



UNIVERSITÉ DE LILLE
FACULTÉ DE MÉDECINE HENRI WAREMBOURG
Année : 2022

THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN MÉDECINE

Evaluation de l'impact du score pronostique GHSG sur la réponse à la stimulation ovarienne chez des patientes bénéficiant d'une cryopréservation ovocytaire avant chimiothérapie pour un lymphome de Hodgkin

Présentée et soutenue publiquement le 20/10/2022 à 16h
au Pôle Formation
par **Chloé CHUZEL**

JURY

Président :

Monsieur le Professeur Franck MORSCHHAUSER

Assesseurs :

Madame le Docteur Christine DECANTER

Madame le Docteur Pauline PLOUVIER

Madame le Docteur Virginie SIMON

Directrice de thèse :

Madame le Docteur Morgane NUDEL

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	5
1. Généralités sur les lymphomes de Hodgkin.....	5
1.1. Données épidémiologiques	5
1.2. La grande famille des lymphomes de Hodgkin.....	5
1.3. Physiopathologie des lymphomes de Hodgkin	7
1.4. Présentation clinico-biologique du lymphome de Hodgkin	10
2. Les marqueurs d'agressivité du lymphome de Hodgkin.....	11
2.1. La classification Ann Arbor	11
2.2. Les scores pronostiques.....	12
2.3. La réponse au traitement : le meilleur marqueur d'agressivité	14
2.4. Importance des scores pronostiques pour la prise en charge des patients .	15
2.5. Données sur la survie globale et la rechute des lymphomes de Hodgkin....	17
3. Préservation de la fertilité dans les cancers.....	19
3.1. Physiopathologie ovarienne	19
3.2. Les différentes techniques de préservation de la fertilité.....	21
3.3. Cancers et gonadotoxicité	25
3.4. Les facteurs de moins bonne réponse à la stimulation ovarienne	28
3.5. Lymphome de Hodgkin et réponse à la stimulation ovarienne	29
3.6. Hypothèses des mécanismes de moins bonne réponse à la stimulation ovarienne dans le lymphome de Hodgkin	33
4. Objectifs de notre étude	37
ARTICLE	38
DISCUSSION	62

LISTE DES ABREVIATIONS

AMH : Hormone anti-müllérienne

AMP : Aide médicale à la procréation

ATO : Trioxyde d'Arsenic

BCL : B-Cell Lymphoma

BCR : Récepteur des lymphocytes B

BOB : B Cell Specific Oclamer Binding Protein

BV : Brentuximab Vedotin

CCL : C-C Motif Chemokine Ligand

CD : Cluster de Différenciation

CED : Dose Equivalente de Cyclophosphamide

CFA : Compte des follicules antraux

cHL : Lymphomes de Hodgkin classiques

CRP : C Réactive Protéine

DDR : Discoidin domain receptor

EBV : Epstein Barr Virus

EORTC : European Organization For Research and Treatment of Cancer

ESHRE : European Society of Human Reproduction and Embryology

ESMO : European Society of Medical Oncology

FSH : Hormone folliculo-stimulante

GHSB : German Hodgkin's Lymphoma Study Group

GM-CSF : Granulocyte macrophage colony stimulating factor

GnRH : Hormone de libération des gonadotrophines hypophysaires

HCG : Hormone chorionique gonadotrope

HRS : Cellules de Reed Sternberg

ICSI : Intra Cytoplasmic Sperm Injection

ID : Inhibitors of DNA binding

IL : Interleukine

IMC : Indice de Masse Corporelle

IPS : Score Pronostique International
JAK-STAT : Janus kinase-signal transducer and activator of transcription
LDHL : Lymphome de Hodgkin pauvre en lymphocytes
LH : Lymphome de Hodgkin
LH : Hormone lutéinisante
LMP : Latent Membrane Protein
LNH : Lymphome non Hodgkiniens
LRHL : Lymphome de Hodgkin riche en lymphocytes
MCHL : Lymphome de Hodgkin à cellularité mixte
NF-KB : Nuclear factor kappa-light-chain-activateur de cellules B activées
NK : Natural Killer
NLPBL : Lymphome nodulaire à prédominance lymphocytaire
NOTCH : Neurogenic locus notch homolog protein
NSCHL : Lymphome de Hodgkin scléronodulaire
OCT : Cryopréservation de tissu ovarien
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
PAX : Paired Box Protein
PD : Programmed death
PDL : Programmed death ligand
TEP : Tomographie à émission de positons
TNF : Tumor Necrosis Factor
VS : Vitesse de Sédimentation

INTRODUCTION

1. Généralités sur les lymphomes de Hodgkin

1.1. Données épidémiologiques

Il existe plus de 80 différents types de lymphomes selon la dernière classification mondiale de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) 2022 (1). Les lymphomes hodgkiniens représentent 10% de tous les lymphomes (2) avec une incidence de 2127 nouveaux cas diagnostiqués en France en 2018 (3). L'âge médian au diagnostic est de 35 ans avec deux pics d'incidence, le premier entre 20 et 30 ans et le second entre 50 et 70 ans (4). Les lymphomes font partie des cancers les plus fréquents en France avec la particularité de toucher une population jeune. Les lymphomes constituent la première cause de cancer chez les 15-17 ans d'après les données de l'Institut National du cancer (5), au premier rang duquel, on retrouve les lymphomes de Hodgkin (LH).

1.2. La grande famille des lymphomes de Hodgkin

Le nom de maladie de Hodgkin vient de Thomas Hodgkin qui décrit pour la première fois en 1832 la présence d'adénomégalies et de splénomégalie non infectieuses. L'examen histologique de ces adénopathies révélera bien plus tard la présence de cellules géantes spécifiques décrites tout d'abord en 1898 par Carl Sternberg puis en 1902 par Dorothy Reed (6) et qui prendront le nom de cellules de Reed-Sternberg.

Les LH forment un groupe hétérogène de lymphomes qui se différencient par leur histologie, présentation clinique et évolution naturelle (**Figure 1**):

- Les lymphomes de Hodgkin classiques (cHL) comportent des cellules de Reed Sternberg (HRS), exprimant le phénotype suivant CD45 - CD30+ CD15+. Parmi les cHL on distingue 4 sous types (7):

- Le sous-type scléronodulaire (NSCHL), le plus fréquent, représente environ 70% des cHL. Sur le plan clinique, il est associé à la présence d'une masse médiastinale chez plus de 80% des patients. Il est de meilleur pronostic que les autres sous types. Un lien avec l'Epstein Barr Virus (EBV) est retrouvé dans près de 30% des cas.
 - Le sous type à cellularité mixte (MCHL) représente 25% des cHL. Sur le plan clinique, 30% des patients présentent une atteinte splénique. Les adénopathies sous-diaphragmatiques, plus rares dans les HL sont plus fréquentes dans ce sous-type de lymphome hodgkinien. Tout comme le NSCHL il est très souvent associé à l'EBV.
 - Le sous type riche en lymphocytes (LRHL) ne représente que 5% des cHL et, à l'inverse des lymphomes scléronodulaires, il est rarement associé à la présence d'une masse médiastinale.
 - Le sous type pauvre en lymphocytes (LDHL) est le plus rare des quatre, représentant moins d'1 % des cHL. Il est de moins bon pronostic, se présentant dans la majorité des cas à un stade déjà avancé. Il est fréquemment associé à l'EBV..
- Le lymphome B nodulaire à prédominance lymphocytaire (NLPBL) était auparavant connu sous le nom de paraganulome de Poppema-Lennert. Il représente 5% des lymphomes hodgkiniens, est plus fréquent chez l'homme (70% des cas) et n'est pas associé à l'EBV. Il se distingue par l'absence d'HRS mais la présence de cellules appelées Pop-Corn qui expriment le CD20 et non le CD30 (8). Il s'agit d'un lymphome très souvent localisé (près de 75% des cas) et considéré de bon pronostic même si les rechutes tardives sont fréquentes

(9). Il existe un risque de transformation en lymphome B diffus à grandes cellules autour de 10% (7).

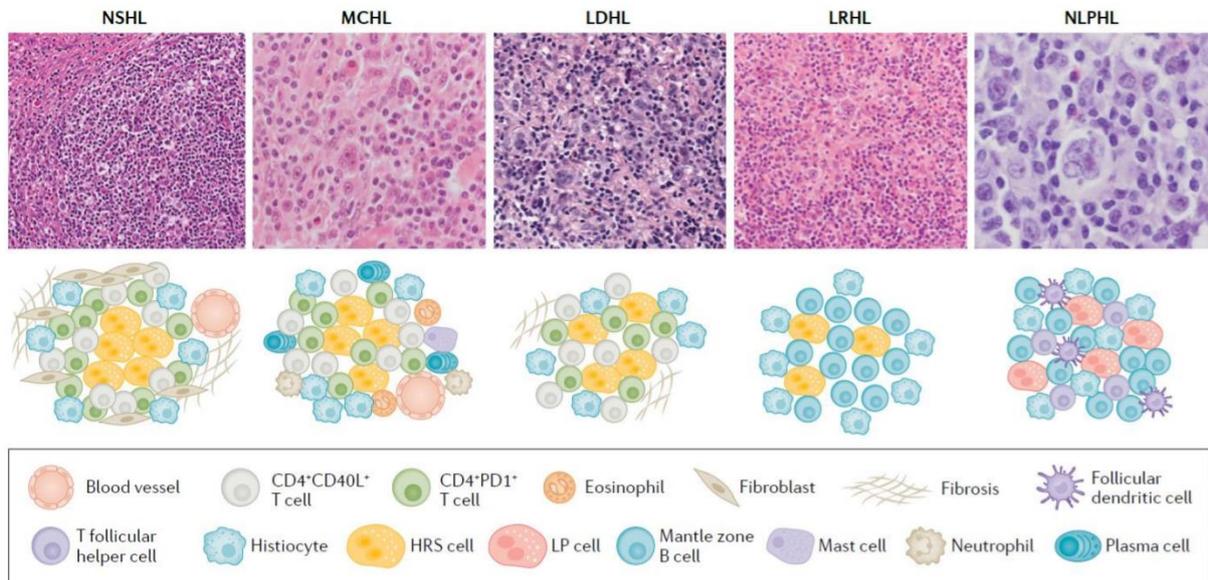


Figure 1 : Les différents types histologiques des lymphomes de Hodgkin - Connors JM et al. Nat Rev Disease Primers

1.3. Physiopathologie des lymphomes de Hodgkin

On définit trois caractéristiques histologiques aux LH (8) :

- La destruction de l'architecture ganglionnaire
- L'envahissement du tissu tumoral par des cellules inflammatoires
- La présence de cellules malignes, les HRS qui représentent moins de 1% du tissu tumoral.

Les HRS présentent de nombreuses caractéristiques distinctives (**Figure 2**). Ce sont des cellules de grande taille, le plus souvent bilobées, elles dérivent de lymphocytes B pré-apoptotiques du centre germinatif comme en témoigne la présence de

réarrangements clonaux des chaînes VDJ des immunoglobulines et l'expression du facteur de transcription PAX5 (9,10) .

Bien que les HRS dérivent des lymphocytes B, elles sont singulières par l'absence d'expression des protéines de surface des cellules B. Plusieurs mécanismes sont impliqués dans la perte du phénotype B :

- Dans les cellules tumorales, il existe une inhibition de facteurs de transcription comme PU.1, BOB.1 qui régulent les gènes codant le CD20, le BCL-2, le CD19 et le CD79A (10)
- Les HRS expriment des marqueurs des lymphocytes T comme NOTCH1 et des cellules NK comme ID2 qui inhibent d'importants facteurs de transcription des lymphocytes B (11).
- L'activation constitutive de la voie JAK-STAT dans les cellules hodgkiniennes entraîne l'activation de STAT5A et STAT5B qui inhibent des gènes de la lymphogenèse B (12).

Plusieurs voies de signalisation jouent un rôle important dans la physiopathologie des cellules de Reed Sternberg dont la voie NF-KB et la voie JAK-STAT. Dans les HRS, il existe une activation constitutive de la voie NF-KB via les récepteurs de surface CD30, CD40 et RANK entraînant une activation de plusieurs gènes impliqués dans la résistance à l'apoptose : GM-CSF, IL-6, DDR1 ou encore TNF (13).

L'activation de la voie JAK-STAT aboutit, quant à elle, à l'expression de nombreux gènes dont ceux qui codent PDL-1 entraînant une inhibition de PD-1 à la surface des lymphocytes T et contribuant à un environnement immunosuppresseur autour de la cellule HRS (11).

L'EBV est présent dans environ 30% des lymphomes de Hodgkin. Son rôle dans l'oncogenèse de la cellule HRS est médié par des protéines membranaires de latence : LMP1 qui active les voies NF- κ B et JAK-STAT (11) et LMP2a qui mime la présence d'un BCR et redonne un signal de survie à la cellule hodgkinienne (13).

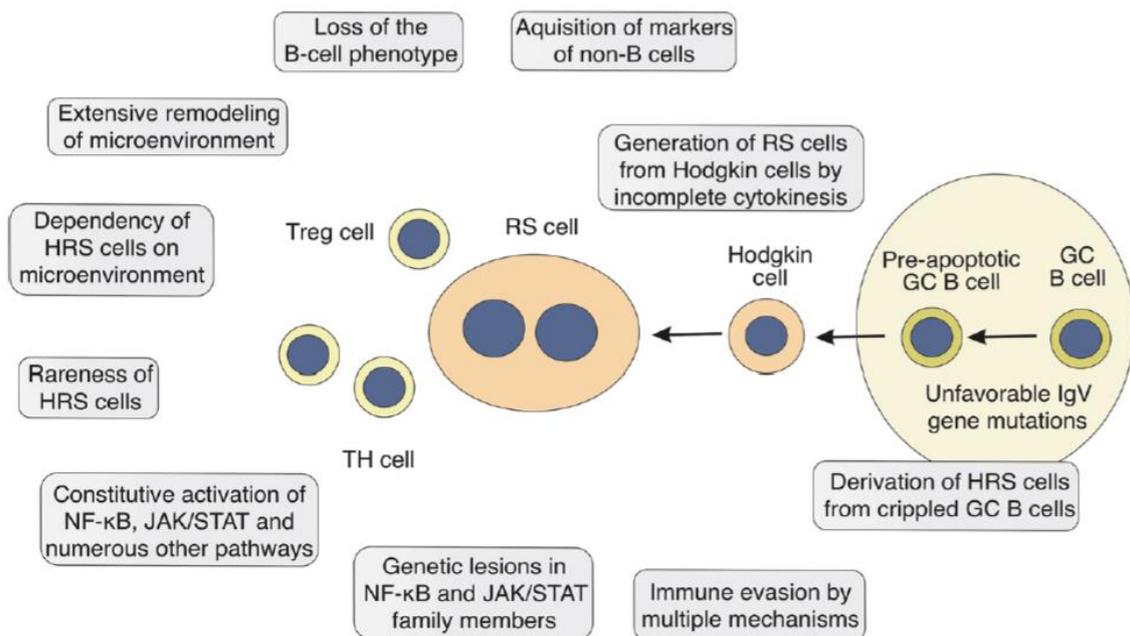


Figure 2 : Les caractéristiques des HRS - *Molecular biology of Hodgkin lymphoma* - Weniger et Küppers,

Le micro-environnement tumoral joue un rôle important dans la physiopathologie du LH (**Figure 3**). Les cellules inflammatoires représentent la majorité du tissu tumoral et sont recrutées via des cytokines produites par les HRS (10) :

- Les lymphocytes T via CCL5, CCL17 et CCL20
- Les éosinophiles via IL-5, CCL5, CCL28 et le GM-CSF
- Les neutrophiles via l'IL8

Ces cellules inflammatoires, ainsi recrutées, vont produire à leur tour des cytokines qui vont permettre la survie et la prolifération des HRS et le recrutement d'autres cellules inflammatoires.

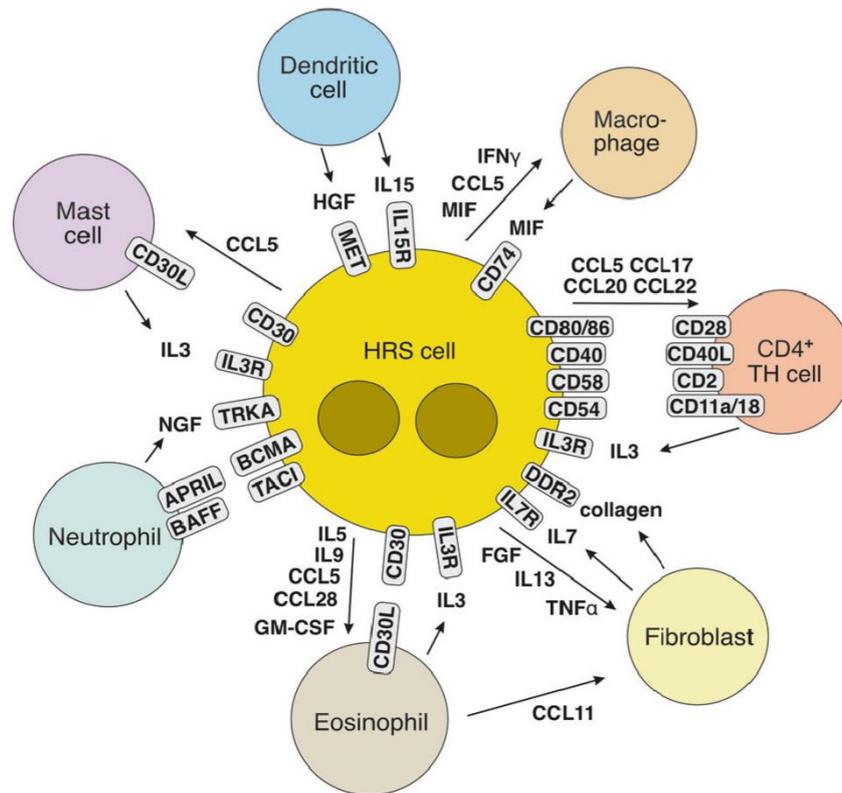


Figure 3 : Les interactions entre les HRS et le micro-environnement tumoral - *Molecular biology of Hodgkin lymphoma* - Weniger et Küppers,

1.4. Présentation clinico-biologique du lymphome de Hodgkin

L'entrée dans la maladie la plus fréquente est la découverte d'adénopathies cervicales ou sus-claviculaires isolées. Du fait de l'atteinte médiastinale fréquente, une toux sèche est parfois le premier symptôme révélateur. Les signes B sont présents dans environ 1/3 des cas. D'autres signes sont plus spécifiques au lymphome de Hodgkin tel que le prurit et les douleurs ganglionnaires après l'ingestion d'alcool mais sont très

inconstants (7). Les atteintes extra-ganglionnaires les plus fréquentes sont les poumons, le foie et la moelle osseuse (12).

Sur le plan biologique, il existe une inflammation biologique aspécifique marquée par une hyperleucocytose, une élévation de la C-Réactive Protéine (CRP) et une Vitesse de Sédimentation (VS) augmentée. L'anémie est mixte : inflammatoire et ferriprive, en lien avec un trouble du métabolisme du fer médié par l'augmentation de l'interleukine IL-6 qui entraîne une augmentation de l'hepcidine et inhibe ainsi l'absorption intestinale du fer (14).

2. Les marqueurs d'agressivité du lymphome de Hodgkin

2.1. La classification Ann Arbor

La classification d'Ann Arbor révisée par Lugano est utilisée à la fois pour la stadification des LH et des lymphomes non Hodgkiniens (LNH) (15). Elle différencie les stades localisés (I et II) de meilleur pronostic, des stades avancés (III et IV).

On complète la stadification par :

- X s'il existe une masse Bulky définie par une masse de plus de 10cm, classiquement médiastinale avec un index cardio thoracique $> 0,33$;
- E s'il existe une atteinte d'organe de continuité ;
- A en l'absence de signes d'évolutivité
- B si présence de sueurs nocturnes, d'une fièvre vespérale, et/ou d'une perte inexplicquée de plus de 10% du poids dans les 6 derniers mois.

2.2. Les scores pronostiques

Les principaux scores pronostiques utilisés en Europe pour les lymphomes de Hodgkin sont représentés par :

- Le score EORTC (European Organisation for Research and Treatment of Cancer) comprend quatre facteurs de risque (16) et permet de stratifier les LH localisés sus diaphragmatiques en deux groupes (favorable et défavorable).

Ces facteurs de risque sont :

- Un nombre d'aires ganglionnaires supérieur à 3 parmi les aires suivantes : médiastinale, axillaire droite, axillaire gauche, cervicale droite, cervicale gauche,
- Un âge supérieur ou égal à 50 ans,
- Une vitesse de sédimentation (VS) à une heure ≥ 30 mm en cas de présence de signes B, ou une VS ≥ 50 mm en l'absence de signes B,
- La présence d'une masse Bulky

Selon l'EORTC, un LH localisé est dit favorable si aucun facteur de risque n'est présent. En revanche, la présence d'un seul de ces facteurs classe systématiquement le LH dans le groupe défavorable.

- Le score d'Hasenclever, décrit également comme score pronostic international (IPS), est utilisé pour les LH avancés et comprend sept paramètres (17) :
 - Un âge supérieur à 45 ans,
 - Le sexe masculin,
 - Un taux de leucocytes supérieur à 15 G/L,
 - Un taux de lymphocytes inférieur à 0,6 G/L,
 - Un taux albumine inférieur à 40 g/L,

- Un taux d'hémoglobine inférieur à 10,5 g/dL,
- Un stade Ann Arbor à IV (7).

Chaque critère fait prendre un point, le score allant de 0 à 7. Plus le score est élevé plus la survie sans progression et la survie globale sont faibles (**Tableau 1**).

	5 year FFP (SE)	5 year OS (SE)
Score 0	84% (4)	89% (2)
Score 1	77% (3)	90% (2)
Score 2	67% (2)	81% (2)
Score 3	60% (3)	78% (3)
Score 4	51% (4)	61% (4)
Score ≥5	42% (5)	56% (5)

FFP= freedom from progression. OS=overall survival.

Tableau 1 : Survie sans progression à 5 ans et survie globale selon le score IPS - Lancet 2012; 380: 836–47 Hodgkin's lymphoma in adults, William Townsend, David Linch

- Le score GHSG (German Hodgkin's lymphoma Study Group) comprend, quant à lui, quatre critères (18) qui sont très proches de ceux de l'EORTC :
 - La présence d'une masse Bulky,
 - Un nombre d'aires ganglionnaires supérieur ou égal à 3,
 - Une VS augmentée selon la même définition que l'EORTC
 - La présence d'une atteinte extra ganglionnaire.

En plus de ces derniers, le score GHSG inclut le stade d'Ann Arbor et permet de distinguer trois groupes : les stades localisés précoces, les stades localisés intermédiaires et les stades avancés. A la différence de l'EORTC, un lymphome de stade II avec une masse Bulky ou une atteinte extra ganglionnaire appartient aux stades avancés. Le score est encore une fois corrélé à la survie globale des patients. Les patients dans le groupe localisé précoce, soit environ 20 à

30% des patients, ont une survie globale à 8 ans autour de 98% et un taux de rechute inférieur à 5%. Le groupe intermédiaire comprend 40-50% des patients au diagnostic avec un taux de rechute compris entre 10 et 15% et une survie globale autour de 94% à 8 ans. Enfin le groupe avancé, correspondant à 30% des patients au diagnostic, a une survie globale entre 80 et 87% à 5 ans avec un taux de rechute plus élevé entre 15 et 30% (4).

Les différences entre le score EORTC et GHSG sont résumées dans la **Figure 4**.

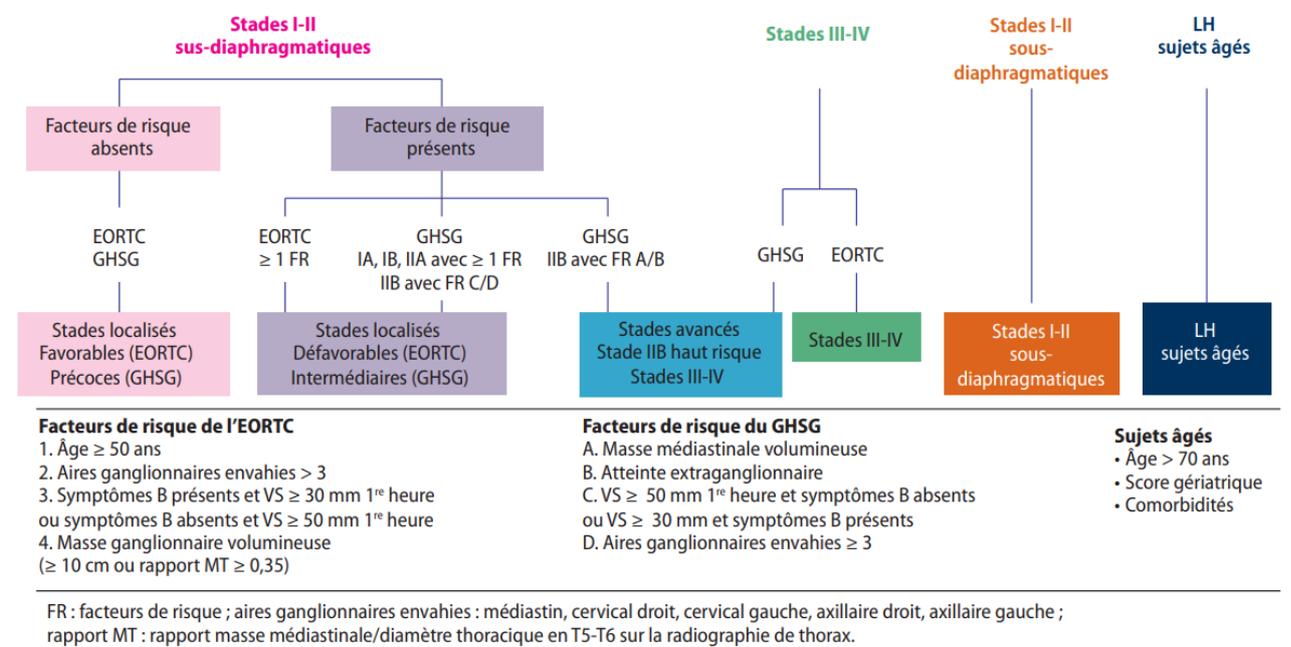


Figure 4 : Différence entre score EORTC et GHSG. C. Fermé : Définir des groupes pronostiques thérapeutiques - Correspondances en Onco-Hématologie - Vol. VIII - n° 1 - Janvier-février 2013

2.3. La réponse au traitement : le meilleur marqueur d'agressivité

La réponse thérapeutique d'un LH est fondée sur une réponse métabolique à la tomographie par émissions de positons (TEP) (15).

Il a été démontré que la réponse à la TEP intermédiaire après deux cures de chimiothérapie, quel que soit le stade Ann Arbor, est un facteur pronostique qui vient à supplanter les scores pronostiques (7). Dans une étude prospective de Kobe *et al* (19), une TEP scanner de fin de traitement retrouvant une réponse complète a une très bonne valeur prédictive négative de rechute, proche de 96%.

2.4. Importance des scores pronostiques pour la prise en charge des patients

Les scores pronostiques dans les LH sont décisionnels dès le diagnostic pour la prise en charge thérapeutique.

Le traitement de référence actuel chez le sujet jeune, et en l'absence de comorbidités, est la chimiothérapie associée ou non à de la radiothérapie (7).

Si le patient présente un stade localisé et favorable, il est proposé une première ligne de traitement par deux à quatre cures d'ABVD, et une radiothérapie de clôture, associant selon des cycles de 28 jours (7) :

- ADRIAMYCINE 25mg/m² J1 et J15,
- BLEOMYCINE 10mg/m² J1 et J15,
- VINBLASTINE 6mg/m² J1 et J15,
- DACARBAZINE 375mg/m² J1 et J15 (1 cycle = 28 jours).

L'étude d'Engert *et al* (20), publiée en 2010, portait sur 1370 patients avec un stade localisé et un score pronostique favorable selon le GHSG et comparait quatre groupes de traitement :

- 4 ABVD + 30 Gy,
- 4 ABVD + 20 Gy,
- 2 ABVD + 30 Gy et

- 2 ABVD + 20 Gy.

Cette étude ne retrouvait pas de différence statistiquement significative en termes de survie sans progression et de survie globale à 5 ans. Ainsi selon les recommandations allemandes, les patients avec un stade localisé précoce selon le GHSG reçoivent 2 cures d'ABVD suivi d'une radiothérapie de 20 Gy.

Les recommandations françaises utilisent le score EORTC et retiennent l'association (21) :

- de 3 cures d'ABVD et d'une radiothérapie de clôture de 20 Gy en cas de stade localisé avec un score favorable
- et de 4 cures d'ABVD avec une radiothérapie de fin de traitement de 30 Gy en cas de stade localisé défavorable

Quant aux recommandations allemandes concernant les patients avec un stade localisé et appartenant au groupe intermédiaire selon le GHSG peuvent soit (18) :

- recevoir une association de 4 cures d'ABVD avec une radiothérapie de clôture de 30 Gy,
- réaliser 2 cures de BEACOPP, associant selon des cycles de 21 jours, BLEOMYCINE 10 UI/m² à J8, ETOPOSIDE 200mg/m² de J1 à J3, ADRIAMYCINE 35mg/m² à J1, CYCLOPHOSPHAMIDE 1250mg/m² à J1, ONCOVIN 1.4mg/m² à J8, PROCARBAZINE 100mg/m² de J1 à J7 et PREDISONE 40mg/m² à J1 à J14, avec une désescalade vers 2 cures d'ABVD si une réponse complète sur la TEP intermédiaire à deux cures est obtenue, suivie d'une radiothérapie de 30 Gy de clôture (18).

En cas de stade avancé, il est recommandé la même stratégie de désescalade BEACOPP vers ABVD en fonction de la réponse précoce sur la TEP d'évaluation après

2 cures de BEACOPP (18). En cas de réponse complète, il est ensuite préconisé 4 cures d'ABVD. Dans le cas contraire, 4 cures de BEACOPP supplémentaires sont réalisées. Le groupe GHSG recommande une radiothérapie de 30Gy après la chimiothérapie s'il persiste des masses résiduelles de plus d'1.5cm sur la TEP scanner.

Pour les patients âgés de 15 à 25 ans, il existe des protocoles pédiatriques tel le protocole européen actuel Euronet-PHL-C2 à base d'OEPA associant selon des cycles de 28 jours (22) :

- ONCOVIN 1,5mg/m² à J1 J8 et J15,
- ETOPOSIDE 125mg/m² de J1 à J5,
- PREDNISONNE 60mg/m² de J1 à J15,
- ADRIAMYCINE 40mg/m² à J1 et J15

On peut également citer le COPDAC associant selon des cycles de 28 jours (22) :

- CYCLOPHOSPHAMIDE 500mg/m² à J1 et J8,
- ONCOVIN 1,5mg/m² à J1 et J8,
- PREDNISONNE 40mg/m² de J1 à J15,
- DACARBAZINE 250mg/m² de J1 à J3 (22).

Ces protocoles visent notamment à réduire la cardiotoxicité et la toxicité gonadique de la chimiothérapie. Le protocole précédent Euronet-PHL-C1 avait permis de valider le remplacement de la PROCARBAZINE par de la DACARBAZINE afin de limiter la toxicité sur la fonction gonadique (23).

2.5. Données sur la survie globale et la rechute des lymphomes de Hodgkin

La survie globale est d'environ 90% dans les stades localisés et entre 75-90% dans les stades avancés (7).

Finalement, 10% des lymphomes hodgkiniens localisés et 20 à 30 % des stades avancés rechuteront ou se révéleront réfractaires (rechute dans l'année suivant la première ligne) après une première ligne de traitement (7). Il est alors proposé une chimiothérapie de rattrapage souvent associée à une immunothérapie ciblant le CD30 couplée à une toxine, le BRENTUXIMAB-VEDOTIN (BV) (24). En cas de réponse au traitement de rattrapage, une intensification thérapeutique par BEAM, associant BCNU 300mg/m² à J1, ETOPOSIDE 800mg/m² de J2 à J5, ARACYTINE 1600mg/m² de J2 à J4, MELPHALAN 140mg/m² à J5, suivi d'une autogreffe de cellules souches hématopoïétiques est réalisée (24). Le BV a également été utilisé comme thérapie de maintenance en post autogreffe (24), particulièrement dans les populations pédiatriques.

D'autres types de traitements sont utilisés dans le cadre de la rechute, parfois encore à l'état d'étude :

- Des thérapies ciblées,
 - o Anti-PD1 : PEMBROLIZUMAB, NIVOLUMAB (24),
 - o Inhibiteurs de JAK : PACRITINIB, RUXOLITINIB (25),
- Les CART-cells ciblant le CD30 (24),
- Les traitements restaurant le phénotype B des HRS pour pouvoir ainsi utiliser des traitements ciblant le CD19 tels le BLINATUMOMAB et les CAR-T Cells ou ciblant le CD20 tels le RITUXIMAB et l'OBINUTUZUMAB. Plusieurs médicaments semblent intéressants : l'ATO (Trioxyde d'arsenic) qui restaure le CD20 des HRS, ou encore les inhibiteurs des histones désacétylases qui

pourraient restaurer le CD19 : MOCETINOSTAT, PANOBINOSTAT, VORINOSTAT (25,26).

Pour les LH réfractaires, rechutant précocement après l'autogreffe ou les patients chimio-réfractaires répondant à l'immunothérapie, une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques peut-être envisagée (4).

3. Préservation de la fertilité dans les cancers

3.1. Physiopathologie ovarienne

Il existe trois cycles ovariens (27) :

- Le cycle folliculaire appelé également cycle prolifératif qui correspond à l'évolution d'un follicule primordial contenu dans le stroma cortical en follicule mûr appelé follicule de De Graaf ou pré-ovulatoire. Lors du quatorzième jour du cycle, le follicule pré-ovulatoire, mesurant plus de 15mm, expulse l'ovocyte.

En effet, l'ovaire comprend trois populations distinctes de follicules (28) :

- Les follicules primordiaux : Un follicule primordial mesure environ 50 micromètres, et est invisible à l'échographie. Leur nombre est déterminé durant la vie fœtale et décline ensuite.
- Les premiers follicules en croissance : Ils sont composés de follicules mesurant entre 0,5mm et 2mm et comprennent des follicules primaires, secondaires, pré-antraux et des petits follicules antraux. Ils restent trop petits pour être visibles à l'échographie.
- Les follicules antraux, mesurant plus de 2mm, ils deviennent très sensibles à l'hormone folliculostimulante (FSH) et forment un pool de follicules sélectionnables pour devenir un follicule mûr. Ces follicules de

plus de 2mm sont visibles à l'échographie et leur compte constitue le CFA (Compte des Follicules Antraux). La majorité de ces follicules antraux vont rentrer en atresie, à chaque cycle un seul est finalement sélectionné, il est alors appelé follicule dominant. Le follicule dominant est le seul à pouvoir continuer sa maturation jusqu'au stade pré-ovulatoire du fait de sa sensibilité plus importante à la FSH due à son grand nombre de récepteurs.

- Le cycle exocrine qui permet, sous l'action des œstrogènes, au follicule mûr de reprendre l'ovogénèse. Ainsi, l'ovocyte bloqué en prophase de la méiose I reprend sa maturation pour devenir un ovocyte II qui va être bloqué en métaphase II. La maturation finale n'aura lieu que si l'ovocyte est fécondé par un spermatozoïde.
- Le cycle endocrine qui correspond à la synthèse de différentes hormones comme des androgènes par les cellules de la thèque interne des follicules sous l'action de l'hormone lutéinisante (LH). Ces androgènes sont ensuite transformés en œstrogènes via l'aromatase qui est elle-même fabriquée par les cellules folliculaires sous l'action de la FSH. Deux hormones sont synthétisées par les cellules de la granulosa des follicules et jouent un rôle important dans la réserve ovarienne en exerçant un rétrocontrôle négatif sur la sécrétion de FSH : l'inhibine B et l'AMH (hormone anti-müllérienne). L'AMH diminue la sensibilité des follicules à la FSH et inhibe le recrutement des follicules primordiaux à reprendre leur maturation jusqu'au stade pré ovulatoire. Le taux d'AMH diminue de façon linéaire à partir de 25 ans et jusqu'à la ménopause où son taux devient indétectable (29). L'AMH est corrélée au nombre de follicules antraux (28).

L'ovulation est déclenchée par le pic de LH lui-même déclenché lorsque l'œstradiol se maintient à un certain taux pendant 48 heures. Pendant la courte période du cycle qu'est la période ovulatoire les œstrogènes vont être responsables d'un rétrocontrôle positif sur l'anté-hypophyse permettant la sécrétion d'un pic de LH, le reste du cycle l'œstradiol exerce un rétrocontrôle négatif sur la FSH et la LH (**Figure 5**)

Enfin la FSH et la LH sont dépendantes de la sécrétion pulsatile de GnRH par l'hypothalamus.

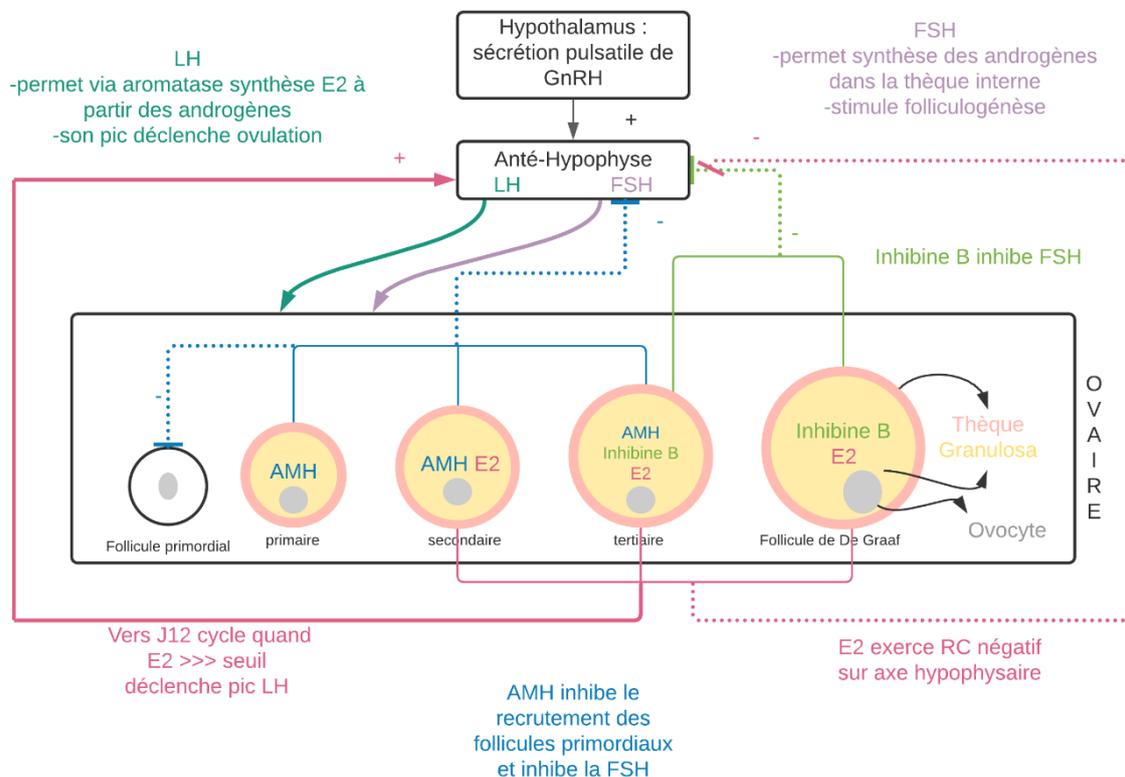


Figure 5 : Physiopathologie ovarienne (réalisé avec Lucidchart)

3.2. Les différentes techniques de préservation de la fertilité

Il existe différentes procédures de préservation de la fertilité (30) :

- La cryopréservation ovocytaire

- La cryopréservation d'embryon
- La cryopréservation de tissu ovarien
- La cryopréservation d'ovocytes maturés in vitro
- Des méthodes médicale et chirurgicale de protection ovarienne avec l'utilisation d'agonistes de la GnRH, ou une transposition ovarienne chez les femmes qui recevront de la radiothérapie pelvienne.

La méthode de choix de préservation de la fertilité pour raison médicale reste la cryopréservation ovocytaire (30). Toutes indications confondues, elle permet des taux de naissance de 8% par ovocyte congelé en vitrification (31). Avant d'envisager un recueil ovocytaire, la première étape repose sur la stimulation (Figure 6) et consiste à stimuler les follicules via des injections de FSH/LH recombinantes ou d'HMG jusqu'au jour du déclenchement. Le but de la stimulation est d'amener l'ensemble du pool de follicules pré- sélectionnés à chaque cycle à maturation finale pour avoir le plus de follicules pré-ovulatoires possibles. La dose initiale de stimulation est dépendante de l'âge de la patiente, de son taux d'AMH initial et de son indice de masse corporelle (IMC) (32). La surveillance de la stimulation débute après 6 jours de stimulation et se fait via une échographie endopelvienne pour mesurer les follicules et via des dosages d'œstradiol produite par les follicules. Le taux d'œstradiol est d'autant plus élevé que le nombre de follicules recrutés et le volume de ses follicules est important (27). Ce monitoring permet d'adapter les doses et le nombres de jours de FSH nécessaires (33). Par la suite survient le blocage de l'ovulation, à partir du sixième jour de stimulation, afin d'éviter un pic précoce de LH et ainsi d'empêcher le déclenchement d'une ovulation. Il est recommandé d'utiliser un antagoniste de la GnRH pour le blocage de l'ovulation (30). La dernière étape est le déclenchement quand le nombre suffisant de follicules de bonne taille est atteint (16 à 20 mm) et que le taux hormonal

est satisfaisant. L'hormone utilisée est, soit l'hormone chorionique gonadotrope (HCG) recombinante (OVITRELLE®) du fait de ses effets LH hypophysaire, soit un agoniste de la GnRH (DECAPEPTYL 0,2mg®). Enfin la ponction ovocytaire est réalisée, sous repère échoguidé, environ 36 heures après l'injection d'HCG, juste avant que l'ovulation ne se produise (33).

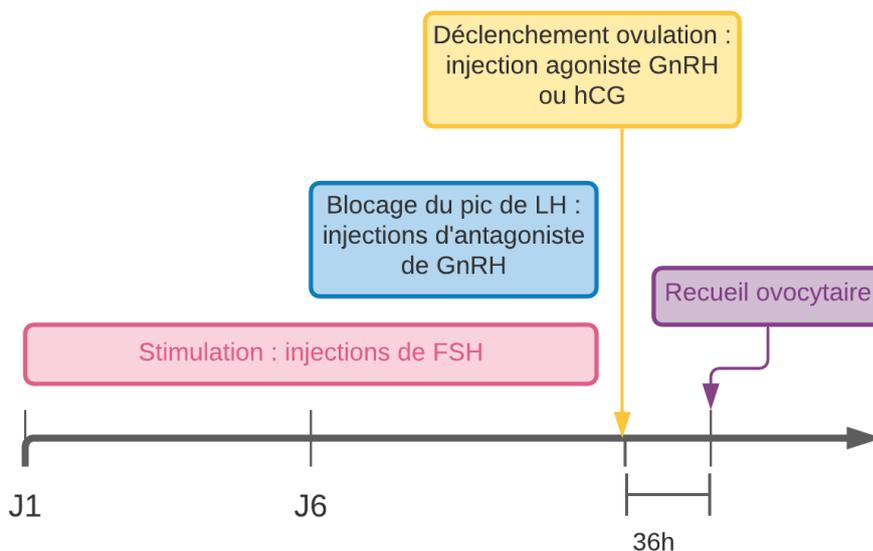


Figure 6 : Schéma de stimulation pour un recueil ovocytaire (réalisé avec Lucidchart)

La cryopréservation d'embryon s'adresse aux patientes en couple, majeures et demande un accord de propriété commune. Cette méthode offre environ 25 % de chance de grossesse par transfert d'embryon (31). Comme dans la cryopréservation ovocytaire, il existe une étape de stimulation avant recueil d'un ovocyte mature qui va ensuite être fécondé in vitro par un spermatozoïde du conjoint via la technique ICSI (Intra Cytoplasmic Sperm Injection).

La cryopréservation de tissu ovarien (OCT) reste une bonne option quand une méthode rapide est nécessaire et quand la cryopréservation ovocytaire n'est pas possible (30). Surtout, il s'agit de la seule méthode utilisable chez les femmes

prépubères (31). A ce jour, moins d'une centaine de naissances sont survenues à travers le monde après réimplantation de cortex, avec un taux moyen de grossesses, toutes indications confondues (carcinologiques ou non), de 21% (31). Elle consiste en une ovariectomie par coelioscopie puis en division du tissu ovarien en fragments contenant des follicules primordiaux qui ont l'avantage d'être très résistants à la congélation et la décongélation. Ces fragments sont ensuite réimplantés, soit de manière orthoptique, soit de manière ectopique, classiquement au niveau de l'avant-bras.

La cryopréservation d'ovocytes maturés in vitro reste une méthode expérimentale. Les ovocytes sont ponctionnés sans stimulation et la maturation a lieu en laboratoire. Cependant la maturation in vitro en présence de gonadotrophines reste sous optimale notamment du fait de l'absence d'une niche ovarienne prospère à l'ovogénèse (34).

Enfin, l'utilisation d'agoniste de la GnRH (ENANTONE®) entraîne initialement une phase dite de 'flare-up' où apparaît une augmentation des taux de FSH et de LH, puis secondairement une chute des hormones antéhypophysaires du fait de la perte du caractère pulsatile de la sécrétion de GnRH. La baisse de la FSH et de la LH bloque la folliculogénèse d'une part, et entraîne une diminution des œstrogènes et de l'ovogénèse, d'autre part. Selon les recommandations de l'European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE), l'utilisation d'agoniste de la GnRH ne doit pas être une alternative à une cryopréservation ovocytaire mais peut être utilisée comme une option, en l'absence d'autres alternatives (30). L'équipe de Senra *et al* a publié en 2018 une méta-analyses sur l'utilisation d'agoniste de la GnRH pendant la chimiothérapie. Les patientes ayant reçu des agonistes de la GnRH pendant la chimiothérapie étaient comparées à des patientes qui n'en avaient pas reçu. Aucune différence statistiquement significative n'était retrouvée sur le taux d'insuffisance

ovarienne précoce ni sur le taux de grossesses post traitement entre les deux groupes (35).

3.3. Cancers et gonadotoxicité

La loi de Bioéthique de 2004 prévoit qu'«En vue de la réalisation ultérieure d'une assistance médicale à la procréation (AMP), 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, [...]»

Les troubles de la fertilité après un cancer sont directement en lien avec le type et la dose de traitement utilisés. Les chimiothérapies appartenant aux agents alkylants sont les plus à risque.

La CED (Dose équivalent de Cyclophosphamide) est une formule qui permet de déduire le risque de gonadotoxicité des protocoles de chimiothérapies :

$CED (mg/m^2) = 1.0 (dose\ cumulative\ cyclophosphamide\ (mg/m^2)) + 0.244 (dose\ cumulative\ ifosfamide\ (mg/m^2)) + 0.857 (dose\ cumulative\ procarbazine\ (mg/m^2)) + 14.286 (dose\ cumulative\ chlorambucil\ (mg/m^2)) + 15.0 (dose\ cumulative\ BCNU\ (mg/m^2)) + 16.0 (dose\ cumulative\ CCNU\ (mg/m^2)) + 40 (dose\ cumulative\ melphalan\ (mg/m^2)) + 50 (dose\ cumulative\ Thio-TEPA\ (mg/m^2)) + 100 (dose\ cumulative\ nitrogen\ mustard\ (mg/m^2)) + 8.823 (dose\ cumulative\ busulfan\ (mg/m^2))$ (36).

Selon les recommandations françaises, toutes les femmes entre 18 et 35 ans qui seraient amenées à recevoir un traitement incluant des agents alkylants avec une CED supérieure à 6000mg/m² doivent être adressées en consultation de préservation de la fertilité (37). Si l'on utilise la formule pour les protocoles de chimiothérapies utilisés

dans les lymphomes de Hodgkin, la CED est nulle quel que soit le nombre de cures d'ABVD. En revanche après 4 cures de BEACOPP la CED dépasse le seuil des 6000mg/m².

L'ESMO (European Society for Medical Oncology) a établi un tableau des protocoles de chimiothérapies en fonction de leur risque d'aménorrhée (**Figure 7**) (38). Toujours en s'intéressant aux protocoles de chimiothérapie utilisés dans les lymphomes de Hodgkin on remarque que 6 cycles de BEACOPP sont à haut risque d'aménorrhée secondaire au traitement chez les femmes de plus de 30 ans, et, à risque intermédiaire chez les femmes de moins de 30 ans. En revanche le protocole ABVD est dans le groupe de bas risque quel que soit l'âge de la patiente au moment de débiter la chimiothérapie.

Degree of risk	Treatment type/regimen	Comments
High risk (>80%)	Haematopoietic stem cell transplantation (especially alkylating agent-based myeloablative conditioning with cyclophosphamide, busulfan, melphalan or total body RT)	
	EBRT >6 Gy to a field including the ovaries	
	6 cycles of CMF, CEF, CAF or TAC in women of ≥40 years	Significant decline in AMH levels after treatment Early menopause
Intermediate risk (20%–80%)	6–8 cycles of escalated BEACOPP in women of ≥30 years	Significant decline in AMH levels after treatment
	6 cycles of CMF, CEF, CAF or TAC in women of 30–39 years	Significant decline in AMH levels after treatment Early menopause
	4 cycles of AC in women of ≥40 years	Significant decline in AMH levels after treatment
	4 cycles of AC/EC → taxane	Significant decline in AMH levels after treatment
	4 cycles of dd (F)EC → dd taxane	
	6–8 cycles of escalated BEACOPP in women of <30 years	Significant decline in AMH levels after treatment
	6 cycles of CHOP in women of ≥35 years	Early menopause
	6 cycles of DA-EPOCH in women of ≥35 years	Significant decline in AMH levels after treatment
	FOLFOX in women of ≥40 years	
Low risk (<20%)	6 cycles of CMF, CEF, CAF or TAC in women of <30 years	Significant decline in AMH levels after treatment Early menopause
	4 cycles of AC in women of <40 years	Significant decline in AMH levels after treatment
	2 cycles of escalated BEACOPP	Significant decline in AMH levels after treatment
	ABVD	Insignificant decline in AMH levels after treatment
	6 cycles of CHOP in women of <35 years	Early menopause
	6 cycles of DA-EPOCH in women of <35 years	Significant decline in AMH levels after treatment
	AML therapy (anthracycline/cytarabine)	Insignificant decline in AMH levels after treatment
	ALL therapy (multi-agent)	Insignificant decline in AMH levels after treatment
	Multi-agent ChT for osteosarcoma (doxorubicin, cisplatin, methotrexate, ifosfamide) in women of <35 years	
	Multi-agent ChT for Ewing's sarcoma (doxorubicin, vincristine, dactinomycin, cyclophosphamide, ifosfamide, etoposide) in women of <35 years	
	FOLFOX in women of <40 years	
	Antimetabolites and vinca alkaloids	
	BEP or EP in women of <30 years	
	Radioactive iodine (I-131)	Decline in AMH levels after treatment
	Bevacizumab	
Unknown risk	Platinum- and taxane-based ChT	
	Most targeted therapies (including monoclonal antibodies and small molecules)	
	Immunotherapy	

Figure 7 : Risks of treatment-related amenorrhea in female patients, Lambertini ESMO Clinical Practice Guidelines guidelines, *Annals of Oncology* 2020

Dans leur étude, Anderson *et al* ont comparé le retour à la fonction ovarienne après le traitement en se basant sur le taux d'AMH et de FSH chez des patientes atteintes d'un lymphome de Hodgkin (39). Il comparait deux groupes en fonction de leur protocole de chimiothérapie : un groupe des patientes traitées par ABVD/AVD et un groupe de patientes traitées par BEACOPP. Dans le groupe ABVD, le taux d'AMH et de FSH à 3 ans était similaire au taux avant de débuter la chimiothérapie. Dans le groupe BEACOPP à 3 ans, 5 patientes sur 7 avaient un taux d'AMH indétectable. L'étude comparative retrouvait un retour à la fonction ovarienne pré-chimiothérapie, chez 96% des patientes du groupe ABVD vs 67% dans le groupe BEACOPP. Toujours dans cette

étude le retour à la fonction ovarienne de base était plus rapide de 321 jours en moyenne dans le groupe ABVD par rapport au groupe BEACOPP.

Si la chimiothérapie est reconnue de manière générale comme toxique sur la fonction gonadique, tous les protocoles de chimiothérapies n'ont pas le même risque. La connaissance des patientes qui recevront un protocole de chimiothérapie à haut risque d'aménorrhée secondaire permet de sélectionner celles pour lesquelles on propose une préservation ovocytaire. Ainsi dans le service d'hématologie du Centre Hospitalo-Universitaire de Lille nous avons retenu de proposer une préservation de la fertilité de manière systématique aux patientes qui recevront un protocole de type BEACOPP.

3.4. Les facteurs de moins bonne réponse à la stimulation ovarienne

Indépendamment de la chimiothérapie à laquelle les femmes vont être exposées, plusieurs facteurs de risque pré-thérapeutiques de moins bonne réponse à la stimulation ovarienne sont reconnus dans la littérature.

Parmi ces paramètres, l'AMH basse est un facteur de moins bonne réponse à la stimulation ovarienne (29). Dans l'étude de Sermondade *et al*, le taux d'AMH est directement corrélé au nombre d'ovocytes recueillis (40).

La contraception est également un facteur reconnu de moins bonne réponse. Dans l'étude Bentzen *et al*, les patientes, qui utilisaient une contraception hormonale, avaient des taux d'AMH et un compte d'AFC environ 30% plus faible que les patientes qui n'en avaient pas (41).

L'obésité est associée à des doses de stimulation nécessaires plus importantes et un nombre d'ovocytes matures recueillis plus faible (42).

Enfin, le facteur principal de réussite d'une cryopréservation ovocytaire reste l'âge (38). Dans une étude rétrospective récente publiée par Kasaven *et al* une augmentation de l'âge d'une année entraînait une réduction de 4% du rendement ovocytaire (43) après stimulation ovarienne.

3.5. Lymphome de Hodgkin et réponse à la stimulation ovarienne

A ce jour, il manque des données dans la littérature pour déterminer si, avant même de débiter la chimiothérapie, le cancer en lui-même est un facteur de moins bonne réponse à la stimulation ovarienne (30). Il existe néanmoins plusieurs études dans les cancers solides et en particulier dans le cancer du sein où ce dernier ne semble pas avoir d'impact sur la qualité de la préservation ovarienne. L'étude de Quinn *et al* analysait la réponse à la stimulation ovarienne chez 191 patientes avec un cancer du sein en comparaison à 589 patientes en cours de préservation de la fertilité et retrouvait le même nombre d'ovocytes recueillis dans les deux groupes (44).

En revanche, il existe très peu de données sur les patientes atteintes d'un LH. On distingue les études qui ont évalué la réponse à la stimulation ovarienne des patientes avec un LH en comparaison à un groupe contrôle et celles qui se sont intéressées à évaluer, au sein des patientes avec un lymphome, l'impact de l'agressivité du cancer sur le nombre d'ovocytes recueillis.

Parmi les études qui ont comparé les patientes LH avec un groupe contrôle on retrouve :

- L'étude de Von Wolf *et al* qui s'est intéressée à comparer la réponse à la stimulation ovarienne en fonction du type de cancer (45). Le groupe contrôle

était celui de patientes atteintes d'un cancer du sein en se basant sur les études précédentes qui n'avaient pas retrouvé d'impact du cancer du sein sur la réponse ovarienne. Le nombre d'ovocytes recueillis était identique entre les différents groupes de cancer dont un groupe de LH et LNH en comparaison au groupe contrôle cancer du sein. Concernant le nombre de jour de gonadotrophines et la dose de gonadotrophines, il n'était pas retrouvé de différence entre les types de cancer et le groupe de référence à l'exception des LH et LNH où la différence était statistiquement significative avec une dose et une durée de gonadotrophine nécessaire plus importantes.

- L'étude d'Alvarez *et al* publiée en 2016 concernait 306 femmes atteintes d'un cancer dont 69 atteintes d'une hémopathie maligne (65 avec un lymphome : 52 LH et 19 LNH, 6 leucémies, 2 myélomes) (46). Il était retrouvé une différence statistiquement significative sur le taux d'ovocytes recueillis plus élevé chez les patientes atteintes d'une hémopathie maligne en comparaison aux autres groupes de cancer (cancer du sein, cancer gynécologique, cancer digestif, autre). L'étude reste controversée car il n'y avait pas d'ajustement sur l'âge et les patientes avec une hémopathie maligne étaient significativement plus jeunes que dans les autres groupes.
- L'étude de Sonigo *et al* compare les paramètres de réponse à la stimulation chez des patientes avec un LH (47 patientes) en comparaison à des patientes avec un cancer du sein (113 patientes) (47). Il n'était pas retrouvé de différence sur le nombre d'ovocytes totaux recueillis et le nombre d'ovocytes en métaphase II entre les deux groupes. En revanche, dans le groupe des LH il était retrouvé de manière significative un taux de maturation plus bas.

- L'étude de Lawrenz *et al* retrouvait, à l'inverse des études précédentes, un nombre plus faible d'ovocytes recueillis chez les patientes avec un lymphome comparé à des patientes atteintes d'un cancer du sein. La population était de faible effectif avec dans le groupe lymphome 31 patientes avec un LH et 7 patientes avec un LNH (48).
- Lekovich *et al* retrouvait des résultats similaires à Lawrenz *et al*. en faveur d'une moins bonne réponse à la stimulation ovarienne chez les patientes atteintes d'un lymphome (37 LH et 27 LNH), en comparaison à des patientes non malades (49).

Les études comparant les paramètres de réponse à la stimulation ovarienne des patientes LH à un groupe contrôle sont faibles mais on retient que, si le nombre d'ovocytes recueillis est identique dans plusieurs études, les données de Lawrenz *et al* et Lekovich *et al* sont contradictoires (48,49). Les LH semblent néanmoins avoir une moins bonne réponse à la stimulation ovarienne avec la nécessité d'une stimulation plus importante et un taux de maturation ovocytaire plus bas. Ces données sont à modérer en l'absence d'ajustement à l'âge dans certaines études, d'autant que les patientes LH sont souvent plus jeunes.

Enfin, quelques études se sont intéressées, dans une population de lymphomes, à l'impact de l'agressivité de l'hémopathie sur la réponse à la stimulation ovarienne. On peut en citer majoritairement deux :

- Volodarsky-Perel *et al* (50) évaluaient l'impact de l'agressivité du lymphome sur la réponse à la stimulation ovarienne. L'étude incluait 141 patientes, 59 avec un LH et 82 avec un LNH. Deux paramètres étaient utilisés pour évaluer l'agressivité du lymphome :

- le stade en fonction de la classification Ann Arbor,
- un critère biologique, les LDH pour les LNH et l'albumine pour les LH.

En comparant les stades localisés et avancés, on retrouvait une différence statistiquement significative avec un taux de FSH total utilisé plus important dans le groupe des stades avancés. Il n'y avait pas de différence sur le nombre d'ovocytes matures après stimulation entre les deux groupes. Puis, en comparant le groupe favorable et défavorable concernant les critères biologiques, ils ne retrouvaient pas de différence concernant le nombre d'ovocytes matures recueillis, ni le taux de FSH total utilisé. Enfin, l'étude comparait un groupe associant stade avancé et critère biologique défavorable à un groupe associant stade localisé et critère biologique favorable et retrouvait une différence statistiquement significative concernant le taux de FSH totale qui était plus élevé pour le groupe défavorable. Il n'y avait pas de différence sur le nombre d'ovocytes matures recueillis.

- Dans une analyse en sous-groupe concernant les patientes avec un LH, l'étude de Sonigo *et al* ne retrouvait pas de différence significative sur le nombre d'ovocytes recueillis entre les stades localisés et avancés selon la classification d'Ann Arbor (47).

Il existe encore très peu d'études évaluant l'impact des lymphomes de Hodgkin sur la réponse à la stimulation ovarienne. Beaucoup de ces études incluent des populations hétérogènes de cancer et aucune n'utilise des scores pronostiques standardisés pour évaluer l'agressivité du lymphome.

3.6. Hypothèses des mécanismes de moins bonne réponse à la stimulation ovarienne dans le lymphome de Hodgkin

Les mécanismes pouvant expliquer l'impact négatif du lymphome de Hodgkin sur la réponse ovarienne ne sont pas bien connus. On peut rapporter, en premier lieu, l'impact négatif des cytokines pro-inflammatoires produites par les HRS et les cellules du microenvironnement tumoral sur la fonction ovarienne (51). Plusieurs études *in vitro* chez l'animal démontrent le rôle de certaines cytokines sur la fonction endogène de l'ovaire :

- L'interleukine 6 est capable d'inhiber l'activité de l'aromatase et donc la transformation des androgènes en œstradiol en diminuant la réponse à la FSH dans les cellules de la granulosa porcines (52). L'étude de Demir *et al* retrouvait des taux d'IL-6 plus importants chez des patientes avec une cause d'infertilité inconnue en comparaison à des femmes fertiles (53).
- L'interleukine 8 inhibe la production d'œstrogènes dans les cellules bovines (54).
- Le TNF α est un puissant inhibiteur de la stéroïdogénèse en inhibant la FSH, il est également à l'origine d'une prolifération des cellules de la granulosa et d'une inhibition de la différenciation des follicules dans une étude menée chez le rat (55).

Chez la femme, Paradisi *et al* comparait les taux d'AMH, d'IL-6, d'IL-8, de TNF α et de SIL-2R chez des patientes atteintes d'un LH ou d'un LNH à des patientes non malades (51). L'étude retrouvait une différence statistiquement significative avec un taux plus faible d'AMH et plus élevé d'IL-6 et de SIL-2R chez les patientes atteintes d'un lymphome en comparaison au groupe contrôle (**Figure 8**). Dans

l'étude, une corrélation négative était également rapportée entre le taux d'AMH et le taux d'IL-6, d'IL-8 et de SIL-2R (51).

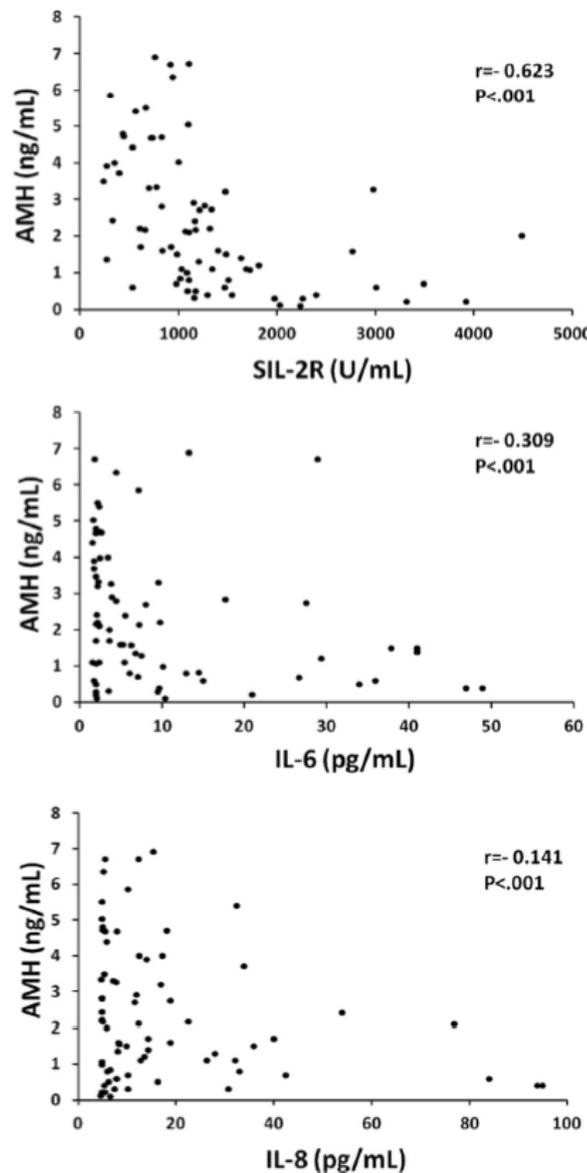


Figure 8 : Distribution et coefficient de corrélation entre l'AMH et SIL-2R, IL-6, IL-8 - Paradisi, Ovarian reserve in lymphoma patients, *Fertility Preservation* 2016

L'étude de *Fabbri et al* comparait au microscope électronique le cortex ovarien de patientes atteintes d'un LH avant toute chimiothérapie à celui de patientes saines (56). Les ovocytes des follicules des patientes atteintes d'un LH présentaient une vacuolisation de leur cytoplasme en comparaison au groupe contrôle. Une telle

vacuolisation des ovocytes leur conférait une forme de « donuts » (**Figure 9**). Il n'était pas retrouvé de différence dans les deux groupes sur la qualité des cellules stromales (56). L'hypothèse évoquée par les auteurs sur l'origine de cette vacuolisation était notamment celle d'un environnement pro-inflammatoire. La vacuolisation des ovocytes était plus importante chez les patientes avec un LH de stade avancé que chez les patientes avec un LH localisé. Il manque à ce jour des données pour faire le lien entre le taux de cytokines pro-inflammatoires et l'importance de la vacuolisation ovocytaires chez les patientes atteintes d'un LH.

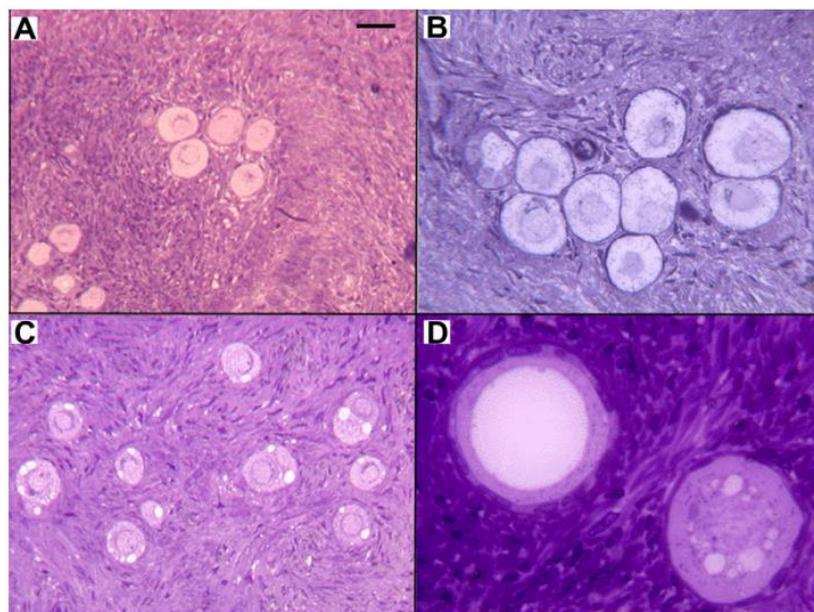


Figure 9 : Microscopie électronique de cortex ovarien, A et B : patientes contrôles, C et D : patientes LH, Fabbri, *Follicle features in adolescent and young adult women with Hodgkin's disease prior to chemotherapy: a preliminary report*, *Reproductive BioMedicine Online*, 2011

Une étude plus récente publiée en décembre 2021 par l'équipe d'Angela Caponnetto s'est intéressée au rôle des microARNs sur la fonction ovarienne chez les patientes atteintes d'un LH (57). Plusieurs études ont déjà rapporté une différence significative de l'expression de ces microARNs chez les patientes atteintes d'un LH en comparaison à des patientes non malades (57). D'autre part, les études de Machtinger *et al*, Scalici *et al*, Martinez *et al* ont retrouvé une

association entre certains profils de microARNs et des désordres ovocytaires chez l'animal. (58–60). Dans l'étude de Caponnetto *et al*, 13 microARNs connus comme jouant un rôle dans la gamétogenèse et l'embryogenèse, ont été retrouvés significativement plus exprimés (7 d'entre eux) ou moins exprimés (6 d'entre eux) dans les LH par rapport au groupe contrôle (57).

4. Objectifs de notre étude

Les connaissances concernant l'impact de la chimiothérapie sur la fertilité après le traitement des LH ont permis de distinguer les protocoles à plus haut risque de toxicité sur la fonction gonadique, tel le BEACOPP, des protocoles à risque moindre, tel l'ABVD. De ce fait, au CHU de Lille, il est proposé, de manière systématique, en l'absence d'urgence thérapeutique, et si l'état général de la patiente le permet, un recueil ovocytaire chez les patientes de moins de 40 ans qui recevront un protocole de type BEACOPP. Avant la chimiothérapie, plusieurs facteurs de risques de mauvaise réponse à la stimulation ovarienne sont connus : l'âge, la contraception, le taux d'AMH et l'obésité. Il reste des incertitudes concernant le rôle du lymphome sur la réponse ovarienne à la stimulation en vue d'une préservation ovocytaire.

Dans ce travail nous avons évalué, dans un premier temps, au sein d'une population homogène de patientes avec un LH bénéficiant d'une cryopréservation ovocytaire, les paramètres connus comme influençant la réponse à la stimulation ovarienne. Dans un second temps, nous avons étudié l'impact du LH sur la réponse à la stimulation ovarienne en utilisant des scores pronostiques internationaux standardisés : le GHSG et l'Hasenclever. Le critère principal de réponse à la stimulation ovarienne était le nombre d'ovocytes en métaphase II recueillis. Le taux d'œstradiol au déclenchement, le nombre de follicules supérieur à 15mm, le nombre d'ovocytes totaux recueilli, le taux de maturation et le ratio nombre ovocytes en métaphase II/nombre de follicules supérieurs à 15mm étaient des critères secondaires.

ARTICLE

Title

Impact of prognostic scores GHSG and Hasenclever on fertility preservation in a cohort of Hodgkin lymphoma patients

Chuzel C,¹ Simon V,² Behal H,^{3,4} Morschhauser F,¹ Decanter C,² and Nudel M¹

¹ Univ Lille, CHU Lille, Department of Hematology, Lille, France

² Univ. Lille, CHU Lille, Departement of Gynecology, Lille France

³ CHU Lille, Department of Biostatistics, F-59000 Lille, France

⁴ Univ. Lille, CHU Lille, ULR 2694 - METRICS: Évaluation des technologies de santé et des pratiques médicales, F-59000 Lille, France

Abstract

Background: Hodgkin lymphoma (HL) is the most frequent lymphoma in the young adult population. The standard of care is chemotherapy including alkylating agents known to affect fertility. Fertility preservation is usually proposed before treatment with oocyte cryopreservation as a reference. In healthy women, some factors are well known to have an impact on oocyte quality preservation such as age, anti-Müllerian hormone (AMH), body mass index (BMI) and total dose of gonadotropin.

The impact of HL on the ovarian response to stimulation is not clearly established. German Hodgkin Study Group (GHSG) distinguishes 3 prognostic groups in HL: early, intermediate, advanced stages (respectively defined as GHSG I, II, III in our study). The Hasenclever score is used to predict prognosis for advanced stage of HL.

Objective: In this study, first we evaluated the known factors predicting the quality of oocyte preservation in this specific cohort of HL. Then, we evaluated the impact of HL on the ovarian response to stimulation using standardized prognostic scores, GHSG and Hasenclever,

Methods: We performed a retrospective analysis of 78 women, with newly diagnosed and previously untreated HL who underwent oocyte cryopreservation between 2012 and 2021. The patients were extracted from a cohort of fertility observatory in Lille University Hospital. The primary outcome was the number of metaphase 2 oocyte retrieved (M2). Secondary outcomes included estradiol level at the trigger day, number of total retrieved oocytes, number of follicles >15mm, rate of maturation and number of retrieved oocytes as well as ratio of M2/follicles >15mm. We evaluated, in the whole cohort, the impact of AMH, BMI, age, and total dose of stimulation regarding the fertility outcomes. Then, we assess the relationship between GHSG score (GHSG I+II vs GHSG III) and ovarian response. In a subgroup analysis led only in GHSG III group, we explored the relationship between Hasenclever score and fertility preservation outcomes.

Results: Among the known factors correlating to ovarian response, only AMH was significantly associated with the number of oocytes M2 in our population (RR = 1.63 (1.20 to 2.22)). AMH and age were significantly associated with estradiol level at trigger day ($\beta_{1 \text{ log-AMH increase}} = 0.50$ (95%CI 0.23 to 0.77) and $\beta_{4\text{-year increase}} = 0.14$ (0.01 to 0.28)). AMH and total dose of gonadotropin were significantly associated with the number of follicles >15mm (RR_{1 log-AMH increase} = 1.34 (1.08 to 1.64) and RR_{1000 IU-increase} = 0.87 (0.76 to 0.99)), and with the number of oocytes retrieved (RR_{1 log-AMH increase} = 1.46 (1.12 to 1.90), and RR_{1000 IU-increase} = 0.80 (0.67 to 0.95)).

With or without adjustment, GHSG score was not significantly associated with fertility outcomes. In the subgroup of advanced HL, Hasenclever score was significantly and negatively correlated with the level of Estradiol at induction ($\rho = -0.36$) and the number of follicles $>15\text{mm}$ ($\rho = -0.44$).

Conclusion: We present the results of the largest cohort of HL patients evaluating the known factors associated with ovarian response and the impact of standardized HL's prognostic scores on fertility outcomes. Among the known factors correlating to ovarian response, only AMH was significantly associated with the number of oocytes M2 in our cohort. HL's prognostic score GHSG does not seem to affect fertility preservation outcomes. In the subgroup of advanced HL, Hasenclever score could have an impact on the ovarian response to stimulation. These results enlighten about cryopreservation outcomes in HL patients. According to this study, oocyte cryopreservation should be considered regardless HL's prognostic group.

Introduction

In 2018, 2127 people were diagnosed with Hodgkin lymphoma (HL) in France (1). HL is the most common cause of cancer in people aged between 15-17 years old, with a median age of 35 at the time of diagnosis (2).

Improving the OS is no longer the principal objective of new HL treatments and protocols, since it is already around 90% for early stages and 80% for advanced stages (3). Today, advances in HL treatments rather focus on reducing its toxicity, especially cardiotoxicity and gonadotoxicity as well as limiting secondary malignancies. The establishment of HL prognostic risk groups led to prognostic-based protocols, in order to limit the use of highly toxic treatments for favorable prognosis HL. The German Hodgkin Study Group (GHSG) (4) distinguishes 3 staging groups of HL: early, intermediate, and advanced according to the Ann Arbor staging and 4 risk factors, namely the number of lymph nodes, bulk mass, Erythrocyte Sedimentation Rate (ESR) and extranodal involvement. The Ann Arbor staging classification systems differentiates 4 stages according to the number of lymph nodes involved, their localization above or below the diaphragm and the involvement of extralymphatic organs (3). The three groups of HL based on the GHSG classification system and the corresponding first choice of treatment are presented in Table 1 (3). In advanced HL, Hasenclever score is used to predict prognosis. This score is based on 7 factors : age, sex, serum albumin, hemoglobin concentration, Ann Arbor stage, leukocytosis, lymphopenia (3). In young patients, the first line of treatment rests upon ABVD (ADRIAMYCINE 25mg/m² day 1 and 15, BLEOMYCINE 10mg/m² day 1 and 15, VINBLASTINE 6mg/m² day 1 and 15, DACARBAZINE 375mg/m² day 1 and 15 ; 1 cycle = 28 days) or BEACOPP regimen (BLEOMYCINE 10 UI/m² day 8, ETOPOSIDE

200mg/m² from day 1 to 3, ADRIAMYCINE 35mg/m² day 1, CYCLOPHOSPHAMIDE 1250mg/m² day 1, ONCOVIN 1.4mg/m² day 8, PROCARBAZINE 100mg/m² from day 1 to 7, PREDISONE 40mg/m² from day 1 to 14 ; 1 cycle = 21 days) which includes the use of alkylating agents, known to affect fertility. According to the European Society for Medical Oncology (ESMO) 6 cycles of BEACOPP represent a high risk of infertility for women above the age of 30 and an intermediate risk under 30 (5). On the other hand, ABVD regimen shows lower risk of gonadotoxicity, regardless of patient's age (5). Anderson *et al* studied the level of Anti Mullerian Hormone (AMH) after ABVD compared to BEACOPP in a HL patient's cohort (6). They found that AMH level in the ABVD group was similar at 3 years for 96% of patients whereas it was only to 67% in the BEACOPP group (6).

Ann Arbor stage	IA	IB	IIA	IIB	III	IV
No risk factor	Early stage of GHSG 2 x ABVD + 20 Gy				Advanced stage of GHSG 2 BEACOPP + 4 ABVD *	
1 or more risk factors: -ESR -≥ 3 areas lymph nodes	Intermediate stage of GHSG 2 x BEACOPP + 2 x ABVD + 30 Gy * Or 4 x ABVD + 30 Gy					
1 or more risk factors : -mediastinal bulk -extranodal involvement						

Table 1: Treatment algorithm according to GHSG score

* If the response after 2 cycles of chemotherapy evaluating by Positron Emission Tomography is negative

Because chemotherapy decreases the chances of pregnancy after treatment, oocyte preservation is proposed for women with HL before starting chemotherapy. Given the toxicity of treatment protocols, in Lille University Hospital, we systematically propose fertility preservation for young HL patients who will receive BEACOPP regimen. The reference method for fertility preservation in malignancies is oocyte cryopreservation

(7). After the ovarian stimulation, mature oocytes, corresponding to metaphase 2 oocytes, are frozen for later *in vitro* fertilization. Some parameters are known to affect the response to ovarian stimulation such as AMH, age and Body Mass Index (BMI) (5,7). Conversely, the impact of HL in fertility response is not clear (7). Several studies on breast cancer, namely Quinn *et al*, have shown that fertility response after ovarian stimulation was not impacted by cancer (8). In HL, only few studies have addressed this question and their results are conflicting. The study reported by Van Wolf *et al* compared the number of oocytes retrieved on lymphoma patients (HL and non-Hodgkin lymphoma (NHL)) with a control group composed of women with breast cancer for which fertility preservation outcomes had been evaluated and found to be similar to that of healthy women (9). Results show no difference regarding the number of retrieved oocytes for women diagnosed with lymphoma compared to the control group. However, they did find a difference regarding the dose and number of gonadotrophin injections administered for ovarian stimulation with longer and greater dose of FSH needed for patients with lymphomas. Similar results were reported by Sonigo *et al*, with no differences in the number of collected oocytes in metaphase 2 between a group comprising 33 HL patients and a control group with breast cancer (10). Conversely, Lawrenz *et al* found lower number of oocyte retrieved on lymphoma patients (HL and NHL) compared to breast cancer (11). However, the patients were notably younger in the lymphoma group. Lekovich *et al* demonstrated comparable findings when comparing lymphoma patients with healthy women with lower number of oocytes retrieved in lymphoma patients (12).

Additional studies have evaluated the response to ovarian stimulation in HL patients in respect to the lymphoma's aggressiveness. The study of Sonigo *et al* observed no difference in the number of retrieved oocytes amongst the Ann Arbor stages I/II and

stages III/IV in HL patients (10). Nevertheless, they noticed a lower follicle maturation rate in the group of HL patients, suggesting a poor ovarian capacity to respond to stimulation. Another study conducted by Volodarsky-Perel *et al* evaluated the aggressiveness of HL and NHL using the Ann Arbor stage coupled with a single biological parameter: albumin for HL or Lactate Dehydrogenase (LDH) for NHL (13). In their work, they compared the number of mature oocytes amongst two groups: one of favorable prognosis with localized cancer spread and normal biological parameter and a second group of less favorable prognosis comprised of advanced cancer stages and abnormal LDH or Albumin values (13). They found no statistical difference for the number of mature oocytes they retrieved nor the total dose of FSH stimulation administered. Notably, none of the study mentioned above used standardized scores to evaluate the impact of HL prognostic risk in fertility preservation outcomes.

In HL, a vast majority of tumoral tissue is composed of inflammatory cells. Interestingly, the specific tumor cells, Hodgkin Reed-Sternberg (HRS), represent less than 1% of the tumor. (14). The interaction between HRS and inflammatory cells is mediated through cytokines. The negative impact of pro-inflammatory cytokines could partly explain the poorer response to ovarian stimulation in HL. Demir *et al* have shown an increased level of Interleukin 6 (IL-6) in women with unknown causes of infertility (15). It has been demonstrated that IL-6 decreases the transformation of androgen to estradiol in porcine cells. In addition, Paradisi *et al* found a greater level of IL-6 and lower level of AMH in women with HL compared to healthy women (16). These observations suggest that inflammation could play a role in oocyte preservation for HL patient.

The aim of this study is to evaluate the known factors predicting the quality of oocyte preservation in this specific cohort of pretreatment HL and the impact of HL using

standardized prognostic scores, GHSG and Hasenclever, on fertility preservation outcomes.

Methods

Study Design

We conducted a retrospective and comparative study of HL patients who had received an oocyte cryopreservation before chemotherapy between 2012 and 2021. All patients were part of an observatory group of fertility created in 2006 in Lille University Hospital. If the oocyte preservation was performed at Lille University Hospital, patients came from 7 different medical centers localized in the department of Nord and Pas de Calais, where their diagnosis was made.

This study was led according to the Declaration of Helsinki. All patients gave informed consent about the retrospective use of their clinical data.

Population

A total of 103 patients with lymphoma were part of the observatory group, corresponding to 109 cycles of stimulation: 4 patients received 2 cycles of stimulation and 1 patient performed 3 cycles of stimulation. The main inclusion criteria was a diagnosis of HL without prior treatment (termed pretreatment HL). The diagnosis of HL was made by a lymph node biopsy. Biopsies were systematically proofread in accordance with the guidelines from a regional network named LYMPHOPATH. A total of 25 patients were excluded from the study, 15 because they had a non-Hodgkin lymphoma (NHL) and 10 because they had received chemotherapy before oocyte preservation and were thus not pretreatment HL. Therefore, 78 patients out of the 103

belonging to the Observatory group were included in our study, corresponding to 79 cycles with one patient who benefited of 2 stimulation cycles.

Study endpoints

The primary outcome was the number of metaphase 2 oocyte retrieved (M2). Secondary outcomes included estradiol level at the ovulation induction, the number of total oocyte retrieved, the number of follicle > 15mm, the maturation rate corresponding to the ratio of M2/number of total oocyte retrieved, and the ratio of M2/follicles >15mm.

Estradiol level at induction was defined by the dosage of 17-beta-estradiol measured by chemiluminescent immunoassay. The AMH level was measured by chemiluminescent immunoassay using the ICMA AMH-EIA kit (Beckman Coulter Immunotech). The number of follicles was evaluated by endovaginal ultrasound with a Voluson E8 Expert (GE Systems) at a frequency of 5-9 MHz.

The CRP was measured at the time of diagnosis, during the first hematological visit.

The collection period corresponded to the time between the first hematological visit and the day of oocyte retrieval. Patients who underwent hormonal contraception before the oocyte preservation stopped their contraception before stimulation with a wash-out period of 3-5 days.

The study end point was March 1st of 2022 and the follow-up was stopped at this date.

First, we evaluated the known factors influencing ovarian response to stimulation in our population of HL patients. Then, we studied the impact of GHSG in fertility outcomes parameters. Finally, we performed a subgroup analysis in advanced HL to assess the impact of Hasenclever score in the fertility outcomes.

Statistical analysis

Categorical variables are expressed as frequency and percentages; continuous variables as mean \pm standard deviation or median and interquartile range (IQR). Normality of the distribution was checked graphically and using Shapiro-Wilk test.

For the primary objective, all the candidate factors were introduced at the outset in a multivariable regression model. The model depended on the nature of the outcome: a generalized estimating equation (GEE) model with negative binomial distribution and logit link function was used for the number of follicles greater than 15mm, the number of oocytes retrieved, the number of metaphase 2 (M2) oocytes, the maturation rate considering the number of M2 oocytes as dependent variable and the number of oocytes retrieved after log-transformation as offset; a linear regression model was used for estradiol at induction and the ratio “number of metaphase 2 oocyte/number of follicles > 15mm” were identify using. Relative Risk (RR) and their 95% Confidence interval (CI) were expressed as effect size from the GEE model; linear coefficient regression (β) and their 95%CI were expressed as effect size from the linear regression model.

AMH and estradiol at induction were analyzed after log-transformation.

The influence of the GHSG score on the fertility outcomes parameters was assessed with and without adjustment on confounding factors such as: AMH, BMI, age, total dose of stimulation. The same models as described for the primary objective were used.

The Spearman's correlation coefficient (ρ) was used to assess the link between the Hasenclever and the fertility outcomes parameters, in the subgroup of advanced HL.

Data were analyzed using the SAS software (SAS Institute Inc, Cary, NC, USA) and all statistical tests were performed with a 2-tailed alpha risk of 0.05.

Results

Population characteristics

Patients' characteristics are enclosed in Table 2 and 3. The mean age was 23.6 ± 4.6 years, the mean BMI was 23.3 ± 4.3 . Nodular sclerosis classical Hodgkin lymphoma was the most common histological subtype (87.0%). More than two-thirds of patients were in GHSG III group, 10% in GHSG I and 22% in GHSG II. Only 13 patients (17.3%) received corticosteroid before oocyte stimulation to relieve lymph-node associated pain or other symptoms. The median collection period was 35 days (IQR: 23 – 49). The median range of CRP was 38 mg/L (IQR: 12 – 68).

At the end of follow-up, 4 patients relapsed (all of them in the GHSG III group) and 1 died from disease progression.

Thirty-four patients (43%) using hormonal contraception before stimulation. More than three-quarters of patients began the oocyte preservation during the follicular period.

The median blood concentration of AMH was 16.9 pg/ml (IQR: 8.9 – 25.5) and average Antral Follicular Count (AFC) was 22.8 ± 11.2 .

The median stimulation duration was 11 days (IQR: 10 – 12).

The median number of oocytes retrieved was 10 (IQR: 5 – 17) and the median number of M2 was 7 (IQR: 4 – 11).

	Overall population N=79	GHSG I + II N=25	GHSG III N=53	P value
Age, years – average ± SD	23.6 ± 4.6	24.6 ± 5.7	22.8 ± 3.7	0.17
BMI - average ± SD	23.3 ± 4.3	25.1 ± 5.4	22.4 ± 3.5	0.029
Smoking	20 (33.9)	5 (21.7)	15 (42.9)	0.098
Performance Status				
0	44 (55.7)	14 (56.0)	30 (56.6)	0.96
1	34 (44.3)	11 (44.0)	23 (43.4)	
Histology, Scleronodular	66 (87.0)	21 (87.5)	45 (86.5)	1.00
Presence of B symptoms	41 (52.6)	5 (20.8)	36 (67.9)	<0.001
Ann Arbor stage				
I	4 (5.0)	4 (16.0)	0 (0.0)	
II	30 (38.0)	21 (84.0)	8 (15.1)	
III	26 (32.9)	0 (0.0)	26 (49.1)	
IV	19 (24.1)	0 (0.0)	19 (35.8)	
GHSG				
I	8 (10.3)			
II	17 (21.8)			
III	53 (67.94)			
CTC before CT	13 (17.3)	4 (16.7)	9 (18)	1.00
CRP, mg/L – median (IQR)	37.5 (12-68)	28 (7-40)	47 (13-82)	0.096
Collection period, days – median (IQR)	35 (23-49)	34 (27-43)	36 (21-50)	1.00
Relapse	4 (5.3)	0 (0.0)	4 (7.8)	
Death	1 (1.3)	0 (0.0)	1 (1.9)	

Table 2: Patients' general and hematological characteristics

Values are presented as n(%) unless otherwise indicated. Abbreviations: SD: Standard Deviation; GHSG: German Hodgkin Study Group; BMI: Body Mass Index; CTC: corticotherapy; CT:chemotherapy; CRP: C Reactive Protein; IQR: Interquartile Range

	Overall population N=79	GHSG I + II N=25	GHSG III N=53	P value
Use of contraception before FP	34 (43.0)	10 (40.0)	24 (45.3)	
Days of the cycle				
Follicular period	48 (76.6)	13 (65.0)	35 (81.4)	
Luteal period	15 (23.4)	7 (35.0)	8 (18.6)	
AMH, pg/mL – median (IQR)	16.9 (8.9-25.5)	19.9 (12.7-30.3)	15.2 (8.4-21.1)	0.11
AFC – average ± SD	22.8 ± 11.2	22.4 ± 11.6	23.3 ± 10.9	0.75
Type of stimulation				
Recombinant FSH	27 (37.5)	6 (24.0)	21 (41.2)	
hMG	49 (64.5)	19 (66.0)	30 (58.9)	
Start dose of gonadotropin (IU) – median (IQR)	275.0 (225.0-300.0)	300.0 (225-300)	262.5 (225-300)	
Number of days of stimulation – median (IQR)	11 (10-12)	11.0 (10-11)	11.0 (10-13)	
Total gonadotropin dose (IU) – median (IQR)	3000 (2250-3750)	2800 (2325-3300)	3050 (2250-3950)	
Trigger day				
GnRH + HCG	26 (35.6)	9 (37.5)	17 (35.4)	
GnRH	17 (23.3)	4 (16.7)	13 (27.1)	
HCG	29 (41.1)	11 (45.8)	18 (37.5)	
Estradiol at trigger day – median (IQR)	1746 (852-2650)	2017 (1602-3185)	1324 (815-2306)	
Number of follicles - median (IQR)				
<12 mm	2.0 (0-4)	1.0 (0-4)	2.0 (0-4)	
12-15 mm	6.0 (3-8)	6.0 (5-13)	6.0 (2-8)	
>15 mm	9.0 (6-13)	8.0 (7-13)	9.0 (6-12)	
Number of oocytes - median (IQR)				
Lysed	2.0 (0-4)	3.0 (0.5-5)	2.0 (0-4)	
Metaphase 1	0.0 (0-1)	0.0 (0-1)	0.0 (0-1)	
Metaphase 2	7.0 (4-11)	9.0 (4-13)	6.0 (3-10)	
Retrieval	10.0 (5-17)	12.5 (8-17.5)	9.0 (5-15)	
Frozen	8.0 (4-12)	9.0 (6-13)	7.0 (3-12)	

Table 3: Patients' gynecological characteristics

Values are presented as n(%) unless otherwise indicated. Abbreviations: FP: Fertility Preservation; AMH: Anti-Müllerian hormone; IQR: Interquartile Range; AFC: Antral Follicle Count; SD: Standard Deviation; FSH: Follicle-stimulating hormone; GnRH: Gonadotropin-releasing hormone; HCG: Human chorionic gonadotropin; GHSG: German Hodgkin Study Group.

Associated factors of ovarian response to stimulation

Among the known factors correlating to ovarian response, only AMH was significantly associated with the number of oocytes M2 in our population (RR = 1.63 (1.20 to 2.22), p=0.002).

AMH and age were significantly associated with estradiol level at trigger day ($\beta_{1 \log\text{-AMH increase}} = 0.50$ (95%CI 0.23 to 0.77) p<0.001 and $\beta_{4\text{-year increase}} = 0.14$ (0.01 to 0.28) p=0.041). The total dose of gonadotropin did not reach the significance level (p=0.082) (**Table 4**).

AMH and total dose of gonadotropin were significantly associated with the number of follicles >15mm (RR_{1 log-AMH increase} = 1.34 (1.08 to 1.64), p= 0.005 and RR_{1000 IU-increase} = 0.87 (0.76 to 0.99), p=0.041), and with the number of oocytes retrieved (RR_{1 log-AMH increase} = 1.46 (1.12 to 1.90), p= 0.005 and RR_{1000 IU-increase} = 0.80 (0.67 to 0.95), p=0.011) (**Table 4**). The relation between BMI and the number of follicles >15mm did not reach the significance level (RR_{4 kg.m⁻²-increase} = 1.10 (0.99 to 1.22), p=0.056).

	Estradiol at trigger day		Follicles>15mm		oocytes M2		Oocytes retrieved	
	β (95% CI)	p	RR (95% CI)	p	RR (95% CI)	p	RR (95% CI)	p
Age^a	0.14 (0.006 to 0.28)	0.041	1.01 (0.91 to 1.13)	0.82	1.09 (0.93 to 1.27)	0.29	0.98 (0.85 to 1.12)	0.73
BMI^b	0.04 (-0.10 to 0.19)	0.54	1.10 (0.99 to 1.22)	0.056	1.03 (0.89 to 1.20)	0.67	1.05 (0.92 to 1.20)	0.45
Total dose of gonadotropin^c	-0.16 (-0.34 to 0.02)	0.082	0.87 (0.76 to 0.99)	0.041	0.85 (0.69 to 1.03)	0.098	0.80 (0.67 to 0.95)	0.011
AMH^d	0.50 (0.23 to 0.77)	<0.001	1.34 (1.08 to 1.64)	0.005	1.63 (1.20 to 2.22)	0.002	1.46 (1.12 to 1.90)	0.005

Table 4: Multivariable models of factors associated with fertility preservation outcomes

^a β and Relative Risk are expressed for 4 year-increase

^b β and Relative Risk are expressed for 4 kg.m⁻²-increase

^c β and Relative Risk are expressed for 1000 IU-increase

^d AMH was analyzed after log-transformation, β and Relative Risk are expressed for 1 log-AMH-increase

Abbreviations: 95% CI: 95% Confidence Interval; RR: Relative Risk; BMI: body mass index; AMH: Anti-mullerian hormone

No known factors (age, BMI, total dose of gonadotrophin) were statistically associated with maturation rate or the ratio of M2/follicles > 15mm (**Table 5**).

	Maturation rate		Ratio M2/Follicles>15mm	
	RR (95% CI)	p	β (95% CI)	p
Age	1.08 (0.98 to 1.18)	0.091	-0.05 (-0.33 to 0.23)	0.74
BMI	0.99 (0.91 to 1.07)	0.77	0.04 (-0.25 to 0.34)	0.77
Total dose of gonadotropin	1.06 (0.94 to 1.18)	0.32	0.08 (-0.26 to 0.45)	0.68
AMH	1.13 (0.94 to 1.35)	0.19	0.24 (-0.31 to 0.80)	0.38

Table 5: Multivariable models of factors associated with maturation rate and Ratio M2/Follicles>15mm

^a β and Relative Risk are expressed for 4 year-increase

^b β and Relative Risk are expressed for 4 kg.m²-increase

^c β and Relative Risk are expressed for 1000 IU-increase

^d AMH was analyzed after log-transformation, β and Relative Risk are expressed for 1 log-AMH-increase

Abbreviations: 95% CI: 95% Confidence Interval; RR: Relative Risk; BMI: body mass index; AMH: Anti-mullerian hormone

Impact of GHSG and Hasenclever on the ovarian response to stimulation

Clinical, hematological, and gynecological characteristics are described according to GHSG I+II vs GHSG III in Tables 2 and 3. We found not statistically differences between the 2 groups according to age, smoking, performance status, histology. We found that GHSG III had lower BMI than GHSG I+II (22.4 ± 3.5 vs 25.1 ± 5.4 , $p=0.029$) and more presence of B symptoms (67.9% vs 20.8%, $p<0.001$). The CRP level was higher in the GHSG III while AMH was lower than GHSG I+II but did not reach the significance level (median (IQR) of CRP : 47 (13 – 82) vs 28 (7 – 40), $p=0.096$; median (IQR) of AMH : 15.2 (8.4 – 21.1) vs 19.9 (12.7 – 30.3), $p=0.11$).

As shown in Table 6, there was no significant relationship between GHSG and the number of M2 (RR = 0.82 (0.56 to 1.19) $p=0.30$, $p_{adjusted}=0.79$). Similarly, the fertility preservation outcomes were not significantly affected by GHSG.

		GHSG III vs GHSG I+II (ref)			
		Without adjustment	p	With adjustment*	p
Estradiol at trigger day	β (95% CI)	-0.34 (-0.73 to 0.04)	0.07	-0.06 (-0.04 to 0.28)	0.73
Follicles>15mm	RR (95% CI)	0.92 (0.70 to 1.20)	0.54	0.88 (0.69 to 1.12)	0.31
M2	RR (95% CI)	0.82 (0.56 to 1.19)	0.30	0.96 (0.68 to 1.34)	0.79
Oocytes retrieved	RR (95% CI)	0.84 (0.59 to 1.18)	0.31	0.92 (0.67 to 1.24)	0.57
Maturation rate	RR (95% CI)	0.99 (0.83 to 1.17)	0.88	0.99 (0.81 to 1.19)	0.88
M2/Follicles>15mm	β (95% CI)	-0.28 (-0.60 to 0.03)	0.07	-0.21 (-0.55 to 0.13)	0.21

Table 6: Evaluation of GHSG on fertility preservation outcomes

*Adjusted for age, BMI, Total dose of gonadotropin, AMH

Abbreviations: 95% CI: 95% Confidence Interval; RR: Relative Risk

We performed a subgroup analysis, only in advanced HL, to assess the relationship of Hasenclever index, also called IPS, with fertility preservation outcomes. Out of 53 patients in the advanced group, 43 only had data to determine the Hasenclever score and were thus used in our subgroup analysis. The most frequent IPS was 1 (N=12, 28%). Because two factors of Hasenclever index were not represented in our cohort (age > 45 years and male sexe) the higher IPS score was 5. We found a significant association between IPS and the level of Estradiol at trigger day ($\rho = -0.36$ (95%CI -0.61 to -0.02) $p=0.034$) and the number of follicles > 15mm ($\rho = -0.44$ (95%CI -0.65 to -0.09) $p=0.010$) (**Table 7 and Figures 1 and 2**). The correlation coefficient being negative between IPS and fertility preservation outcomes, higher IPS is associated with lower level of Estradiol and lower number of follicles > 15mm.

	Hasenclever index = IPS	
	ρ (95% CI)	p
Estradiol at trigger day	-0.36 (-0.61 to -0.02)	0.034
Follicles>15mm	-0.44 (-0.65 to -0.09)	0.010
M2	-0.31 (-0.57 to 0.03)	0.068
Oocytes retrieved	-0.23 (-0.51 to 0.11)	0.17
Maturation rate	-0.14 (-0.44 to 0.20)	0.41
M2/Follicles>15mm	-0.03 (-0.35 to 0.30)	0.88

Table 7 : Evaluation of IPS on fertility preservation outcomes

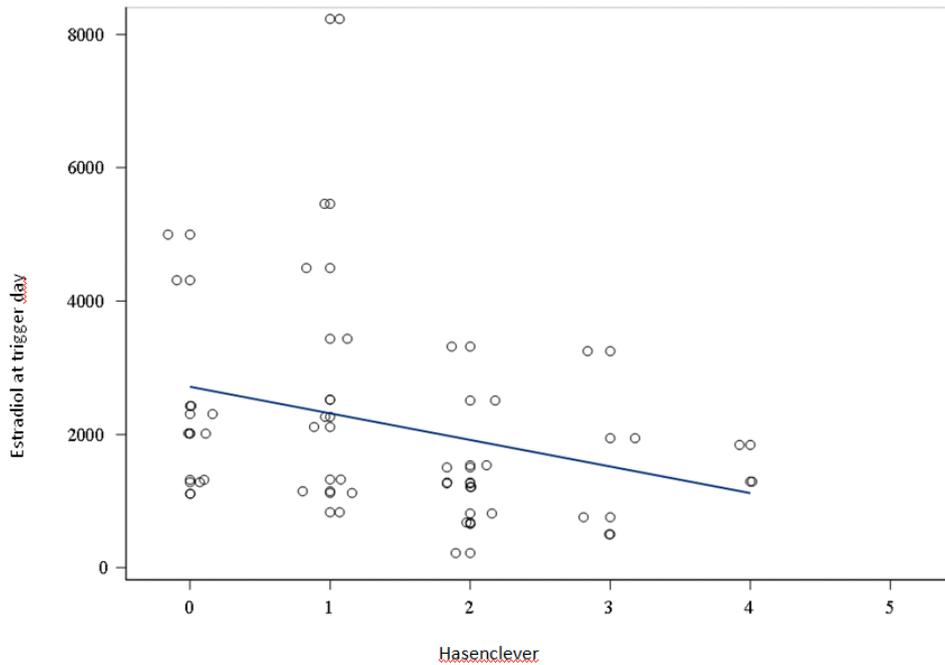


Figure 1 Correlation between Hasenclever score and Estradiol lever at trigger day

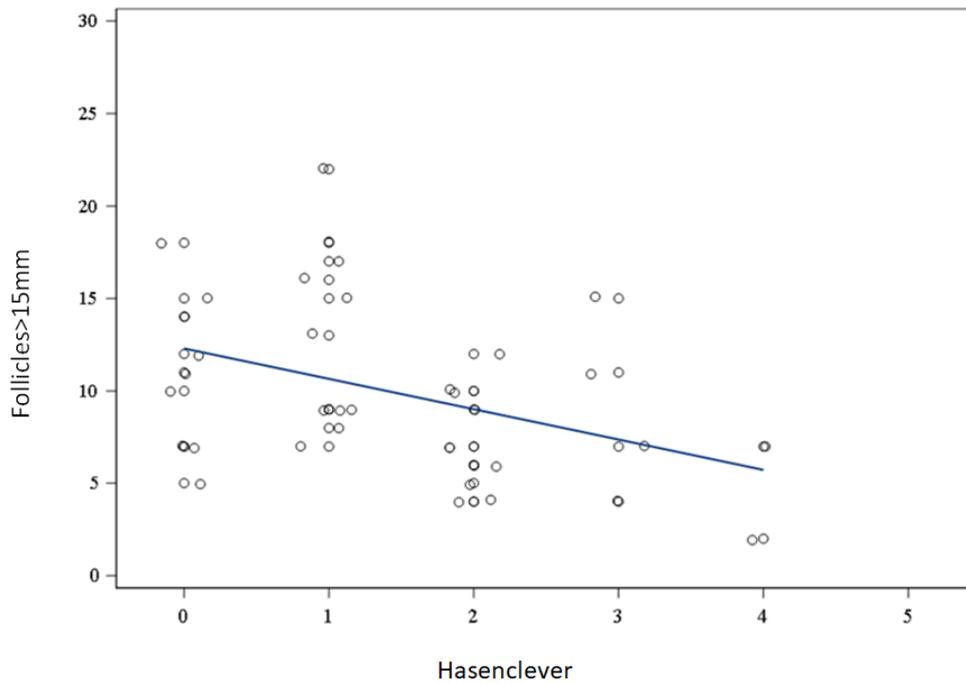


Figure 2 Correlation between Hasenclever score and Follicles > 15mm

Discussion

In our HL's cohort, patients in GHSG I and II were less represented because of lower gonadic risk of ABVD regimen. Currently, in Lille University Hospital, only patients which will received BEACOPP regimen consult for fertility preservation. We found

lower BMI in GHSG III which could be explained by significantly higher B symptoms in this group. The two stimulation protocols used (hMG or recombinant FSH), have equivalent efficacy according the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE) (17). Based on the ESHRE recommendations, all patients were treated with an agonist protocol using GnRH, hCG or combination of GnRH and hCG to induce ovulation (7). The median of total oocytes retrieved was 10 corresponding to the limit for an optimal ovarian response to stimulation in the POSEIDON classification for poor ovarian response (18).

The AMH level was found to be the only independent predicting factor of the number of retrieved metaphase 2 oocytes after stimulation in our cohort. Age is one of the most important factors influencing the ovarian response to stimulation and is not associated with the oocyte yield in our cohort. All patients included in the study were young with only one patient aged older than 35 years.

We used standardized prognostic scores, namely GHSG and IPS, to evaluate their impact of oocyte cryopreservation on pretreatment HL. We found that GHSG did not affect fertility preservation outcomes, especially the number of mature oocytes. However, IPS seemed to be correlated with the number of follicles > 15mm and the Estradiol level on trigger day. These results need to be confirmed in a bigger population of HL.

To the best of our knowledge, our study is the first one to use a standardized prognostic score to evaluate the impact of HL on oocyte cryopreservation. Our work presents new data and adds knowledge to previous studies from Sonigo *et al* (10) and Volodarsky-Perel *et al* (13). Strengths of our study are the use of a homogeneous population of pretreatment HL including patients from GHSG groups I,

II and III as well as the multivariate nature of our analysis, performed with well-established parameters known to impact the quality of ovarian stimulation, hence limiting confounding bias. Limitations remain in its retrospective nature and limited population size. In addition, because we did not have information about the beginning nor the duration of the corticosteroid treatment, it was not considered in our study. On the other hand, use of contraception was not presented in our study for the same reasons as corticosteroids (no information about the duration and a different time of wash out before stimulation). Nevertheless, we performed the same analysis, not present here, with contraception as confounding factor, and the results were identical. The Hasenclever subgroup analysis was performed in a small population and was not adjusted.

As described previously, the studies of Lawrenz *et al* (11), and Lekowich *et al* (12) have shown that HL has a negative impact on the oocyte yield with a lower number of retrieved oocytes compared to a control group of non-lymphoma patients. These results may be explained by the importance of chemokines- and cytokines-mediated inflammation in HL. The major players of inflammation observed in HL are interleukin 6 (IL-6) and interleukin 2 (IL-2) produced by both HRS and surrounding reactive cells. Paradisi *et al* (16) found a correlation between IL-6 and AMH levels in HL patients. Higher IL-6 was associated with lower AMH level, suggesting that the lower response to stimulation in HL patient, could be explained by the pro-inflammatory cytokine HL's profile.

In addition, studies of Marri *et al* (19) and Casasnovas *et al* (20), found that cytokines levels are independent prognostic factors for HL's relapse. However, these are not included in standardized prognostic risk factors. In the GHSG classification, inflammation is only represented via a single binary parameter: the erythrocyte

sedimentation rate. To overcome this limitation, Casasnova *et al* developed a prognostic score named Cytokine Prognostic Index (CPI). CPI appears to be independent to the different international prognostic scores including GHSG for early stages and Hasenclever index for advanced stages. CPI represents the cytokine signature of HL and is based on the level of CD30, IL-6, and IL-RA. Because the dosage of IL-6, IL-RA and CD30 are not performed routinely and due to the retrospective nature of our study, we lack these parameters and could not include them in our analysis. In future work, it could be interesting to evaluate if CPI is correlated with the oocyte yield.

In conclusion, our results showed that, in pretreatment HL patients, AMH level was a strong factor predicting the response to ovarian stimulation. GHSG prognostic score was not a predictive factor of the number of M2. Advanced stages were not associated with poorer response to oocyte preservation. However, in this population of advanced stages, Hasenclever index seemed to be associated with oocyte yield. The risk benefit balance is to propose to each patient with newly HL diagnosis, which will receive gonadotoxicity protocol such as BEACOPP regimen, an oocyte preservation. The time to retrieve oocytes before the first hematological visit was short, the complications of stimulation were low. Only one patient had thromboembolic complications in our cohort and no ovarian hyperstimulation syndrome was observed. Notably, the patient who suffered pulmonary embolism during stimulation had a bulky mass, a prominent risk factor for thrombotic complications on its own. In our cohort, median retrieved oocyte was satisfactory, evaluated at 10 oocytes.

To conclude, all patients, regardless of their prognostic score, should be offered ovarian stimulation as fertility preservation option. GHSG prognostic score did not

impact preservation outcomes, possibly because it is not the best score to evaluate inflammation in HL. Hasenclever index includes indirect factors reflecting the inflammatory profile of HL with anemia, leukocytosis, and lymphopenia. In advanced HL, elevated Hasenclever index seems to be correlated with lower response to ovarian stimulation. We hypothesize that the plasma cytokine signature may be better correlated with AMH levels and the quality of ovarian response to stimulation. This hypothesis warrants further study including inflammation parameters.

Research Support

This study was not endorsed by a research grant.

Authors contribution

CC, CD, VS and MN designed the study. HB was responsible for statistical analysis.

CC, CD, VS and MN analyzed study results. All authors read and approved the manuscript.

Disclosure and conflicts of interest

The authors have no conflicts of interest to declare.

Bibliography

1. Estimations nationales de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine entre 1990 et 2018. Volume 2 – Hémopathies malignes. Étude à partir des registres des cancers du réseau Francim. :169.
2. RAPPORT PEDIATRIE 2e édition DEF.pdf.
3. Townsend W, Linch D. Hodgkin's lymphoma in adults. *Lancet Lond Engl*. 1 sept 2012;380(9844):836-47.
4. Therapie - GHSG - German Hodgkin Study Group [Internet]. [cité 30 janv 2022]. Disponible sur: <https://www.ghsg.org/therapie>
5. Lambertini M, Peccatori FA, Demeestere I, Amant F, Wyns C, Stukenborg JB, et al. Fertility preservation and post-treatment pregnancies in post-pubertal cancer patients: ESMO Clinical Practice Guidelines†. *Ann Oncol*. déc 2020;31(12):1664-78.
6. Anderson RA, Remedios R, Kirkwood AA, Patrick P, Stevens L, Clifton-Hadley L, et al. Determinants of ovarian function after response-adapted therapy in patients with advanced Hodgkin's lymphoma (RATHL): a secondary analysis of a randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol*. oct 2018;19(10):1328-37.
7. The ESHRE Guideline Group on Female Fertility Preservation, Anderson RA, Amant F, Braat D, D'Angelo A, Chuva de Sousa Lopes SM, et al. ESHRE guideline: female fertility preservation†. *Hum Reprod Open*. 3 oct 2020;2020(4):hoaa052.
8. Quinn MM, Cakmak H, Letourneau JM, Cedars MI, Rosen MP. Response to ovarian stimulation is not impacted by a breast cancer diagnosis. *Hum Reprod Oxf Engl*. 1 mars 2017;32(3):568-74.
9. von Wolff M., Bruckner T, Strowitzki T, Germeyer A. Fertility preservation: ovarian response to freeze oocytes is not affected by different malignant diseases—an analysis of 992 stimulations. *J Assist Reprod Genet*. sept 2018;35(9):1713-9.
10. Sonigo C, Comtet M, Duros S, Sifer C, Sermondade N, Grynberg M. Antral follicle responsiveness to FSH, assessed by the follicular output rate (FORT), is altered in Hodgkin's lymphoma when compared with breast cancer candidates for fertility preservation. *J Assist Reprod Genet*. janv 2018;35(1):91-7.
11. 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.
12. Lekovich J, Lobel ALS, Stewart JD, Pereira N, Kligman I, Rosenwaks Z. Female patients with lymphoma demonstrate diminished ovarian reserve even before

- initiation of chemotherapy when compared with healthy controls and patients with other malignancies. *J Assist Reprod Genet.* mai 2016;33(5):657-62.
13. Volodarsky-Perel A, Tulandi T, Son WY, Khojah M, Buckett W. Impact of extent and biochemical parameters of lymphoma on fertility preservation outcome. *Fertil Steril.* févr 2020;113(2):400-407.e1.
 14. Tsang RW, Hodgson DC, Crump M. Hodgkin's Lymphoma. *Curr Probl Cancer.* mai 2006;30(3):107-58.
 15. Demir B, Guven S, Guven ESG, Atamer Y, Gul T. Serum IL-6 level may have role in the pathophysiology of unexplained infertility. *Am J Reprod Immunol N Y N* 1989. oct 2009;62(4):261-7.
 16. Paradisi R, Vicenti R, Macciocca M, Seracchioli R, Rossi S, Fabbri R. High cytokine expression and reduced ovarian reserve in patients with Hodgkin lymphoma or non-Hodgkin lymphoma. *Fertil Steril.* oct 2016;106(5):1176-82.
 17. Bosch E, Broer S, Griesinger G, Grynberg M, Humaidan P, Kolibianakis E, et al. ESHRE guideline: ovarian stimulation for IVF/ICSI†. *Hum Reprod Open.* 1 mai 2020;2020(2):hoaa009.
 18. Alviggi C, Andersen CY, Buehler K, Conforti A, De Placido G, Esteves SC, et al. A new more detailed stratification of low responders to ovarian stimulation: from a poor ovarian response to a low prognosis concept. *Fertil Steril.* juin 2016;105(6):1452-3.
 19. Marri PR, Hodge LS, Maurer MJ, Ziesmer SC, Slager SL, Habermann TM, et al. Prognostic Significance of Pretreatment Serum Cytokines in Classical Hodgkin Lymphoma. *Clin Cancer Res.* 15 déc 2013;19(24):6812-9.
 20. Casasnovas RO, Mounier N, Brice P, Divine M, Morschhauser F, Gabarre J, et al. Plasma Cytokine and Soluble Receptor Signature Predicts Outcome of Patients With Classical Hodgkin's Lymphoma: A Study From the Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte. *J Clin Oncol.* 1 mai 2007;25(13):1732-40.

DISCUSSION

L'objectif de notre étude était d'évaluer l'impact du LH sur la réponse à la stimulation ovarienne dans le cadre d'une préservation de la fertilité en pré-chimiothérapie. Il y a peu d'études dans la littérature sur le sujet, celles de Lawrenz *et al* (48) et Lekovich *et al* (49) sont en faveur d'une moins bonne réponse à la stimulation ovarienne chez les patientes LH en comparaison à un groupe contrôle. Concernant l'impact de l'agressivité du LH sur la qualité du recueil ovocytaire, nous n'avons trouvé que deux études (45,47) avec des résultats discordants et aucune n'utilisait des scores pronostiques standardisés. Pour répondre à cette question, nous nous sommes basés sur deux scores pronostic internationaux, le GHSG et l'IPS, afin de déterminer s'ils étaient prédictifs du nombre d'ovocytes matures obtenus après stimulation ovarienne. Nous nous sommes également intéressés à l'association des facteurs prédictifs connus comme ayant un impact sur la réponse à la stimulation : l'âge, l'AMH, l'IMC et la dose totale de gonadotrophines utilisée dans notre population homogène de patientes LH.

Les scores pronostics dans le LH sont corrélés à la survie globale et sans progression mais ont surtout été développés afin de définir des groupes de traitements.

Dans notre étude, le score GHSG n'est pas corrélé au rendement ovocytaire lors de la stimulation ovarienne. L'hypothèse d'une moins bonne réponse à la stimulation ovarienne dans le LH est basée principalement sur le rôle toxique des cytokines pro-inflammatoires sur la fonction gonadique. En effet, une des caractéristiques histologiques majeures du LH repose sur la richesse de son microenvironnement tumoral en cellules inflammatoires, représentant plus de 90% de la tumeur. Le score

GHSG n'est pas un bon reflet de l'activité inflammatoire du LH. Seule la VS est prise en compte et n'est pas corrélée directement aux cytokines pro-inflammatoires.

Dans notre analyse en sous-groupe concernant les LH de stade avancé, le score IPS semble corrélé de manière négative à certains paramètres de réponse à la stimulation ovarienne. Un score IPS élevé est associé à un moins bon pronostic avec diminution de la survie sans progression et de la survie globale. Dans notre étude, plus le score est élevé, plus la réponse ovarienne est faible avec un taux d'estradiol le jour du déclenchement et un nombre de follicules supérieurs à 15 mm plus bas.

Cette discordance avec le score GHSG peut s'expliquer par une meilleure corrélation du score IPS au profil inflammatoire des LH. Le score IPS tient compte notamment de l'anémie, de la lymphopénie et de la leucocytose.

Ces premières données sont importantes car les patientes avec un LH de stade étendu sont les plus concernées par les questions de préservation de la fertilité du fait de l'utilisation de protocole de chimiothérapie toxique sur la fonction gonadique, le BEACOPP, contrairement aux stades localisés qui reçoivent de l'ABVD. Il est important de noter que malgré la toxicité ovarienne du BEACOPP, 10 patientes dans notre étude ayant bénéficié de ce protocole ont eu une grossesse spontanée. Parmi ses 10 patientes 7 n'ont cependant reçues que 2 cures de BEACOPP car le TEP après deux cures étaient en faveur d'une réponse complète permettant une désescalade vers de l'ABVD. Il pourrait être intéressant d'évaluer l'impact d'autres scores pronostiques du LH, notamment le score Cytokine Prognostic Index (CPI) développé par Casasnovas *et al*, beaucoup moins connu car non utilisé en pratique clinique, mais directement corrélé au profil inflammatoire des LH (61).

Concernant les facteurs validés comme ayant un impact sur la réponse à la stimulation ovarienne, nous avons trouvé que seule l'AMH était un facteur influençant de manière statistiquement significative le nombre d'ovocytes en métaphase 2 recueillis. Plus l'AMH est basse, plus le nombre d'ovocytes matures obtenus est faible. La dose totale de gonadotrophine et l'AMH étaient également associées de manière significative avec le nombre d'ovocytes totaux recueillis et le nombre de follicules supérieurs à 15mm. La corrélation entre la dose totale de gonadotrophine et les paramètres de réponse à la stimulation est négative. Une dose de gonadotrophine plus importante est nécessaire pour obtenir un nombre d'ovocytes recueillis plus faible. Cette association peut s'expliquer par l'impact de l'AMH et de l'âge de la patiente dans le choix de la dose de stimulation. Les patientes avec une AMH plus basse, correspondant à une réserve fonctionnelle ovarienne plus faible, sont considérées comme potentiellement moins bonnes répondeuses à la stimulation ovarienne. Ces patientes bénéficient alors d'une dose de FSH de départ plus élevée.

Plusieurs études ont retrouvé un taux d'AMH plus bas avant même de débiter la chimiothérapie chez les patientes avec un LH (49,51). De plus l'étude de Paradisi *et al*/ retrouvait une corrélation négative entre le taux de certaines cytokines dont l'interleukine 2 et l'interleukine 6, avec le taux d'AMH (51). La diminution de l'AMH chez les patientes LH serait expliquée par l'augmentation des cytokines pro-inflammatoires, appuyant notre hypothèse de l'impact négatif du profil cytokinique du lymphome sur la réponse à la stimulation ovarienne.

Enfin, la question selon laquelle les patientes LH sont considérées comme mauvaises répondeuses à la stimulation ovarienne reste en suspens.

Les critères de mauvaise réponse à la stimulation ovarienne sont restés pendant longtemps très hétérogènes d'une étude à l'autre. Un premier consensus pour définir ces patientes mauvaises répondeuses a été réalisé lors d'une conférence de l'ESHRE à Bologne en 2010 (62). Deux des trois critères suivants ont été retenus pour le diagnostic de mauvaise réponse à la stimulation ovarienne :

- Âge maternel supérieur ou égale à 40 ans ou un autre facteur de risque de mauvaise réponse ovarienne
- Un antécédent de mauvaise réponse ovarienne définie par ≤ 3 ovocytes recueillis après un protocole conventionnel de stimulation ovarienne
- Un test de réserve ovarienne anormal défini par un CFA $< 5-7$ follicules ou un taux AMH $< 0.5-1.1$ ng/ml équivalent à $< 3,56-7,84$ pmol/l.

Plus récemment, est apparue en 2016, la classification de POSEIDON (Patient-Oriented Strategy Encompassing Individualized Oocyte Number) (63). Celle-ci définit les patientes mauvaises répondeuses en 4 groupes qui tiennent compte de l'âge, du CFA, du taux d'AMH et des antécédents de réponse à un cycle de stimulation. Les patientes des groupes 1 et 2 ont une bonne réserve ovarienne (CFA ≥ 5 et/ou AMH $> 1,2$ ng/ml soit $> 8,55$ pmol/l) mais ont un antécédent de mauvaise réponse à un cycle de stimulation définis par moins de 10 ovocytes recueillis (**Tableau 10**). Par définition, le terme de mauvaise répondeuse nécessite la réalisation d'un cycle de stimulation pour poser le diagnostic. Néanmoins il est admis que les patientes, quel que soit leur âge, peuvent être qualifiées de mauvaise répondeuse en cas de réserve ovarienne basse, évaluée sur le CFA ou l'AMH.

	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3	Groupe 4
Age	<35ans	>35ans	<35ans	>35ans
CFA	≥ 5	≥ 5	<5	<5
AMH	>1,2 ng/ml	>1,2 ng/ml	<1.2 ng/ml	<1.2 ng/ml
Réponse à la stimulation	sub-optimale	sub-optimale		

Tableau 10 : Les quatre groupes de patients mauvaises répondeuses à la stimulation ovarienne selon la classification de POSEIDON

En appliquant les critères de POSEIDON à notre cohorte, 50% de nos patientes avec un LH, soit 39 sur 78, sont des patientes mauvaises répondeuses :

- 18 patientes dans le groupe 1 : patiente jeune avec une bonne réserve ovarienne mais avec une réponse sub-optimale après un cycle de stimulation soit moins de 10 ovocytes recueillis,
- 1 patiente dans le groupe 2 : patiente de plus de 35 ans avec une bonne réserve ovarienne mais avec une réponse sub-optimale après un cycle de stimulation,
- 19 patientes dans le groupe 3 : patiente jeune avec une mauvaise réserve ovarienne définie par une AMH <1.2ng/L,
- 1 patiente dans le groupe 4 : patiente de plus de 35 ans avec une mauvaise réserve ovarienne définie par une AMH <1.2ng/L.

Malgré la médiane d'âge jeune de notre cohorte, la moitié des patientes sont des patientes appartenant au groupe POSEIDON considéré comme mauvaises répondeuses à la stimulation ovarienne. De plus, on remarque que 19 patientes considérées comme telles selon la classification POSEIDON appartenaient au groupe 1 et 2. Ces 19 patientes avaient une bonne réserve ovarienne marquée par une AMH > 1,2 ng/L et ont malgré tout obtenu une réponse ovarienne insuffisante avec moins

de 9 ovocytes recueillis. Si le profil cytokinique inflammatoire des LH semble jouer un rôle dans la mauvaise réponse ovarienne en diminuant notamment le taux d'AMH d'autres mécanismes plus complexes semblent être impliqués.

En conclusion, la préservation de la fertilité avant l'utilisation de chimiothérapies toxiques sur la fonction gonadique est un enjeu de santé publique. Dans une telle démarche s'intégrant dans un rôle de prévention, le rôle d'information des patientes est au centre de la prise en charge. Pouvoir prédire de manière individuelle, qu'elle sera la réponse à la stimulation ovarienne est difficile et les études évaluant le rôle du LH sur la réponse à la stimulation sont peu nombreuses avec des résultats parfois contradictoires. En se basant sur nos résultats, l'AMH est un bon marqueur indépendant corrélé au nombre d'ovocytes en métaphase 2 recueillis. Toutes les patientes jeunes indiquée au protocole BEACOPP doivent être adressées en consultation de préservation de la fertilité quel que soit leur pronostic, à l'exception des patientes nécessitant une prise en charge thérapeutique urgente. Il y a eu très peu de complications de la stimulation ovarienne. Une patiente seulement a présenté une complication thromboembolique et aucun syndrome d'hyperstimulation ovarienne n'a été observé. Le score pronostic GHSG n'a pas d'impact sur le rendement ovocytaire. En revanche, pour les lymphomes de Hodgkin avancés, le score IPS semblerait être corrélé à certains paramètres de réponse à la stimulation ovarienne : le taux d'Estradiol le jour du déclenchement et le nombre de follicules supérieurs à 15mm. Cette information est importante et mérite d'être confirmée par des études à plus grande échelle. En effet, la population des lymphomes avancés représente celle qui recevra la chimiothérapie la plus toxique sur la fonction gonadique. Cette discordance sur l'impact des scores pronostics sur la qualité du recueil ovocytaire peut être expliqué par le reflet plus important du score IPS sur le profil inflammatoire des patientes.

BIBLIOGRAPHIE

1. Alaggio R, Amador C, Anagnostopoulos I, Attygalle AD, Araujo IB de O, Berti E, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. *Leukemia*. juill 2022;36(7):1720-48.
2. Estimations nationales de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine entre 1990 et 2018. Volume 2 – Hémopathies malignes. Étude à partir des registres des cancers du réseau Francim. :169.
3. Synthèse_Estimations nationales incidence et mortalité par cancer_juillet_2019.pdf.
4. Brice P, de Kerviler E, Friedberg JW. Classical Hodgkin lymphoma. *The Lancet*. oct 2021;398(10310):1518-27.
5. RAPPORT PEDIATRIE 2e édition DEF.pdf.
6. Stone MJ. Thomas Hodgkin: medical immortal and uncompromising idealist. *Proc Bayl Univ Med Cent*. oct 2005;18(4):368-75.
7. Townsend W, Linch D. Hodgkin's lymphoma in adults. *Lancet Lond Engl*. 1 sept 2012;380(9844):836-47.
8. Tsang RW, Hodgson DC, Crump M. Hodgkin's Lymphoma. *Curr Probl Cancer*. mai 2006;30(3):107-58.
9. Diagnosis of Hodgkin lymphoma in the modern era - PubMed [Internet]. [cité 19 janv 2022]. Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov.ressources-electroniques.univ-lille.fr/30407610/>
10. Weniger MA, Küppers R. Molecular biology of Hodgkin lymphoma. *Leukemia*. 2021;35(4):968-81.
11. Matsuki E, Younes A. Lymphomagenesis in Hodgkin lymphoma. *Semin Cancer Biol*. oct 2015;34:14-21.
12. Küppers R, Engert A, Hansmann ML. Hodgkin lymphoma. *J Clin Invest*. 1 oct 2012;122(10):3439-47.
13. Weniger MA, Küppers R. NF- κ B deregulation in Hodgkin lymphoma. *Semin Cancer Biol*. août 2016;39:32-9.
14. Hohaus S, Giachelia M, Cuccaro A, Voso MT, Leone G. Iron in Hodgkin's lymphoma. *Crit Rev Oncog*. 2013;18(5):463-9.
15. Cheson BD, Fisher RI, Barrington SF, Cavalli F, Schwartz LH, Zucca E, et al. Recommendations for Initial Evaluation, Staging, and Response Assessment of Hodgkin and Non-Hodgkin Lymphoma: The Lugano Classification. *J Clin Oncol*. 20 sept 2014;32(27):3059-67.

16. Eghbali H, Raemaekers J, Carde P, EORTC Lymphoma Group. The EORTC strategy in the treatment of Hodgkin's lymphoma. *Eur J Haematol Suppl.* juill 2005;(66):135-40.
17. Hasenclever D, Diehl V. A prognostic score for advanced Hodgkin's disease. International Prognostic Factors Project on Advanced Hodgkin's Disease. *N Engl J Med.* 19 nov 1998;339(21):1506-14.
18. Therapie - GHSG - German Hodgkin Study Group [Internet]. [cité 30 janv 2022]. Disponible sur: <https://www.ghsg.org/therapie>
19. Kobe C, Dietlein M, Franklin J, Markova J, Lohri A, Amthauer H, et al. Positron emission tomography has a high negative predictive value for progression or early relapse for patients with residual disease after first-line chemotherapy in advanced-stage Hodgkin lymphoma. *Blood.* 15 nov 2008;112(10):3989-94.
20. Engert A, Plütschow A, Eich HT, Lohri A, Dörken B, Borchmann P, et al. Reduced Treatment Intensity in Patients with Early-Stage Hodgkin's Lymphoma [Internet]. <http://dx.doi.org.ressources-electroniques.univ-lille.fr/10.1056/NEJMoa1000067>. Massachusetts Medical Society; 2010 [cité 30 janv 2022]. Disponible sur: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1000067>
21. [guide_lymphome_hodgkin_web.pdf](https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2013-10/guide_lymphome_hodgkin_web.pdf) [Internet]. [cité 30 janv 2022]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2013-10/guide_lymphome_hodgkin_web.pdf
22. University of Giessen. European Network-Paediatric Hodgkin Lymphoma Study Group (EuroNet-PHL) Second International Inter-Group Study for Classical Hodgkin Lymphoma in Children and Adolescents [Internet]. clinicaltrials.gov; 2021 mai [cité 30 mars 2022]. Report No.: NCT02684708. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02684708>
23. Leblanc T. Traitement du lymphome de Hodgkin de l'enfant : évolution des protocoles thérapeutiques en Europe. 2013;9.
24. Smith CM, Friedman DL. Advances in Hodgkin Lymphoma: Including the Patient's Voice. *Front Oncol.* 25 févr 2022;12:855725.
25. Mottok A, Steidl C. Biology of classical Hodgkin lymphoma: implications for prognosis and novel therapies. *Blood.* 12 avr 2018;131(15):1654-65.
26. Du J, Neuenschwander M, Yu Y, Däbritz JHM, Neuendorff NR, Schleich K, et al. Pharmacological restoration and therapeutic targeting of the B-cell phenotype in classical Hodgkin lymphoma. *Blood.* 5 janv 2017;129(1):71-81.
27. Le cycle menstruel [Internet]. [cité 30 janv 2022]. Disponible sur: <http://www.cngof.fr/communiqués-de-presse/103-le-cycle-menstruel>
28. Baerwald AR, Adams GP, Pierson RA. Ovarian antral folliculogenesis during the human menstrual cycle: a review. *Hum Reprod Update.* 1 janv 2012;18(1):73-91.

29. Shrikhande L, Shrikhande B, Shrikhande A. AMH and Its Clinical Implications. *J Obstet Gynaecol India*. oct 2020;70(5):337-41.
30. The ESHRE Guideline Group on Female Fertility Preservation, Anderson RA, Amant F, Braat D, D'Angelo A, Chuva de Sousa Lopes SM, et al. ESHRE guideline: female fertility preservation†. *Hum Reprod Open*. 3 oct 2020;2020(4):hoaa052.
31. referentiel_preservation_de_la_fertilite_2016_2.pdf [Internet]. [cité 28 janv 2022]. Disponible sur: https://www.aphp.fr/sites/default/files/referentiel_preservation_de_la_fertilite_2016_2.pdf
32. Fatemi H, Bilger W, Denis D, Griesinger G, La Marca A, Longobardi S, et al. Dose adjustment of follicle-stimulating hormone (FSH) during ovarian stimulation as part of medically-assisted reproduction in clinical studies: a systematic review covering 10 years (2007–2017). *Reprod Biol Endocrinol RBE*. 11 mai 2021;19:68.
33. Dewailly PD. Centre d'Assistance Médicale à la Procréation (AMP) Hôpital Jeanne de Flandre - CHRU de LILLE. :32.
34. Virant-Klun I, Bauer C, Ståhlberg A, Kubista M, Skutella T. Human oocyte maturation in vitro is improved by co-culture with cumulus cells from mature oocytes. *Reprod Biomed Online*. mai 2018;36(5):508-23.
35. Senra JC, Roque M, Talim MCT, Reis FM, Tavares RLC. Gonadotropin-releasing hormone agonists for ovarian protection during cancer chemotherapy: systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. janv 2018;51(1):77-86.
36. Green DM, Nolan VG, Goodman PJ, Whitton JA, Srivastava D, Leisenring WM, et al. The Cyclophosphamide Equivalent Dose as an Approach for Quantifying Alkylating Agent Exposure. A Report from the Childhood Cancer Survivor Study. *Pediatr Blood Cancer*. janv 2014;61(1):53-67.
37. Rives N, Courbière B, Almont T, Kassab D, Berger C, Grynberg M, et al. What should be done in terms of fertility preservation for patients with cancer? The French 2021 guidelines. *Eur J Cancer*. 1 sept 2022;173:146-66.
38. Lambertini M, Peccatori FA, Demeestere I, Amant F, Wyns C, Stukenborg JB, et al. Fertility preservation and post-treatment pregnancies in post-pubertal cancer patients: ESMO Clinical Practice Guidelines†. *Ann Oncol*. déc 2020;31(12):1664-78.
39. Anderson RA, Remedios R, Kirkwood AA, Patrick P, Stevens L, Clifton-Hadley L, et al. Determinants of ovarian function after response-adapted therapy in patients with advanced Hodgkin's lymphoma (RATHL): a secondary analysis of a randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol*. oct 2018;19(10):1328-37.
40. Sermondade N, Sonigo C, Sifer C, Valtat S, Ziol M, Eustache F, et al. Serum antimüllerian hormone is associated with the number of oocytes matured in vitro

and with primordial follicle density in candidates for fertility preservation. *Fertil Steril*. févr 2019;111(2):357-62.

41. Bentzen JG, Forman JL, Pinborg A, Lidegaard Ø, Larsen EC, Friis-Hansen L, et al. Ovarian reserve parameters: a comparison between users and non-users of hormonal contraception. *Reprod Biomed Online*. 1 déc 2012;25(6):612-9.
42. Obesity and reproduction: a committee opinion. *Fertil Steril*. nov 2015;104(5):1116-26.
43. Kasaven LS, Jones BP, Heath C, Odia R, Green J, Petrie A, et al. Reproductive outcomes from ten years of elective oocyte cryopreservation. *Arch Gynecol Obstet* [Internet]. 21 août 2022 [cité 5 sept 2022]; Disponible sur: <https://link.springer.com/10.1007/s00404-022-06711-0>
44. Quinn MM, Cakmak H, Letourneau JM, Cedars MI, Rosen MP. Response to ovarian stimulation is not impacted by a breast cancer diagnosis. *Hum Reprod Oxf Engl*. 1 mars 2017;32(3):568-74.
45. von Wolff M., Bruckner T, Strowitzki T, Germeyer A. Fertility preservation: ovarian response to freeze oocytes is not affected by different malignant diseases—an analysis of 992 stimulations. *J Assist Reprod Genet*. sept 2018;35(9):1713-9.
46. Alvarez RM, Ramanathan P. Fertility preservation in female oncology patients: the influence of the type of cancer on ovarian stimulation response. *Hum Reprod Oxf Engl*. 1 nov 2018;33(11):2051-9.
47. Sonigo C, Comtet M, Duros S, Sifer C, Sermondade N, Grynberg M. Antral follicle responsiveness to FSH, assessed by the follicular output rate (FORT), is altered in Hodgkin's lymphoma when compared with breast cancer candidates for fertility preservation. *J Assist Reprod Genet*. janv 2018;35(1):91-7.
48. 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.
49. Lekovich J, Lobel ALS, Stewart JD, Pereira N, Kligman I, Rosenwaks Z. Female patients with lymphoma demonstrate diminished ovarian reserve even before initiation of chemotherapy when compared with healthy controls and patients with other malignancies. *J Assist Reprod Genet*. mai 2016;33(5):657-62.
50. Volodarsky-Perel A, Tulandi T, Son WY, Khojah M, Buckett W. Impact of extent and biochemical parameters of lymphoma on fertility preservation outcome. *Fertil Steril*. févr 2020;113(2):400-407.e1.
51. Paradisi R, Vicenti R, Macciocca M, Seracchioli R, Rossi S, Fabbri R. High cytokine expression and reduced ovarian reserve in patients with Hodgkin lymphoma or non-Hodgkin lymphoma. *Fertil Steril*. oct 2016;106(5):1176-82.

52. Comparative IL-6 effects on FSH and hCG-induced functions in porcine granulosa cell cultures - PubMed [Internet]. [cité 24 mars 2022]. Disponible sur: <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.ressources-electroniques.univ-lille.fr/7920181/>
53. Demir B, Guven S, Guven ESG, Atamer Y, Gul T. Serum IL-6 level may have role in the pathophysiology of unexplained infertility. *Am J Reprod Immunol N Y N* 1989. oct 2009;62(4):261-7.
54. Effects of interleukin-8 on estradiol and progesterone production by bovine granulosa cells from large follicles and progesterone production by luteinizing granulosa cells in culture - ScienceDirect [Internet]. [cité 24 mars 2022]. Disponible sur: <https://www-sciencedirect-com.ressources-electroniques.univ-lille.fr/science/article/pii/S1043466611008179?via%3Dihub>
55. Vinatier D, Dufour P, Tordjeman-Rizzi N, Prolongeau JF, Depret-Moser S, Monnier JC. Immunological aspects of ovarian function: role of the cytokines. :14.
56. Fabbri R, Pasquinelli G, Magnani V, Arpinati M, Battaglia C, Paradisi R, et al. Follicle features in adolescent and young adult women with Hodgkin's disease prior to chemotherapy: a preliminary report. *Reprod Biomed Online*. déc 2011;23(6):799-805.
57. Molecular profiling of follicular fluid microRNAs in young women affected by Hodgkin lymphoma - ScienceDirect [Internet]. [cité 25 mars 2022]. Disponible sur: <https://www-sciencedirect-com.ressources-electroniques.univ-lille.fr/science/article/pii/S1472648321003710?via%3Dihub>
58. Machtinger R, Rodosthenous RS, Adir M, Mansour A, Racowsky C, Baccarelli AA, et al. Extracellular microRNAs in follicular fluid and their potential association with oocyte fertilization and embryo quality: an exploratory study. *J Assist Reprod Genet*. avr 2017;34(4):525-33.
59. Martinez RM, Liang L, Racowsky C, Dioni L, Mansur A, Adir M, et al. Extracellular microRNAs profile in human follicular fluid and IVF outcomes. *Sci Rep*. 19 nov 2018;8(1):17036.
60. Scalici E, Traver S, Mullet T, Molinari N, Ferrières A, Brunet C, et al. Circulating microRNAs in follicular fluid, powerful tools to explore in vitro fertilization process. *Sci Rep*. 22 avr 2016;6:24976.
61. Casasnovas RO, Mounier N, Brice P, Divine M, Morschhauser F, Gabarre J, et al. Plasma Cytokine and Soluble Receptor Signature Predicts Outcome of Patients With Classical Hodgkin's Lymphoma: A Study From the Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte. *J Clin Oncol*. 1 mai 2007;25(13):1732-40.
62. ESHRE consensus on the definition of 'poor response' to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria† | Human Reproduction | Oxford Academic [Internet]. [cité 6 sept 2022]. Disponible sur: <https://academic.oup.com/humrep/article/26/7/1616/2913872?login=true>

63. Antral follicle count and anti-Müllerian hormone to classify low-prognosis women under the POSEIDON criteria: a classification agreement study of over 9000 patients | Human Reproduction | Oxford Academic [Internet]. [cité 6 sept 2022]. Disponible sur:
<https://academic.oup.com/humrep/article/36/6/1530/6209120?login=true>

AUTEURE : Nom : CHUZEL

Prénom : Chloé

Date de soutenance : 20/10/2022

Titre de la thèse : Évaluation de l'impact du score pronostique GHSG sur la réponse à la stimulation ovarienne chez des patientes bénéficiant d'une cryopréservation ovocytaire avant chimiothérapie pour un lymphome de Hodgkin

Thèse - Médecine - Lille 2022

Cadre de classement : Hématologie

DES : Spécialités médicales – Hématologie option maladies du sang

Mots-clés : Lymphome de Hodgkin, Préservation de la fertilité, Stimulation ovarienne, GHSG, Hasenclever

Résumé:

Contexte : Le lymphome de Hodgkin (LH) est un cancer du sujet jeune. La chimiothérapie utilisée est à base d'agents alkylants, connus pour altérer la fertilité. Une cryopréservation ovocytaire est proposée aux patientes avant de débuter le traitement. Plusieurs facteurs sont connus comme influençant la réponse à la stimulation ovarienne : l'âge, l'obésité, le taux d'hormone anti-müllérienne (AMH) et la dose totale de gonadotrophines utilisée. A l'inverse l'impact du LH sur la réponse à la stimulation ovarienne n'est pas clairement établi. Plusieurs scores pronostiques sont utilisés dans le LH : le German Hodgkin Study Group (GHSG) qui distingue 3 groupes pronostiques : précoce, intermédiaire et avancé (nommés GHSG I, II, III) et le score d'Hasenclever dans les LH avancés.

Objectif : Evaluer l'impact du LH sur la réponse à la stimulation ovarienne en utilisant des scores pronostiques standardisés le GHSG et l'Hasenclever.

Méthode : Nous avons réalisé une étude rétrospective sur 78 femmes avec un LH qui ont bénéficié d'une préservation ovocytaire entre 2012 et 2021. Le critère de jugement principal était le nombre d'ovocyte en métaphase 2 (M2). Le taux d'œstradiol au déclenchement, le nombre d'ovocytes totaux, le nombre de follicules >15mm, le taux de maturation et le ratio M2/nombre de follicules >15mm étaient des critères secondaires. Nous avons évalué dans notre cohorte l'impact de l'AMH, de l'IMC, de l'âge, de la dose de gonadotrophines sur les paramètres de fertilité. Puis nous avons étudié si le GHSG (I+II vs III) était corrélé à la réponse à la stimulation ovarienne dans une analyse univariée et multivariée. Enfin une analyse en sous-groupe a été réalisée dans les LH avancés pour évaluer l'impact de l'Hasenclever sur la réponse ovarienne.

Résultats : Concernant les facteurs connus comme influençant la réponse à la stimulation ovarienne, l'AMH est significativement et positivement corrélée au nombre de M2 (RR = 1.63), au nombre de follicules > 15mm (RR= 1.34) et au nombre d'ovocytes totaux recueillis (RR=1.46). La dose de gonadotrophines est significativement et négativement corrélée au nombre d'ovocytes totaux recueillis (RR=0.80). En univariée et multivariée le score GHSG n'est pas associé significativement aux paramètres de réponse à la stimulation ovarienne. Dans le sous-groupe GHSG III, le score Hasenclever est négativement corrélé au taux d'œstradiol au déclenchement ($\rho = -0.36$) et au nombre de follicules >15mm ($\rho = -0.44$).

Conclusion : Le score pronostic GHSG n'a pas d'impact sur le rendement ovocytaire. En revanche, pour les LH avancés, le score d'Hasenclever semble corrélé à certains paramètres de réponse à la stimulation ovarienne. Cette discordance de l'impact des scores pronostiques sur la réponse ovarienne peut être expliquée par le reflet plus important du score d'Hasenclever sur le profil cytokinique pro-inflammatoire du LH qui serait à l'origine de la toxicité gonadique.

Composition du Jury :

Président : Pr MORSCHHAUSER Franck

Asseseurs : Dr DECANter Christine, Dr PLOUVIER Pauline, Dr SIMON Virginie

Directeur de thèse : Dr NUDEL Morgane