne .....	45
4. Autres conséquences endocriniennes : métaboliques, osseuses et sur la croissance .....	47
- Conséquences métaboliques.....	48
- Conséquences osseuses .....	49
- Conséquences sur la croissance.....	49
<b>VIII. CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....</b>	<b>51</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE .....</b>	<b>53</b>
<b>ANNEXES.....</b>	<b>62</b>

## INTRODUCTION

La greffe de cellules souches hématopoïétiques est devenue un recours à de nombreuses pathologies hématologiques, qu'elles soient malignes ou non, permettant d'améliorer leur pronostic. En 2015, 5099 greffes de cellules souches hématopoïétiques ont été réalisées en France, dont 248 allogreffes pédiatriques et 92 autogreffes pédiatriques [1].

Devant le développement de la greffe comme recours thérapeutique et l'amélioration du pronostic vital dans les hémopathies malignes, il convient d'étudier les effets secondaires à moyen et long terme de ce traitement, afin de pouvoir les prévenir ou de les prendre en charge. Les séquelles endocriniennes font partie des complications les plus fréquentes après traitement d'un cancer dans l'enfance, touchant 40 à 60% des survivants à l'âge adulte [2]. Parmi ces séquelles endocriniennes, l'atteinte gonadique est fréquemment rapportée, elle est la conséquence de certaines chimiothérapies « gonadotoxiques » ou la conséquence d'une radiothérapie dans le champ de laquelle se trouvent les gonades. Chez la femme, l'atteinte ovarienne associe fréquemment une altération de la sécrétion des stéroïdes sexuels et une altération du pool des follicules primordiaux. Par contre chez l'homme, l'atteinte testiculaire est souvent « dissociée » : une altération de la spermatogenèse est beaucoup plus souvent observée qu'un défaut de synthèse de la testostérone (66.4% vs 11.5%) [3].

Peu d'études récentes sont consacrées à la fonction leydigienne du testicule et au développement de la puberté chez les adolescents greffés.

Le but de notre travail était donc de mieux caractériser chez les patients garçons greffés de moelle osseuse, le retentissement des thérapeutiques sur la fonction leydigienne et de déterminer les facteurs thérapeutiques pouvant expliquer une éventuelle atteinte de celle-ci.

## I. La greffe de cellules souches hématopoïétiques chez l'enfant

### A. Généralités

Les premiers cas de greffes de cellules souches hématopoïétiques chez l'homme ont été rapportés en 1957 par Thomas et al [4], avec irradiation ou chimiothérapie, puis injection de moelle osseuse. Un seul des patients avait eu une réelle prise de greffe transitoire.

La première allogreffe pédiatrique a eu lieu en 1968 aux Etats-Unis sur un enfant atteint d'une immunodéficience liée à l'X [5] suivie d'une autre allogreffe sur un enfant présentant un syndrome de Wiskott-Aldrich. En 1988, en France a eu lieu la première greffe de cellules souches de cordon ombilical de donneur apparenté pour une anémie de Fanconi [6].

La greffe de cellules souches hématopoïétiques est devenue le traitement de référence de nombreuses hémopathies notamment malignes. La majorité des indications de greffe reste donc les pathologies malignes chez des patients ayant bénéficié d'une ou plusieurs lignes de chimiothérapies. La greffe de cellules souches hématopoïétiques est le traitement préférentiel des leucémies aiguës lymphoblastiques à très haut risque dès l'obtention de la première rémission complète (LAL VHR, very high risk) lorsqu'une possibilité de greffe géno-identique existe. Pour les LAL non VHR, la greffe est préconisée plutôt en cas de rechute et après l'obtention d'une seconde rémission. De la même façon pour les leucémies aiguës myéloblastiques, les enfants sont greffés en première intention s'il existe un donneur géno-identique ou en seconde intention en l'absence de donneur familial si rechute après le traitement de première ligne. La greffe est le seul traitement permettant d'espérer une guérison dans le cas des syndromes myélo-dysplasiques dont les leucémies myélomonocytaires juvéniles chroniques, ou les aplasies médullaires (type maladie de Fanconi).

A côté de ces hémopathies malignes, l'indication de greffe peut également être posée pour des déficits immunitaires primitifs (déficit immunitaire combiné sévère, syndrome de Wiskott-Aldrich), des formes graves d'hémoglobinopathies comme la drépanocytose, des maladies auto-immunes ou métaboliques (mucopolysaccharidose de type I ou II, ostéopétrose).

### B. Déroulement de la greffe

La procédure de greffe se déroule en plusieurs étapes, le conditionnement, l'administration du greffon avec la période d'aplasie et la reconstitution du système immunitaire. Le conditionnement est d'intensité variable en fonction de l'indication et du terrain, des protocoles et habitudes du service greffeur.

Le conditionnement dit myélo-ablatif permet par une chimiothérapie intensive et une radiothérapie d'éradiquer la maladie résiduelle avant la réalisation de la greffe et ainsi créer la place nécessaire à la prise de greffe. Les conditionnements moins agressifs sont de plus en plus utilisés pour atténuer les effets secondaires. Le conditionnement combine généralement une irradiation corporelle totale (ICT) fractionnée sur plusieurs jours et une chimiothérapie.

Les cellules souches peuvent provenir de trois sources différentes :

- Les cellules souches hématopoïétiques issues du sang de cordon (sang placentaire).
- Les cellules souches du patient ou d'un apparenté issu de la famille proche du receveur.
- Les cellules souches chez un non apparenté (banque de données internationale).

## C. Différents types de greffe

### 1. Greffe autologue

Les greffes autologues sont également appelées autogreffes, le patient recevant ses propres cellules souches hématopoïétiques, provenant du sang périphérique. Son indication principale reste les lymphomes ou les tumeurs solides, elle permet ainsi d'administrer de plus fortes doses de chimiothérapies au préalable.

Dans un premier temps, le patient va recevoir un traitement dit de conditionnement à l'aide d'une chimiothérapie et/ou d'une radiothérapie. Les cellules souches hématopoïétiques sont prélevées avant tout début de protocole par chimiothérapie, traitées pour détruire le maximum de cellules malignes résiduelles puis congelées et conditionnées pour permettre leur stockage. Dans un second temps la greffe permettra ainsi de récupérer et reconstruire son propre système immunitaire après un traitement intensif par chimiothérapie.

Le principal avantage est l'absence de GvH (réaction du greffon contre l'hôte) puisque le patient va recevoir ses propres cellules. Le principal inconvénient est le risque de récurrence, puisque les cellules sont prélevées au moment où la maladie est très faible mais peut tout de même contenir des cellules malignes résiduelles.

Type d'indication	Nombre d'enfants
Hémopathies malignes	7
Tumeurs solides	85
<b>Total</b>	<b>92</b>

Source : Base ProMISe (extraction du 1er juin 2016)

\* Parmi les patients dont les données sont saisies dans ProMISe

Figure 1. Répartition des 92 enfants autogreffés en 2015 selon le type d'indication en France [1].

## 2. Greffe allogénique

Dans une greffe allogénique ou allogreffe, le donneur et le receveur sont deux personnes différentes. L'indication de greffe est principalement portée pour des leucémies aigues myéloblastiques ou lymphoblastiques à haut risque ou résistantes aux thérapeutiques. Ainsi ces patients reçoivent une ou plusieurs lignes de chimiothérapies pour leur permettre d'être en rémission cytologique et être éligibles à l'allogreffe de moelle. Certaines hémopathies bénignes telles que la drépanocytose, les aplasies médullaires idiopathiques ou congénitales, certaines maladies auto-immunes ou métaboliques peuvent être une indication d'allogreffe.

De la même façon, le patient recevra une chimiothérapie et/ou une radiothérapie dans le but de réduire sa maladie au minimum et détruire sa moelle osseuse. Les cellules souches hématopoïétiques du donneur lui sont ensuite réinjectées pour qu'il puisse se reconstituer un système immunitaire et lutter contre la maladie.

Nous observons selon le rapport de l'agence de la biomédecine que les patients sont principalement greffés en période pré-pubertaire.

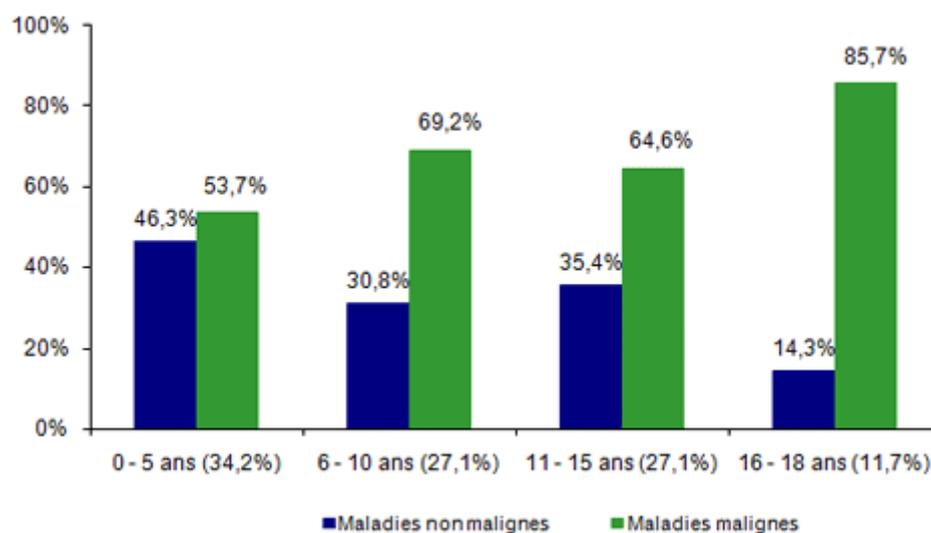


Figure 2. Répartition par tranches d'âge des patients allogreffés en 2015 en France. [1]

## D. Les complications principales

### 1. Maladie du greffon contre l'hôte (GvH)

La GvH (Graft Versus Host disease) est observée dans les greffes allogéniques, elle correspond à une réaction des lymphocytes T du greffon envers les antigènes tissulaires du receveur non présents chez le donneur [7]. On distingue :

- la GvH aigue survenant généralement dans les deux premières semaines et touchant plutôt la peau, le tube digestif ou le foie,
- la GvH chronique qui peut soit faire suite à une GvH aigue ou survenir de façon isolée dans un délai plus long. Elle peut être soit limitée au plan cutané à type de lichen plan primitif, ou à une atteinte hépatique. Il existe également des formes disséminées, similaires à la sclérodermie pour l'atteinte cutanée, pouvant être accompagnée d'une atteinte hépatique cholestatique, ou d'un syndrome sec.

L'utilisation de traitement immunosuppresseur en prophylaxie permet de réduire la fréquence des GvH, la ciclosporine est utilisée au CHRU de Lille.

Le traitement curatif correspond à une corticothérapie locale en cas de GvH cutanée localisée, générale si elle atteint d'autres organes (poumons, tube digestif..) à la dose de 1 à 2mg/kg, avec renforcement du traitement immunosuppresseur (Ciclosporine, Tacrolimus, Mycophenolate). D'autres traitements peuvent être envisagés en cas de GvH réfractaires à une corticothérapie, à savoir le sérum anti-lymphocytaire (SAL), les anticorps anti-récepteurs de l'interleukine 2 (Simulect®, Leukotac®), les anticorps monoclonaux anti-CD20 (Rituximab).

## 2. Maladie Veino-Occlusive du foie (MVO) ou Syndrome d'Obstruction Sinusoïdale (SOS)

La MVO représente une des complications majeures après greffe de moelle osseuse et correspond à une atteinte des cellules endothéliales sinusoidales et des hépatocytes de la zone centro-lobulaire, avec œdème sous-endothélial ou oblitération d'origine thrombotique. La conséquence est une nécrose des hépatocytes au niveau centro-lobulaire puis une hypertension portale et une défaillance hépatique. En parallèle, on retrouve une hypercoagulabilité par déficit en protéine C et antithrombine III associée à un état inflammatoire. Son incidence en pédiatrie est estimée entre 1 et 28% (Brugières et al. [8] - Ozkaynak et al [9]), la MVO pouvant se compliquer d'une défaillance multi-viscérale, le taux de mortalité variant de 2 à 50%.

Un traitement prophylactique par Acide Ursodesoxycholique est utilisé au CHRU de Lille pour tous les patients, avec ajout de Défibrotide ou de pharmacocinétique de Busulfan en cas de facteur de risque de MVO.

## 3. Séquelles endocriniennes

La société française de greffe de moelle et de thérapie cellulaire (SFGM-TC) a établi en 2014 des recommandations concernant la prise en charge des séquelles endocriniennes après greffes de cellules souches hématopoïétiques [10].

Les principales séquelles :

- Le retard de croissance avec ou sans déficit en hormone de croissance, avec risque de réduction de taille finale,
- L'hypopituitarisme,

- Les dysthyroïdies et cancers thyroïdiens favorisés par l'irradiation [11],
- Le retentissement métabolique,
- La surcharge martiale,
- La toxicité gonadique.

#### 4. Autres

Le risque d'infections est majoré par la période d'aplasie et les traitements immunosuppresseurs nécessaires à la prise de greffe. Chaque épisode infectieux entraîne un état inflammatoire altérant également l'état nutritionnel.

Le rejet ou non prise de greffe est la complication la plus redoutée. En cas de non prise de greffe, les cellules du donneur ne se multiplient pas pour permettre la reconstitution hématologique, en cas de rejet il s'agit d'une perte du greffon après une prise initiale. Les traitements immunosuppresseurs sont utilisés pour diminuer le risque en agissant sur les lymphocytes T du receveur. Les infections virales comme le cytomégalovirus, l'infection par HHV6 ou le parvovirus ont tendance à majorer le risque.

## II. Puberté et fonction testiculaire chez le garçon

La puberté correspond à une période transitionnelle riche en modifications physiques, psychiques et hormonales permettant à l'organisme de passer de l'enfance à l'âge adulte. Elle conduit à l'acquisition de la taille définitive et au développement de la fonction de reproduction. Elle débute en moyenne chez le garçon vers 12,5 années, oscillant entre 10 et 14 ans.

### A. Déclenchement de la puberté et régulation hormonale

La puberté se définit cliniquement par le développement des organes génitaux et des caractères sexuels secondaires, et sur le plan biologique par l'achèvement de la maturation de l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique. L'étude du Third National Health and Nutrition Examination Survey, NHANES III [12] étudiait les statuts nutritionnels et de santé des enfants et adultes américains entre 1988 et 1994 ; l'âge médian de développement des gonades chez le garçon avait été évalué à 10.1 ans et d'apparition des poils pubiens à 12ans. L'étude de Mul et al [13] notait quant à elle un développement testiculaire de plus de 4 mL à 11.5 ans aux Pays-Bas. La puberté prend environ 2 à 5 ans pour être achevée, avec un potentiel de croissance de 28cm chez les garçons.

Le retard pubertaire est défini comme l'absence de développement des caractères sexuels secondaires à l'âge de 14 ans et notamment un volume testiculaire inférieur à 4mL d'après l'orchidomètre de Prader.

La puberté résulte de la balance d'influences inhibitrices et activatrices, elles-mêmes soumises à un ensemble de pressions intrinsèques (ethniques, génétiques, métaboliques) et extrinsèques (environnementales et nutritionnelles).

A la puberté, nous observons une sécrétion pulsatile de GnRH qui vient stimuler l'hypophyse antérieure qui sécrète les gonadotrophines (LH – hormone lutéinisante et FSH – hormone stimulant la maturation des gamètes). Cette majoration de la sécrétion pulsatile de GnRH est secondaire à la levée de l'inhibition GABA-ergique associée à l'augmentation de l'activité des neurones glutamatergiques. Avec l'entrée en puberté, d'autres neurotransmetteurs tels que le neuropeptide Y participent à la régulation de la sécrétion de GnRH [14].

La puberté débute par une sécrétion nocturne prédominante de FSH, puis se complète par une ascension de celle de LH et une extension de la sécrétion des gonadotrophines à la période diurne.

La FSH stimule les cellules de Sertoli chez le garçon, la production de spermatogonies en induisant le développement des tubes séminifères. Les cellules de Sertoli sécrètent des hormones protéiques, l'inhibine B, l'activine A et l'hormone anti-müllérienne, qui sont dépendantes des gonadotrophines.

La LH régule quant à elle la production de testostérone par stimulation des cellules de Leydig. Cette production de testostérone induit le développement des caractères sexuels secondaires à la puberté. Elle sera par la suite nécessaire, la vie adulte durant, pour :

- la stimulation de la spermatogenèse,
- la trophicité et la performance musculaire,
- l'état osseux, métabolique et cardiovasculaire,
- la libido et le bon fonctionnement de la fonction d'érection.

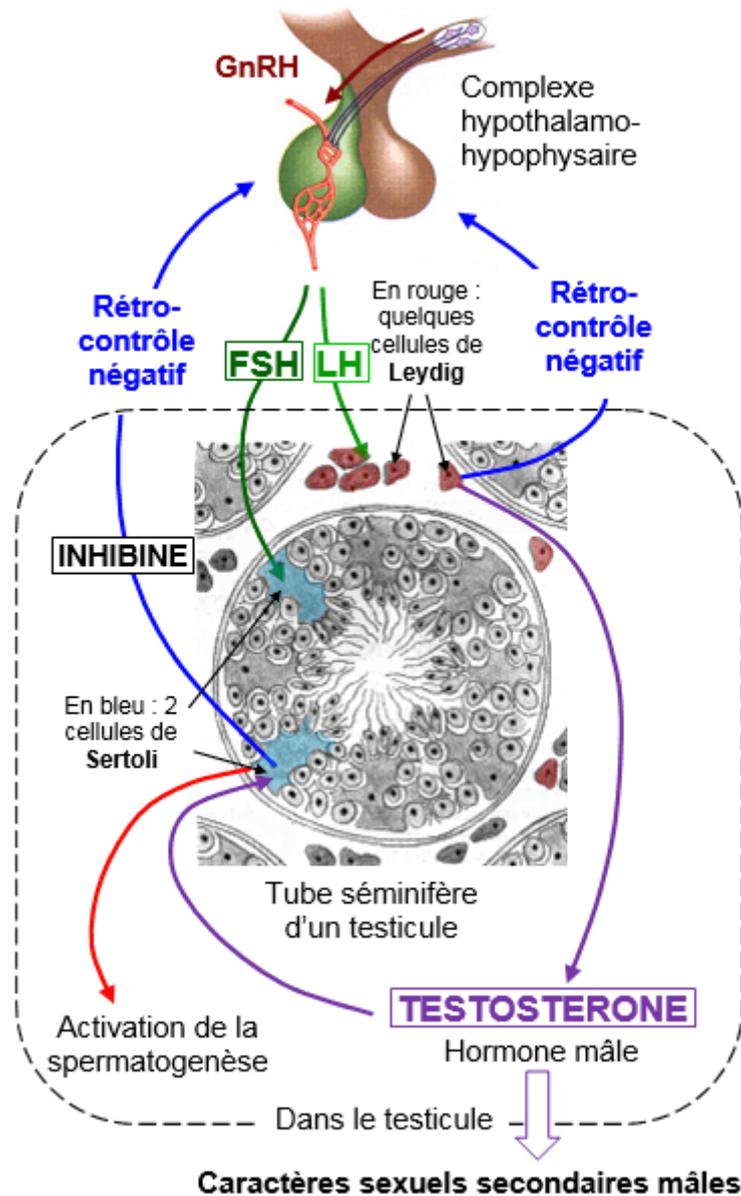


Figure 3. Interactions hormonales dans l'axe hypothalamus-hypophyse-testicules.

## B. Facteurs influençant la puberté

### 1. Facteurs intrinsèques

Les facteurs génétiques influencent fortement le potentiel de croissance, de même que les facteurs ethniques. Certains signaux métaboliques permettent de moduler le système hypothalamo-hypophysaire. En dessous d'un certain seuil d'indice de masse corporelle (IMC), la

fonction gonadotrope hypothalamo-hypophysaire est inhibée, par réponse à une perte de poids brutale ou au cours d'une pathologie somatique. Une relation entre le poids et l'âge de survenue de la puberté a été suggérée depuis longtemps [15, 16].

La leptine, protéine cytokine-like, stimule la sécrétion de gonadotrophines au niveau hypothalamo-hypophysaire. Elle est produite pas les cellules du tissu adipeux [17].

La ghréline, produite par les cellules de la muqueuse gastrique, inhibe l'axe gonadique par inhibition de la sécrétion pulsatile de GnRH et LH/FSH, et par stimulation de la prolactine. Au niveau gonadique, la ghréline inhibe la sécrétion LH-dépendante des stéroïdes, impliquée dans la survie des cellules de Leydig. Produite en situation de jeûne ou de carence énergétique, elle est un signal limitant la fonction de reproduction [18].

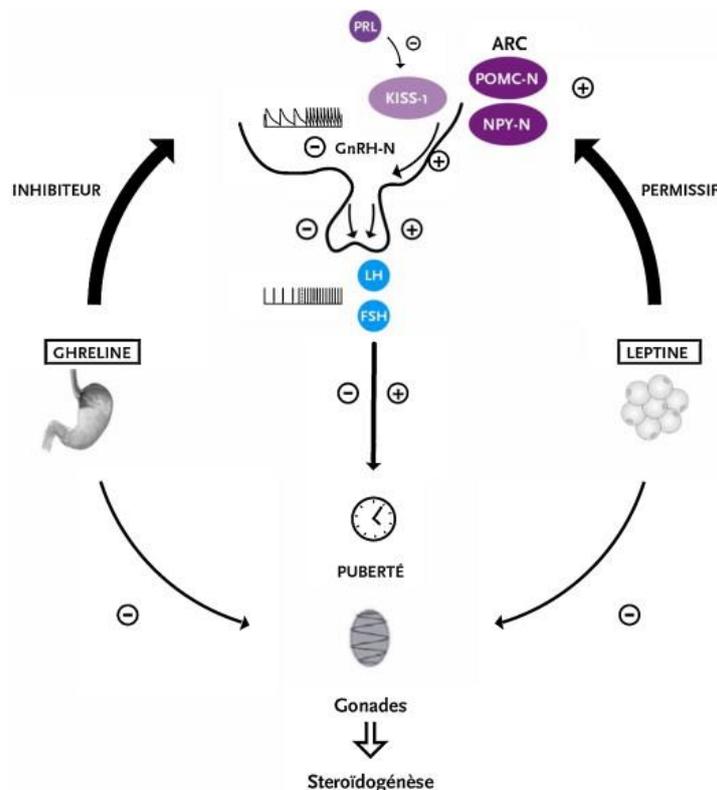


Figure 4. Actions contradictoires de la leptine et de la ghréline sur l'axe hypothalamo-hypophysogonadique ; balance entre signaux permissifs (+) et inhibiteurs (⊖) sur le démarrage pubertaire [19].

## 2. Facteurs extrinsèques

Des facteurs extrinsèques vont moduler le développement pubertaire, notamment les facteurs socio-économiques, environnementaux et thérapeutiques. L'impact des thérapeutiques utilisées dans la greffe de moelle osseuse sur le développement pubertaire et plus largement sur le fonctionnement testiculaire sécrétoire est le sujet de notre étude. Il est convenu dans les maladies chroniques que l'évolution pubertaire peut être retardée, lente avec notamment une diminution de l'amplitude du pic de croissance pubertaire [20, 21]. Il est important de surveiller l'ensemble des paramètres reflétant le développement pubertaire, et influençant le statut nutritionnel : la courbe de croissance, le dosage des gonadotrophines, la maturation osseuse évaluée par l'âge osseux au niveau du poignet.

L'impact de la corticothérapie sur le développement pubertaire est difficilement analysable indépendamment de la pathologie sous-jacente. Le cortisol en abondance se lie aux récepteurs des androgènes, favorisant ainsi les signes cliniques de pseudo-puberté (pilosité pubienne et axillaire, acné, séborrhée) et l'avance de maturation osseuse. Les garçons ont tendance à avoir une puberté débutant spontanément mais se réalisant de façon incomplète et retardée [20, 21]. De plus, les corticoïdes modifient le métabolisme osseux puisqu'ils inhibent les voies de signalisation régulant la prolifération des chondrocytes, favorisant leur maturation et leur apoptose. Ils altèrent de façon significative la synthèse d'IGF-1 et de son récepteur. L'impact de la corticothérapie sur la croissance semble débuter dès 0.3 mg/kg/jour [20,22, 23, 24].

### C. Croissance et puberté

L'accélération pubertaire de la croissance staturale se met en place sous l'effet des hormones sexuelles, mais aussi de l'hormone de croissance (GH) et de son effecteur l'insuline-like growth factor 1 (IGF1). La sécrétion de GH est elle-même dépendante de l'aromatisation de la testostérone.

Le nombre total moyen de centimètres pris entre le début de l'accélération staturale pubertaire et la taille adulte est de 28cm chez le garçon. Le pic de croissance staturale survient habituellement un à deux ans après le démarrage pubertaire. Le gain pubertaire correspond à 20% de la taille définitive.

### III. Contexte

Alors que chez la jeune fille l'atteinte gonadique après prise en charge d'un cancer dans l'enfance est très souvent « complète » (c'est-à-dire atteinte de la stéroïdogénèse ovarienne et de la fonction de reproduction), chez le jeune garçon l'atteinte est dissociée. En effet dans la littérature oncologique l'atteinte de la fonction de reproduction est fréquemment rapportée, l'atteinte de la fonction sécrétoire testiculaire beaucoup moins.

Parmi les traitements utilisés en oncologie et hématologie, les conditionnements myéloablatifs détériorent systématiquement la fonction testiculaire de reproduction et assez rarement la fonction leydigienne [25, 26, 27].

Les chimiothérapies altèrent de façon non spécifique les cellules en renouvellement rapide, et donc la spermatogénèse, probablement par destruction des spermatogonies (cellules souches germinales) et des spermatocytes (cellules en cours de différenciation entrées en méiose). L'effet gonadotoxique va dépendre de la nature du traitement, de sa dose cumulative, et de

l'âge auquel il est reçu. Les principaux agents gonadotoxiques sont les alkylants (cyclophosphamide, dérivés de platine), dont la cytotoxicité est dose-dépendante [25, 26].

Risque faible	Risque intermédiaire	Risque élevé
Vincristine	Cisplatine	Cyclophosphamide
Méthotrexate	Carboplatine	Ifosfamide
Dactinomycine	Doxorubicine	Chlorméthine
Bléomycine		Busulfan
Mercaptopurine		Melphalan
Vinblastine		Procarbazine
		Chlorambucil

Figure 5. Risques estimés de dysfonction sertolienne-en fonction de la gonadotoxicité des médicaments cytotoxiques [27].

L'utilisation des termes « gonadotoxique » ou « hypogonadisme » conduit à une confusion lors de la revue de littérature. Les études se penchent essentiellement sur la fonction de reproduction dans les études.

Les cellules de leydig semblent moins vulnérables de par leur faible pouvoir mitotique. Les patients atteints d'une anomalie leydigienne réalisent spontanément une puberté mais rapportent des signes cliniques d'hypogonadisme tels que la gynécomastie, une asthénie marquée ou un manque d'élan, des capacités musculaires altérées... L'atteinte des cellules de Leydig se traduit par l'élévation de la LH et la baisse de la testostérone. Dans la littérature l'élévation isolée de LH est rapportée dans 14 à 24 % des cas [26,28] mais n'est pas considérée comme pathologique puisque dite « compensée ».

Cependant la mise en évidence d'un défaut a minima de sécrétion de testostérone (tel que la LH élevée) et d'un retentissement métabolique, osseux, cardiovasculaire et sur la qualité de vie de celui-ci devrait conduire à initier « rapidement » une androgenosubstitution.

#### IV. Objectifs

L'objectif de notre étude était d'évaluer la fonction leydigienne et le développement pubertaire chez nos patients greffés de moelle osseuse. Si celui-ci est présent il conviendrait de déterminer les facteurs responsables de ce défaut sécrétoire testiculaire.

#### V. Matériels et méthodes

Nous avons réalisé une étude rétrospective, observationnelle et descriptive sur les enfants garçons greffés de moelle osseuse entre 1999 et 2013, au centre hospitalier et universitaire de Lille, vivants et ayant terminé leur puberté lors du recueil des données.

Les critères d'inclusion étaient :

- Enfants suivis en hématologie pédiatrique, au CHRU de Lille :
- Ayant bénéficié d'une greffe de cellules souches hématopoïétiques,
- Réalisée entre 1999 et 2013,
- Avant l'initiation de leur puberté,
- Bénéficiant d'une évaluation clinique semestrielle par un endocrino-pédiatre.

Les critères d'exclusion étaient :

- Une puberté débutée lors de la greffe,
- Le décès,
- Une puberté non terminée lors du recueil des données,
- L'absence de données biologiques hormonales.

Pour chaque patient, nous avons recueilli :

- L'âge au diagnostic,
- Les données auxologiques au diagnostic : poids, taille, BMI,
- La taille cible génétique selon la formule ( $[(\text{Taille papa en cm} + \text{Taille maman en cm}) / 2] + 6.5\text{cm}$ ),
- Les traitements pré-greffe reçus,
- L'âge au moment de la greffe,
- La possibilité d'une préservation testiculaire et la méthode,
- Les données auxologiques au moment de la greffe : poids, taille, BMI, stade de Tanner et volume testiculaire,
- Les données hormonales au moment de la greffe FSH, LH, Testostérone, inhibine B,
- Le conditionnement,
- L'évolution annuelle des données auxologiques et hormonales depuis la greffe, ainsi que la vitesse de croissance,
- Les complications post-greffe : GvH et administration de corticoïdes, dysthyroïdie, hémochromatose, diabète, déminéralisation osseuse,
- La concordance des âges osseux par rapport aux âges civils,
- La taille finale.

Pour faciliter la comparaison des données auxologiques indépendamment de l'âge, celles-ci sont interprétées en score de déviation standard pour l'âge. Les stades pubertaires ont été définis selon le stade de Tanner, les âges osseux évalués selon l'atlas de Greulich et Pyle.

Le déficit leydigien était considéré si la LH était supérieure aux normes de notre laboratoire de façon répétée définies selon l'étude de Konforte et al à 4.76UI/L entre 15 et 17 ans, et 7.1UI/L entre 17 et 19 ans [29]. Celui-ci était dit compensé en cas de testostéronémie normale selon les normes de Konforte et al. adaptées au stade de Tanner (Tanner I : <0.29ng/mL , Tanner II : 0.04-2.78ng/mL, Tanner III : 0.09-6.55ng/mL, Tanner IV : 0.20-7.54ng/mL, Tanner V : 0.17-9.02ng/mL) [29].

De la même façon, le déficit Sertolien était défini si la FSH était supérieure aux normes définies selon l'étude Konforte et al à 5.1UI/L entre 13 et 19 ans et/ou une inhibine B basse rapportée au stade de Tanner [29].

La description des variables quantitatives repose sur la moyenne ou médiane et sur un écart-type de la population.

## VI. Résultats

### A. Données épidémiologiques

Soixante-seize patients garçons ont été greffés entre octobre 1999 et novembre 2013 au CHRU de Lille (Hôpitaux Huriez et Jeanne de Flandre), seulement quinze patients étaient impubères au moment de la greffe, avaient acquis leur taille finale et achevé leur puberté lors du recueil des données.

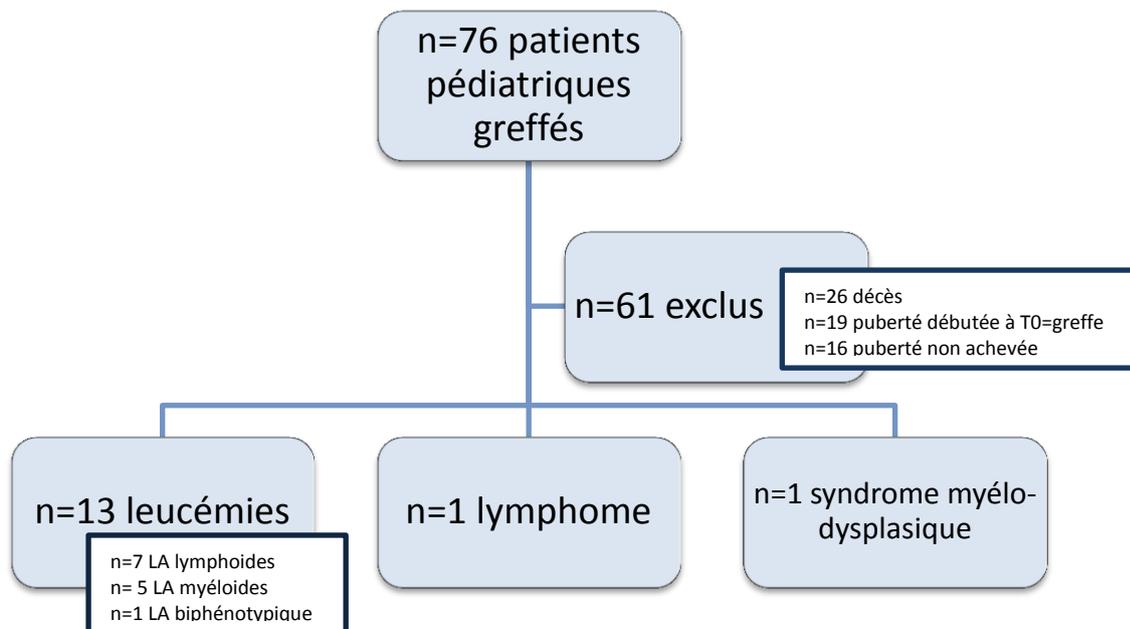


Figure 6.Flow-chart population initiale

L'âge moyen au diagnostic initial était de 9.3 ans +/- 1.5 ans. L'âge moyen au moment de la greffe était de 10.4 ans +/- 1.6ans.

Les indications de greffe étaient réparties entre :

- n=7 leucémies aiguës lymphoïdes,
- n=5 leucémies aiguës myéloïdes,
- n=1 leucémie biphénotypique,
- n=1 lymphome de burkitt,
- n=1 syndrome myélo-dysplasique.

Les types de greffe correspondaient à :

- n = 5 allogreffes apparentées,
- n = 9 allogreffes non apparentées,
- n = 1 autogreffe.

L'âge moyen de début de puberté, défini par des gonades de volume supérieur à 4ml était de 12.9 ans +/-1 (11 ; 15 ans). L'âge moyen de fin de puberté avec acquisition de la taille finale était de 16.3 ans +/- 0.7 (15.3 ; 18 ans), soit une durée moyenne de puberté de 3,36 années.

Deux de nos patients ont présenté une puberté d'une durée supérieure ou égale à cinq ans.

## B. Données auxologiques

Sur le plan statural, la médiane au moment du diagnostic était de +1 déviation standard(DS) avec un écart type de 1.4 DS.

Concernant la taille (médiane)

- Au diagnostic : +1DS +/- 1.4
- Au moment de la greffe : +0.6DS +/- 1.3
- Au déclenchement de la puberté : -0.3 DS +/- 0.9
- En fin de puberté : -1.7 +/- 1.2
- Alors que leur taille cible génétique était de +1.7 +/- 0.1

Leur gain statural médian lors de la puberté était de 14cm +/-6.4 (+4 ; +24cm). La perte staturale entre la greffe et la taille finale était de -1.4DS en moyenne (+/- 0.95 DS), et de -2.6DS entre le diagnostic et la taille finale (+/-1.3DS). La différence staturale moyenne entre la taille finale et la taille cible génétique était de -1.5DS.

Concernant le poids (médiane) :

- Au diagnostic : +0.85 DS +/-2
- Au moment de la greffe : +0.4 DS +/- 1.8
- Au déclenchement de la puberté : -+0.7 DS +/- 1.9
- En fin de puberté : -0.6 DS +/- 1.9

En ce qui concerne l'indice de masse corporelle (IMC) (médiane) :

- Au diagnostic : +0.4DS +/- 1.9
- Au moment de la greffe : +0.2 DS +/- 1.9
- Au moment du déclenchement pubertaire : +0.4 DS +/- 1.8
- En fin de puberté 0 DS +/- 1.6 DS

Tableau 1. Caractéristiques de la population

	<b>Diagnostic</b>	<b>Greffe</b>	<b>Début puberté</b>	<b>Fin puberté</b>	<b>TC génétique</b>
<b>Age moyen (années)</b>	9.5 +/-1.7 (7-12ans)	10.6 +/- 1.6 (8-13 ans)	12.9 +/-1 (11-15ans)	16.3 +/-0.7 (15.5-18)	
<b>Taille médiane (DS)</b>	1 +/-1.4 (-1.5 ; +3.2)	0.6 +/- 1.3 (-1.5 ; +2.5DS)	-0.3 +/- 0.9 (-1.8 ; +1.5)	-1.7 +/-1.2 (-4 ; +0.6)	+1.7 +/- 0.1 (+1.7 ; +1.9)
<b>Poids médian (DS)</b>	0.85 +/-2 (-1.5 ; +3.5)	0.4 +/-1.8 (-1.5 ; +4.5)	0.7 +/- 1.9 (-1.5 ; +5.5)	-0.6 +/- 1.9 (-1.8 ; +3.8)	
<b>IMC médian (DS)</b>	0.4 +/- 1.9 (-2.3 ; +5)	0.2 +/- 1.9 (-4 ; +3)	0.4 +/- 1.8 (-2 ; +4.3)	0 +/- 1.6DS (-1.8 ; +3.5)	

## C. Caractéristiques des thérapeutiques

### 1. Thérapeutiques pré-greffe

Les patients présentant une hémopathie maligne avaient tous reçus une ou plusieurs lignes de chimiothérapies, les protocoles étant codifiés en fonction du type de pathologie, du risque et du seuil de résistance au traitement initial. En cas de rechute, un autre protocole était débuté. Les décisions thérapeutiques étaient validées en réunion de concertation pluri-disciplinaire.

Tableau 2. Caractéristiques des traitements pré-greffe.

<b>CHIMIOThERAPIE</b>	<b>DOSE MEDIANE CUMULEE</b>	<b>PATIENTS</b>
<b>DOXORUBICINE</b>	120 mg/kg	4/15
<b>DAUNORUBICINE</b>	160 mg/kg	11/15
<b>DAUNO LIPOSOMALE</b>	180 mg/kg	3/15
<b>CYCLOPHOSPHAMIDE</b>	4 g/m <sup>2</sup>	8/15
<b>IFOSFAMIDE</b>	4 g/m <sup>2</sup>	2/15
<b>AMSACRINE</b>	300 mg/m <sup>2</sup>	4/15
<b>ARACYTINE</b>	21g/m <sup>2</sup>	12/15
<b>ASPARAGINASE</b>	160000UI/m <sup>2</sup>	11/15
<b>MITOXANTRONE</b>	16mg/m <sup>2</sup>	10/15
<b>ETOPOSIDE</b>	450mg/m <sup>2</sup>	11/15
<b>CLOFARABINE</b>	200mgm <sup>2</sup>	3/15
<b>FLUDARABINE</b>	300mg/m <sup>2</sup>	5/15
<b>VINDESINE</b>	6 mg/m <sup>2</sup>	5/15
<b>VINCRISTINE</b>	9 mg/m <sup>2</sup>	7/15

## 2. Conditionnements

Nos patients bénéficiaient de trois types de conditionnement possibles :

- BUSULFAN 12.8mg/kg associé au CYCLOPHOSPHAMIDE 200mg/kg, sans irradiation corporelle totale.
- CYCLOPHOSPHAMIDE 120 mg/kg répartis sur deux jours, associé à une irradiation corporelle totale de 12 Grays fractionnée sur trois jours.
- VP16 40mg/kg associé à une irradiation corporelle totale de 12 Grays fractionnée sur trois jours.

Un patient a bénéficié d'une seconde greffe avec un conditionnement par VP16 40mg/kg, CYCLOPHOSPHAMIDE 120mg/kg et BUSULFAN 12.8MG/kg, après avoir reçu lors de la première greffe un conditionnement CYCLOPHOSPHAMIDE 120mg/kg et irradiation corporelle totale de 12 grays.

Tableau 3. Conditionnements

<b>Conditionnement</b>		
• CY/BU	N=3	Cy=200mg/kg et BU=12.8mg/kg
• CY	N=9	Cy = 120 mg/kg
• VP16	N=4	40mg/kg
• ICT	N=12	ICT = 12 Gy

*CY=Cyclophosphamide BU=Busulfan VP16=Etoposide ICT=Irradiation Corporelle Totale*

## D. Complications endocriniennes

### 1. Fonction leydigienne

Le déficit leydigien considéré par un taux de LH élevé se retrouvait chez sept de nos quinze patients (46.7%).

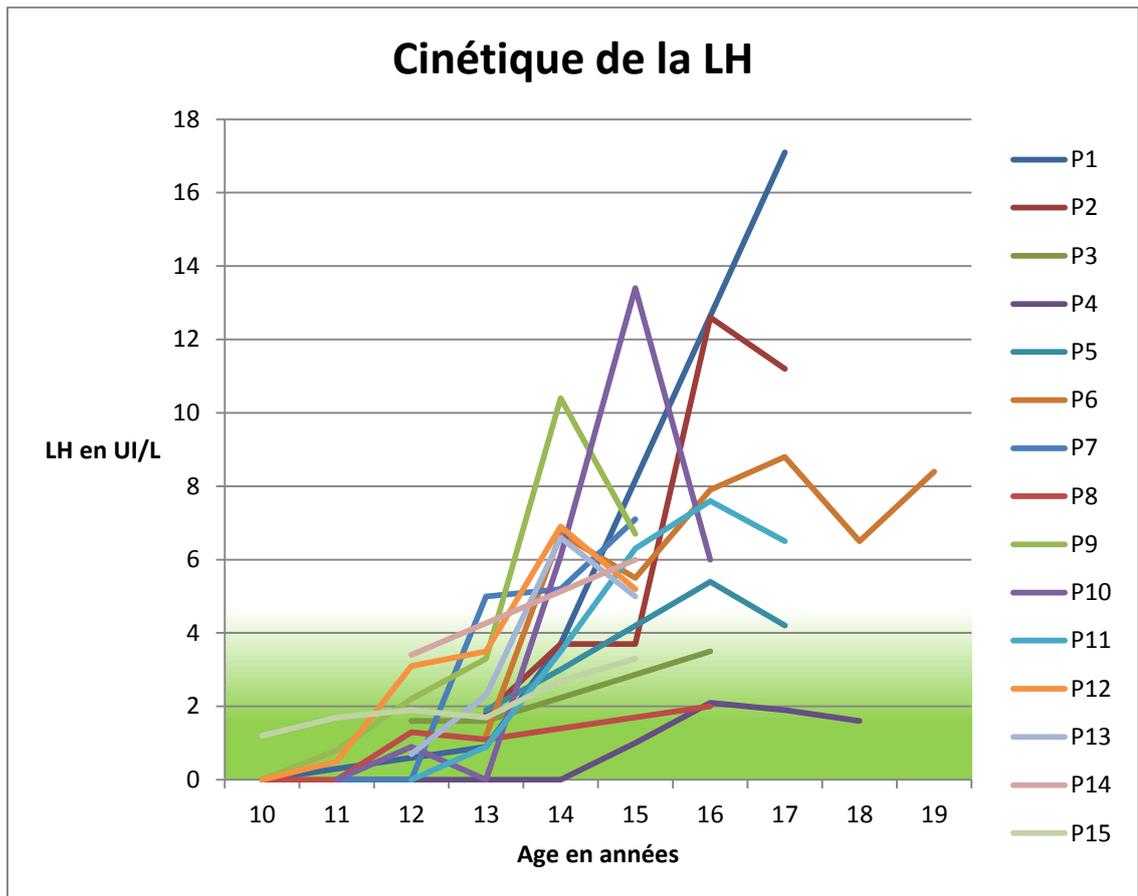


Figure 7. Cinétique de la LH de nos patients

Un seul de nos patients a bénéficié d'une supplémentation par testostérone intramusculaire devant l'absence de développement des caractères sexuels secondaires et une croissance staturale médiocre à l'âge de quatorze ans, secondairement associée à l'hormone de croissance à l'âge de quinze ans. Il avait présenté en post-greffe précoce une rechute méningée isolée traitée par une irradiation cérébro-spinale supplémentaire de 18 grays avec reprise des intrathécales triples de chimiothérapie, puis une rechute testiculaire nécessitant une nouvelle ligne

une nouvelle ligne de chimiothérapie (COOPRALL 2004) ainsi qu'une irradiation localisée de 6 grays. Il n'avait pas souhaité de préservation testiculaire avant l'initiation des traitements, et n'a pas encore souhaité de suivi andrologique.

Les taux de testostérone étaient normaux pour l'ensemble de nos patients (annexe n°1). Chez nos patients, le dosage médian de la testostéronémie au stade Tanner V était de 3.03 ng/mL (+/-1.8ng/mL en retirant le patient supplémenté en intramusculaire, pour une norme selon Konforte et al entre 0.17 et 9.02 UI/L [29]. Nous notions que les dosages de sex-binding protein (SBP) et testostérone biodisponibles n'étaient pas réalisés.

En utilisant les normes adultes, (testostéronémie totale de 2,40 à 8,70 ng/mL, définies selon l'étude d'Elmlinger et al), on ne retrouve que deux patients ayant à la fois une testostérone basse et une LH élevée [30].

Aucun de nos patients ne présentait de retard pubertaire au sens strict du terme, à savoir l'absence de caractères sexuels secondaires apparus après l'âge de quatorze ans. La durée de puberté était de plus de quatre ans pour cinq de nos patients (33%) dont deux avaient une puberté d'une durée supérieure ou égale à cinq ans.

## 2. Fonction sertolienne

Le déficit sertolien, défini par une FSH élevée de façon répétée, ainsi qu'une inhibine B basse était présent chez quatorze de nos quinze patients (93.3%).

Seul le patient greffé pour un syndrome myélo-dysplasique en était indemne, il n'avait pas reçu de chimiothérapie préalable au conditionnement de greffe qui comprenait CYCLOPHOSPHAMIDE associé au BUSULFAN sans irradiation corporelle totale.

Les dosages de gonadotrophines s'élevaient rapidement dès l'initiation pubertaire.

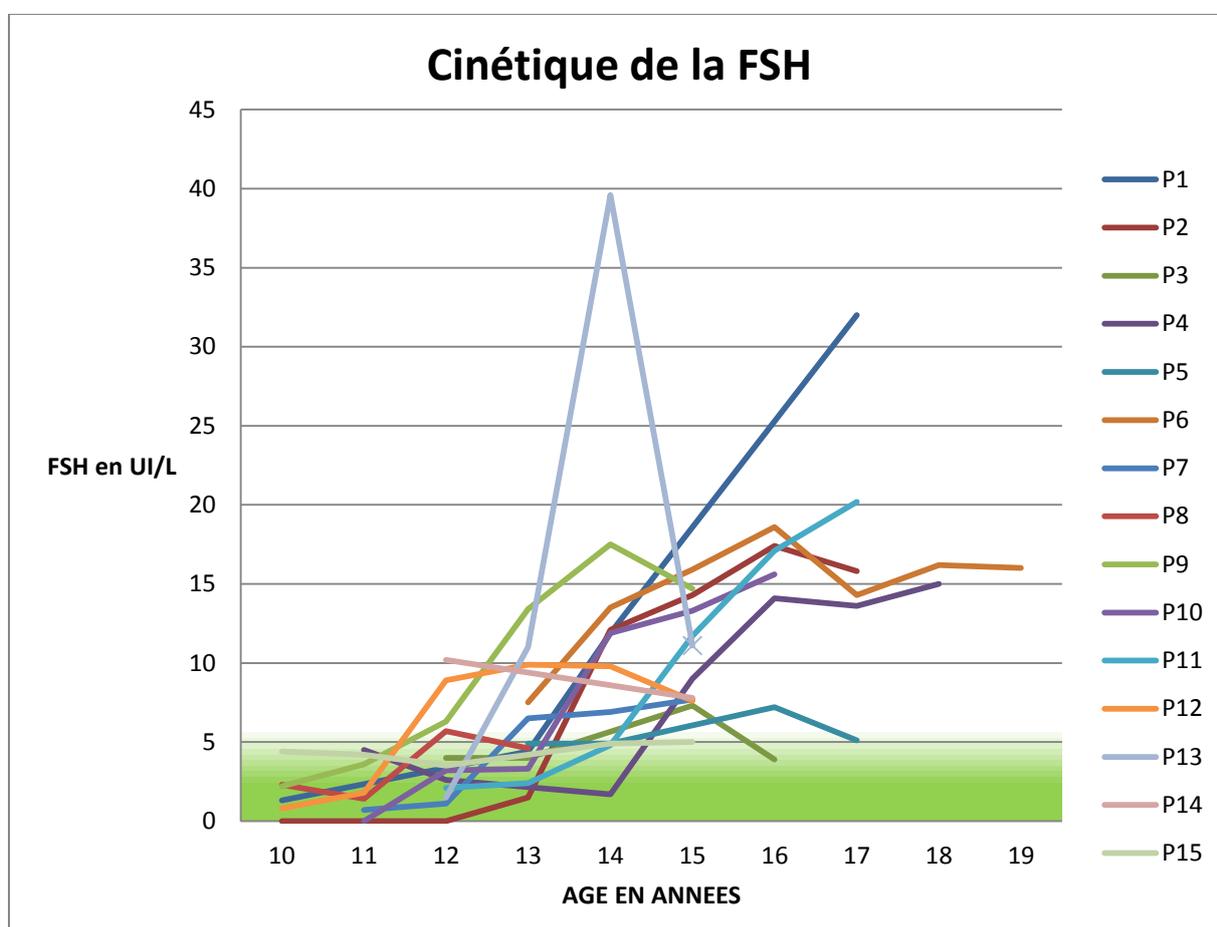


Figure8. Cinétique de la FSH de nos patients

La préservation testiculaire n'a été réalisée que chez trois de nos patients par méthode de cryopréservation testiculaire, dont un a dû bénéficier d'une orchidectomie unilatérale sur rechute testiculaire après la greffe. Huit patients sont actuellement suivis en andrologie, dont trois ont souhaité réaliser un spermogramme à l'âge adulte, retrouvant pour deux une azoospermie et pour un une cryptospermie. Les deux patients présentant actuellement une azoospermie avaient bénéficié d'un conditionnement par cyclophosphamide 120 mg/kg associé à une irradiation corporelle totale de 12 grays. Celui présentant une cryptospermie avait reçu l'association busulfan et cyclophosphamide sans irradiation corporelle totale.

### 3. Autres atteintes endocriniennes

Les dysthyroïdies se retrouvaient chez sept de nos quinze patients (46.7%) correspondant toutes à des hypothyroïdies. Ils avaient tous bénéficié d'une irradiation corporelle totale dans leur conditionnement.

Une hémochromatose secondaire nécessitant des saignées et un suivi systématique par imagerie par résonance magnétique du cœur et du foie pour évaluer la surcharge martiale a été retrouvée chez neuf de nos patients.

Tableau 4. Complications endocriniennes

<b>Déficit sertolien</b>	N=14/15
<b>Déficit leydigien</b>	N=7/15
<b>Dysthyroïdie</b>	N=7/15
<b>Hémochromatose</b>	N=9/15
<b>Corticoïdes pour GvH</b>	N=7/15

Seulement cinq de nos quinze patients (33%) ont bénéficié d'une densitométrie osseuse lors de leur suivi post-greffe, dont une objectivait un Z-Score inférieur à la normale (Z-score vertébrale = -1 ; Z-Score corps entier = -2.4), l'examen n'a pas été renouvelé lors du suivi ou à l'âge adulte.

D. Devenir sécrétoire des patients ayant bénéficié d'une cryopréservation de pulpe testiculaire

Trois patients sur quinze soit 20% de notre cohorte ont accepté la cryopréservation de pulpe testiculaire avant instauration des traitements. Leur âge moyen au diagnostic était de 7.6ans et à la greffe de 9.3 ans.

Les indications de greffe étaient pour deux une hémopathie maligne (avec donc chimiothérapies intensives en pré-greffe) et pour le dernier un syndrome myélo-dysplasique. Chacun d'eux a bénéficié d'un conditionnement différent, et deux ont eu une irradiation corporelle totale. Un patient avait dû subir également une orchidectomie unilatérale sur rechute testiculaire.

Le déclenchement de puberté s'effectuait à un âge médian de 12.5 ans +/- 1.2 ans.

La fin de puberté avec acquisition de la taille finale était quant à elle à 15.6 ans +/- 0.6ans.

Tableau 5. Caractéristiques des patients ayant bénéficié d'une cryopréservation testiculaire (médiane)

	<b>Diagnostic</b>	<b>Grefe</b>	<b>Puberté</b>	<b>Fin de puberté</b>
<b>Age</b>				
Patient 9	8 ans	8 ans	13.5 ans	15.3 ans
Patient 10	7 ans	11 ans	12.5 ans	16.5 ans
Patient 15	8 ans	9 ans	11 ans	15.6 ans
<b>Poids médian</b>	+1DS +/-2	+1DS+/-2.4	+0.5DS +/- 1.8	+0.6 DS +/- 2
<b>Taille médiane</b>	+1.5DS +/-1.9	+1 DS+/-1.9	0.5DS +/-1.5	-1 DS +/- 1.3
<b>IMC médian</b>	0DS +/- 0.8	+0.5DS +/- 1.4	-0.5 DS +/- 1.3	+0.5 DS +/- 1.9

Deux patients sur trois ont présenté un déficit leydigien compensé associé à un déficit sertolien. Le patient ayant subi une orchidectomie unilatérale présentait une gynécomastie associée au déficit leydigien, et d'autres complications à type de GvH, de surcharge martiale et d'hypothyroïdie.

Pour aucun d'eux n'a été réalisée une densitométrie osseuse lors du suivi post-grefe.

## VII. Discussion

### A. Discussion méthodologique : forces et limites de l'étude

Le CHRU de Lille a donc à ce jour permis la greffe chez 76 jeunes garçons souffrant d'hémopathies, ce qui est un nombre non négligeable compte tenu des difficultés de mise en œuvre de ce traitement. Après analyse minutieuse des 76 dossiers, seuls 15 dossiers ont été retenus et répondaient aux critères d'inclusion. L'effectif de cette cohorte est donc insuffisant pour nous permettre de réaliser des tests statistiques forts et nous ne pouvons donc à l'heure actuelle pas répondre à un des objectifs de l'étude qui était, de déterminer quels facteurs (thérapeutiques ou non) pouvaient être responsables d'une altération de la fonction testiculaire sécrétoire. Le rapport de l'agence de la biomédecine en 2012 [31] avait essayé d'évaluer les conséquences des traitements des cancers pédiatriques en particulier sur la fertilité et la fonction gonadique. Il était conclu que l'état des lieux de la toxicité des traitements restait difficile à réaliser devant la multiplicité des molécules, des posologies, et des associations thérapeutiques.

Par ailleurs le caractère rétrospectif de l'étude ne permet pas un recueil de données optimal puisque :

- certaines données cliniques et biologiques sont non renseignées,
- le suivi par un endocrinologue n'est que récent et donc l'évaluation clinique et biologique des anomalies endocriniennes manque dans certains dossiers.

Nous regrettons par exemple :

- de ne pas avoir réalisé de dosage de la SBP, d'AMH ou d'inhibine B,
- de ne pas avoir réalisé une évaluation de masse grasse en DXA,
- d'avoir insuffisamment programmé l'ostéodensitométrie...

A l'inverse le respect rigoureux des critères d'inclusion que nous nous étions fixés permet :

- d'éviter la confusion entre patients ayant déjà entamé leur puberté ou non (comme cela est trop souvent le cas dans la littérature)
- de réaliser une évaluation de l'évolution (la cinétique) de la fonction gonadique et non de réaliser une simple évaluation à un temps donné.

D'autre part la limitation de cette étude à la population ciblée des patients ayant bénéficié d'une greffe de cellules souches hématopoïétiques a permis :

- d'obtenir des données cliniques et biologiques concernant le développement pubertaire et la fonction gonadique puisque les hématologues pédiatres lillois les prenant en charge ont largement contribué à établir les recommandations de la SFGM-TC [10]
- d'obtenir des renseignements sur l'évolutivité de ces données gonadiques puisque le suivi est réalisé régulièrement et au long cours.
- d'obtenir l'ensemble du dossier médical du patient puisque chez cette population de patients hématologiques, l'ensemble du suivi est réalisé au CHRU de Lille (pas de données à récupérer dans les dossiers des hôpitaux périphériques) et toujours par les mêmes hématologues et endocrinologues pédiatres.

Pour finir, notre étude s'intéresse à une population pédiatrique péripubertaire ou de jeunes adultes à peine sortis de la puberté alors que les quelques études se penchant sur le retentissement leydigien de la prise en charge d'un cancer dans l'enfance recherchent celui-ci chez les patients devenus adultes. Or la mise en œuvre d'une androgéno-substitution si elle est nécessaire doit être la plus précoce possible pour être bénéfique.

## B. Discussion des résultats en regard des données de la littérature

Beaucoup d'études s'intéressent à l'effet gonadotoxique des différentes chimiothérapies et de la radiothérapie chez des patients aux maladies très variables : ayant présenté un cancer solide, une hémopathie (traitée ou non par greffe), une maladie systémique nécessitant une chimiothérapie. Peu d'études concernent spécifiquement les patients ayant été greffés de cellules souches hématopoïétiques. Ainsi notre discussion se fera en regard de la littérature oncologique au sens large et ne s'appuiera pas uniquement sur les études concernant les patients greffés.

### 1. Evaluation phénotypique de la population

Les tailles, poids et IMC des patients de notre cohorte, au moment de l'entrée dans le « parcours » de greffe, sont en moyenne dans les normes et témoignent donc d'un bon état général des patients. D'ailleurs tous les patients présentent un score d'état général normal à ce moment-là (annexe n°2). Cela suggère que la tolérance aux traitements reçus antérieurement pour leur pathologie a été bonne et nous permet à ce moment précis de l'étude de les comparer à la population générale (notamment pour ce qui est de l'âge d'entrée en puberté). Il était important de s'en assurer puisque comme discuté en introduction on sait que le démarrage pubertaire était étroitement lié à l'état général mais surtout nutritionnel du patient. [12, 14, 15, 16, 17, 18].

Les pathologies chroniques systémiques et la mal- ou dé-nutrition sont associées à un retard de développement pubertaire. Elles mettent ainsi en lumière l'effet concomitant de l'environnement, de l'équilibre métabolique nutritionnel et de la dépense énergétique nécessaires au bon développement pubertaire. La cinétique de l'évolution du poids et de l'IMC dans notre étude illustre la difficulté à maintenir un équilibre nutritionnel et de poids efficace

pour permettre le pic pubertaire, équilibre également modulé par l'effet GvH digestif pouvant provoquer mucites, diarrhées et troubles de l'absorption. Cependant, il n'y a pas de consensus concernant le support nutritionnel chez les patients devant recevoir une greffe de cellules souches hématopoïétiques. Une attention particulière est portée depuis quelques années au CHRU de Lille, en hématologie pédiatrique pour optimiser la prise en charge nutritionnelle en optant pour une prescription précoce de nutrition entérale ou parentérale (si mauvaise tolérance) en cas de difficultés alimentaires.

## 2. Puberté

L'âge moyen du début de la puberté dans notre cohorte était de 12.6ans ce qui correspond à un âge normal. Cela suggérait que l'état général des patients et les traitements reçus antérieurement (pour la greffe ou pour leurs hémopathies) n'avaient pas retentis sur le démarrage pubertaire.

Seulement 2/15 patients (13.3%) ont réalisé une puberté ayant duré 5ans ou plus (durée entre le stade de Tanner 2 et le stade de Tanner 5). Sinon la durée de puberté moyenne était tout à fait normale à 3.36ans.

L'étude d' Afify et al. [33] avait étudié chez quinze garçons le développement pubertaire et la croissance. Sept patients sur quinze étaient entrés spontanément en puberté, un avait présenté une puberté précoce et un avait eu besoin d'un traitement substitutif suite à une orchidectomie, un était déjà pubère. Pour six patients sur sept les données biologiques étaient disponibles, dont deux avaient des taux de LH élevés et six des taux de FSH élevés.

Dans notre étude, seul un patient a nécessité une androgénothérapie pour induction pubertaire (absence de développement pubertaire à 14ans) et l'atteinte leydigienne chez celui-ci n'était

pas surprenante compte tenu de la localisation testiculaire, de l'irradiation locale et cérébro-méningée ainsi que des protocoles de chimiothérapies itératifs.

L'étude de Frisk et al [34] décrivait le développement pubertaire de 17 enfants ayant subi une transplantation de moelle osseuse pour laquelle l'ICT était associée ou non à une irradiation neuro-méningée. La puberté démarrait spontanément pour tous, mais les cinq garçons ayant reçu une irradiation testiculaire supplémentaire développaient un hypogonadisme hypergonadotrope par la suite.

### 3. Fonction sécrétoire testiculaire ou « fonction leydigienne »

Dans la littérature, le déficit leydigien était moins fréquemment rapporté que le déficit sertolien. Les cellules de leydig étaient décrites comme moins vulnérables aux différentes thérapeutiques (chimiothérapies / radiothérapie). En cas de dysfonctionnement leydigien, celui-ci était plutôt rapporté comme « compensé » (testostéronémie normale). Dans notre cohorte, nous observons un taux de LH anormalement élevé de façon itérative chez 7/15 patients soit 46.6%. 2/15 patients soit 13% avaient une baisse de la testostéronémie. Couto-Silva et al. [35] trouvaient une atteinte leydigienne « compensée » chez 17% des patients greffés de cellules souches hématopoïétiques et « non compensée » (à testostérone abaissée) chez 7% des patients. L'étude de Bramswig et al [26], mettait en lumière que malgré un développement pubertaire et des taux de testostérone normaux, la LH était élevée en base chez 24% des patients, et chez 87,8% des patients lors des tests de stimulation, sur une population de patients traités pour une maladie de Hodgkin par chimiothérapie, parfois associée à une irradiation. Dans l'étude de Ridola et al [28], 14% des patients traités par Ifosfamide présentaient un déficit leydigien à l'âge adulte.

Notre prévalence de déficit leydigien « compensé » ou non était plus élevée que ce qui était rapporté en moyenne dans la littérature et cela pouvait être expliqué :

- Par le fait que la norme supérieure que nous utilisons pour la LH entre 17 et 19ans est plus basse que celle utilisée par les médecins adultes (retenant plutôt des taux de LH > 10,2UI/l pour parler de déficit) [30].
- Par le fait que nos patients soient suivis sur le plan endocrinien sur une plus longue durée que dans d'autres études.

En raison du faible effectif nous ne pouvons pas étudier les facteurs thérapeutiques conduisant à ce déficit leydigien. Bramswig et al. [26] observaient un effet dose-dépendant de la chimiothérapie sur le risque de survenue du déficit leydigien. Par contre, les cellules de leydig étaient décrites comme plus sensibles aux radiations qu'à la chimiothérapie. Une dose supérieure à 24 Grays, administrée de façon fractionnée, était associée à un risque de dysfonctionnement plus élevé [36, 37]. Dans notre cohorte 12/15 patients avaient reçu une irradiation toto corporelle lors du conditionnement de greffe, mais inférieure à 24Grays et 7 d'entre eux (58.3%) présentaient un déficit leydigien compensé ou non. Dans la mesure où ces patients avaient également tous reçu des chimiothérapies préalables il nous faudrait un effectif bien plus important pour pouvoir déterminer si cette irradiation toto-corporelle peut être un facteur de risque indépendant.

Notre étude retrouvait que 4/7 patients (57%) présentant un déficit leydigien avaient également présenté une réaction GvH nécessitant une corticothérapie au long cours. L'étude de Wagner et al [38] montrait que l'effet GvH contribuait à l'insuffisance gonadique par une réponse inflammatoire locale. En effet, la densité du volume testiculaire coïncidait par analyse microscopique quantitative à l'infiltration par les lymphocytes T du donneur, sur des souris n'ayant pas reçu de conditionnement.

Un déficit sécrétoire testiculaire ou « atteinte leydigienne » était classiquement défini par l'élévation de la LH en regard d'une baisse de la testostérone. Lorsque le taux de testostérone n'était pas abaissé en regard de cette élévation de LH, on parlait communément de déficit leydigien « compensé ». Dans cette dernière situation, trop souvent les études sous entendaient qu'il n'existait pas de retentissement clinique de cette élévation isolée de LH puisque le taux de testostérone était encore normal et la situation n'était donc pas considérée comme pathologique. Nous regrettons cependant dans ce cas que ne soient pas recherchés les signes subtils et indirects d'hypogonadisme tels que une durée de puberté un peu allongée, une gynécomastie (souvent banalisée), une dégradation de la masse et de la force musculaire et une prise de masse grasse (évaluées en impédancemétrie ou en DXA), une altération de la densité minérale osseuse, une asthénie ou une altération de la qualité de vie (évaluées par des questionnaires robustes)... Dans notre étude nous rapportons donc un nombre élevé de déficit leydigien compensé mais on ne recherche ces signes sus-cités d'hypoandrisme. Pourtant chez ces patients, la mise en évidence de ces anomalies justifierait probablement la mise en route d'un traitement par androgènes visant à :

- Améliorer la qualité de vie,
- A mieux affronter physiquement les thérapeutiques de l'hémopathie,
- A améliorer l'espérance de vie.

Par ailleurs nous nous posons la question d'une sous-estimation du déficit sécrétoire testiculaire dans notre population sur deux éléments :

- La mauvaise interprétation du taux de testostérone totale,
- La mauvaise interprétation du taux des gonadotrophines.

La testostérone dosée chez nos patients était la testostérone totale (testostérone liée aux protéines : SBP, albumine et testostérone libre). Les dosages de la sex binding protein (SBP) n'ont pas été réalisés. Nous ne pouvons donc pas calculer le rapport testostérone/SBP pour s'affranchir de variations de SBP. Or, nous savons que dans cette population particulière de patients ayant reçu des chimiothérapies et radiothérapies il peut exister une surcharge graisseuse viscérale [39, 40] alors même que le poids et le BMI peuvent être normaux et cela peut entraîner des variations de la SBP, et ainsi fausser le taux de testostérone totale. Nous estimons donc, peut-être, qu'un patient présente un taux normal de testostérone alors qu'en réalité sa testostérone libre (seule susceptible de pénétrer dans les cellules cibles) est basse. Guéchet et al. [41] soumettaient que le dosage de la testostérone biodisponible (somme de la fraction liée à l'albumine et de la fraction libre) serait un meilleur reflet de l'imprégnation androgénique de l'homme, associé à celui de la SHBG pour déterminer le rapport testostérone/SBP.

D'autre part nous pouvons nous poser la question pour les patients n'ayant pas un taux de LH élevé, si le dosage n'était pas faussement normalisé par un déficit gonadotrope partiel. En effet, après irradiation à hauteur de l'hypophyse la survenue d'un déficit gonadotrope complet s'observe pour des doses supérieures à 30-40 grays [42, 43]. Mais ne pouvons-nous pas envisager qu'une dose plus faible telle que celle administrée lors de l'irradiation toto-corporelle pourrait être pourvoyeuse d'une insuffisance gonadotrope partielle empêchant alors l'élévation de la LH même en situation de déficit sécrétoire testiculaire ? L'hypogonadisme hypogonadotrope peut aussi être la conséquence de processus de surcharge comme l'hémochromatose secondaire. La surcharge martiale était d'ailleurs présente chez neuf de nos quinze patients dont quatre soit 44% n'avaient pas de déficit leydigien. Le test à la GnRH lors du suivi permettrait ainsi d'évaluer la réserve hypophysaire en FSH et LH.

### 3. Fonction sertolienne

L'altération de la fonction de reproduction ou « fonction sertolienne » chez les patients traités pour une hémopathie maligne était bien connue et rapportée comme plus fréquente que l'altération de la fonction leydigienne. Les mécanismes d'altération de la fonction de reproduction sont multiples.

Dans notre centre, 14/15 patients greffés (93.3%) présentaient un « déficit sertolien » (que nous définissons ici par des taux de FSH élevés). Ceci est en accord avec les données de la littérature. Dans la littérature une altération de la fonction sertolienne était rapportée chez 40% à 90% environ des patients [26, 35, 44] ayant bénéficié d'une greffe de cellules souches hématopoïétiques à un jeune âge. Il ne semblait pas y avoir de relation entre l'âge au moment de la greffe et l'élévation des gonadotrophines [44, 45, 46].

L'atteinte de la fonction de reproduction était moins fréquente (bien qu'importante tout de même) lorsqu'il s'agissait de cancers ou hémopathies uniquement traités par chimiothérapies non associées à une irradiation : aux alentours de 40% [26, 47].

Les molécules à haut risque sur la fonction de reproduction étaient bien connues. Le cyclophosphamide fréquemment utilisé pour le conditionnement de greffe se trouvait dans les premiers rangs de ces molécules à haut risque [44]. Il existait pour cette molécule un effet dose-dépendant [46, 48, 49].

Borgmann-Staudt et al [50] montraient quant à eux que le conditionnement avec irradiation corporelle totale était le premier facteur de risque d'infertilité à l'âge adulte chez l'homme, de même que le traitement en période péri-pubertaire.

Aux doses habituelles utilisées pour le conditionnement dans le cadre de la greffe l'altération de la fonction de reproduction était moins importante dans le cas d'un conditionnement par

cyclophosphamide par rapport à l'association cyclophosphamide et busulfan, elle-même étant moins gonadotoxique que l'association cyclophosphamide et irradiation totocorporelle [46, 47]. Dans notre étude, seul le patient greffé pour un syndrome myélo-dysplasique (sans chimiothérapie préalable) était indemne de l'altération de la fonction de reproduction alors que pourtant le conditionnement pour sa greffe s'était fait par cyclophosphamide et busulfan. Nous pouvons envisager que son passé vierge de tout traitement par chimiothérapie expliquait cette constatation. Dans notre cohorte, trois patients ont souhaité réaliser un spermogramme à l'âge adulte, deux présentent actuellement une azoospermie, ils avaient bénéficié d'un conditionnement par cyclophosphamide et irradiation corporelle totale.

L'étude de Rovo et al [51] avait étudié les facteurs de risque liés à l'infertilité potentielle après la transplantation de cellules souches hématopoïétiques à long terme. Cette étude notait que la réaction chronique du greffon contre l'hôte était le principal facteur défavorable pour la récupération d'un spermogramme de qualité, même chez les patients n'ayant pas bénéficié d'une irradiation corporelle totale (RR de 3,11; IC à 95%: 1,02 à 9,47; P = 0,045). De même, la réaction chronique du greffon contre l'hôte était retrouvée comme facteur associé à l'azoospermie dans l'étude de Grigg et al [46].

Nous regrettons dans notre évaluation de ne pas pouvoir nous appuyer sur des taux d'inhibine B, d'AMH ou même des résultats de spermogramme puisque ces taux de FSH élevés à eux seuls ne prédisent bien sûr pas à 100% le résultat du spermogramme et donc ne sont pas synonymes forcément d'infertilité. Par ailleurs notre petit nombre de patients ne nous permet pas de valider les données de la littérature sus-citées.

Seuls trois patients ont bénéficié d'une cryopréservation de pulpe testiculaire dans notre étude, mais aucun n'a pour le moment souhaité utiliser ce prélèvement, et aucun n'a réalisé de

spermogramme en fin de puberté. Deux patients sur les trois (66%) présentaient un déficit leydigien au cours de leur suivi, et tous un déficit sertolien. La préservation par prélèvement de pulpe testiculaire est actuellement proposée chez les enfants pré-pubères soumis aux traitements gonadotoxiques. L'utilisation ultérieure fait l'objet de nombreuses recherches chez l'animal pour rétablir la fertilité mais la réimplantation n'a pas encore été testée chez l'homme. Il convient de se poser la question du suivi et des conséquences de ce prélèvement sur le développement pubertaire de l'adolescent [52]. Nous ne disposons pas d'un recul suffisant pour retrouver dans la littérature un impact ou non du prélèvement de pulpe testiculaire sur la croissance. Le protocole PROSPERMA (PHRC 2008, 19 centres en France [53]) cherche à étudier la possibilité de retrouver des spermatogonies dans le tissu testiculaire après décongélation, prélevé chez des garçons de moins de 17 ans, ayant reçu un traitement considéré comme gonadotoxique et devant bénéficier d'une greffe de cellules souches hématopoïétiques.

#### 4. Autres conséquences endocriniennes : métaboliques, osseuses et sur la croissance

Chez les patients ayant été traités pour un cancer ou une hémopathie dans l'enfance nous observons une fréquence accrue de troubles métaboliques, d'ostéopénie/ostéoporose et une taille définitive éloignée de la taille cible. La maladie elle-même, les thérapeutiques mises en œuvre, le déficit en GH pouvant expliquer cela. Mais le déficit en androgènes même modéré peut également contribuer à l'installation de ces comorbidités. Ces comorbidités peuvent donc être si elles sont présentes des signes indirects d'hypogonadisme chez nos patients. Par ailleurs la mise en évidence de celles-ci permettrait de les prendre en charge par des traitements spécifiques et / ou par une androgénothérapie. C'est la raison pour laquelle nous sou-

haitions rechercher ces anomalies chez nos patients. Par ailleurs l'ostéodensitométrie n'est proposée que depuis récemment.

- Conséquences métaboliques

Le BMI dans cette population de patients comme nous l'avons vu ci-dessus est un très mauvais marqueur de la surcharge graisseuse. Il était d'ailleurs normal chez tous nos patients lors de l'entrée en greffe, et tout le long du suivi. Malheureusement le caractère rétrospectif de notre étude conduit à un nombre trop limité de renseignements à ce propos. En effet nous n'avons pas de dosage d'HbA1c, de bilan lipidique, d'évaluation de masse grasse en impédancemétrie en DXA.

Les conséquences métaboliques d'un cancer traité dans l'enfance ont été étudiées par de Hass dans une revue de la littérature [54], leur impact était important puisqu'il majore le risque cardio-vasculaire à l'âge adulte. En effet, 39% des survivants présentaient un syndrome métabolique, ces patients ayant reçu une combinaison de chimiothérapie et d'irradiation crânienne ou corporelle totale, et jusqu'à 8% des patients ayant reçu une chimiothérapie seule. Le déficit en hormone de croissance était le facteur de risque le plus associé au syndrome métabolique. Gurney et al [55] l'avaient également étudié chez les patients adultes traités dans l'enfance pour une leucémie aigue lymphoblastique, avec ou sans irradiation crânienne. Soixante pour cent des patients traités par irradiation crânienne comparativement à 20% de ceux n'en ayant pas reçu présentaient au moins 2/5 composants du syndrome métabolique (taux d'insuline élevé, hypercholestérolémie, hypertension artérielle, obésité, hyperglycémie). L'insuffisance en hormone de croissance était présente chez 64% des patients et 85% de ceux ayant bénéficié d'une irradiation crânienne, entraînant une baisse de l'IGF-1, une insuliniémie à jeun plus élevée, une adiposité abdominale plus importante et une dyslipidémie.

- Conséquences osseuses

Seuls cinq de nos patients ont bénéficié d'une ostéodensitométrie dans le suivi. Les résultats n'étaient pas pathologiques mais peut être que cette évaluation était « trop précoce » par rapport à l'âge de prise en charge et nous suggérons qu'un suivi osseux nécessite d'être mené au long cours à l'âge adulte. La littérature rapportait que les adultes survivants d'un cancer à l'âge pédiatrique présentaient un risque majoré d'ostéopénie et d'ostéoporose [56, 57]. En effet, cela semble être dû à l'effet combiné de la maladie primaire, de l'exposition aux glucocorticoïdes, de la toxicité de certaines chimiothérapies comme le methotrexate [55, 58] et des déficits en hormone de croissance et hormones sexuelles [56].

Nous savons que le capital osseux se constitue dès le plus jeune âge, que la formation osseuse périostée se déroule à la puberté et que le pic de minéralisation osseuse est justement atteint à cette période délicate. L'intérêt d'une androgénothérapie précoce se pose donc dans ce contexte.

- Conséquences sur la croissance

Dans notre cohorte nous observons un ralentissement franc de la croissance lors de la puberté avec un gain moyen de 14 cm, et une perte de -1.4DS entre le déclenchement de la puberté et la taille finale alors que c'est normalement la période lors de laquelle doit au contraire se produire le pic de croissance. Cela est concordant avec les études à ce sujet. Parmi elles, l'étude de Frisk et al [34] décrivait la croissance pubertaire de 17 enfants ayant subi une transplantation de moelle osseuse selon deux groupes de conditionnement, l'un : « ICT » seule, le second : « ICT et irradiation neuro-méningée ». La taille était diminuée de façon significative avec un changement de couloir entre la taille lors de la dernière visite en pré-pubertaire et la taille finale (-1.1DS (-2.2 : -0.2) dans le groupe « ICT » ; et -1.7 DS (-2.7 : -0.3) dans le groupe « ICT + irradiation crânienne »). Cela suscite deux questions : cette ano-

malie de pic de croissance pubertaire doit-elle être considérée comme un signe indirect de carence en androgènes ? Le cas échéant, l'androgénosubstitution aurait-elle un intérêt pour prévenir cette complication?

## VIII. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Alors que l'altération de la fonction de reproduction est bien connue chez les patients ayant bénéficié de la prise en charge d'un cancer dans l'enfance, le retentissement sur la fonction sécrétoire testiculaire est moins étudié et moins fréquemment observé.

Notre étude qui se penche sur cette atteinte sécrétoire dans la période pré pubertaire trouve un déroulement pubertaire normal mais un hypogonadisme « compensé » ou « non compensé » chez quasiment la moitié des patients ayant été greffé de cellules souches hématopoïétiques. Ce chiffre, bien supérieur à ce qui est rapporté dans la littérature, est en accord avec notre impression clinique. Nous proposons une recherche minutieuse de signes cliniques et paracliniques, directs et indirects de l'atteinte leydigienne afin de ne plus en sous-estimer la fréquence.

La mise en évidence des données manquantes telles que le dosage de la SBP, l'évaluation de la répartition masse grasse / masse maigre, l'ostéodensitométrie... va nous conduire à améliorer encore la prise en charge et le suivi endocrinologique ultérieur des patients ayant un antécédent de greffe de cellules souches hématopoïétiques adressés à la consultation d'endocrinologie pédiatrique. Compte tenu du retentissement osseux, métabolique, cardiovasculaire ... au long cours du déficit en testostérone, il est important de le diagnostiquer afin d'instaurer dans les meilleurs délais une supplémentation qui préviendrait l'apparition de ces complications. Nous proposons donc à l'issu de ce travail d'enrichir le « protocole de suivi » endocrinologique proposé actuellement au long cours à ces patients au CHRU de Lille (cf. fiche de suivi, Annexe n°3).

Par ailleurs l'objectif secondaire était d'évaluer les facteurs thérapeutiques ou non pouvant expliquer le déficit testiculaire sécrétoire chez les patients greffés de cellules souches hémato-

poïétiques. Une plus grande cohorte est nécessaire pour cela. Ce travail préliminaire est donc une introduction à une étude multicentrique de plus grande ampleur qui visera à déterminer les facteurs de risque de cette atteinte leydigienne (travail en collaboration avec les services d'endocrinologie pédiatrique et d'hématologie pédiatrique de l'hôpital Robert Debré à Paris).

## **BIBLIOGRAPHIE**

1. Agence de la biomédecine. Le rapport médical et scientifique du prélèvement et de la greffe en France .2015.
2. Thomas-Teinturier C, Salenave S. Endocrine sequelae after treatment of pediatric cancer: from childhood to adulthood. *Bull Cancer* 2015;102:612—21.
3. Hudson MM, Ness KK, Gurney JG, Mulrooney DA, Chemaitilly W, Krull KR, et al. Clinical ascertainment of health outcomes among adults treated for childhood cancer. *JAMA* 2013;309:2371-81.
4. Thomas, E.D., Lochte, H.L. Jr., Lu, W.C. et al, Intravenous infusion of bone marrow in patients receiving radiation and chemotherapy. *N Engl J Med.* 1957;257:491–496.
5. Meuwissen HJ, Bortin MM, Bach FH, Porter IH, Schreinmachers D, Harrison BA, Taft E. Long-term survival after bone marrow transplantation: a 15-year follow-up report of a patient with Wiskott-Aldrich syndrome. *J Pediatr.* 1984 Sep;105(3):365–369.
6. Gluckman E, Broxmeyer HA, Auerbach AD, Friedman HS, Douglas GW, Devergie A, et al. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling. *N Engl J Med* 1989; 321: 1174-8.
7. Glucksberg H, Storb R, Fefer A, Buckner CD, Neiman PE, Clift RA, et al. Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HL-A-matched sibling donors. *Transplantation.* 1974 Oct;18(4):295–304.
8. Brugieres L, Hartmann O, Benhamou E et al. Veno-occlusive disease of the liver following high-dose chemotherapy and autologous bone marrow transplantation in chil-

- dren with solid tumors: incidence, clinical course and outcome. *Bone Marrow Transplant* 1988; 3: 53–58.
9. Ozkaynak MF, Weinberg K, Kohn D et al. Hepatic venoocclusive disease post-bone marrow transplantation in children conditioned with busulfan and cyclophosphamide: incidence, risk factors, and clinical outcome. *Bone Marrow Transplant* 1991;7:467–474.
  10. de Berranger E, Michel G, Fahd M, Gandemer V, Jubert C, Marie-Cardine A, Pochon C, Rohrlich PS, Sirvent A, Cartigny M, Deschildre A, Yakoub-Agha I; SFGM-TC. Managing late-effects after allogeneic stem cell transplantation in children: recommendations from the SFGM-TC]. *Pathol Biol (Paris)*. 2014 Aug;62(4):212-7.
  11. Vivanco M, Dalle JH, Alberti C, Lescoeur B, Yakouben K, Carel JC, Baruchel A, Léger J. Malignant and benign thyroid nodules after total body irradiation preceding hematopoietic cell transplantation during childhood. *Eur J Endocrinol*. 2012 Aug;167(2):225-33.
  12. NHANES III. Reference manuals and reports. Analytic and reporting guidelines : the third National Health and Nutrition Examination Survey (1988-1994). Hyattsville, National Center for Health Statistics, Centers for disease Control and Prevention, 1997.
  13. Mul D, Fredriks AM, van Buuren S, Oostdijk W, Verloove-Vanhorick SP, Wit JM. Pubertal development in The Netherlands 1965-1997. *Pediatr Res*. 2001Oct;50(4):479-86.

14. Grumbach M.M., Styne D.M. Puberty: ontogeny, neuroendocrinology, physiology and disorders. In: J.D Wilson, D.W Foster, H.M Kronenberg, P.R Larsen (Ed.) Williams textbook of endocrinology Philadelphia WB Saunders Co: 1998; 1509-1625.
15. Frisch RE, McArthur J. Menstrual cycles : fastness as a determinant of minimum weight of height necessary for the maintenance or onset. Science 1994 ; 185 : 949-51.
16. Sisk CL, Bronson FH. Effects of food restriction and restoration on gonadotropin and growth hormone secretion in immature male rats. Biology of reproduction 1986 ; 35 : 554-61.
17. Plant T.M., Durrant A.R. Circulating leptin does not appear to provide a signal for triggering the initiation of puberty in the male rhesus monkey. Endocrinology 1997 ; 138 : 4505-4508.
18. Soriano-Guillen L., Barrios V., Chowen J.A., et al. Ghrelin levels from fetal life through early adulthood: relationship with endocrine and metabolic and anthropometric measures J Pediatr 2004 ; 144 : 30-35.
19. Thébaud et al. Puberté, fertilité et maladies chroniques. Archives de Pédiatrie, Volume 20, Issue 6, June 2013.
20. Polito C, Strano CG, Olivieri AN, et al:Growth retardation in non-steroid treated juvenile rheumatoid arthritis. Scand J Rheumatol 1997; 26: 99–103.

21. Morison S, Dodge JA, Cole TJ, et al; UK Cystic Fibrosis Survey Management Committee: Height and weight in cystic fibrosis: a cross sectional study. *Arch Dis Child* 1997; 77: 497–500.
22. Simon D, Lucidarme N, Prieur AM, et al: Effects on growth and body composition of growth hormone treatment in children with juvenile idiopathic arthritis requiring steroid therapy. *J Rheumatol* 2003; 30: 2492–2499.
23. Allen DB, Julius JR, Breen TJ, Attie KM: Treatment of glucocorticoid-induced growth suppression with growth hormone. National Cooperative Growth Study. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 2824–2829.
24. Blodgett, FM, Burgin L, Iezzoni D, Gribetz D, Talbot NB. Effects of prolonged cortisone therapy on the statural growth, skeletal maturation and metabolic status of children. *N Engl J Med*. 1956 Apr 5;254(14):636–641.
25. Muller J. Impact of cancer therapy on the reproductive axis *Horm Res* 2003; 59 (Suppl. 1) : 12-20.
26. Bramswig J.H., Heimes U., Heiermann E., et al. The effects of different cumulative doses of chemotherapy on testicular function. Results in 75 patients treated for Hodgkin's disease during childhood or adolescence *Cancer* 1990 ; 65 : 1298-1302.
27. W.H.B. Wallace, R.A. Anderson, D.S. Irvine. Fertility preservation for young patients with cancer: who is at risk and what can be offered? *Lancet Oncol*, 6 (4) (2005), pp. 209-218.

28. Ridola V, Fawaz O, Aubier F, Bergeron C, de Vathaire F, Pichon F, Orbach D, Gentet JC, Schmitt C, Dufour C, Oberlin O. Testicular function of survivors of childhood cancer: a comparative study between ifosfamide- and cyclophosphamide-based regimens. *Eur J Cancer*. 2009 Mar;45(5):814-8.
29. Konforte D, Shea JL, Kyriakopoulou L, Colantonio D, Cohen AH, Shaw J, Bailey D, Chan MK, Armbruster D, Adeli K. Complex biological pattern of fertility hormones in children and adolescents: a study of healthy children from the CALIPER cohort and establishment of pediatric reference intervals. *Clin Chem*. 2013 Aug;59(8):1215-27.
30. Elmlinger MW, Kühnel W, Wormstall H, Döllner PC. Reference intervals for testosterone, androstenedione and SHBG levels in healthy females and males from birth until old age. *Clin Lab*. 2005;51(11-12):625-32. PubMed PMID: 16329620.
31. Romerius, Olof Ståhl, Christian Moëll, Thomas Relander, Eva Cavallin-Ståhl, Thomas Wiebe, Yvonne Lundberg Giwercman, Aleksander Giwercman; Hypogonadism Risk in Men Treated for Childhood Cancer, *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, Volume 94, Issue 11, 1 November 2009, Pages 4180–4186.
32. Agence de la biomédecine. Conséquences des traitements des cancers et préservation de la fertilité : ÉTAT DES CONNAISSANCES ET PROPOSITIONS. 2012.
33. Afify Z, Shaw PJ, Clavano-Harding A, Cowell CT. Growth and endocrine function in children with acute myeloid leukaemia after bone marrow transplantation using busulfan/cyclophosphamide. *Bone Marrow Transplant*. 2000 May;25(10):1087-92.

34. Frisk P, Arvidson J, Gustafsson J, Lönnerholm G. Pubertal development and final height after autologous bone marrow transplantation for acute lymphoblastic leukemia. *Bone Marrow Transplant*. 2004 Jan;33(2):205-10. PubMed PMID: 14628079.
35. Couto-Silva AC, Trivin C, Thibaud E, Esperou H, Michon J, Brauner R. Factors affecting gonadal function after bone marrow transplantation during childhood. *Bone Marrow Transplant* 2001 ; 28 : 67-75.
36. Izard MA. Leydig cell function and radiation: a review of the literature. *Radiother Oncol*. 1995 Jan;34(1):1-8
37. Leiper AD, Grant DB & Chessels JM 1986. Gonadal function after testicular radiation for acute lymphoblastic leukemia. *Archives of Disease in Childhood* 61 53-56.
38. Wagner AM, Beier K, Christen E, Holländer GA, Krenger W. Leydig cell injury as a consequence of an acute graft-versus-host reaction. *Blood*. 2005 Apr 1;105(7):2988-90. Epub 2004 Dec 2.
39. Wei C, Thyagarajan MS, Hunt LP, Shield JPH, Stevens MCG, Crowne EC. Reduced insulin sensitivity in childhood survivors of haematopoietic stem cell transplantation is associated with lipodystrophic and sarcopenic phenotypes. *Pediatr Blood Cancer*. 19 mai 2015;
40. Karlage RE, Wilson CL, Zhang N, Kaste S, Green DM, Armstrong GT, et al. Validity of anthropometric measurements for characterizing obesity among adult survivors of

childhood cancer: A report from the St. Jude Lifetime Cohort Study. *Cancer*. 15 juin 2015;121(12):2036-43.

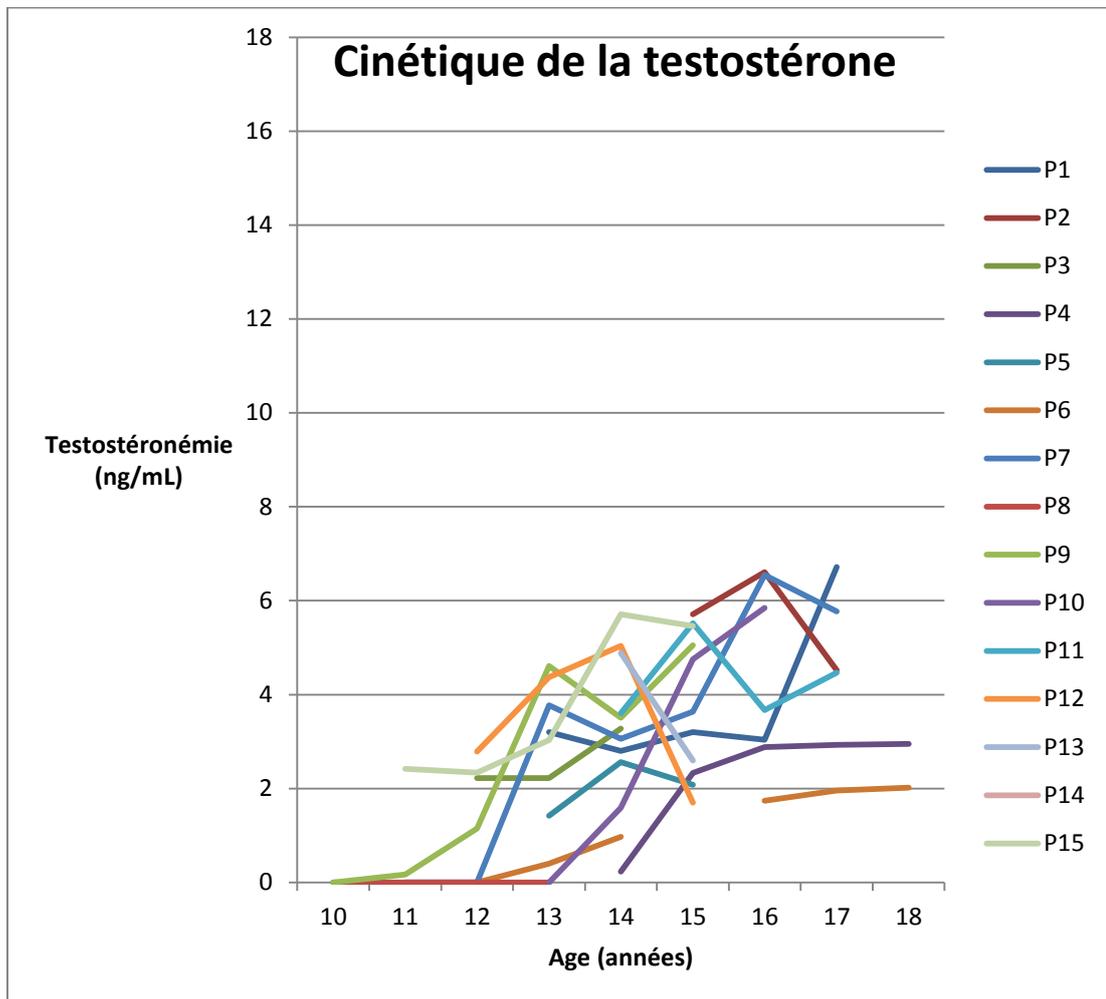
41. Guéchet, Jean Fiet, Dosage de la testostérone plasmatique : difficultés méthodologiques et intérêt physiopathologique, *Revue Francophone des Laboratoires*, Volume 2009, Issue 414, 2009, Pages 51-56, ISSN 1773-035X.
42. Sklar CA & Constine LS 1995 Chronic neuro-endocrinological sequelae of radiation therapy. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics* 31 1113–1120.
43. Relander T, Gavallin-Stahl E, Garwicz S, Olsson AM & Willen M 2000 Gonadal and sexual function in men treated for childhood cancer. *Medical and Pediatric Oncology* 35 52–63.
44. Kenney L.B., Cohen L.E., Shnorhavorian M., Metzger M.L., Lockart B., Hijiya N., et al. — Male reproductive health after childhood, adolescent, and young adult cancers: a report from the Children's Oncology Group. *J. Clin. Oncol.*, 2012, 30, 3408-3416.
45. Green DM, Kawashima T, Stovall M, Leisenring W, Sklar CA, Mertens AC, Donaldson SS, Byrne J, Robison LL. Fertility of female survivors of childhood cancer: a report from the childhood cancer survivor study. *J Clin Oncol*. 2009 Jun 1;27(16):2677-85.
46. Grigg AP, McLachlan R, Zajac J & Szer J 2000 Reproductive status in long-term bone marrow transplant survivors receiving busulfan-cyclophosphamide (120mg/kg). *Bone Marrow Transplantation* 26 1089–1095.

47. Anserini P, Chiodi S, Spinelli S, Costa M, Conte N, Copello F & Bacigalupo A 2002 Semen analysis following allogeneic bone marrow transplantation. Additional data for evidence-based counselling. *Bone Marrow Transplantation* 30 447–451.
48. Servitzoglou M, De Vathaire F, Oberlin O, Patte C, Thomas-Teinturier C. Dose-effect relationship of Alkylating agents on testicular function in male survivors of childhood lymphoma. *Pediatr Hematol Oncol*. 2015;32:613–23
49. Meistrich ML, Wilson G, Brown BW, da Cunha MF, Lipshultz LI. Impact of cyclophosphamide on long-term reduction in sperm count in men treated with combination chemotherapy for Ewing and soft tissue sarcomas. *Cancer*. 1992 Dec 1;70(11):2703-12.
50. Borgmann-Staudt A, Rendtorff R, Reinmuth S, Hohmann C, Keil T, Schuster FR, et al Fertility after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation in childhood and adolescence. *Bone Marrow Transplant*. 2012;47(2):271–6.
51. Rovó A, Aljurf M, Chiodi S, Spinelli S, Salooja N, Sucak G, Hunter A, Kim TS, Socié G, van Lint MT, Passweg JR, Arat M, Badoglio M, Tichelli A; Late Effects Working Party of the EBMT. Ongoing graft-versus-host disease is a risk factor for azoospermia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a survey of the Late Effects Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Hematologica*. 2013 Mar;98(3):339-45

52. Poirot C, Schubert B. Préservation de la fertilité chez l'enfant prépubère. *mt Médecine de la Reproduction, Gynécologie Endocrinologie* 2011 ; 13 (2) : 110-18.
53. Prosperma. PHRC 2008
54. Haas EC, Oosting SF, Lefrandt JD, Wolffenbuttel BH, SleijferDT, Gietema JA. The metabolic syndrome in cancer survivors. *Lancet Oncol* 2010;11:193-203
55. Gurney JG, Ness KK, Sibley SD, et al. Metabolic syndrome and growth hormone deficiency in adult survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Cancer* 2006; 107: 1303–12.
56. Aisenberg J, Hsieh K, Kalaitzoglou G, Whittam E, Heller G, Schneider R & Sklar C. 1998 .Bone mineral density (BMD) in long-term survivors of childhood cancer. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology* **20** 241–245.
57. Wasilewski-Masker K, Kaste SC, Hudson MM, Esiashvili N, Mattano LA & Meacham LR. 2008. Bone mineral density deficits in survivors of childhood cancer: long-term follow-up guidelines and review of the literature. *Pediatrics* 121 e705–e713
58. Stanislavejic S & Babcock AL 1997 Fractures in children treated with methotrexate for leukemia. *Clinical Orthopaedics and Related Research* 125 139–144

## ANNEXES

### Annexe n°1 : Cinétique de la testostéronémie (ng/mL).



### Annexe n°2 : Score d'état général (ECOG)

	Diagnostic	Greffe
<b>Patient 1</b>	0	0
<b>Patient 2</b>	0	0
<b>Patient 3</b>	NR	0
<b>Patient 4</b>	0	0
<b>Patient 5</b>	0	0
<b>Patient 6</b>	NR	0

<b>Patient 7</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
<b>Patient 8</b>	<b>0</b>	<b>1</b>
<b>Patient 9</b>	<b>NR</b>	<b>1</b>
<b>Patient 10</b>	<b>NR</b>	<b>0</b>
<b>Patient 11</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
<b>Patient 12</b>	<b>1</b>	<b>0</b>
<b>Patient 13</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
<b>Patient 14</b>	<b>1</b>	<b>0</b>
<b>Patient 15</b>	<b>0</b>	<b>0</b>

**Score ECOG**

<b>ECOG</b>	<b>Description</b>
0	Fully active, able to carry on all pre-disease performance without restriction.
1	Restricted in physically strenuous activity but ambulatory and able to carry out work of a light or sedentary nature, e.g., light house work, office work.
2	Ambulatory and capable of all selfcare but unable to carry out any work activities. Up and about more than 50% of waking hours.
3	Capable of only limited selfcare, confined to bed or chair more than 50% of waking hours.
4	Completely disabled. Cannot carry on selfcare. Totally confined to bed or chair

### Annexe n°3

## Fiche de suivi des patients greffés de moelle osseuse

### DONNEES ADMINISTRATIVES

NOM

PRENOM

DATE DE NAISSANCE

### REFERENTS

- Hématologie
- Endocrinologie
- Autres

### ANAMNESE FAMILIALE

#### FRATRIE

NOM	PRENOM	DDN	POIDS	TAILLE	AGE PUBERTE

#### PARENTS

	AGE PUBERTE	TAILLE FINALE	TAILLE CIBLE GENETIQUE
PERE			..... En cm
MERE			..... En DS

## ANTECEDENTS PERSONNELS

- Terme de naissance SA PN TN PCN
- Autres
  
- Evolution staturo-pondérale depuis la naissance (courbes staturo-pondérale et IMC)

## ANAMNESE PATHOLOGIE

Pathologie

Données au diagnostic

Age .... Poids ..... ( DS) Taille ..... ( DS) IMC ..... ( DS)

Stade de Tanner Volume Testiculaire

Préservation : Oui  Non

Si oui, type

Protocole de chimiothérapie

Doses cumulées de chimiothérapie

Complications

- Soutien nutritionnel Oui  Non

Si oui, type

- Aplasies fébriles

### DONNEES PRE-GREFFE

- Age
- Poids ( DS) Taille (DS) IMC ( DS)
- Stade de Tanner Volume testiculaire
- Préservation : Oui  Non   
Si oui, type
- Hormonologie
  - LH FSH
  - Testostérone totale Biodisponible
  - SBP Rapport Testo/SBP
  - AMH
  - Inhibine B

### GREFFE

- Indication de greffe
- Conditionnement
  - Chimiothérapie
    - Type (avec doses) :
  - Irradiation
    - Corporelle Totale : Dose en Gray

- Type de greffe

- Allogreffe

- Apparenté

- Non apparenté

- Autogreffe

- Complications

- GVH

- Aigue

- Chronique

- Traitements

- Corticothérapie orale  IV

- Immunosuppresseurs

- Anticorps

- Rechute

- Localisation

- Chirurgie

- Irradiation localisée

Dose en Gray

- Chimiothérapie (protocoles avec doses)

- Infection(s)

AGE CIVIL							
	GREFFE	+1an	+2ans	+3ans	+4ans	+5ans	AUTRE
Poids	X	X	X	X	X	X	
Impédancemétrie	X	X	X	X	X	X	
Taille	X	X	X	X	X	X	
IMC	X	X	X	X	X	X	
Tanner	X	X	X	X	X	X	
Volume Testiculaire	X	X	X	X	X	X	
Clinique d'hypoandrisme	X	X	X	X	X	X	
DENSITOMETRIE + DXA		X				X	Contrôle annuel si anormale
CROISSANCE - Age osseux - IGF1 - Test Cinétique	X X X	 X X	 X X	 X X	 X X	 X X	Démarrage, fin puberté
GONADOTROPE LH FSH Testosterone Testo Biodispo SBP Rapport SBP/Testo Inhibine B AMH Spermogramme Test cinétique	X X X X X X X X X X	X X X X X X X X X X	X X X X X X X X X X	X X X X X X X X X X	X X X X X X X X X X	X X X X X X X X X X	Fin puberté et âge adulte Si gonadotrophines normales ou hypo-androgénie
THYROIDE TSH T4 Echographie	 X X	 X X X	 X X X	 X X X	 X X X	 X X X	Tous les deux ans ou sur signes cliniques
BILAN MARTIAL Ferritinémie IRM		X					Si pathologique  Si surcharge martiale

**AUTEUR : Nom :** TURLOTTE **Prénom :** Caroline

**Date de Soutenance :** Mercredi 4 Octobre 2017

**Titre de la Thèse :** Evaluation du développement pubertaire et de la fonction leydigienne chez les enfants greffés de moelle dans la région NPDC entre 1999 et 2013. Etude rétrospective visant à optimiser le suivi et la prise en charge endocrinologique

**Thèse - Médecine - Lille 2017**

**Cadre de classement :** Pédiatrie

**DES + spécialité :** Pédiatrie

**Mots-clés :** greffe de cellules souches, puberté, croissance, déficits leydigien, serto-lien

**Résumé :**

Contexte : La greffe de cellules souches est devenue un recours thérapeutique à de nombreuses pathologies hématologiques, métaboliques ou auto-immunes. Devant l'amélioration du pronostic vital, il convient d'étudier les effets secondaires à moyen et long terme pour permettre une meilleure qualité de vie à l'âge adulte. Les séquelles endocriniennes sont notables notamment sur le plan gonadique. L'objectif était d'évaluer la fonction leydigienne et le développement pubertaire chez nos patients greffés de moelle osseuse, et de déterminer les facteurs responsables d'une éventuelle atteinte.

Méthodes et résultats : 76 jeunes garçons ont été greffés au CHRU de Lille entre 1999 et 2013 dont 15 garçons pré-pubères. L'étude rétrospective des dossiers a mis en évidence 46.7% de déficit leydigien et 93,3% de déficit sertolien, définis par des taux élevés de gonadotrophines. Les taux de testostérone étaient normaux pour 86.6% des patients, avec une médiane de 3.03ng/mL à l'âge adulte. Nous ne retrouvons pas de décalage dans l'entrée en puberté (12.9 ans +/- 1), ni de prolongation de celle-ci (taille finale acquise à 16.3ans +/-0.7). Le pic pubertaire est cependant moindre avec 14cm, et une nette perte de croissance -1.4DS entre la taille au moment de la greffe et la taille finale. Le retentissement osseux est sous-évalué par l'absence de densitométrie osseuse systématique. De même, les dosages des gonadotrophines devront à l'avenir être complétés par ceux de la SBP, de l'inhibine B, et de l'AMH pour affiner les diagnostics. L'avenir de la préservation de la fertilité passe certainement par la cryopréservation de pulpe testiculaire, dont l'impact sur le potentiel de croissance et le développement pubertaire reste à évaluer.

Conclusion : La perspective de notre étude est de mettre en place une feuille de suivi des patients greffés afin de permettre un dépistage plus précoce des séquelles pubertaires et adultes, et faciliter leur prise en charge. De plus, ce travail préliminaire est une introduction à une étude multicentrique de plus grande ampleur qui visera à déterminer les facteurs de risque de cette atteinte leydigienne notamment thérapeutiques.

**Composition du Jury :**

**Président :** Pr Alain MARTINOT

**Assesseurs :**

Pr Jean-Claude CAREL

Dr Bénédicte BRUNO

Dr Charles HERBAUX

Dr Clara LEROY