

UNIVERSITÉ DE LILLE

UFR3S-MÉDECINE

Année : 2025

THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE

Impact du statut métabolique et des rythmes circadiens sur la récupération ovarienne post-chimiothérapie chez les patientes traitées pour un cancer du sein

Présentée et soutenue publiquement le mardi 22 avril 2025 à 18h

au Pôle Recherche

par **Anne-Claire BASSIL**

JURY

Présidente :

Madame le Professeur Myriam LABALETTE

Asseseurs :

Madame le Professeur Marie-Christine VANTYGHEM

Madame le Professeur Christine DECANTER

Directeur de thèse :

Monsieur le Professeur Pascal PIGNY

AVERTISSEMENT

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

Sigles

ABVD	Doxorubicine, Bléomycine, Vinblastine, Dacarbazine
ACI	aménorrhée chimio-induite
ADN	acide désoxyribonucléique
AgRP	<i>agouti-related peptide</i>
Akt	protéine kinase B
AMH	hormone anti-müllérienne
AMP	Assistance Médicale à la Procréation
AP	aire préoptique
ATR	<i>ataxia telangiectasia mutated protein and Rad3-related</i>
AVP	arginine-vasopressine
BMAL1	<i>brain and muscle aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-like protein 1</i>
CART	<i>cocaine-and amphetamine-regulated transcript</i>
CBP	Centre de Biologie Pathologie
CHK2	<i>checkpoint kinase 2</i>
CHU	Centre Hospitalier Universitaire
CLOCK	<i>circadian locomotor output cycles kaput</i>
CPP	Comité de protection des personnes
CQI	contrôle de qualité interne
CRB	Centre de Ressources Biologiques
Cry1, Cry2	<i>Cryptochrome 1, Cryptochrome 2</i>
CV	coefficient de variation
DIO2/DIO3	désiodases 2/3
EDTA	acide éthylène-diamine-tétra-acétique
ELISA	<i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>

ERK	<i>extracellular signal-regulated kinases</i>
FEC	5-Fluoro-uracile – Épirubicine – Cyclophosphamide
FIV	fécondation <i>in vitro</i>
FOXO3	<i>Forkhead box O3</i>
FSH	hormone folliculo-stimulante
Fshb	<i>Follicle-stimulating hormone beta subunit</i>
GLUT4	<i>glucose transporter type 4</i>
GnRH	hormone de libération des gonadotrophines hypophysaires
gp130	glycoprotéine 130
GSK3	<i>glycogen synthase kinase 3</i>
HPG	hypothalamo-hypophyso-gonadique
HS	<i>High Sensitivity</i>
IdF	Île-de-France
IGF-1	<i>insulin-like growth factor-1</i>
IL-6	interleukine-6
IL-6R	récepteur de l'IL-6
IMC	indice de masse corporelle
INCa	Institut National du Cancer
IRS	<i>insulin receptor substrate</i>
ISO	<i>International Organization for Standardization</i>
JAK	<i>Janus kinase</i>
Kiss1R	<i>Kiss1-derived peptide receptor</i>
KITL	ligand Kit
KNDy	<i>Kisspeptin/Neurokinin B/Dynorphin</i>
LH	hormone lutéinisante
MAPK	<i>mitogen-activated protein kinases</i>
MCTQ	<i>Munich ChronoType Questionnaire</i>

MR	méthodologie de référence
MSH	hormone mélanotrope
<i>Mstn</i>	<i>Myostatin</i>
MT1	<i>melatonin receptor 1</i>
MT2	<i>melatonin receptor 2</i>
mTOR	<i>mammalian target of rapamycin</i>
mTORC1	<i>mammalian target of rapamycin complex 1</i>
NA	noyau arqué
NOXA	<i>phorbol-12-myristate-13-acetate-induced protein 1</i>
NPY	neuropeptide Y
NSC	noyaux suprachiasmatiques
OPN5	<i>opsin 5</i>
PEG	polyéthylène glycol
<i>Per1, Per2</i>	<i>Period 1, Period 2</i>
PI3K	phosphoinositide 3-kinase
PIP2	phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate
PIP3	phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate
POMC	pro-opiomélanocortine
<i>PPCDC</i>	<i>phosphopantothenoylcysteine decarboxylase</i>
PTEN	<i>phosphatase and tensin homolog</i>
PUMA	<i>p53 upregulated modulator of apoptosis</i>
R-CHOP	Rituximab, Cyclophosphamide, Doxorubicine, Vincristine, Prednisone
REDCap	<i>Research Electronic Data Capture</i>
RGPD	Règlement Général sur la Protection des Données
RIA	radioimmunoanalyse
<i>RPS20P11</i>	<i>ribosomal protein S20 pseudogene 11</i>
RPS6	<i>ribosomal protein S6</i>

S6K1	S6 kinase 1
sIL-6R	récepteur soluble de l'IL-6
SOPK	syndrome des ovaires polykystiques
STAT3	<i>signal transducer and activator of transcription 3</i>
TAp63α	isoforme α de la protéine p63 contenant le domaine transactivateur
TAZ	<i>transcriptional coactivator with PDZ-binding motif</i>
TEAD	<i>transcriptional enhanced associate domain transcription factors</i>
TSC	<i>tuberous sclerosis complex</i>
TSH	<i>thyroid-stimulating hormone</i>
UF	Unité Fonctionnelle
URL	unité relative de lumière
V0	visite 0
V1	visite 1
V2	visite 2
V3	visite 3
V4	visite 4
V5	visite 5
VIP	peptide vasoactif intestinal
YAP	<i>yes-associated protein</i>

Sommaire

Sigles	5
Sommaire	9
Introduction	1
1 Rationnel scientifique	1
1.1 Épidémiologie du cancer du sein	1
1.1.1 Incidence	1
1.1.2 Mortalité	1
1.1.3 Impact sur la fertilité	2
1.2 Cancer du sein et fertilité	2
1.2.1 Aménorrhée chimio-induite (ACI) : généralités	2
1.2.2 Facteurs connus associés à la récupération ovarienne post-chimiothérapie	3
1.2.3 Mécanismes à l'origine de l'ACI	7
1.3 Hypothèses	19
1.3.1 Modulation de la durée de l'ACI par le statut métabolique	19
1.3.2 Modulation de la durée de l'ACI par les rythmes circadiens	41
2 Objectifs de l'étude METAB-OV	53
2.1 Objectif principal	53
2.2 Objectifs secondaires	53
2.2.1 Objectif secondaire n°1	53
2.2.2 Objectif secondaire n°2	53
2.2.3 Objectif secondaire n°3	54
2.2.4 Objectif secondaire n°4	54
2.2.5 Objectif secondaire n°5	54
2.2.6 Objectif secondaire n°6	54
2.2.7 Objectif secondaire n°7	54
3 Critères d'évaluation	55
3.1 Critère d'évaluation pour l'objectif principal	55
3.2 Critères d'évaluations pour les objectifs secondaires	55
3.2.1 Critère d'évaluation pour l'objectif secondaire n°1	55
3.2.2 Critère d'évaluation pour l'objectif secondaire n°2	55
3.2.3 Critère d'évaluation pour l'objectif secondaire n°3	55
3.2.4 Critère d'évaluation pour l'objectif secondaire n°4	55

3.2.5	Critère d'évaluation pour l'objectif secondaire n°5	55
3.2.6	Critère d'évaluation pour l'objectif secondaire n°6	56
3.2.7	Critère d'évaluation pour l'objectif secondaire n°7	56
	Matériel et méthodes	57
1	Recrutement des patientes de l'étude METAB-OV	58
1.1	Acteurs responsables du recrutement des patientes	58
1.2	Critères d'éligibilité	58
1.2.1	Critères d'inclusion	58
1.2.2	Critères de non inclusion	59
1.2.3	Critères d'arrêt de participation à l'étude et fin anticipée	59
2	Organisation des visites de suivi des patientes	60
2.1	Visite V1 : initiation de l'étude	60
2.2	Visites de suivi : V2 à V5	61
3	Recueil des données cliniques à chaque visite de suivi	62
3.1	IMC et pourcentages de masse musculaire et de masse grasse	62
3.2	Score d'activité physique	62
3.3	Évaluation des rythmes circadiens	63
4	Données biologiques de l'étude METAB-OV	64
4.1	Recueil et conservation des échantillons biologiques.....	64
4.2	Techniques de dosages des paramètres biologiques.....	64
4.2.1	Méthode de dosage de l'IL-6	65
4.2.2	Méthode de dosage de l'insuline	66
4.2.3	Méthode de dosage de la leptine	67
4.2.4	Méthode de dosage de la ghréline	69
5	Analyses statistiques	72
5.1	Effectif de la cohorte	72
5.2	Méthode et stratégie d'analyse	73
	Résultats	75
1	Recherche d'associations entre différents biomarqueurs évalués à la V1	75
1.1	Associations entre la leptine et autres paramètres métaboliques.....	75
1.2	Associations entre l'IL-6 et autres paramètres mesurés à la V1.....	75
2	Analyse des paramètres évalués à la V1.....	76
2.1	Statistiques descriptives et comparaisons des paramètres cliniques à la V1	76
2.2	Statistiques descriptives et comparaisons des paramètres biologiques à la V1	79

3	Analyse des paramètres évalués à la V2.....	80
3.1	Statistiques descriptives et comparaisons des paramètres cliniques à la V2	80
3.2	Statistiques descriptives et comparaisons des paramètres biologiques à la V2	82
4	Analyse des évolutions des différents paramètres entre la V2 et la V1 (Delta V2 – V1)	83
4.1	Delta relatifs V2 – V1 des paramètres cliniques	83
4.1.1	Variation d'IMC entre la V2 et la V1	84
4.1.2	Variation de masse musculaire entre la V2 et la V1	85
4.1.3	Variation de masse grasse entre la V2 et la V1	86
4.1.4	Variation du score d'activité physique entre la V2 et la V1	87
4.1.5	Variation du <i>social jetlag</i> entre la V2 et la V1	88
4.1.6	Variation de la durée d'exposition à la lumière naturelle directe les jours de travail entre la V2 et la V1	89
4.1.7	Variation de la durée d'exposition à la lumière naturelle directe les jours de week-end entre la V2 et la V1	90
4.2	Delta relatifs V2 – V1 des paramètres biologiques	91
4.2.1	Variation de l'AMH entre la V2 et la V1	92
4.2.2	Variation de l'IL-6 entre la V2 et la V1	93
4.2.3	Variation de l'insuline entre la V2 et la V1	94
4.2.4	Variation de la leptine entre la V2 et la V1	95
4.2.5	Variation de la ghréline entre la V2 et la V1	96
5	Évolution des paramètres de la V1 à la V5.....	97
5.1	Évolution des paramètres cliniques	97
5.1.1	Évolution de l'IMC	98
5.1.2	Évolution du pourcentage de masse musculaire.....	99
5.1.3	Évolution de la masse grasse	100
5.1.4	Évolution du score d'activité physique	101
5.1.5	Évolution du <i>social jetlag</i>	102
5.1.6	Évolution de la durée d'exposition à la lumière naturelle les jours de travail	103
5.1.7	Évolution de la durée d'exposition à la lumière naturelle les jours de week-end	104
5.2	Évolution des paramètres biologiques	105
5.2.1	Évolution de la concentration sérique d'AMH.....	105
5.2.2	Évolution de la concentration plasmatique d'IL-6.....	106

5.2.3	Évolution de la concentration sérique d'insuline	107
5.2.4	Évolution de la concentration sérique de leptine	108
5.2.5	Évolution de la concentration plasmatique de ghréline	109
	Discussion	110
1	Limites et forces de l'étude METAB-OV	110
1.1	Limites de l'étude	110
1.1.1	Cohorte de faible effectif	110
1.1.2	Déséquilibre entre les groupes Régulée et Aménorrhée	110
1.1.3	Statistiques univariées	111
1.2	Forces de l'étude	111
1.2.1	Associations attendues entre les biomarqueurs métaboliques évalués à l'inclusion	111
1.2.2	Différences significatives attendues entre les groupes Régulée et Aménorrhée	112
2	Éléments de réponse à nos hypothèses de recherche	115
2.1	Modulation de la durée de l'ACI par le statut métabolique	115
2.2	Modulation de la durée de l'ACI par les rythmes circadiens	117
3	Perspectives et implications cliniques	120
	Liste des tables	123
	Liste des figures	124
	Références	127
	Annexe 1 : Score d'activité physique	135
	Annexe 2 : Questionnaire de chronotype	136

Introduction

1 Rationnel scientifique

1.1 Épidémiologie du cancer du sein

1.1.1 Incidence

Le cancer du sein est le **cancer le plus fréquent** chez les femmes[1]. Selon les données publiées par l'Institut National du Cancer (INCa) en 2019, **l'incidence du cancer du sein est en hausse**. Au cours de la période d'étude allant de 1990 à 2018, le nombre de nouveaux cas annuels chez les femmes en France a presque doublé, passant de 30 000 à 58 400, soit une hausse de 95 %[1]. Cette augmentation est pour moitié due à un accroissement du risque, tandis que l'autre moitié s'explique par la croissance démographique et le vieillissement de la population. Les facteurs de risque de cancer du sein ayant évolué défavorablement au fil des générations sont notamment les facteurs hormonaux et reproductifs (diminution de l'âge à la puberté, diminution du nombre moyen d'enfants par femme, augmentation de l'âge au premier enfant, diminution des pratiques d'allaitement et ménopause plus tardive)[1]. Chez les femmes de 40 ans ou moins, le taux d'incidence de ce cancer a augmenté en moyenne de 0,9% par an sur la période d'étude[1].

1.1.2 Mortalité

Concernant le taux de mortalité, on observe une **baisse de la mortalité** entre 1990 et 2018, avec une diminution moyenne de 1.3 % par an, et même de 1.9 % par an chez les femmes de moins de 60 ans[1]. Cette diminution du taux de mortalité est

liée aux progrès thérapeutiques majeurs, tels que l'hormonothérapie, les taxanes et les traitements ciblés adaptés au profil moléculaire de la tumeur, ainsi qu'à une augmentation des diagnostics précoces, notamment grâce au dépistage. Le cancer du sein est donc de **bon pronostic**, avec un taux de survie nette à 5 ans de 88 % pour les cas diagnostiqués entre 2005 et 2010. Cependant, en raison du **grand nombre de nouveaux cas chaque année**, le cancer du sein demeure la **principale cause de décès par cancer chez les femmes** en France[1].

1.1.3 Impact sur la fertilité

Ces trois caractéristiques épidémiologiques (incidence en augmentation, mortalité en baisse, taux de survie élevé) expliquent pourquoi le nombre de survivantes du cancer du sein augmente chaque année, en particulier chez les jeunes femmes ayant été diagnostiquées avant 40 ans, soulevant ainsi la question de leur fertilité après le cancer. D'après les données de l'INCa, 11.9 % des femmes de 40 ans ou moins au moment de leur diagnostic ont bénéficié d'un bilan de fertilité dans les cinq années suivant leur diagnostic[2]. La question de la **fertilité post-cancer du sein** est donc une problématique majeure actuellement et concerne de plus en plus de femmes.

1.2 Cancer du sein et fertilité

1.2.1 Aménorrhée chimio-induite (ACI) : généralités

La **chimiothérapie**, traitement de référence pour de nombreux cancers, a permis d'améliorer significativement la survie des patientes atteintes de cancer du sein, mais elle présente des effets délétères notables sur la fertilité chez les femmes

préménopausées. L'un des effets les plus fréquents est l'**aménorrhée chimio-induite** (ACI), caractérisée par une **absence de menstruations pendant au moins trois mois consécutifs**[3]. Selon sa durée, l'ACI peut être **transitoire**, avec un retour des cycles menstruels après quelques mois, ou **permanente**, résultant en une **insuffisance ovarienne prématurée**. La fréquence de l'ACI varie en fonction de plusieurs facteurs, tels que l'âge de la patiente, les drogues utilisées dans le protocole de chimiothérapie et l'utilisation d'hormonothérapies complémentaires[3]. L'étude de Yoo et al. (2013) a montré que les femmes de 40 ans et plus présentent une fréquence accrue d'ACI prolongée (77.4 %) par rapport aux femmes plus jeunes (18.3 %), et que l'ajout de taxanes ou de tamoxifène augmente également ce risque[3].

Les patientes présentant une ACI prolongée manifestent souvent des **niveaux élevés de FSH** et des **taux faibles d'estradiol**, caractéristiques d'un profil hormonal ménopausique. Ces perturbations endocriniennes ont un impact sur la **qualité de vie** des patientes, avec des effets négatifs sur les plans vasomoteur, physique et sexuel[3]. Ces répercussions soulignent l'importance d'identifier les **facteurs qui favorisent la récupération ovarienne**, afin de guider le conseil en oncofertilité et d'optimiser la prise en charge des jeunes patientes atteintes de cancer du sein.

1.2.2 Facteurs connus associés à la récupération ovarienne post-chimiothérapie

1.2.2.1 Âge de la patiente

Parmi les facteurs influençant la récupération de la fonction ovarienne après la chimiothérapie, l'**âge** de la patiente apparaît comme un **déterminant majeur**. Silva et al. (2016) et Lambertini et Demeestere (2018) ont mis en évidence que les femmes de

moins de 40 ans présentent de meilleures chances de reprise menstruelle après le traitement. Cette résilience ovarienne relative des jeunes patientes peut s'expliquer par une **réserve ovarienne plus importante**, qui confère une meilleure résistance aux effets gonadotoxiques de certains agents chimiothérapeutiques[4][5].

1.2.2.2 Nature de la chimiothérapie

La **nature des agents chimiothérapeutiques** utilisés influence fortement la probabilité de récupération ovarienne. L'étude de Decanter et al. (2010) montre que les jeunes femmes traitées pour un lymphome avec le protocole Doxorubicine – Bléomycine – Vinblastine – Dacarbazine (ABVD) ont vu leurs concentrations d'hormone anti-müllérienne (AMH), un indicateur clé de la réserve ovarienne, se rétablir progressivement après la chimiothérapie[6]. En revanche, les patientes soumises à des protocoles incluant des **agents alkylants** plus toxiques, tels que le **cyclophosphamide** dans le protocole Rituximab – Cyclophosphamide – Doxorubicine – Vincristine – Prednisone (R-CHOP), n'ont pas observé de récupération notable des concentrations d'AMH, soulignant ainsi la **toxicité accrue** de ces traitements et le risque de **dommages irréversibles aux follicules ovariens**[6]. Ces observations concordent avec les recommandations de Silva et al. (2016) et Lambertini et Demeestere (2018), qui préconisent d'éviter l'utilisation des agents alkylants chez les patientes jeunes lorsque des alternatives moins toxiques sont envisageables, afin de maximiser les chances de récupération menstruelle et de préserver la fertilité[4][5].

1.2.2.3 Hormone anti-müllérienne (AMH)

En outre, certains biomarqueurs hormonaux, comme l'AMH, permettent de prédire la probabilité de récupération ovarienne. L'AMH, produite par les **cellules de la granulosa des follicules en croissance**, est un **marqueur stable de la réserve**

ovarienne[7][8]. Anderson et al. (2013) ont démontré que des **niveaux d'AMH élevés** avant le traitement sont associés à une **meilleure probabilité de reprise menstruelle**, et Kim et al. (2018) ont montré que l'AMH mesurée après la chimiothérapie reste un indicateur utile de la résilience ovarienne[7][8]. Dans ce contexte, Decanter et al. (2014) ont mis en œuvre un **dosage hypersensible de l'AMH**, la **picoAMH**, permettant de détecter des concentrations très faibles d'AMH dans le sérum[9]. Ce test s'est avéré particulièrement utile pour évaluer la récupération ovarienne post-chimiothérapie chez des patientes présentant des niveaux d'AMH souvent indétectables avec les dosages conventionnels, malgré un retour des cycles menstruels[9].

Grâce à cette avancée, l'étude de Decanter et al. (2018) a pu examiner les variations de l'AMH chez des jeunes patientes traitées pour un cancer du sein, et a permis d'identifier **deux schémas distincts de récupération ovarienne** :

- un **rétablissement rapide**, avec **augmentation de l'AMH** dès trois mois après la chimiothérapie et **reprise menstruelle** précoce,
- et un **rétablissement lent**, où l'**AMH** restait **basse** plus longtemps et les **cycles reprenaient plus tardivement**[10].

Ces résultats montrent que l'AMH, mesurée en pré- ou post-chimiothérapie, peut refléter la résilience ovarienne après un traitement gonadotoxique, permettant d'anticiper les chances de récupération ovarienne.

1.2.2.4 Indice de masse corporelle (IMC)

Par ailleurs, un IMC **supérieur ou égal à 25 kg/m²** pourrait être un facteur de bon pronostic pour la récupération menstruelle, bien que les résultats soient variables selon les études. Su et al. (2014) et Kim et al. (2018) suggèrent que les patientes avec

un IMC plus élevé pourraient présenter une meilleure résilience ovarienne, possiblement en raison de facteurs métaboliques qui influencent positivement la réponse ovarienne après la chimiothérapie[8][11]. Toutefois, d'autres études sont nécessaires pour comprendre pleinement l'influence de l'IMC et de ses interactions avec d'autres facteurs cliniques et biologiques[8][11].

1.2.2.5 Facteurs génétiques

Enfin, des **facteurs génétiques** jouent un rôle potentiel dans la survenue de l'ACI chez les femmes atteintes de cancer du sein, comme le souligne l'étude de Ruddy et al. (2019)[12]. Deux **polymorphismes mononucléotidiques** ont été identifiés comme étant significativement associés à la **reprise des menstruations** après chimiothérapie : **rs147451859**, situé dans un **intron du gène *PPCDC*** (*phosphopantothenoylcysteine decarboxylase*), et **rs17587029**, localisé en amont du **pseudogène *RPS20P11*** (*ribosomal protein S20 pseudogene 11*). Le **gène *PPCDC*** est impliqué dans la biosynthèse du coenzyme A, un cofacteur essentiel pour le métabolisme cellulaire et la détoxification des agents chimiothérapeutiques par l'enzyme N-acétyltransférase. Une variation dans ce gène pourrait ainsi influencer la capacité des ovaires à résister aux dommages induits par la chimiothérapie. De plus, rs17587029, bien qu'associé à un pseudogène, pourrait réguler l'expression de gènes voisins impliqués dans la fonction ovarienne. Ces résultats suggèrent que des variations génétiques pourraient moduler le risque d'ACI[12].

Ainsi, plusieurs facteurs contribuent à déterminer la **probabilité de récupération ovarienne** après la chimiothérapie. La prise en compte de ces éléments dans l'évaluation clinique permettrait de **personnaliser le suivi** des jeunes patientes atteintes de cancer du sein. L'identification d'autres facteurs susceptibles de favoriser

une récupération précoce de la fertilité passe par une meilleure compréhension des mécanismes à l'origine de l'ACI.

1.2.3 Mécanismes à l'origine de l'ACI

Pour comprendre les mécanismes à l'origine de l'ACI, il est essentiel de rappeler la **régulation physiologique de la folliculogénèse**. En effet, les **follicules primordiaux**, qui constituent la **réserve ovarienne**, alternent entre un **état de quiescence** et un **état d'activation** vers des stades de maturation ultérieurs jusqu'au **follicule pré-ovulatoire**[13][14]. La **régulation** de la quiescence et de l'activation des follicules primordiaux repose sur un **équilibre complexe entre des facteurs autocrines, paracrines et endocrines**[13][14]. Ces signaux incluent des facteurs de croissance, des hormones, des facteurs de transcription et des cytokines. L'interaction entre ces éléments, ainsi que l'intégration de voies de signalisation intrinsèques (dans l'ovocyte et les cellules de la granulosa) et extrinsèques (microenvironnement folliculaire), jouent un rôle crucial dans le **maintien de la réserve ovarienne** et le **contrôle de l'activation folliculaire**[13][14].

1.2.3.1 *Régulation physiologique du recrutement folliculaire : mécanismes inhibiteurs et activateurs des follicules primordiaux dans l'ovaire*

1.2.3.1.1 Mécanismes inhibiteurs des follicules primordiaux

1.2.3.1.1.1 *Compression mécanique et organisation spatiale*

La **matrice extracellulaire**, en collaboration avec les cellules pré-granuleuses, exerce une **compression physique** sur les follicules primordiaux[13][14]. Cette pression mécanique stabilise les ovocytes **en empêchant leur activation prématurée**. Ce mécanisme inclut également une **rotation nucléaire**, qui participe au

maintien de la dormance chez les ovocytes. En parallèle, les follicules primordiaux regroupés en **clusters** présentent une activation réduite, grâce à des **signaux inhibiteurs paracrines** transmis entre les follicules voisins. Lorsque ces clusters sont perturbés ou fragmentés, l'inhibition est affaiblie, augmentant le risque d'activation[13][14].

1.2.3.1.1.2 AMH

L'**AMH**, produite par les follicules en croissance, est un **régulateur** clé de la **quiescence folliculaire**[13][14]. Elle agit en bloquant les voies de signalisation responsables de l'activation folliculaire, notamment la voie phosphoinositide 3-kinase (PI3K) / protéine kinase B (Akt) / *mammalian target of rapamycin* (mTOR). Chez des souris *knock-out* pour l'AMH, une activation excessive des follicules et une déplétion rapide de la réserve ovarienne ont été observées[13][14]. À l'inverse, l'ajout d'AMH dans des cultures *ex-vivo* de tissus humains ou animaux inhibe significativement l'activation folliculaire[13][14].

1.2.3.1.2 Mécanismes activateurs des follicules primordiaux

1.2.3.1.2.1 Voie PI3K/Akt/mTOR

La **voie PI3K/Akt/mTOR** joue un rôle central dans l'activation des follicules primordiaux, contrôlant leur transition vers des stades de développement plus avancés[15][13]. Cette cascade de signalisation est essentielle pour réguler l'équilibre entre la quiescence et l'activation folliculaire, garantissant ainsi une utilisation progressive de la réserve ovarienne tout au long de la vie reproductive[15][13].

1.2.3.1.2.1.1 Rôle clé de PI3K et Akt

La signalisation commence par l'**activation de la PI3K** en réponse à des signaux externes tels que le **ligand Kit** (KITL)[15][13]. PI3K génère des phosphoinositides qui activent **Akt**. Akt phosphoryle des cibles intracellulaires clés, notamment *Forkhead box O3* (**FOXO3**), un **facteur de transcription** qui maintient les follicules primordiaux en quiescence lorsqu'il est **localisé dans le noyau**. La **phosphorylation de FOXO3** par Akt entraîne son **exportation vers le cytoplasme**, supprimant ainsi son activité inhibitrice et permettant l'activation folliculaire[15][13].

1.2.3.1.2.1.2 Rôle de mTOR dans la prolifération

Une fois Akt activé, la voie **mTOR** est mise en jeu. mTOR stimule la **synthèse protéique** et la **prolifération des cellules folliculaires** en activant des protéines en aval telles que S6 kinase 1 (S6K1) et *Ribosomal protein S6* (RPS6)[14][13]. Ces processus favorisent la **croissance des ovocytes** et la **différenciation des cellules de la granulosa**, essentielles pour le développement folliculaire[14][13].

1.2.3.1.2.1.3 Régulation et interaction avec d'autres voies

Une **régulation** fine de cette cascade est essentielle pour préserver la fertilité. Des études sur des modèles murins montrent que la suppression de régulateurs négatifs de cette voie, comme la **phosphatase antagoniste de PI3K phosphatase and tensin homolog (PTEN)** ou les protéines *tuberous sclerosis complex* (**TSC**) 1 et 2, entraîne une activation excessive des follicules primordiaux[15][14]. Cette activation incontrôlée conduit à une déplétion rapide de la réserve ovarienne et à une insuffisance ovarienne prématurée. À l'inverse, l'inhibition pharmacologique de mTOR

ou l'activation de FOXO3 peut préserver la quiescence folliculaire et prévenir une activation excessive[15][14].

La voie PI3K/Akt/mTOR interagit également avec d'autres signaux, comme ceux de l'*insulin-like growth factor-1 (IGF-1)* et de l'*AMH*[14]. L'*AMH*, comme évoqué précédemment, inhibe l'activation des follicules primordiaux en modulant la voie PI3K/Akt/mTOR, montrant ainsi l'importance d'un réseau intégré de régulation pour maintenir la réserve ovarienne[14].

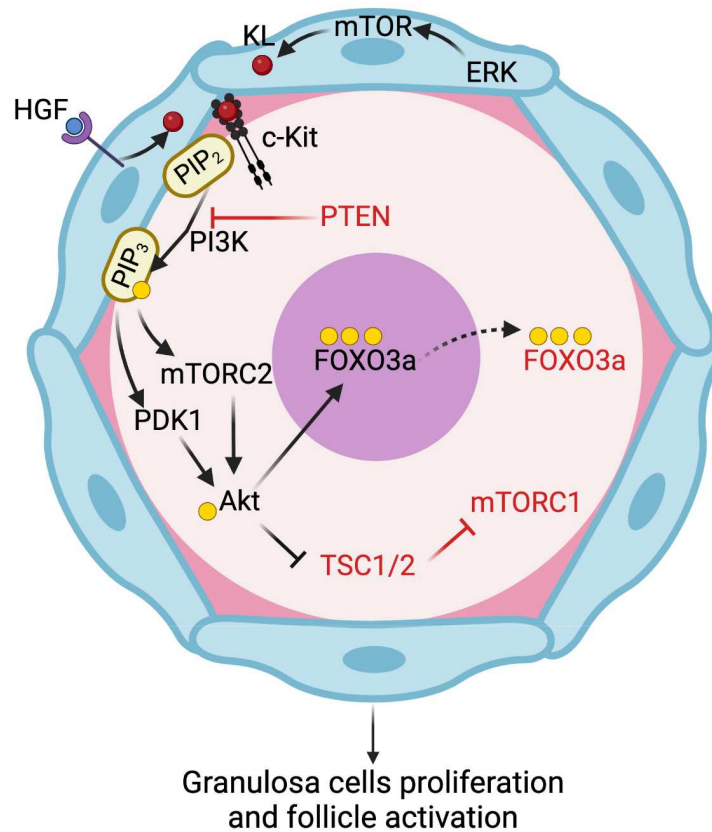


Figure 1 : Voie de signalisation PI3K/Akt/mTOR impliquée dans l'activation des follicules primordiaux ovariens[16] (Un rond jaune indique la présence d'un résidu phosphate. KL = Kit ligand, ERK = extracellular signal-regulated kinase, HGF = hepatocyte growth factor, mTORC = mammalian target of rapamycin complex, PIP2 = phosphatidylinositol-4,5-biphosphate, PIP3 : phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphate, PDK1 = phosphoinositide 3-kinase 1)

1.2.3.1.2.2 Signalisation Hippo

La **voie Hippo** joue un rôle clé dans la **régulation mécanique** et **transcriptionnelle** de l'activation folliculaire[13]. Lorsque l'environnement mécanique de l'ovaire est perturbé, par exemple lors de la **fragmentation du cortex ovarien**, la **voie Hippo** est **désactivée**[13]. Cette désactivation permet la **translocation des cofacteurs** *yes-associated protein* (YAP) et *transcriptional coactivator with PDZ-binding motif* (TAZ) dans le noyau, où ils interagissent avec des facteurs de transcription comme *transcriptional enhanced associate domain transcription factors* (TEAD) 1 à 4 pour **activer des gènes favorisant la prolifération et la croissance cellulaire**[13]. Ce mécanisme est particulièrement pertinent dans le contexte de la préservation de la fertilité après transplantation ovarienne, où la fragmentation tissulaire entraîne souvent une activation accrue des follicules[13][14].

1.2.3.1.2.3 Signalisations extracellulaire signal-regulated kinases (ERK) 1 / 2 et c-Jun

Dans les cellules pré-granuleuses des follicules primordiaux, les signalisations **ERK 1 / 2** et **c-Jun** jouent un rôle fondamental dans l'**activation folliculaire**[13][14]. Une fois activées, ces voies de signalisation favorisent l'expression de facteurs de croissance, comme le KITL, qui déclenchent à leur tour l'activation de la voie PI3K/Akt dans les ovocytes[13][14]. Des études sur des modèles murins ont montré que l'inhibition de ERK 1 / 2 réduit significativement le nombre de follicules en croissance et diminue l'activation de mTOR, soulignant l'importance de cette voie dans l'activation des follicules primordiaux[13][14].

1.2.3.1.3 Interaction entre mécanismes activateurs et inhibiteurs

L'équilibre entre les mécanismes activateurs et inhibiteurs est essentiel pour préserver la réserve ovarienne tout en permettant un recrutement contrôlé des follicules[13][14]. Les perturbations de cet équilibre, causées par une chimiothérapie notamment, peuvent entraîner une activation excessive des follicules, épuisant ainsi prématurément la réserve ovarienne. À l'inverse, une inhibition trop forte limite la disponibilité des follicules pour l'ovulation[13][14].

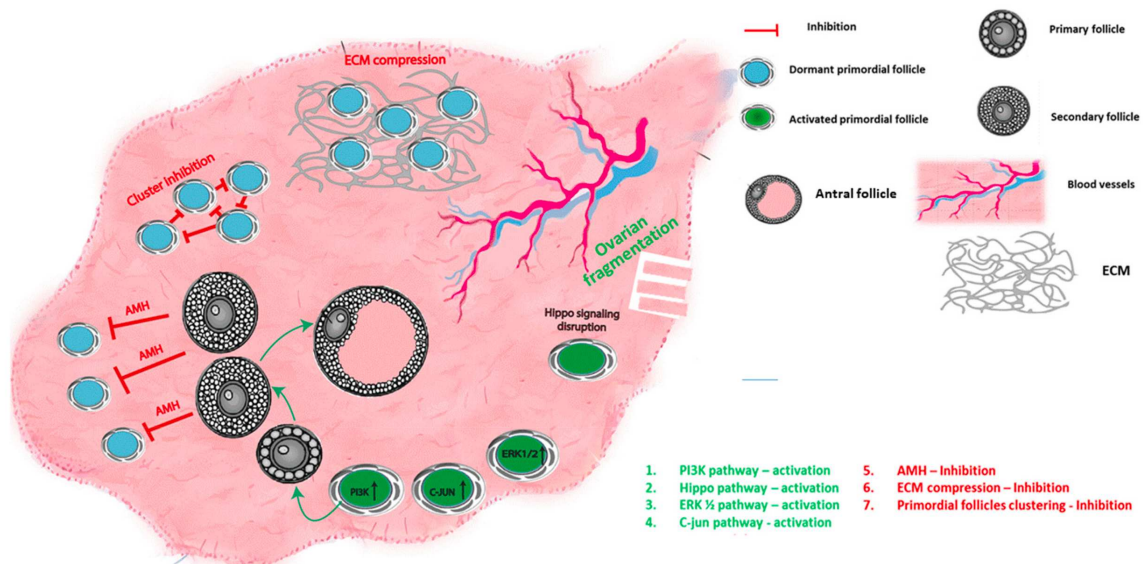


Figure 2 : Mécanismes impliqués dans l'activation et la quiescence des follicules primordiaux[13]

1.2.3.2 Mécanismes principaux à l'origine de l'ACI

L'ACI observée durant le traitement est liée à la **destruction des follicules en croissance**[13]. Si le stock de **follicules primordiaux quiescents** reste préservé, il est possible de reconstituer la population de follicules en croissance, ce qui rend alors l'ACI transitoire avec une reprise des cycles menstruels à l'arrêt du traitement[13]. Toutefois, les protocoles de chimiothérapie utilisés pour traiter le cancer du sein

peuvent être responsables d'une perte d'une partie ou de la totalité du stock de follicules primordiaux[13]. Cette perte des follicules primordiaux entraîne chez les patientes une ACI de longue durée, voire permanente, compromettant alors leur fertilité[13]. Nous allons voir par quels mécanismes la chimiothérapie peut conduire à une **déplétion des follicules primordiaux**, altérant ainsi la réserve ovarienne et la fertilité.

1.2.3.2.1 Recrutement excessif des follicules primordiaux conduisant à un « *burnout* folliculaire »

1.2.3.2.1.1 *Recrutement excessif des follicules primordiaux via l'activation de la voie PI3K/Akt*

L'exposition à la chimiothérapie, en particulier les **agents alkylants** comme le cyclophosphamide, induit un **recrutement excessif des follicules primordiaux** via **l'activation de la voie PI3K/Akt**[13][17]. Ce phénomène est caractérisé par une **phosphorylation accrue** de protéines clés, notamment **Akt**, **mTOR** et **FOXO3a**, dans les cellules de la granulosa et les ovocytes[13][17]. Cette activation entraîne la transition des follicules primordiaux vers des stades de croissance active, les engageant ainsi dans un **processus irréversible de maturation**. Ces follicules activés subissent par la suite une **atrésie** ou une **apoptose** en raison de l'**effet cytotoxique direct des agents chimiothérapeutiques sur les cellules en prolifération**, comme les cellules de la granulosa des follicules en croissance[13][17].

1.2.3.2.1.2 *Cercle vicieux auto-destructeur*

L'activation massive et prématurée des follicules primordiaux, souvent décrite comme un « ***burnout* folliculaire** », conduit à une diminution rapide de la réserve

ovarienne[13][17]. Ce processus est amplifié par l'**absence de signaux inhibiteurs** tels que ceux de l'AMH, dont la sécrétion diminue en raison de l'atrésie des follicules activés. Cela élimine une barrière naturelle à l'activation des follicules dormants, accélérant davantage leur recrutement[13][17].

1.2.3.2.1.3 Impact sur la fertilité post-chimiothérapie

Enfin, les observations montrent que cette perte de follicules primordiaux via l'activation excessive compromet gravement la fertilité à long terme, réduisant le temps pendant lequel les patientes peuvent concevoir après traitement[13]. Des approches pharmacologiques comme l'administration d'AMH recombinante ou d'inhibiteurs de la voie mTOR ont montré un potentiel pour atténuer cet effet et préserver la fertilité dans des modèles expérimentaux[13].

1.2.3.2.2 Toxicité par altération du stroma ovarien

La toxicité de la chimiothérapie sur les ovaires passe également par une **altération significative du stroma ovarien**, qui joue un rôle crucial dans le maintien de l'environnement nécessaire à la survie et au développement folliculaire[13][18].

1.2.3.2.2.1 Fibrose stromale et dépôts de la matrice extracellulaire

La chimiothérapie induit une **fibrose stromale** marquée par un **dépôt excessif de collagène** et d'autres composants de la matrice extracellulaire[13][18]. Cette accumulation perturbe l'architecture normale de l'ovaire, limitant la diffusion des nutriments et des signaux nécessaires au maintien de la dormance folliculaire et à la croissance des follicules activés[13][18].

1.2.3.2.2.2 Perturbation de la vascularisation

Les agents chimiothérapeutiques altèrent également la vascularisation ovarienne en provoquant des **dommages aux vaisseaux sanguins corticaux**[13][18]. Ces altérations incluent une **néovascularisation désorganisée**, une **obstruction des vaisseaux existants**, et une **réduction significative du volume sanguin ovarien**. Ces effets entraînent une diminution de l'apport en oxygène et en nutriments aux follicules, accentuant leur atrophie et limitant leur viabilité[13][18].

1.2.3.2.2.3 Déséquilibre immunitaire et stress oxydatif

La chimiothérapie modifie le **microenvironnement immunitaire ovarien**, notamment par un recrutement altéré des macrophages et autres cellules immunitaires[18]. Elle favorise également un **déséquilibre entre les espèces réactives de l'oxygène et les mécanismes antioxydants**, ce qui contribue à une apoptose accrue des cellules folliculaires et stromales[18]. Ce **stress oxydatif** exacerbe les dommages structurels et fonctionnels au stroma[18].

1.2.3.2.2.4 Conséquences sur la réserve ovarienne

Ces mécanismes combinés réduisent indirectement la réserve ovarienne. En plus de détruire les follicules en croissance, la perturbation du stroma compromet la capacité des follicules primordiaux à rester quiescents ou à répondre de manière adéquate aux signaux de croissance[13][18]. Cela contribue à l'épuisement prématuré de la réserve folliculaire, conduisant à une insuffisance ovarienne prématurée et à une perte de fertilité[13][18].

1.2.3.2.3 Toxicité directe par apoptose des follicules primordiaux

La chimiothérapie induit aussi une **toxicité directe sur les follicules primordiaux** en déclenchant l'**apoptose** des ovocytes via des dommages à l'acide désoxyribonucléique (ADN) et l'activation de voies apoptotiques spécifiques[13][19][20].

1.2.3.2.3.1 Dommages à l'ADN induits par la chimiothérapie

Les agents chimiothérapeutiques tels que le cyclophosphamide, le cisplatine et la doxorubicine causent des **cassures double-brin de l'ADN** dans les ovocytes des follicules primordiaux. Ces dommages activent des voies de signalisation de stress qui mènent à l'**apoptose**[19][20]. En particulier :

- Le **cyclophosphamide** produit des altérations chimiques de l'ADN et déclenche des réponses apoptotiques par la voie *ataxia telangiectasia mutated protein and Rad3-related (ATR) / checkpoint kinase 2 (CHK2) / isoforme α de la protéine p63 contenant le domaine transactivateur (TAp63 α)*[19][20].
- Le **cisplatine** crée des liaisons croisées sur l'ADN, provoquant une inhibition de la réparation de l'ADN et une accumulation de cassures double-brin[19].
- La **doxorubicine**, en plus de son effet direct sur l'ADN, génère des espèces réactives de l'oxygène, contribuant à la dysfonction mitochondriale et à l'apoptose[19][20].

1.2.3.2.3.2 Activation des voies apoptotiques

Les voies apoptotiques clés impliquent des régulateurs tels que **TAp63 α** , une isoforme de la famille **p53** spécifique aux ovocytes, qui active des **protéines pro-apoptotiques** comme *p53 upregulated modulator of apoptosis (PUMA)* et *phorbol-12-*

myristate-13-acetate-induced protein 1 (NOXA)[13][20]. Ces dernières favorisent la **perméabilisation mitochondriale** et l'**activation des caspases**, conduisant à la mort cellulaire[13][20].

1.2.3.2.3.3 Perte massive de la réserve folliculaire

Cette apoptose massive des follicules primordiaux entraîne une **diminution rapide et irréversible de la réserve ovarienne**. Ce phénomène se produit rapidement après l'exposition à la chimiothérapie, souvent dans les 24 heures suivant le traitement[13][19].

1.2.3.2.3.4 Conséquences à long terme

La perte de follicules primordiaux par apoptose directe est une cause majeure d'insuffisance ovarienne prématurée et d'infertilité[13][20]. Les recherches soulignent que la protection contre ce mécanisme nécessite des interventions pharmacologiques capables de bloquer les voies apoptotiques sans interférer avec l'efficacité des traitements anticancéreux[13][20].

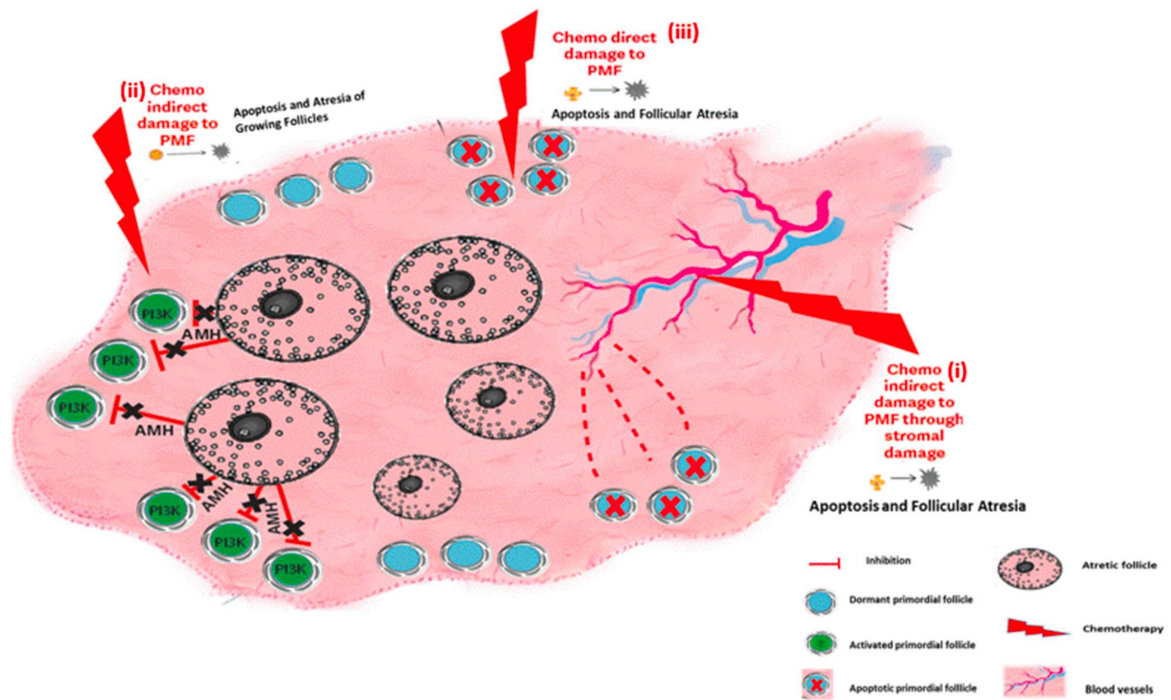


Figure 3 : Synthèse des mécanismes de la déplétion folliculaire chimio-induite[13]

1.3 Hypothèses

1.3.1 Modulation de la durée de l'ACI par le statut métabolique

1.3.1.1 *Impact du statut métabolique sur l'activation des follicules primordiaux ovariens*

Comme nous l'avons vu précédemment, la voie **PI3K-Akt-FOXO3** constitue un **régulateur central** de l'activation des follicules primordiaux ovariens[14][15]. Sa dérégulation par les agents chimiothérapeutiques représente l'un des mécanismes clés à l'origine de l'ACI[13][17]. Dès lors, il est envisageable que la **modulation de cette voie** par divers facteurs puisse **influencer la durée de l'ACI**. Dans cette perspective, nous allons nous intéresser aux différents **facteurs susceptibles d'agir sur la voie PI3K-Akt-FOXO3**.

1.3.1.1.1 Rôle de l'interleukine-6 (IL-6) sur la voie PI3K-Akt-FOXO3 dans les ovaires

1.3.1.1.1.1 *Activation de la voie PI3K-Akt-FOXO3 par l'IL-6 dans les ovaires*

De manière intéressante, Zegeye et al. (2018) ont montré que la voie PI3K-Akt-FOXO3 peut être activée par l'IL-6 via un mécanisme précis de signalisation intracellulaire[21].

En effet, l'IL-6 agit par **deux voies principales** : la signalisation classique et la trans-signalisation :

- La **signalisation classique** implique la fixation de l'IL-6 à son récepteur membranaire (IL-6R) et son association avec la glycoprotéine 130 (gp130), co-récepteur. Cette interaction déclenche principalement la voie *Janus kinase* (JAK) - *signal transducer and activator of transcription 3* (STAT3)[21].

- La **trans-signalisation**, en revanche, nécessite que l'IL-6 se lie à une forme soluble de son récepteur (sIL-6R) avant de s'associer à la gp130. Cette voie active non seulement JAK-STAT3, mais également les voies PI3K-Akt et *mitogen-activated protein kinases* (MAPK) / ERK[21].

L'**IL-6**, par le biais de la trans-signalisation, joue donc un rôle dans l'**activation de la voie PI3K-Akt-FOXO3**[21].

Cette activation de la voie PI3K-Akt-FOXO3 par l'IL-6 a été mise en évidence dans les follicules ovariens[22][23]. L'IL-6 est donc capable d'**activer les follicules primordiaux ovariens**, par le biais de la trans-signalisation.

1.3.1.1.1.2 L'IL-6 en tant qu'hormone métabolique

L'IL-6, traditionnellement reconnue pour son rôle central dans les réponses inflammatoires et immunitaires, est aujourd'hui considérée comme une **hormone métabolique essentielle**. Au-delà de son action immunitaire, l'IL-6 joue un rôle majeur dans la régulation de l'homéostasie énergétique et du métabolisme des lipides, glucides et protéines[24].

L'IL-6 est produite par divers types cellulaires, notamment les **cellules immunitaires**, les **cellules musculaires** et le **tissu adipeux**[24]. Son impact métabolique s'illustre particulièrement dans des situations telles que le jeûne et l'exercice physique, où elle contribue à l'adaptation énergétique[24].

1.3.1.1.1.2.1 Impact de l'IL-6 sur le métabolisme lipidique

Concernant le métabolisme lipidique, l'IL-6 favorise la **mobilisation des graisses stockées** et **limite leur accumulation** dans le tissu adipeux[24]. Lors d'une situation de jeûne ou d'exercice physique, elle augmente l'utilisation des acides gras libres comme source d'énergie[24]. Des études ont montré que des souris déficientes

en IL-6 présentent une prise de poids accrue et une augmentation significative de la masse grasse, soulignant le **rôle protecteur** de cette cytokine **contre l'obésité**[24].

1.3.1.1.1.2.2 Impact de l'IL-6 sur le métabolisme des glucides et des protéines

L'IL-6 influence également le métabolisme des glucides et des protéines. Plus précisément, cette cytokine **régule la glycémie, améliore l'utilisation du glucose** pendant les périodes de stress métabolique et contribue à la **conservation des protéines musculaires**, notamment en période d'exercice physique[24]. En particulier, l'IL-6 stimule l'utilisation du glucose par les muscles squelettiques, indépendamment de l'action de l'insuline, optimisant ainsi son utilisation pour la production d'énergie[24].

1.3.1.1.1.2.3 L'IL-6 en tant qu'« exerkinge » : un médiateur des effets métaboliques induits par l'exercice

L'IL-6 est également considérée comme une « **exerkinge** », c'est-à-dire une **molécule sécrétée en réponse à l'exercice physique** et qui agit à distance pour induire des **adaptations physiologiques et métaboliques**[25]. Les exerkinges regroupent diverses substances (cytokines, peptides, métabolites) produites par les tissus actifs pendant l'effort, notamment par les muscles squelettiques, et qui exercent leurs effets via des voies endocrines, paracrines ou autocrines[25]. Ces molécules sont considérées comme des médiateurs biologiques des bénéfices de l'activité physique sur la santé[25].

L'IL-6 répond pleinement à cette définition, car elle est **libérée par les fibres musculaires contractées lors de l'exercice**[25]. Cette production est déclenchée par plusieurs facteurs, notamment l'intensité de l'effort, la durée de l'exercice et la déplétion des réserves de glycogène musculaire[25]. Une fois libérée dans la

circulation, l'IL-6 agit comme une **hormone** et influence divers tissus cibles impliqués dans le **métabolisme énergétique**, l'**inflammation** et l'**adaptation musculaire**[25].

Ainsi, il en découle que les **effets métaboliques de l'IL-6** décrits précédemment peuvent être obtenus par l'**exercice physique**. L'activité physique constitue donc un levier naturel et efficace pour exploiter ces mécanismes biologiques, renforçant ainsi son rôle clé dans la prévention et la gestion des maladies métaboliques[25].

1.3.1.1.2.4 Implications de l'IL-6 dans les maladies métaboliques

En résumé, l'IL-6 agit comme une véritable **hormone métabolique**, capable de réguler finement les mécanismes énergétiques[24]. Cependant, les effets de l'IL-6 varient en fonction du contexte. Dans des conditions physiologiques, comme le jeûne ou l'exercice, ses effets sont bénéfiques et favorisent un meilleur équilibre énergétique. À l'inverse, dans un contexte pathologique, des niveaux chroniquement élevés d'IL-6 sont associés à des **maladies métaboliques** telles que le diabète de type 2, l'insulinorésistance et les maladies hépatiques métaboliques[24].

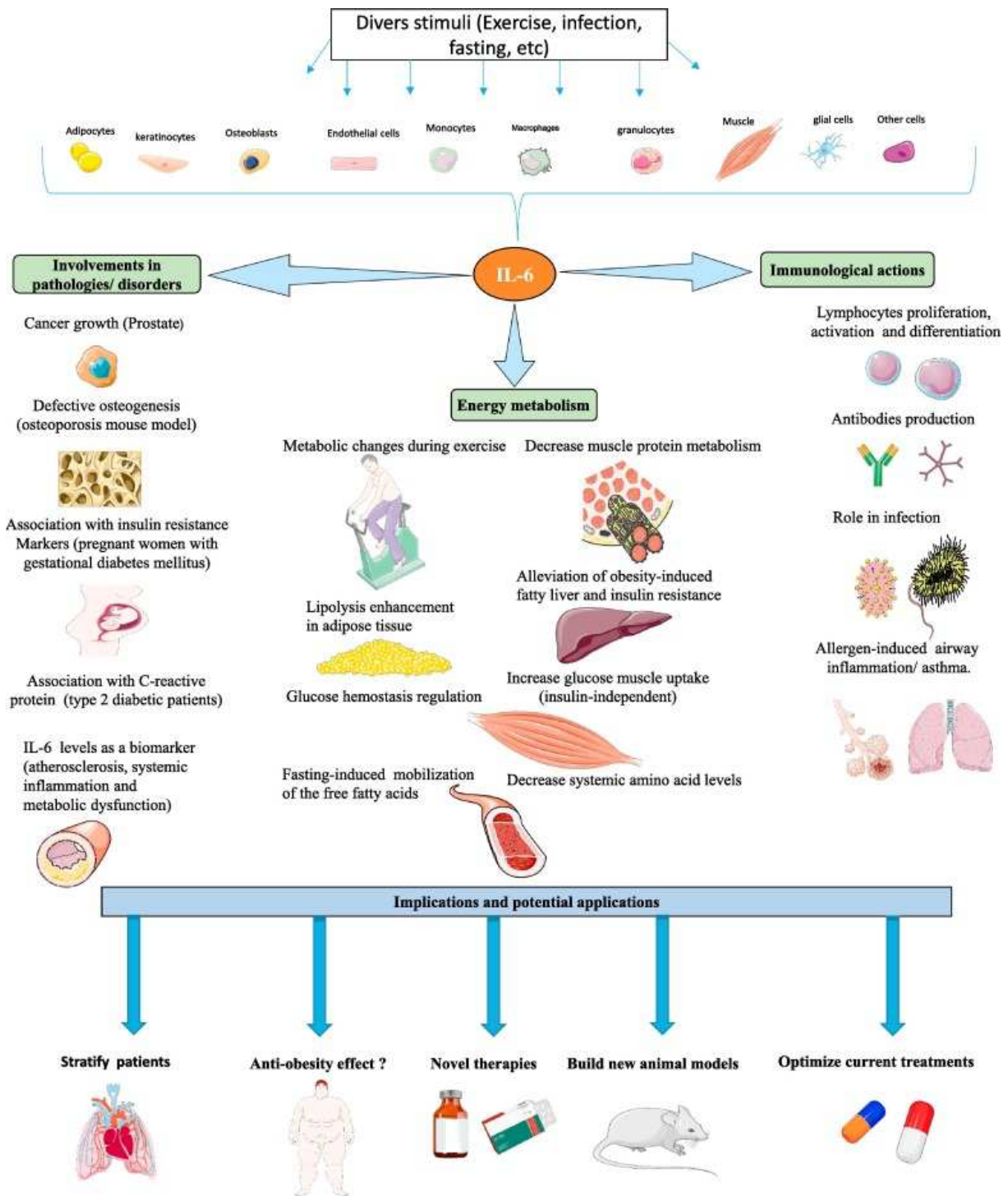


Figure 4 : Rôles métaboliques, immunologiques et implications en pathologie de l'IL-6[24]

1.3.1.1.1.3 *Modulation de la durée de l'ACI par le statut métabolique : rôle de l'IL-6 dans l'activation folliculaire ovarienne*

Nous avons vu que la voie PI3K-Akt-FOXO3, essentielle à l'activation des follicules primordiaux, peut être **modulée par l'IL-6**, une cytokine jouant un rôle central dans le **métabolisme** et **sécrétée notamment en réponse à un exercice physique**[21][24][25]. Ces observations suggèrent que le statut métabolique des patientes et leur niveau d'activité physique, via l'action de l'IL-6, pourraient influencer l'activité de la voie PI3K-Akt-FOXO3 et ainsi modifier la durée de l'ACI.

Des résultats préliminaires obtenus au laboratoire montrent d'ailleurs que les concentrations sanguines d'IL-6 mesurées en fin de chimiothérapie diffèrent entre patientes ayant retrouvé leurs règles dans les six premiers mois versus celles ayant eu un retour différé des règles (1.28 pg/ml vs 0.42 pg/ml, $p < 0.05$).

1.3.1.1.2 *Impact de l'insuline sur la voie PI3K-Akt-FOXO3 dans les ovaires*

1.3.1.1.2.1 *Action de l'insuline sur la voie PI3K/Akt/FOXO3 dans les ovaires*

1.3.1.1.2.1.1 *Mécanismes de l'activation de la voie PI3K/AKT par l'insuline*

La signalisation de l'insuline commence par la liaison de l'insuline à son récepteur, un hétérodimère composé des sous-unités α et β [26][27]. Cette interaction déclenche une autophosphorylation des résidus tyrosine sur les sous-unités β , activant le récepteur. Les protéines *Insulin Receptor Substrate* (IRS), recrutées par le récepteur phosphorylé, activent à leur tour la **PI3K**[26][27].

La **PI3K** catalyse la conversion de **PIP2** (phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate) en **PIP3** (phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate), un second messenger clé qui

recrute Akt à la membrane plasmique. Akt est ensuite activée par phosphorylation[26][27].

Cette activation d'Akt conduit à la phosphorylation de multiples cibles intracellulaires, modulant divers processus biologiques :

- **FOXO3** : Akt phosphoryle FOXO3, entraînant son exclusion nucléaire, ce qui inhibe la transcription des gènes pro-apoptotiques[26][27].
- **GSK3** : La phosphorylation de la *glycogen synthase kinase 3* (GSK3) favorise la synthèse du glycogène[26][27].
- **mTORC1** : Akt active indirectement mTORC1 (*mammalian target of rapamycin complex 1*) via l'inhibition de TSC2, stimulant ainsi la prolifération cellulaire et la biosynthèse des protéines[26][27].

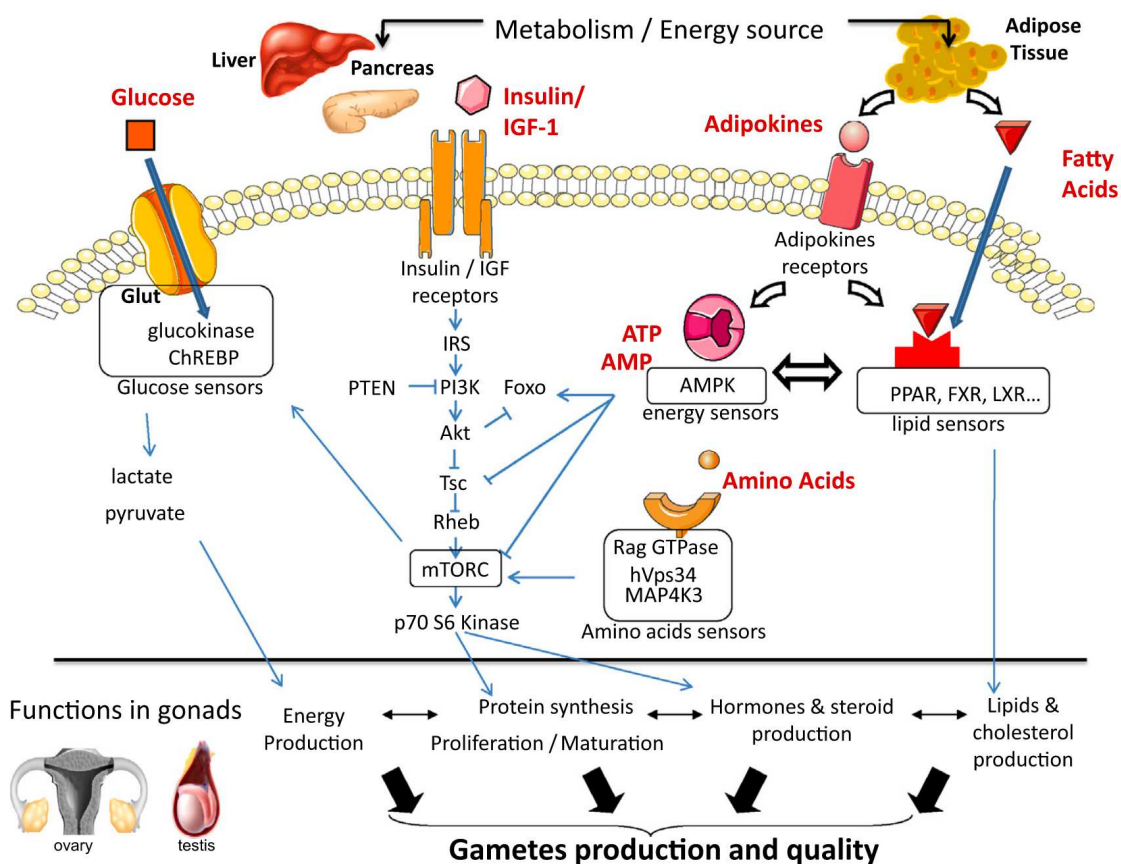


Figure 5 : Voies de signalisation de l'insuline[28]

1.3.1.1.2.1.2 Rôle de la voie PI3K/Akt dans les tissus sensibles à l'insuline

La voie PI3K/Akt, activée par l'insuline, régule les processus métaboliques clés des tissus sensibles à l'insuline :

- Dans le **foie**, elle **inhibe la production de glucose** et favorise le **stockage de glycogène et de lipides**[26][27].
- Dans les **muscles**, elle **stimule l'absorption du glucose** et la **synthèse des protéines**[26][27].
- Dans le **tissu adipeux**, elle facilite le **stockage des graisses**, réduit leur dégradation et régule la libération d'adipokines essentielles pour le métabolisme global[26][27].

1.3.1.1.2.1.3 Rôle spécifique de la voie PI3K/Akt activée par l'insuline dans les ovaires

Il a été montré que les cellules **ovocytaires**, de la **granulosa** et de la **thèque** expriment le récepteur à l'insuline et peuvent donc répondre à la signalisation induite par l'insuline via la voie PI3K/Akt/FOXO3[29]. Dans les ovaires, la voie PI3K/Akt/FOXO3 joue un rôle fondamental dans le développement folliculaire, comme vu précédemment. Lors de l'activation de la voie PI3K/Akt par l'insuline, FOXO3 est phosphorylé et expulsé du noyau, ce qui déclenche l'activation des follicules primordiaux. Cette régulation est essentielle pour la maturation des follicules et la survie des cellules de la granulosa[30][31]. L'**insuline** est donc un **promoteur majeur** de l'**activation** et de la **maturation folliculaire**[29][28]. De plus, elle **stimule le transport du glucose** dans les cellules de la granulosa via le *glucose transporter type 4* (GLUT4), fournissant l'**énergie nécessaire au développement folliculaire**[28].

Dans des contextes pathologiques tels que le **syndrome des ovaires polykystiques** (SOPK), la voie PI3K/Akt/mTOR est dérégulée sous l'effet de l'**hyperinsulinémie**[28][29][30][31]. L'insuline active excessivement cette voie, favorisant ainsi une activation prématurée des follicules primordiaux. Cette suractivation entraîne un épuisement progressif de la réserve ovarienne, tandis que les follicules en croissance ne parviennent pas à maturité en raison d'une altération de la réponse des cellules de la granulosa à l'hormone folliculo-stimulante (FSH). Ces perturbations contribuent aux troubles ovulatoires caractéristiques du SOPK, avec une accumulation de follicules antraux bloqués et une anovulation chronique[28][29][30][31].

1.3.1.1.2 Modulation de la durée de l'ACI par le statut métabolique : rôle de l'insuline dans l'activation folliculaire ovarienne

En tenant compte de ces éléments, nous pouvons émettre l'hypothèse que le **statut métabolique**, via l'**action de l'insuline** sur la voie de signalisation PI3K/Akt/FOXO3 cruciale pour le développement folliculaire, module la **durée de l'ACI**. En effet, l'insuline pourrait stimuler l'activation des follicules résiduels après la chimiothérapie, favorisant une reprise plus rapide des cycles menstruels.

Chez les patientes avec une résistance à l'insuline, caractéristique des syndromes métaboliques, la réduction de l'efficacité de cette voie pourrait compromettre la survie et la régénération folliculaire. Cette hypothèse suggère que des interventions visant à **améliorer la sensibilité à l'insuline** pourraient protéger la fonction ovarienne en période de post-chimiothérapie et ainsi réduire la durée de l'ACI[27][31].

1.3.1.2 *Impact du statut métabolique sur la régulation centrale de l'axe gonadotrope*

Nous venons de voir que le **statut métabolique** influence la reprise des cycles menstruels après une chimiothérapie, notamment par l'intermédiaire de l'IL-6 et de l'insuline, qui favorisent l'activation des follicules ovariens. Toutefois, son action ne se limite pas à l'ovaire : il joue également un **rôle clé dans la régulation de l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique** (HPG)[29]. De nombreuses études ont mis en évidence des liens étroits entre métabolisme et reproduction, suggérant qu'une **modulation métabolique** pourrait **optimiser la restauration de la fonction ovarienne**[32][33]. Cette approche agirait à la fois sur l'activation folliculaire et sur le contrôle central de l'axe gonadotrope. Nous examinerons ici comment le statut métabolique influence cet axe hormonal.

1.3.1.2.1 *Rappels sur l'axe gonadotrope*

L'**axe HPG** est un système hormonal central qui orchestre la **fonction reproductive féminine** en impliquant trois niveaux de régulation interconnectés : l'hypothalamus, l'hypophyse et les ovaires[29].

Au sommet de cet axe, l'**hypothalamus** joue un rôle clé en libérant de manière **pulsatile** l'hormone de libération des gonadotrophines hypophysaires (**GnRH**)[29]. Cette sécrétion est finement modulée par divers signaux métaboliques et hormonaux qui ajustent la fréquence et l'amplitude des pulsations de GnRH en fonction des conditions métaboliques[29].

L'action de la GnRH stimule l'**hypophyse antérieure**, qui sécrète deux **hormones gonadotropes** essentielles : la **folliculo-stimulante** (FSH) et la **lutéinisante** (LH)[29]. La **FSH** favorise le **développement des follicules ovariens** et

stimule la production d'œstrogènes par les cellules de la granulosa. La **LH**, quant à elle, **déclenche l'ovulation** et participe à la formation du **corps jaune**, une structure temporaire qui sécrète de la **progestérone** afin de préparer l'endomètre à une éventuelle implantation embryonnaire[29].

Les **ovaires**, derniers acteurs de cet axe, produisent des **hormones stéroïdiennes** (œstrogènes, progestérone et androgènes) qui exercent un rétrocontrôle sur l'hypothalamus et l'hypophyse[29]. Ce mécanisme assure un équilibre dynamique dans la régulation de la GnRH, de la FSH et de la LH. Lorsqu'un follicule atteint un stade de maturité avancé, il sécrète une quantité suffisante d'œstrogènes pour induire un **pic de LH, événement clé déclenchant l'ovulation**. Après cette libération ovocytaire, le corps jaune prend le relais en produisant de la progestérone, essentielle à la préparation et au maintien d'un environnement favorable à la nidation de l'embryon[29].

1.3.1.2.2 Régulation neuroendocrine de la reproduction : organisation des circuits neuronaux et influence des signaux métaboliques

1.3.1.2.2.1 *Les circuits neuronaux hypothalamiques impliqués dans la reproduction*

L'hypothalamus constitue le centre intégrateur des signaux régulateurs de la reproduction[34]. Il regroupe plusieurs populations neuronales qui jouent un rôle essentiel dans la modulation de l'axe HPG. Les **neurones à kisspeptine**, ceux exprimant le **neuropeptide Y (NPY)** et l'**agouti-related peptide (AgRP)** ainsi que ceux exprimant la **pro-opiomélanocortine (POMC)** et le **cocaine-and amphetamine-regulated transcript (CART)** sont les acteurs clés de cette régulation[34].

1.3.1.2.2.1.1 Les neurones à Kisspeptine : un lien direct avec les neurones à GnRH

Les neurones à kisspeptine, situés principalement dans le noyau arqué (NA) et l'aire préoptique antéroventrale, sont des **régulateurs majeurs de l'axe gonadotrope**. Ils intègrent divers signaux hormonaux et métaboliques afin d'adapter la fertilité aux réserves énergétiques de l'organisme[35][36][37][38][39].

Ces neurones jouent un rôle central dans la sécrétion pulsatile de GnRH, en **stimulant directement les neurones à GnRH** via l'activation du récepteur **Kiss1R** (*Kiss1-derived peptide receptor*) par la **kisspeptine**[35]. Ils coexpriment également la neurokinine B et la dynorphine, formant le réseau KNDy (*Kisspeptin/Neurokinin B/Dynorphin*), essentiel à la synchronisation de leur activité et à la régulation de la libération pulsatile de GnRH[36][39].

L'axe kisspeptine-GnRH est particulièrement **sensible aux variations énergétiques et métaboliques**[37][40]. L'expression hypothalamique du gène *Kiss1* (codant pour la Kisspeptine) est modulée par des signaux métaboliques tels que ceux de la leptine, de l'insuline et de la ghréline[37][40]. Dans des conditions de stress métabolique, comme le jeûne prolongé ou le diabète expérimental, une suppression marquée de l'expression de *Kiss1* a été observée, soulignant le rôle clé des neurones à kisspeptine dans la connexion entre le métabolisme et la reproduction[37].

Les neurones à kisspeptine interagissent également avec d'autres circuits neuronaux impliqués dans la régulation énergétique, notamment les **neurones POMC** et **NPY/AgRP**, qui sont eux-mêmes sensibles aux variations nutritionnelles et hormonales[36]. Cette intégration permet d'**adapter la fonction reproductive** en fonction des **ressources énergétiques disponibles**, un mécanisme particulièrement

pertinent dans la mesure où la grossesse et la lactation représentent un coût métabolique important[37][39].

Ainsi, les **neurones à kisspeptine** ne se limitent pas à une fonction reproductrice mais agissent comme un **carrefour entre les systèmes hormonaux et métaboliques**, garantissant une **reproduction optimisée selon l'état énergétique** de l'organisme[35][36][37][39].

1.3.1.2.2.1.2 Les neurones NPY/AgRP : une inhibition de l'axe gonadotrope en cas de restriction énergétique

Les neurones NPY/AgRP, situés dans le noyau arqué, sont activés en cas de **déficit énergétique**[41][42][39]. Ils produisent les **neuropeptides orexigènes** NPY et AgRP, qui ont un **effet inhibiteur** sur les **neurones à kisspeptine et à GnRH**, conduisant ainsi à une réduction de la pulsativité de la GnRH et à une inhibition de la reproduction en période de carence énergétique[42][43][39].

1.3.1.2.2.1.3 Les neurones POMC/CART : un signal de disponibilité énergétique favorable à la reproduction

Les neurones POMC/CART, en opposition aux neurones NPY/AgRP, sont activés en période d'**abondance énergétique**[34][39]. Ils produisent des **peptides anorexigènes**, favorisant la **satiété** et **stimulant la reproduction en activant les neurones à kisspeptine et à GnRH**[41][39]. Cette activation favorise la pulsativité de la GnRH et maintient un cycle menstruel normal[34].

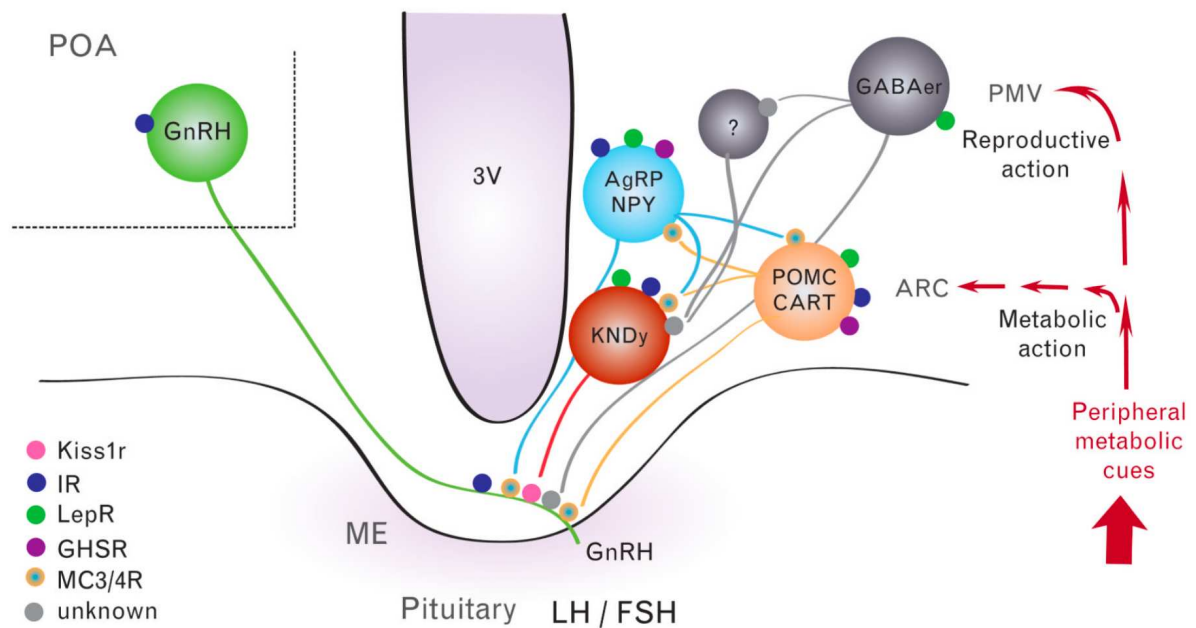


Figure 6 : Organisation des circuits neuronaux faisant le lien entre métabolisme et reproduction[39]

1.3.1.2.2.2 Influence de la leptine, de l'insuline et de la ghréline sur les circuits neuronaux hypothalamiques

L'activation ou l'inhibition de ces circuits neuronaux hypothalamiques est directement modulée par les signaux métaboliques périphériques, notamment ceux de la **leptine**, de l'**insuline** et de la **ghréline**[40]. Ces hormones jouent un rôle essentiel dans la **transmission de l'information sur l'état énergétique** aux neurones de l'hypothalamus[41].

1.3.1.2.2.2.1 Leptine : un modulateur central de l'axe gonadotrope

La **leptine**, une hormone produite principalement par les adipocytes, est un **signal clé de la disponibilité énergétique** dont les niveaux circulants sont proportionnels à la **masse grasse** de l'organisme. Elle agit sur l'hypothalamus pour réduire la prise alimentaire et augmenter la dépense énergétique, jouant ainsi un rôle fondamental dans la régulation du métabolisme[40][44][45][46][47].

Ce signal énergétique est également essentiel pour la **fonction reproductive**, car des niveaux suffisants de leptine sont nécessaires à l'activation de l'axe gonadotrope. En effet, la leptine **stimule les neurones à Kisspeptine**, ce qui favorise la sécrétion de GnRH et, en cascade, la libération des gonadotrophines FSH et LH[40]. La leptine active également les **neurones POMC/CART**, renforçant ainsi un signal de satiété et stimulant indirectement l'axe gonadotrope[41][44][45][46][47].

En cas de **restriction calorique**, la diminution des niveaux de leptine entraîne une **inhibition des neurones à Kisspeptine**, ce qui perturbe la production de GnRH et, par conséquent, la fonction reproductive. Ce mécanisme contribue aux troubles tels que l'aménorrhée hypothalamique observée lors d'un déficit énergétique chronique[43][40][44][45][46][47].

1.3.1.2.2.2 Insuline : une hormone essentielle à la fertilité

L'**insuline**, hormone produite par le pancréas en réponse à l'ingestion alimentaire et régulant le métabolisme glucidique, joue également un rôle clé dans la modulation de la reproduction[40][28].

Tout comme la leptine, elle **stimule les neurones POMC/CART et à kisspeptine**, favorisant la **sécrétion de GnRH** et le maintien d'une ovulation régulière en situation de ressources énergétiques suffisantes[41][28].

Toutefois, une hyperinsulinémie chronique, comme dans le SOPK, perturbe la pulsativité de la GnRH et peut induire une dysovulation[40].

1.3.1.2.2.3 Ghréline : un frein métabolique à la reproduction

La **ghréline**, hormone sécrétée principalement par l'estomac en réponse à une **restriction énergétique**, est essentielle dans la régulation du métabolisme et de la

reproduction. En situation de déficit énergétique, elle exerce un **effet inhibiteur sur l'axe HPG**, compromettant ainsi la fertilité[43][40][48][47].

À l'inverse de la leptine et de l'insuline, la ghréline **inhibe les neurones à Kisspeptine**, ce qui entraîne une réduction de la sécrétion de kisspeptine et, par conséquent, une **diminution de la libération de GnRH**[43][40][48][47].

De plus, la ghréline **active les neurones NPY/AgRP**, impliqués dans la stimulation de l'appétit par la libération de peptides orexigènes. Comme ces neurones exercent un effet inhibiteur sur les neurones à Kisspeptine et à GnRH, leur activation par la ghréline accentue la suppression de l'axe gonadotrope, réduisant ainsi la fonction ovarienne[43][40][48][47]. Ce mécanisme explique les irrégularités menstruelles observées en cas de restriction calorique sévère[40][47].

Ainsi, la ghréline agit comme un **signal d'alarme métabolique**, limitant la fonction reproductive lorsque les ressources énergétiques sont insuffisantes. Cette adaptation physiologique, bien que protectrice en contexte de survie, peut devenir un **facteur limitant pour la fertilité** dans des conditions de sous-nutrition chronique ou de stress métabolique[40][47].

L'axe HPG est donc régulé par une interaction complexe entre **circuits neuronaux et signaux métaboliques**[34]. La **leptine** et l'**insuline** activent les circuits reproductifs en contexte de disponibilité énergétique suffisante, tandis que la **ghréline** les inhibe en période de restriction énergétique[43].

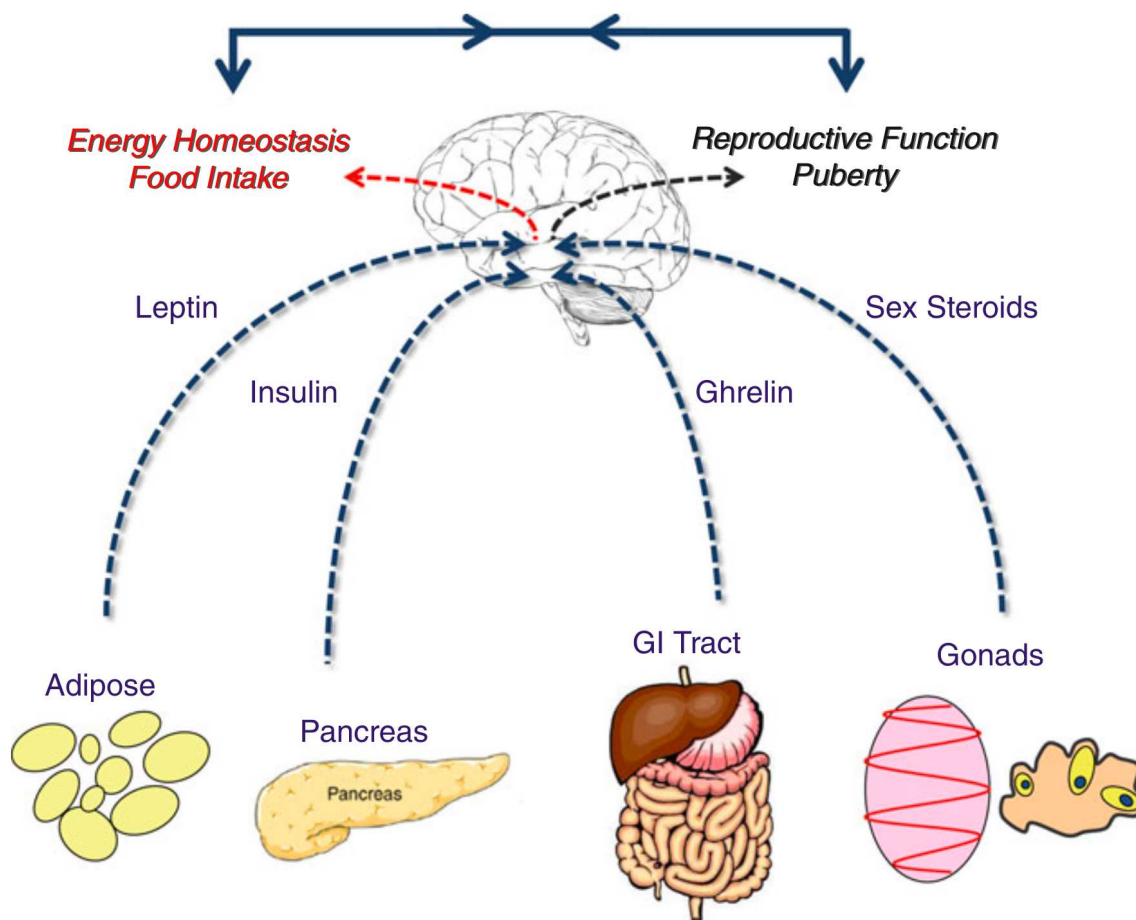


Figure 7 : Représentation schématique du lien entre métabolisme et reproduction[38]

1.3.1.2.2.3 Impact du statut métabolique (sous-nutrition et excès nutritionnel) sur la régulation centrale de l'axe gonadotrope

1.3.1.2.2.3.1 Contexte de sous-nutrition et impact sur l'axe gonadotrope

La **sous-nutrition** est une condition dans laquelle l'apport énergétique est insuffisant pour couvrir les besoins physiologiques de l'organisme. Cette situation a un impact direct sur la fonction reproductive féminine, car l'axe HPG est fortement dépendant du statut métabolique pour fonctionner de manière optimale comme nous venons de le voir[49][32].

Lorsque l'apport calorique est réduit, l'organisme met en place des mécanismes d'adaptation pour préserver les fonctions vitales au détriment de la reproduction. En

situation de restriction alimentaire, les niveaux de leptine chutent, ce qui entraîne une **inhibition de la sécrétion de GnRH au niveau hypothalamique**. Cette inhibition entraîne à son tour une réduction de la libération de LH et FSH par l'hypophyse, compromettant ainsi la maturation folliculaire et l'ovulation[32][49]. De plus, l'insulinémie diminue, ce qui réduit encore davantage la stimulation de la sécrétion de GnRH et perturbe la production des hormones stéroïdiennes ovariennes[49][32]. Parallèlement, la ghréline augmente en réponse à la restriction calorique et exerce un effet inhibiteur sur l'axe reproducteur en réduisant la sécrétion de LH et FSH[32][49].

La **diminution des signaux métaboliques permissifs** entraîne une série de dysfonctionnements menstruels pouvant aller d'une **oligoménorrhée** (cycles irréguliers) à une **aménorrhée hypothalamique fonctionnelle**, où les règles cessent totalement en raison d'un déficit de stimulation hormonale[32][49]. Ce phénomène est fréquemment observé chez les femmes souffrant de troubles du comportement alimentaire ou pratiquant une activité physique excessive sans compensation énergétique adéquate[32][49].

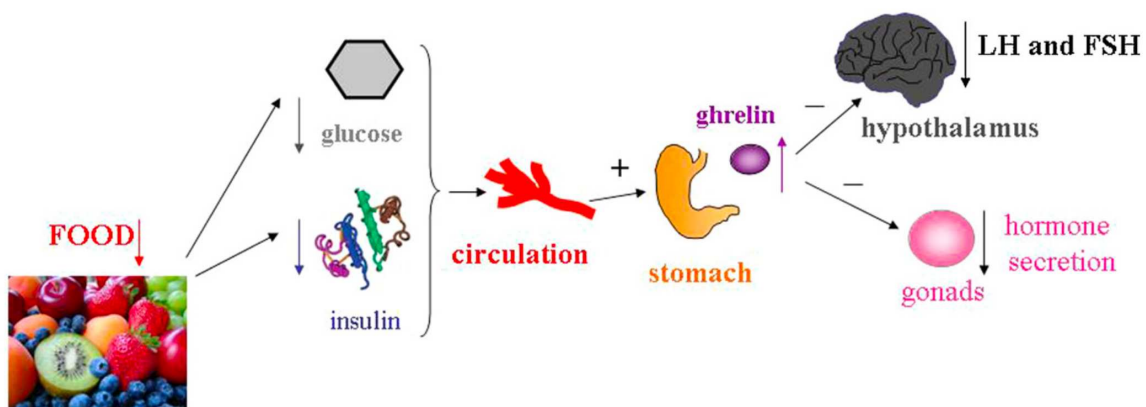


Figure 8 : Impact de la ghréline sur l'axe HPG en situation de restriction calorique[43]

1.3.1.2.2.3.2 Contexte d'excès nutritionnel et impact sur l'axe gonadotrope

L'**excès nutritionnel**, allant du syndrome métabolique à l'obésité, constitue une autre forme de **stress métabolique** ayant un **impact négatif sur la fertilité féminine**[32][49]. Contrairement à la sous-nutrition, où une carence énergétique inhibe la fonction reproductive, l'obésité entraîne une perturbation des signaux hormonaux due à une **résistance aux hormones métaboliques** comme l'insuline et la leptine[32][49].

Chez les femmes obèses, les niveaux circulants de leptine sont élevés en raison de l'augmentation de la masse adipeuse. Toutefois, cet excès de leptine ne parvient pas à stimuler correctement la sécrétion de GnRH en raison du développement d'une résistance à la leptine au niveau hypothalamique[32][49]. L'obésité est également associée à une hyperinsulinémie et à une résistance à l'insuline[32][49]. Cette situation est comparable à un état de sous-nutrition où la leptine et l'insuline sont insuffisantes, suggérant que les mécanismes de suppression reproductive en cas d'obésité et de restriction énergétique partagent des similitudes physiopathologiques[32].

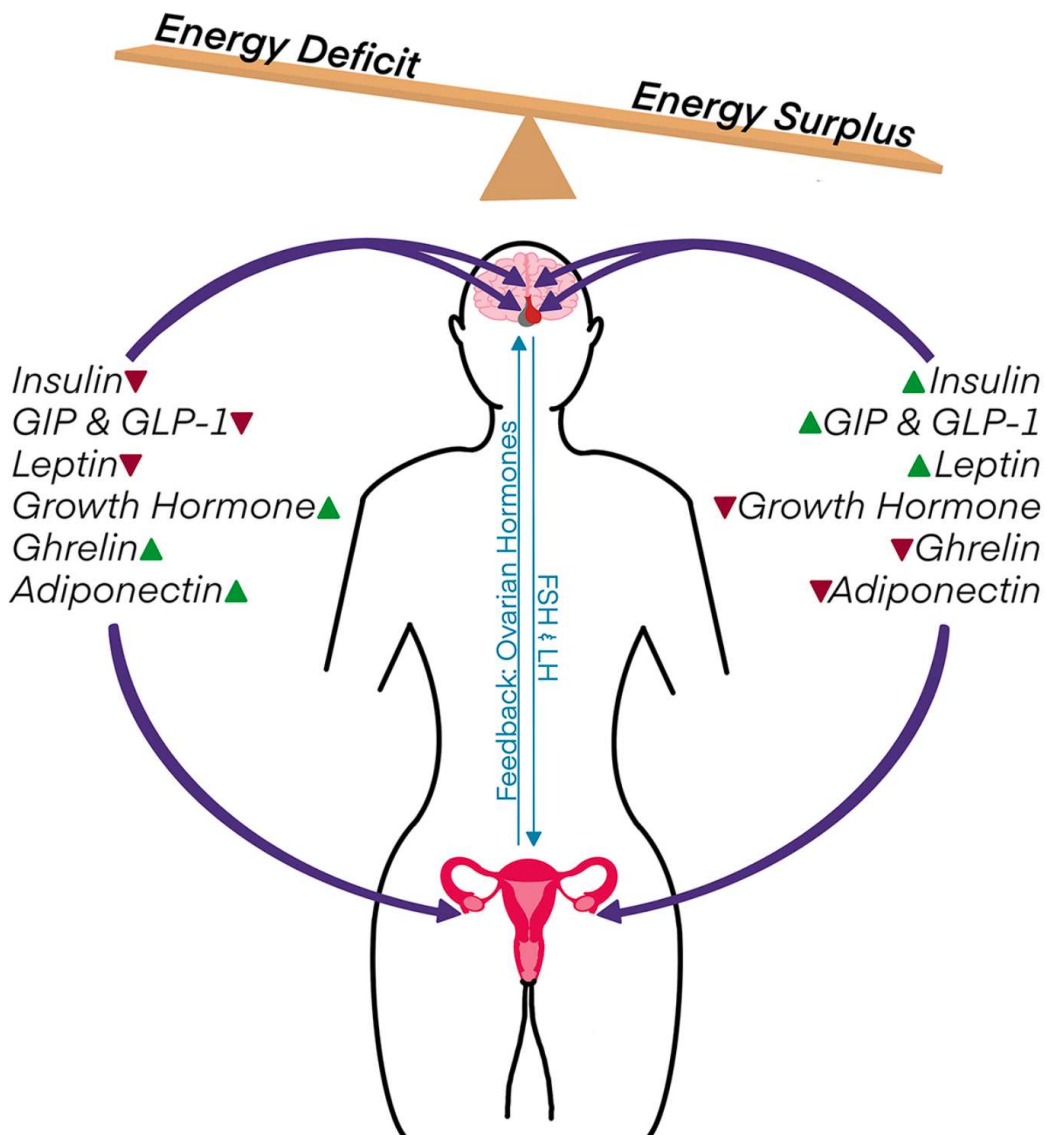


Figure 9 : Variations hormonales en fonction de la balance énergétique et liens avec l'axe gonadotrope[29] (Les triangles rouges ou verts indiquent respectivement une baisse ou une augmentation des concentrations hormonales)

1.3.1.2.3 Hypothèse que le statut métabolique, via son action sur la régulation centrale de l'axe gonadotrope, peut moduler la durée de l'ACI

L'impact du statut métabolique sur la régulation centrale de l'axe gonadotrope est donc indéniable, avec des conséquences aussi bien en cas de déficit qu'en cas d'excès énergétique[32][49].

Sur cette base, nous pouvons émettre l'hypothèse qu'une amélioration de l'équilibre métabolique chez les femmes ayant subi une chimiothérapie pour un cancer

du sein pourrait favoriser la réactivation de l'axe gonadotrope, stimulant ainsi les follicules ovariens résiduels. Cette optimisation pourrait alors contribuer à réduire la durée de l'ACI.

1.3.1.2.4 Hypothèse que la masse musculaire, via l'impact de la myostatine sur la synthèse de FSH, peut moduler la durée de l'ACI

1.3.1.2.4.1 *Découverte du rôle de la myostatine comme promoteur de la synthèse de FSH*

L'article de Ongaro et al. (2025) explore le **rôle endocrinien de la myostatine**, une myokine sécrétée par les muscles, dans la **régulation de la synthèse de la FSH** au niveau hypophysaire[50]. Contrairement au modèle conventionnel qui attribue ce rôle aux activines, les auteurs démontrent que la myostatine est un régulateur clé de la production de FSH chez la souris[50].

1.3.1.2.4.1.1 *Identification de la myostatine comme facteur clé*

L'équipe a démontré que la **myostatine** stimule l'expression du **gène *Follicle-stimulating hormone beta subunit (Fshb)*** codant pour la sous-unité bêta de la FSH, dans des cultures cellulaires hypophysaires et dans des lignées gonadotropiques[50]. Des anticorps neutralisants contre la myostatine réduisent significativement les niveaux de FSH *in-vivo*[50].

1.3.1.2.4.1.1.1 Lien entre le muscle et la fertilité

En étudiant des **souris *knock-out*** pour le gène ***Myostatin (Mstn)*** codant pour la myostatine, les chercheurs ont observé une **baisse des niveaux de FSH**, une **diminution de la taille des testicules et des ovaires**, ainsi qu'une **fertilité réduite**[50]. La réintroduction de la myostatine dans les muscles de ces souris permet de restaurer la production de FSH[50].

1.3.1.2.4.1.2 Effets potentiels chez d'autres espèces

Bien que l'étude ait été menée sur des souris, les auteurs suggèrent que des phénomènes similaires pourraient exister chez d'autres mammifères, y compris les humains[50]. Chez les bovins, certaines races présentant une mutation du gène *Mstn* ont des problèmes de fertilité, ce qui pourrait être lié à une réduction de la production de FSH[50].

Cette étude améliore notre compréhension des mécanismes de régulation de la FSH en démontrant l'existence d'un **axe muscle-hypophyse via la myostatine**[50].

1.3.1.2.4.2 Hypothèse que la masse musculaire, via le rôle de la myostatine sur la synthèse de FSH, peut moduler la durée de l'ACI

Nous avons vu le rôle de la **myostatine** (sécritée par le muscle) dans la **promotion de la synthèse de FSH**[50]. Nous pouvons donc émettre l'hypothèse que la masse musculaire des patientes peut impacter la durée de l'ACI via la myostatine et son influence sur l'axe HPG. En effet, un rapport masse musculaire / masse grasse plus élevé pourrait être associé à des concentrations sanguines augmentées de myostatine et donc à une synthèse plus importante de FSH. Cela entraînerait une stimulation de l'axe HPG en post-chimiothérapie, favorisant une reprise plus rapide des cycles menstruels.

1.3.2 Modulation de la durée de l'ACI par les rythmes circadiens

1.3.2.1 Généralités sur les rythmes circadiens

1.3.2.1.1 Définition des rythmes circadiens

Les **rythmes circadiens** sont des **cycles biologiques d'environ 24 heures** qui orchestrent de nombreux processus physiologiques, notamment la régulation du **métabolisme**, du **sommeil** et de la **reproduction**[32]. Ces cycles permettent aux organismes d'anticiper et de s'adapter aux **changements environnementaux quotidiens**, comme l'alternance jour-nuit et les variations alimentaires[32][51]. Ces oscillations sont appelées **circadiennes**, dérivant du latin *circa* signifiant « autour » et *dies* signifiant « jour »[52].

1.3.2.1.2 Rôle des horloges moléculaires internes dans la quasi-totalité des cellules du corps

Le contrôle des rythmes circadiens repose sur des **horloges moléculaires**, présentes dans presque toutes les cellules du corps, qui fonctionnent grâce à des **boucles de rétroaction transcriptionnelle et traductionnelle**[32][51][53][54]. Au cœur de ce système, deux **protéines clés**, *circadian locomotor output cycles kaput* (**CLOCK**) et *brain and muscle aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-like protein 1* (**BMAL1**), induisent l'expression des gènes *Period* (**Per1**, **Per2**) et *Cryptochrome* (**Cry1**, **Cry2**)[51][53][54][55]. Les protéines codées par ces gènes se dimérisent avant de pénétrer dans le noyau cellulaire, où elles exercent un **rétrocontrôle négatif** en inhibant leur propre expression. Une fois ces protéines dégradées, le cycle recommence, générant ainsi une **oscillation rythmique sur une période d'environ 24 heures**[32][51][53][54][55]. L'ensemble des gènes impliqués dans ces horloges moléculaires sont appelés *clock genes* (gènes de l'horloge circadienne)[56]. Ces **cycles internes** sont **ajustés aux variations**

environnementales grâce aux *zeitgebers* (terme allemand signifiant « donneurs de temps »), le principal étant la lumière[32][57].

1.3.2.1.3 Rôles des noyaux suprachiasmatiques (NSC) : horloge circadienne principale

Bien que toutes les cellules possèdent des horloges moléculaires de base, l'**horloge circadienne principale** est située dans les **NSC**, un ensemble d'environ 20 000 neurones dans l'hypothalamus[58]. Ce « chef d'orchestre » des rythmes biologiques reçoit des **informations temporelles** provenant notamment de **cellules photosensibles de la rétine** et les transmet à d'autres **oscillateurs centraux et périphériques** via des signaux neuronaux et humoraux[32][58].

1.3.2.1.4 La lumière : principal régulateur des NSC

La **lumière** est le principal régulateur des NSC, comme l'ont démontré de nombreuses études chez l'animal et l'humain[32][58][59]. L'information lumineuse est transmise via la **voie rétino-hypothalamique**, reliant les photorécepteurs rétiniens aux NSC. Ces derniers envoient ensuite des projections vers plusieurs régions hypothalamiques et d'autres structures cérébrales impliquées dans le contrôle des fonctions **endocrines, métaboliques** et **comportementales**[32][58][59].

1.3.2.1.5 Rôle de la mélatonine dans la régulation circadienne

Un autre acteur clé de la régulation circadienne est la **mélatonine**, une hormone dérivée de la sérotonine et principalement synthétisée par la glande pinéale en conditions de **faible luminosité**[60]. Son taux sanguin atteint un **pic nocturne** chez les animaux et les humains, facilitant l'**endormissement** et la **régulation des processus hormonaux**[32]. L'exposition même modérée à une lumière artificielle en soirée (aussi faible que 100 lux) peut inhiber la production de mélatonine, perturbant

ainsi l'équilibre circadien[32]. La mélatonine interagit avec plusieurs récepteurs, présents dans le cerveau et l'hypophyse, jouant un rôle clé dans l'**intégration des signaux circadiens**[32].

1.3.2.1.6 Impact des mutations des *clock genes*

Les **mutations** des *clock genes* essentiels, tels que *Clock*, *Bmal1*, *Per1* et *Per2*, peuvent entraîner de profondes **perturbations des rythmes biologiques** et des **altérations de la fertilité**, suggérant un lien entre l'horloge circadienne et la reproduction[32][51].

1.3.2.2 Influence des rythmes circadiens sur la fonction reproductrice

1.3.2.2.1 Contrôle du timing du pic pré-ovulatoire de GnRH par les NSC

L'**axe HPG**, qui contrôle la reproduction, est étroitement **lié aux rythmes circadiens**. Un élément clé du cycle ovarien est le pic préovulatoire de GnRH, nécessaire au déclenchement de l'ovulation. Bien qu'une concentration élevée d'estradiol soit indispensable, un **signal temporel des NSC** est également requis pour **synchroniser la libération de GnRH** et assurer une ovulation optimale[32][61][62][55].

1.3.2.2.1.1 Rôle des neurotransmetteurs tels que la vasopressine (AVP) et le peptide vasoactif intestinal (VIP)

Les NSC contrôlent la libération de GnRH via des **neurotransmetteurs** tels que l'**AVP** et le **VIP**[62][55]. Ces neurotransmetteurs, présents dans les neurones des NSC projetant vers l'aire préoptique (AP), influencent la libération de GnRH et la survenue de l'ovulation. Leur **inhibition** retarde ou **atténue le pic de GnRH**, tandis que l'administration d'AVP dans l'AP restaure ce pic chez des rates ovariectomisées traitées à l'estradiol et ayant subi une lésion des NSC[32][62]. Cela suggère que

l'expression rythmique de l'AVP par les NSC contrôle le **timing du pic pré-ovulatoire de GnRH** et l'**induction de l'ovulation**[32].

1.3.2.2.1.2 *Les neurones à Kisspeptine, relais entre les NSC et les neurones à GnRH*

Plus précisément, les **neurones à Kisspeptine**, puissants stimulateurs de la libération de GnRH, constituent un **relais critique entre les NSC et les neurones à GnRH**[63]. Leur activité est modulée par les **signaux circadiens** en provenance des NSC, contribuant ainsi à la synchronisation du pic pré-ovulatoire de LH[64]. En effet, ces neurones reçoivent des projections directes des NCS via notamment les neurotransmetteurs AVP et VIP[65]. L'AVP, en particulier, module l'activité des neurones à Kisspeptine en fonction de l'heure de la journée, permettant ainsi une **activation temporelle spécifique du pic de LH**[64].

1.3.2.2.2 *Une horloge interne dans les neurones à GnRH*

Les **neurones à GnRH**, essentiels à la régulation hormonale de la reproduction, sont **sous l'influence des NSC**, l'horloge centrale de l'organisme. Cependant, ces neurones possèdent également leur propre rythme interne, faisant d'eux des **oscillateurs circadiens semi-autonomes**[56][66][67].

1.3.2.2.2.1 *Expression des clock genes par les neurones à GnRH*

Plusieurs études ont démontré que les **neurones à GnRH** expriment des *clock genes*, notamment **Per1**, **BMAL1** et **Per2**, qui sont impliqués dans la régulation de leur activité[56]. Olcese et al. ont été les premiers à observer l'expression de *Per1* dans des cellules à GnRH immortalisées ainsi que chez l'animal[68]. D'autres travaux ont confirmé que l'expression de ces gènes est rythmique dans les neurones à GnRH, et que leur perturbation entraîne une altération de la sécrétion pulsatile de GnRH[69][70][71][72]. Ces données suggèrent que le rythme et l'intensité de la

libération de GnRH sont régulés par l'activité d'une **horloge fonctionnelle au sein des neurones à GnRH**. La présence d'un système d'horloge interne dans ces neurones permet d'**adapter la libération de GnRH aux variations circadiennes**[56][73].

1.3.2.2.2 Impact sur l'axe gonadotrope

Ainsi, cette horloge interne des neurones à GnRH joue un rôle clé dans la **sécrétion rythmique des hormones gonadotropes**[51]. En effet, la libération pulsatile de GnRH entraîne une sécrétion synchrone de la FSH et de la LH par l'hypophyse, dictant ainsi les **fluctuations circadiennes du cycle ovarien**. Cette dynamique rythmique influence directement la production d'œstrogènes par les follicules ovariens, assurant une coordination optimale des événements hormonaux nécessaires à l'ovulation et à la fertilité. Toute perturbation de cette horloge interne peut ainsi désynchroniser l'axe HPG et altérer la régularité du cycle menstruel[51].

1.3.2.2.3 Rôle des rythmes circadiens dans la physiologie ovarienne

1.3.2.2.3.1 Expression des clock genes par les cellules ovariennes

L'**ovaire** possède également sa propre **horloge biologique interne** qui régule plusieurs aspects de la physiologie ovarienne. Cette horloge interne repose sur l'expression des *clock genes*, qui sont présents dans les **cellules de la granulosa**, les **cellules de la thèque**, les **ovocytes** et les **cellules stromales**[55][56][51][74][75][76].

1.3.2.2.3.2 Influence des rythmes circadiens sur la physiologie ovarienne

Les rythmes circadiens ovariens influencent plusieurs processus essentiels, notamment la folliculogenèse, la stéroïdogenèse, la réponse aux gonadotrophines et l'ovulation[55][56][51][74][75][76].

1.3.2.2.3.2.1 Rythmes circadiens et folliculogénèse

Le développement des follicules dépend de l'expression rythmée de gènes clés, comme ceux du récepteur de la LH, sous le contrôle de l'horloge moléculaire interne. Cette horloge interne semble ainsi **synchroniser la maturation folliculaire** avec les cycles hormonaux[55][56][77].

1.3.2.2.3.2.2 Rythmes circadiens et stéroïdogénèse

L'horloge ovarienne contrôle la **production des hormones stéroïdiennes**, notamment la **progestérone**. Des études montrent que la suppression du *clock gene Bmal1* dans les cellules de la granulosa entraîne une baisse significative de la sécrétion de progestérone, compromettant ainsi la phase lutéale et l'implantation embryonnaire[55][56][78][79].

1.3.2.2.3.2.3 Rythmes circadiens et réponse aux gonadotrophines

Les rythmes circadiens influencent la **sensibilité des cellules de la granulosa à la FSH et à la LH**. Il a été démontré que la réponse à ces hormones fluctue au cours de la journée[56][80][81].

1.3.2.2.3.2.4 Rythmes circadiens et ovulation

L'ovaire possède une **horloge interne qui module le timing de l'ovulation**. Des expériences ont montré que, même en bloquant la sécrétion endogène de LH, un **rythme circadien de sensibilité à la LH** persiste dans l'ovaire[56][80][81]. De plus, chez des souris présentant une mutation du gène *Bmal1*, on observe une diminution du nombre d'ovocytes allant jusqu'à l'ovulation, ce qui suggère un **rôle clé de l'horloge biologique dans le déclenchement de l'ovulation**[56][80][81].

1.3.2.2.4 Effets de la mélatonine sur la fertilité féminine

La **mélatonine**, comme vu plus haut, est une hormone sécrétée principalement par la glande pinéale, jouant un **rôle crucial dans la régulation des rythmes circadiens**[60]. Au-delà de ses effets sur le sommeil, la mélatonine influence significativement la physiologie de la reproduction féminine, notamment par ses propriétés antioxydantes et son interaction avec l'axe HPG[82].

1.3.2.2.4.1 Rôle de la mélatonine dans la régulation hormonale

La **mélatonine** module l'activité de l'axe HPG en **influençant la sécrétion des gonadotrophines** (FSH et LH)[83]. Cette action s'effectue via les récepteurs *melatonin receptor 1* (MT1) et *melatonin receptor 2* (MT2) exprimés dans l'hypothalamus et l'hypophyse[83]. La diminution des niveaux de mélatonine avec l'âge pourrait ainsi contribuer à la baisse de la fertilité féminine en altérant la production hormonale et la maturation ovocytaire[84].

1.3.2.2.4.2 Effets antioxydants et protection de l'ovocyte

L'ovulation s'accompagne d'un **stress oxydatif** important, qui peut endommager les cellules ovariennes et altérer la qualité ovocytaire[60]. La **mélatonine**, en raison de ses puissantes **propriétés antioxydantes**, **protège les ovocytes** contre les espèces réactives de l'oxygène en neutralisant les radicaux libres et en stimulant les enzymes antioxydantes[60].

1.3.2.2.4.3 Mélatonine et implantation embryonnaire

Des études ont montré que la mélatonine favorise la régulation du cycle menstruel et **améliore l'environnement endométrial** en facilitant l'implantation embryonnaire[84][60]. Les **récepteurs de la mélatonine** sont **présents dans l'utérus**

et pourraient influencer la fonction du myomètre et du trophoblaste pendant la grossesse[84].

La mélatonine apparaît donc comme un modulateur essentiel de la fertilité féminine, notamment par son action sur la régulation hormonale, la protection de l'ovocyte et l'optimisation de l'implantation embryonnaire.

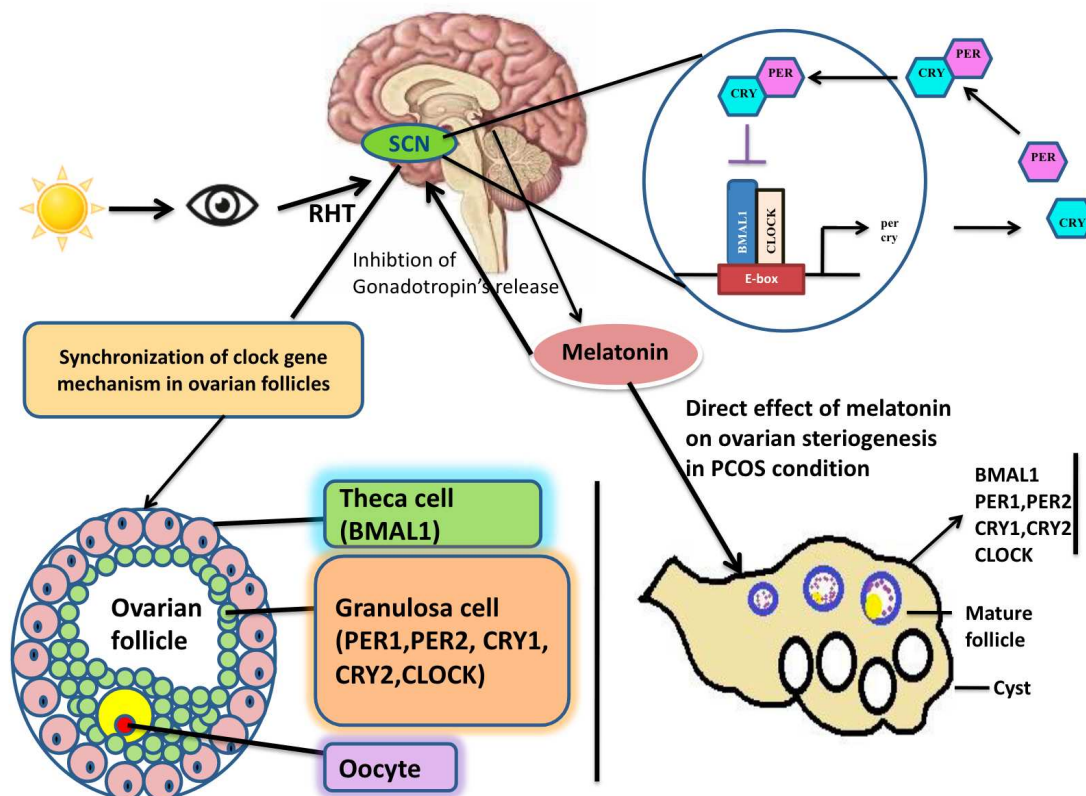


Figure 10 : Synthèse des liens entre les noyaux suprachiasmatiques, la mélatonine, la lumière et l'ovaire[84] (SCN = suprachiasmatic nucleus, RHT = retinal-hypothalamic tract, PCOS = polycystic ovarian syndrome)

1.3.2.2.5 Lien entre l'exposition à la lumière naturelle et la reproduction

La **photoréception** a longtemps été attribuée aux photorécepteurs rétiniens, mais des recherches récentes sur des modèles animaux ont mis en évidence une **capacité des cellules hypophysaires à détecter directement la lumière**,

indépendamment des yeux[85]. Cette photoréception non visuelle chez l'animal repose sur des **opsines** exprimées dans l'hypophyse, notamment l'**opsin 5** (OPN5) et influence divers processus endocriniens, dont la **régulation de l'axe HPG**[86][87].

1.3.2.2.5.1 Photoréception hypophysaire et régulation hormonale

1.3.2.2.5.1.1 Détection de la lumière par l'hypophyse

L'étude de Fukuda et al. (2025) a démontré que les **cellules mélanotropes** de l'hypophyse du poisson médaka (*Oryzias latipes*) possèdent une capacité de **photoréception directe via l'OPN5**[85]. En réponse à une exposition aux ultraviolets, ces cellules augmentent leur concentration intracellulaire de Ca^{2+} , entraînant la libération de l'hormone mélanotrope (MSH), un acteur clé de la pigmentation[85].

Cette découverte suggère que certaines cellules endocrines hypophysaires peuvent répondre directement à la lumière sans l'intermédiaire du système nerveux central, ouvrant la **possibilité d'une influence lumineuse directe sur d'autres axes hormonaux**, y compris l'axe HPG.

1.3.2.2.5.1.2 Rôle de l'OPN5 dans la régulation de l'axe HPG

L'étude de Liufu et al. (2022), réalisée sur le canard de montagne, met en évidence une **implication directe de l'OPN5 dans la régulation des hormones gonadotropes**[86]. L'activation de l'OPN5 par la lumière module la voie *thyroid-stimulating hormone* (TSH) - désiodases 2/3 (DIO2/DIO3), qui influence l'**activation de la GnRH**, et par conséquent la sécrétion de FSH et LH[86]. Les résultats montrent qu'une **exposition prolongée à la lumière** chez les canards entraîne une augmentation des niveaux de LH, FSH, estradiol et progestérone, favorisant la

croissance folliculaire et la ponte[86]. Inversement, une période courte d'exposition à la lumière réduit l'activité ovarienne[86].

Ces résultats démontrent un lien fonctionnel entre la photoréception directe par l'hypophyse et la régulation de la reproduction chez les oiseaux. Bien que l'extension de ces mécanismes aux mammifères reste à démontrer, ils suggèrent un rôle conservé de l'OPN5 dans l'adaptation saisonnière de la reproduction.

1.3.2.2.5.2 Perspectives et implications pour la recherche humaine

Calligaro et al. (2022) ont étudié la distribution et les rôles de l'**OPN5** chez divers vertébrés, soulignant son implication dans plusieurs processus physiologiques liés à la lumière, y compris la **régulation des cycles circadiens** et de la **reproduction**[87].

Chez les mammifères, la **présence de l'OPN5 dans l'hypophyse et l'hypothalamus** suggère un rôle potentiel dans la régulation de l'axe HPG, mais son impact direct sur la sécrétion de FSH et LH reste à démontrer[87]. En reproduction humaine, des recherches sont nécessaires pour évaluer si la lumière pourrait influencer directement les fonctions hypophysaires.

1.3.2.3 Conséquences d'une dérégulation des rythmes circadiens sur la reproduction

1.3.2.3.1 Impact des horaires décalés sur la fertilité

Si la majorité des recherches sur le contrôle circadien de la reproduction ont été menées chez l'animal, les études épidémiologiques confirment l'**influence des rythmes biologiques sur la fertilité humaine**[32].

Une **perturbation du rythme circadien**, due à un travail de nuit ou à l'exposition à la lumière artificielle, peut altérer la production de mélatonine et entraîner

des **troubles de l'ovulation et de la fertilité**[60][51]. Des altérations dans l'expression des *clock genes* ont été associées à une diminution de la fertilité et à une augmentation du risque de fausses couches précoces, notamment en raison d'une régulation anormale de la sécrétion des hormones reproductives, comme la FSH et la LH[88]. Ces perturbations influencent l'axe HPG, entraînant des fluctuations hormonales qui compromettent la maturation folliculaire et l'ovulation[89].

Les **femmes travaillant en horaires décalés** présentent des **cycles menstruels irréguliers**, un **allongement du délai de conception** et un **risque accru de fausses couches**[56][90][91][92]. Une étude menée sur des infirmières a montré que celles ayant travaillé plus de 20 mois en rotation présentaient des cycles plus courts ou plus longs que la moyenne, suggérant une ovulation irrégulière et une altération de la phase lutéale[93][88]. Chez les travailleuses de nuit, une diminution du nombre et de la qualité des ovocytes a également été observée, ce qui pourrait réduire les chances de conception et affecter les taux de succès en fécondation *in vitro* (FIV)[94][89]. Les professionnelles de santé sont particulièrement exposées à ces rythmes de travail[56]. De même, les femmes travaillant dans les secteurs de la sécurité publique et des transports présentent un risque élevé de maladies associées au travail en horaires décalés[56].

Le **décalage horaire chronique** entraîne également des **troubles de la fertilité**[32]. Même une désynchronisation modérée, appelée **social jetlag** (décalage entre l'horloge biologique interne et l'horloge sociale imposée par la société), est associée à des **perturbations endocriniennes** et à des **risques métaboliques**[32].

1.3.2.3.2 Hypothèse que les rythmes circadiens peuvent moduler la durée de l'ACI

Nous avons vu que les rythmes circadiens, via notamment l'exposition à la lumière naturelle, influent sur l'axe HPG et que des horaires décalés étaient associés à des troubles de la fertilité. Nous pouvons donc émettre l'hypothèse que, chez les patientes en ACI, leurs rythmes circadiens impactent la durée de cette ACI. Une bonne hygiène de sommeil et une exposition suffisante à la lumière naturelle pourraient être associées à une reprise plus rapide des cycles menstruels.

2 Objectifs de l'étude METAB-OV

Nous supposons donc que le **statut métabolique** et les **rythmes circadiens** influencent la durée de l'ACI. De cette hypothèse, découlent les objectifs principaux et secondaires de notre travail.

2.1 Objectif principal

L'objectif principal est d'évaluer **l'association entre l'IL-6 en fin de chimiothérapie et le statut de récupération de la fonction ovarienne**, évalué à 6 mois, durant la première année post-chimiothérapie chez des femmes jeunes (25-35 ans) traitées pour un cancer du sein et ayant développé une ACI. La récupération de la fonction ovarienne est rapide (≤ 6 mois) ou tardive (au-delà du 6^{ème} mois post-chimiothérapie).

2.2 Objectifs secondaires

2.2.1 Objectif secondaire n°1

L'objectif secondaire n°1 est d'étudier **l'association entre les marqueurs biologiques métaboliques** (insuline, leptine, ghréline) **en fin de chimiothérapie et le statut de retour des règles.**

2.2.2 Objectif secondaire n°2

L'objectif secondaire n°2 est d'étudier **l'association entre l'IMC en fin de chimiothérapie et le statut de retour des règles.**

2.2.3 Objectif secondaire n°3

L'objectif secondaire n°3 est d'étudier **l'association entre les pourcentages de masse musculaire et de masse grasse en fin de chimiothérapie et le statut de retour des règles.**

2.2.4 Objectif secondaire n°4

L'objectif secondaire n°4 est d'étudier **l'association entre le score d'activité physique en fin de chimiothérapie et le statut de retour des règles.**

2.2.5 Objectif secondaire n°5

L'objectif secondaire n°5 est d'étudier **l'association entre le rythme circadien en fin de chimiothérapie et le statut de retour des règles.**

2.2.6 Objectif secondaire n°6

L'objectif secondaire n°6 est de **déterminer des facteurs relevés à 3 mois associés au statut de retour des règles entre 3 et 12 mois.**

2.2.7 Objectif secondaire n°7

L'objectif secondaire n°7 est de **décrire les trajectoires des paramètres cliniques et biologiques sur les 12 mois du suivi dans la population globale et dans les 2 groupes déterminés par le statut de retour des règles.**

3 Critères d'évaluation

3.1 Critère d'évaluation pour l'objectif principal

Nous avons dosé à jeun l'**IL-6** dans le sang en fin de chimiothérapie.

3.2 Critères d'évaluations pour les objectifs secondaires

3.2.1 Critère d'évaluation pour l'objectif secondaire n°1

Il s'agit de la mesure, en fin de chimiothérapie, des concentrations sanguines d'insuline, de leptine et de ghréline.

3.2.2 Critère d'évaluation pour l'objectif secondaire n°2

Le critère est l'**IMC** établi en fin de chimiothérapie.

3.2.3 Critère d'évaluation pour l'objectif secondaire n°3

Il s'agit de la mesure des pourcentages de masse musculaire et de masse grasse en fin de chimiothérapie.

3.2.4 Critère d'évaluation pour l'objectif secondaire n°4

Nous avons calculé le **score d'activité physique** dit score de Dijon, évalué à l'aide d'un questionnaire établi en fin de chimiothérapie[95] (Annexe 1).

Ce questionnaire d'activité physique aboutit au calcul d'un score sur un total de 30 points.

3.2.5 Critère d'évaluation pour l'objectif secondaire n°5

Nous avons calculé la **catégorie de chronotype**, ainsi que le **social jetlag** et le **temps d'exposition à la lumière naturelle directe**, évalués en fin de

chimiothérapie, à l'aide du questionnaire de chronotype *Munich ChronoType Questionnaire* (MCTQ)[96][97][98] (Annexe 2).

3.2.6 Critère d'évaluation pour l'objectif secondaire n°6

Les facteurs suivants (relevés à **3 mois**) ont été testés : les **marqueurs biologiques**, l'**IMC**, les **pourcentages de masse musculaire et de masse grasse**, le **score d'activité physique**, la **catégorie de chronotype**, le **social jetlag**, le **temps d'exposition à la lumière naturelle directe**.

Le statut de retour des règles est binaire : entre 3 et 6 mois (précoce) ou plus de 6 mois (tardif).

3.2.7 Critère d'évaluation pour l'objectif secondaire n°7

Les **paramètres cliniques et biologiques** ont été évalués tout au long du **suivi** pour répondre à cet objectif.

Matériel et méthodes

Notre étude, intitulée METAB-OV (N° national 2021-A00461-40), est une étude **monocentrique de cohorte prospective**. Cette étude porte sur l'impact du **statut métabolique** et des **rythmes circadiens** sur la **récupération ovarienne post-chimiothérapie** chez des patientes traitées pour un **cancer du sein**, avec les objectifs principal et secondaires précédemment décrits. Conformément à l'article L1121-4 du Code de la Santé Publique, l'étude METAB-OV a reçu un **avis initial favorable du Comité de protection des personnes (CPP) Île-de-France VII (IdF-VII)**, en date du 04/10/2021.

Ce projet de recherche clinique repose sur la participation de deux acteurs ayant l'habitude de travailler au quotidien pour des activités de soins (bilans d'infertilité féminine, suivi hormonal des protocoles de stimulation ovarienne), mais aussi pour des protocoles de recherche clinique sur des thématiques proches du projet présenté ici. Ces deux acteurs sont :

- l'investigateur principal de l'étude : le **Professeur Christine DECANTER**, médecin de la reproduction et cheffe du service d'**Assistance Médicale à la Procréation (AMP) et de Préservation de la fertilité** du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Lille,
- et le coordinateur de l'étude : le **Professeur Pascal PIGNY**, responsable de l'**Unité Fonctionnelle (UF) d'Hormonologie** et chef du service de **Biochimie « Hormonologie-Métabolisme-Nutrition-Oncologie »** du CHU de Lille.

1 Recrutement des patientes de l'étude METAB-OV

1.1 Acteurs responsables du recrutement des patientes

Le Professeur Christine DECANTER et Madame Emmanuelle D'ORAZIO, sage-femme coordinatrice du service d'AMP et de Préservation de la fertilité, évaluent la fonction reproductive des patientes atteintes de cancer du sein à différentes étapes de leur traitement (avant, pendant et en post-chimiothérapie). En fonction des indications médicales, elles peuvent leur proposer un acte de préservation ovarienne.

Pour notre projet, le Professeur Christine DECANTER et Madame Emmanuelle D'ORAZIO ont été responsables du **recrutement** et du **suivi** des patientes. L'inclusion a débuté au mois de **février 2022** et a duré 36 mois. L'étude a été proposée à toutes les patientes incidentes prises en charge dans le service d'AMP et de Préservation de la fertilité pendant la période d'inclusion et répondant aux critères d'éligibilité.

1.2 Critères d'éligibilité

1.2.1 Critères d'inclusion

Les **critères d'inclusion** de l'étude étaient les suivants :

- patiente présentant une **ACI** consultant pour **suivi de fertilité post-cancer du sein** dans le service d'AMP de l'hôpital Jeanne de Flandre et **non opposée** à sa participation à l'étude
- femme adulte **âgée de 25 à 35 ans** à la mise en place de la chimiothérapie
- **protocole de chimiothérapie** réalisé : 3 cycles de 5-Fluoro-uracile – Épirubicine – Cyclophosphamide (FEC)-100 ou 4 cycles de FEC-75 suivis de 3 cycles de Docétaxel (Taxotère) ou 9 cycles ou 12 cycles de Paclitaxel (Taxol)

- patiente ayant donné son **consentement écrit** pour participer à l'étude
- patiente **assurée** à la Sécurité sociale
- patiente disposée à se conformer à toutes les procédures de l'étude et à sa durée.

1.2.2 Critères de non inclusion

Les **critères de non inclusion** étaient les suivants :

- femme ne présentant **pas d'ACI**
- patiente **opposée** à sa participation à l'étude
- patiente **sous tutelle**
- patiente ayant eu un **autre protocole de chimiothérapie** pour cancer du sein
- patiente âgée de **moins de 25 ans** ou de **plus de 35 ans** à l'initiation de la chimiothérapie.

1.2.3 Critères d'arrêt de participation à l'étude et fin anticipée

Les patientes pouvaient arrêter l'étude pour les raisons suivantes :

- **souhait de la patiente** de sortir de l'étude
- décision de mise en place d'un **traitement par analogue de la GnRH**, nous empêchant d'évaluer la récupération ovarienne
- **rechute** de cancer du sein.

2 Organisation des visites de suivi des patientes

À chaque visite de suivi dans le service d'AMP et de Préservation de la fertilité en post-cancer du sein, les patientes ont bénéficié d'une **consultation** avec le Professeur Christine DECANTER et Madame Emmanuelle D'ORAZIO, et d'un **bilan biologique pour évaluer la réserve ovarienne** (dosage d'AMH sérique). En plus de ces éléments prévus dans la prise en charge habituelle des patientes, d'autres paramètres cliniques et biologiques ont été recueillis à des fins de recherche.

2.1 Visite V1 : initiation de l'étude

Dans le cadre du soin, les patientes sont vues **avant le début de la chimiothérapie** pour cancer du sein afin d'établir un **bilan de fertilité de base**, il s'agit de la visite 0 (**V0**). À cette occasion, les patientes ont reçu une **information complète orale et écrite** précisant le déroulement du protocole METAB-OV. Une **lettre d'information** et un **formulaire de consentement** leur ont été remis avant leur inclusion dans l'étude.

La visite 1 (**V1**), à la **fin de la chimiothérapie**, est la **visite d'inclusion** dans l'étude des patientes ayant donné leur accord. Lors de cette visite, le **consentement éclairé signé** par la patiente a été recueilli pour chacune d'entre elles avant leur entrée dans l'étude METAB-OV.

2.2 Visites de suivi : V2 à V5

Les visites de suivi étaient programmées tous les 3 mois :

- La deuxième visite (**V2**) était réalisée à **3 mois de la fin de la chimiothérapie** (± 1 mois)
- La troisième visite (**V3**) avait lieu à **6 mois de la fin de la chimiothérapie** (± 1 mois). À cette visite, les patientes ont ensuite été classées en deux groupes en fonction de leur statut menstruel : réglée à la V3 (récupération précoce) ou en aménorrhée à la V3 (récupération tardive).
- La quatrième visite (**V4**) était prévue à **9 mois de la chimiothérapie** (± 1 mois)
- La cinquième visite (**V5**), correspondant à la **visite de fin d'étude**, était programmée à **12 mois de la fin de la chimiothérapie** (± 1 mois)

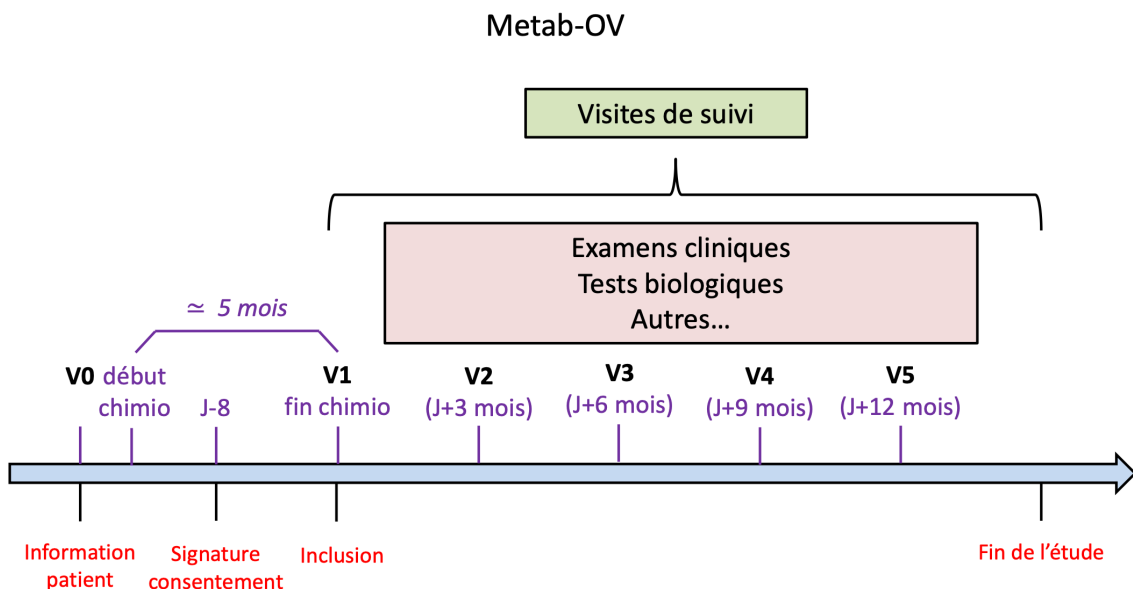


Figure 11 : Organisation des visites de suivi des patientes de l'étude METAB-OV

3 Recueil des données cliniques à chaque visite de suivi

A chacune des 5 visites (V1 à V5), le **statut menstruel** de la patiente a été évalué : patiente réglée ou en aménorrhée. Les **paramètres cliniques** de notre étude ont également été recueillis à chaque visite : IMC, pourcentages de masse musculaire et de masse grasse, score d'activité physique, catégorie de chronotype, *social jetlag* et temps d'exposition à la lumière naturelle directe les jours de travail et les jours de week-end. Dans le cadre de la méthodologie de référence (MR) 001, ces données cliniques ont été saisies sur le logiciel *Research Electronic Data Capture (REDCap)* de manière **anonymisée**, dans les conditions de confidentialité définies par la loi du 6 janvier 1978 modifiée relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés, ainsi que conformément au Règlement Général sur la Protection des Données (RGPD).

3.1 IMC et pourcentages de masse musculaire et de masse grasse

Chaque patiente a été **pesée** et **mesurée** afin de calculer l'**IMC**. Les **pourcentages de masse grasse et de masse maigre** ont été évalués par **impédancemétrie bioélectrique** à l'aide d'un instrument Omron BF-511 validé pour utilisation médicale[99].

3.2 Score d'activité physique

La patiente a été invitée à répondre à un **questionnaire standardisé d'activité physique** (score d'activité physique de Dijon, Annexe 1)[95]. Ce questionnaire d'activité physique, proposé à chaque visite, aboutit au calcul d'un **score sur un total de 30 points**.

3.3 Évaluation des rythmes circadiens

À l'interrogatoire, les rythmes circadiens de la patiente ont été évalués à la recherche de tout **perturbateur de l'horloge biologique** (heure de coucher irrégulier, exposition excessive à la lumière artificielle, *social jetlag*, travail posté, horaires décalés) connu pour impacter l'activité des neurones à GnRH[32].

À chaque visite, la **catégorie de chronotype** de la patiente a été établie, ainsi que son ***social jetlag*** et sa **durée d'exposition à la lumière naturelle directe**. Pour recueillir ces informations, la patiente a été invitée à répondre à un **questionnaire de détermination du chronotype** (Questionnaire MCTQ, Annexe 2)[96][97][98].

Le questionnaire de chronotype MCTQ permet de déterminer si les patientes sont plutôt « du **matin** » (extrêmement, modérément, légèrement), « **intermédiaires** » ou plutôt « du **soir** » (extrêmement, modérément, légèrement) et donc de les classer en **7 sous-catégories**[96][97][98].

Il permet également de calculer le ***social jetlag*** qui correspond au décalage (exprimé en minutes) entre l'horloge biologique de l'individu et l'horloge sociale qui lui est imposée[96][97][98].

Enfin, ce questionnaire permet de déterminer la **durée d'exposition** (en minutes) à **la lumière naturelle directe** les jours de **travail** et les jours de **week-end**.

Le chronotype reflétant d'avantage un état qu'une caractéristique individuelle fixe, le questionnaire a été répété lors des différentes venues de la patiente.

4 Données biologiques de l'étude METAB-OV

4.1 Recueil et conservation des échantillons biologiques

À chaque visite de suivi (V1 à V5), les patientes ont normalement été vues à jeun ou à 4h de distance d'un repas. En plus du tube de sang recueilli pour mesure de l'AMH dans le cadre du soin, **2 échantillons sanguins supplémentaires** ont été recueillis et acheminés au **Centre de Ressources Biologiques (CRB)** du Centre de Biologie Pathologie (CBP) du CHU de Lille. La participation des patientes au projet n'a donc pas nécessité de ponction veineuse supplémentaire.

Pour chaque patiente, un premier échantillon collecté sur **tube EDTA** (acide éthylène-diamine-tétra-acétique) a permis la préparation de **3 aliquotes de plasma en micro-tubes de 1.5 ml**. Un second échantillon collecté sur **tube sec** a permis la préparation de **3 aliquotes de sérum en micro-tubes de 1.5 ml**. Chacun de ces aliquotes a été **identifié par un numéro unique** généré par le système informatique du laboratoire puis conservé congelé par le CRB, qui gère également la mise à disposition des aliquotes en vue de la réalisation des dosages. Le CRB bénéficie d'une **certification selon la norme *International Organization for Standardization (ISO) 20387*** (N° 2023/104131.1 en date du 03/04/2023), pour les activités suivantes : « réception, préparation, conservation et mise à disposition de ressources biologiques d'origine humaine pour la recherche biomédicale ».

4.2 Techniques de dosages des paramètres biologiques

Les paramètres biologiques de notre étude (IL-6, insuline, leptine, ghréline) ont été dosés à chaque visite de suivi par des immunodosages spécifiques au sein de l'**UF d'Hormonologie du laboratoire de Biochimie** du CBP.

4.2.1 Méthode de dosage de l'IL-6

La concentration d'IL-6 a été mesurée par méthode **ELISA** (*enzyme-linked immunosorbent assay*) sur un aliquote de **plasma EDTA** à l'aide de la trousse **Quantikine High Sensitivity (HS) Human IL-6 ELISA**, dont la référence est **HS600C**, distribuée par **R&D Systems (Bio-Techne)**. Les principales caractéristiques analytiques de cette trousse sont indiquées dans le tableau 1.

4.2.1.1 Principe de la méthode

Il s'agit d'un **immunodosage non compétitif**, utilisant **deux anticorps spécifiques de l'IL-6** :

- un anticorps monoclonal de **capture**, fixé dans le fond des puits d'une plaque de 96 puits
- et un anticorps polyclonal de **révélation**, couplé à la **biotine**.

Le principe du dosage repose sur la double capture de l'IL-6 par ces deux anticorps (méthode sandwich).

L'ajout d'une **protéine de liaison à la biotine** (la streptavidine) **couplée à une enzyme** (la peroxydase) entraîne une **réaction colorimétrique** en présence de **substrat**, révélant les complexes antigène-anticorps ainsi formés. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité d'IL-6 dans l'échantillon.

À chaque série, 8 standards de concentration croissante en IL-6 sont utilisés pour établir une courbe d'étalonnage, exprimant l'intensité du signal mesuré en fonction de la concentration d'IL-6. Cette courbe d'étalonnage permet de déduire la concentration d'IL-6 de chaque échantillon.

4.2.1.2 Critères de validation des séries de dosage d'IL-6

Trois niveaux de **contrôles de qualité interne** (CQI) (bas, moyen et haut) ont permis la validation analytique de chaque série de dosage de l'IL-6. Les échantillons dont la concentration d'IL-6 était supérieure à 10 pg/mL ont été dilués.

Chaque échantillon a été analysé **en double**, réparti dans deux puits distincts. Le coefficient de variation (CV) entre les deux mesures obtenues a été calculé, et seuls les résultats présentant un **CV inférieur à 10%** ont été retenus.

4.2.2 Méthode de dosage de l'insuline

L'insulinémie a été mesurée sur un aliquote de **sérum** par **chimiluminescence** sur **automate d'immunoanalyse Alinity** implanté au laboratoire. Cette technique de dosage, réalisée en routine, est accréditée selon la norme ISO 15189. Le tableau 1 reprend les principales caractéristiques analytiques de l'**Alinity i Insulin Reagent Kit**, dont la référence est **04T7520**, commercialisé par **Abbott**.

4.2.2.1 Principe de la méthode

Il s'agit d'un **immunodosage non compétitif**, utilisant :

- des **microparticules paramagnétiques recouvertes d'anticorps anti-insuline** (anticorps de capture)
- et un **conjugué d'anticorps anti-insuline marqué à l'acridinium** (anticorps de révélation).

Le principe de ce dosage repose sur la double capture de l'insuline par ces deux anticorps.

Après lavage, les **solutions de préactivation et d'activation** sont ensuite ajoutées au mélange réactionnel. La **réaction chimiluminescente** résultante est mesurée en unités relatives de lumières (URL). Il existe une **relation directe entre la quantité d'insuline présente dans l'échantillon et le nombre d'URL** détectées par le système optique.

4.2.2.2 Critères de validation des dosages d'insuline

Trois niveaux de **CQI** (bas, moyen et haut) correspondant aux références *Biorad Liquichek Immunoassay Plus* 1, 2 et 3, ont été utilisés pour la validation analytique de nos résultats, selon la même procédure que celle appliquée en routine. Chaque série de dosage de l'insuline a été encadrée par le **passage des CQI 1 et 3 en début d'analyse** et du **CQI 2 en fin d'analyse**. Les résultats de chaque série ont été validés uniquement si les valeurs des 3 CQI se situaient dans l'**intervalle préalablement défini dans le logiciel Unity Real Time**. Une dilution a été réalisée pour les échantillons dont la concentration d'insuline dépassait 300 mUI/L.

4.2.3 Méthode de dosage de la leptine

La leptinémie a été mesurée sur un aliquote de **sérum** par technique **ELISA** à l'aide de la trousse **Leptin ELISA E07** distribuée par **Mediagnost** (Allemagne). Les principales caractéristiques de cette trousse sont indiquées dans le tableau 1. Il s'agit également d'une technique de dosage de routine qui est accréditée selon la norme ISO 15189.

4.2.3.1 *Principe de la méthode*

La quantification de la leptine repose sur un **immunodosage non compétitif**, de type **ELISA sandwich**, utilisant **deux anticorps monoclonaux spécifiques de la leptine** et de forte affinité. Ces deux anticorps sont :

- **un anticorps de capture** immobilisé sur une **microplaque**
- et un **anticorps de révélation, biotinylé**, qui est ensuite incubé avec le conjugué enzymatique **streptavidine - peroxydase**.

Lors de l'ajout du **substrat**, une **réaction colorimétrique** se produit, **son intensité étant proportionnelle à la concentration en leptine** de l'échantillon. À chaque série, **5 standards de concentration croissante en leptine** sont utilisés pour établir une courbe d'étalonnage. La concentration en leptine de chaque échantillon est exprimée directement en ng/mL par le lecteur de microplaque à partir de cette **courbe d'étalonnage**.

4.2.3.2 *Critères de validation des dosages de leptine*

Deux niveaux de CQI, dosés au début et en fin de plaque, ont permis la validation analytique de chaque série de dosage. Les résultats ont été validés uniquement si les valeurs des 2 CQI se situaient dans l'**intervalle préalablement défini dans le logiciel Unity Real Time**. Une dilution a été réalisée lorsque la concentration en leptine de l'échantillon dépassait 50 ng/mL.

Chaque échantillon a été analysé **en double**, réparti dans deux puits distincts. Le CV entre les deux mesures obtenues a été calculé, et seuls les résultats présentant un **CV inférieur à 10%** ont été retenus.

4.2.4 Méthode de dosage de la ghréline

La ghréline totale a été mesurée par méthode de **radioimmunoanalyse** (RIA) à l'aide de la **trousse Millipore GHRT-89HK** sur un aliquote de **plasma EDTA**. Les principales caractéristiques analytiques de cette trousse sont détaillées dans le tableau 1. Il s'agit d'une méthode qui a déjà été utilisée au laboratoire dans le cadre du Protocole OBEDIAB (impact de la chirurgie bariatrique sur l'équilibre glycémique).

4.2.4.1 Principe de la méthode

Le dosage de la ghréline totale par RIA repose sur le principe de la **compétition entre une forme radiomarquée de la ghréline et la ghréline à doser** présente dans l'échantillon, pour un nombre limité de sites de liaison sur un **anticorps spécifique**.

Une concentration fixe de **ghréline marquée à l'iode-125** est incubée avec une concentration constante d'un **anticorps de lapin spécifique de la ghréline**. L'anticorps étant en quantité limitée, seul un pourcentage défini de la ghréline radiomarquée peut se lier à celui-ci. Lorsqu'un échantillon contenant de la ghréline non marquée est ajouté, celle-ci entre en compétition avec la ghréline radiomarquée pour les sites de liaison de l'anticorps. Ainsi, plus la concentration en ghréline non marquée dans l'échantillon est élevée, moins la ghréline radiomarquée sera capable de se lier à l'anticorps.

Après incubation, il est nécessaire de séparer la ghréline radiomarquée liée à l'anticorps de la ghréline libre. Cette séparation est réalisée grâce à la technique du **double anticorps/précipitation au polyéthylène glycol (PEG)**. L'anticorps primaire (spécifique de la ghréline) est précipité par un second anticorps, anti-immunoglobuline G de lapin, en présence de PEG, permettant ainsi de récupérer le complexe formé.

La **radioactivité** est ensuite mesurée à l'aide d'un compteur gamma, qui mesure les photons gamma émis par l'iode-125 présent **dans le complexe**. La **radioactivité mesurée** est **inversement proportionnelle à la concentration en ghréline** de l'échantillon à doser. À chaque série, une **courbe d'étalonnage** est établie à partir de **8 standards** de concentration croissante en ghréline. Cette courbe permet d'établir une relation entre la radioactivité mesurée et la concentration en ghréline de l'échantillon. La concentration en ghréline de l'échantillon à doser est alors déterminée par interpolation sur cette courbe.

4.2.4.2 Critères de validation des dosages de ghréline

Deux niveaux de CQI ont permis la validation analytique de chaque série de dosage de ghréline. Les échantillons dont la concentration en ghréline était supérieure à 6000 pg/mL ont été dilués.

Chaque échantillon a été analysé **en double**. Le CV entre les deux concentrations obtenues a été calculé, et seuls les résultats présentant un **CV inférieur à 10%** ont été retenus.

Tableau 1 : Caractéristiques analytiques des immunodosages utilisés dans METAB-OV

Analyte	IL-6	Insuline	Leptine	Ghréline totale
Trousse	<i>Quantikine HS IL-6 ELISA HS600C</i> (R&D systems, Bio-Techne)	<i>Alinity i Insulin Reagent Kit 04T7520</i> (Abbott)	<i>Leptin ELISA E07</i> (Mediagnost)	<i>Ghrelin (Total) RIA Kit GHRT-89HK</i> (Millipore)
Gamme de mesure	0.2 – 10 pg/mL	1.6 – 300 mUI/L	0.25 – 100 ng/mL	93 – 6000 pg/mL
Limite de détection	0.09 pg/mL	0.4 mUI/L	0.25 ng/mL	93 pg/mL
Seuil de déclenchement d'une dilution	10 pg/mL	300 mUI/L	50 ng/mL	6000 pg/mL
Reproductibilité inter-série : CV (%)	3.9 – 10.8	1.5 – 2.2	7.88 – 19.21	14.7–17.8
Valeurs de référence	0.351 – 3.48 pg/mL ; 5 ^{ème} – 95 ^{ème} percentiles	À jeun : 2.7 – 10.4 mUI/L ; 5 ^{ème} – 95 ^{ème} percentiles	Femme adulte avec un IMC de 20 à 25 kg/m ² : 2.43 – 28.0 ng/mL ; 5 ^{ème} – 95 ^{ème} percentiles	Femmes avec un IMC de 22.3 (20.1 – 24.3) kg/m ² ; médiane (25 ^{ème} – 75 ^{ème} percentiles) : 1012 (873 – 1466) pg/mL ; médiane (25 ^{ème} – 75 ^{ème} percentiles)[100]

5 Analyses statistiques

5.1 Effectif de la cohorte

Les objectifs de l'étude étaient d'évaluer l'**association entre les différents paramètres biologiques et cliniques et le statut de retour des règles à 6 mois post-chimiothérapie.**

Pour réaliser les analyses statistiques, nous avons donc classé les patientes en **2 groupes selon le statut de retour des règles à l'issue de la V3** (à 6 mois post-chimiothérapie) :

- un **groupe « Réglée à la V3 »** : patientes ayant eu un retour précoce des règles dans les 6 premiers mois post-chimiothérapie
- un **groupe « Aménorrhée à la V3 »** : patientes avec un retour des règles différé (plus de 6 mois après la fin de la chimiothérapie)

Nous ne disposions pas de données permettant de calculer un effectif à inclure sur la base d'une hypothèse statistique. Le nombre de sujets reposait donc sur les capacités de recrutement. Compte tenu de la file active, nous avons prévu de recruter 50 patientes. D'après l'expérience clinique du service d'AMP et de Préservation de la fertilité, la récupération des cycles menstruels des patientes en ACI est variable mais est proche de 50% à 6 mois. Notre objectif initial était donc d'avoir 2 groupes de 25 patientes et de comparer les paramètres biologiques et cliniques entre ces 2 groupes.

Malheureusement, à la date de clôture de ce travail de thèse (février 2025), seules **17 patientes** avaient réalisé les 5 visites prévues par le protocole et ont donc été analysées à la fois cliniquement et biologiquement. En effet, plusieurs patientes sont sorties de l'étude pour deux raisons principales : la première raison d'arrêt était la mise sous analogue de la GnRH, nous empêchant d'évaluer la récupération

ovarienne ; la deuxième raison d'arrêt était la rechute du cancer du sein. En outre, 6 autres patientes ont été recrutées et sont en cours de suivi, mais ne sont donc pas incluses dans nos analyses. Sur les 17 patientes faisant l'objet de ce travail, **12** sont dans le groupe « **Réglée à la V3** » et seulement **5** font partie du groupe « **Aménorrhée à la V3** ».

5.2 Méthode et stratégie d'analyse

Toutes nos analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel **Prism GraphPad**. Nos tests étaient **non paramétriques** en raison du faible effectif de notre cohorte, la distribution de la population ne suivant pas une loi normale.

Pour étudier l'**association entre chacun des paramètres cliniques et biologiques en fin de chimiothérapie** et le **statut de retour des règles** à 6 mois, nos analyses ont été effectuées sur les paramètres mesurés à la **V1**. Pour déterminer les **facteurs relevés à 3 mois associés au statut de retour des règles** à 6 mois, les comparaisons ont cette fois été réalisées sur les paramètres mesurés à la **V2** (3 mois post-chimiothérapie).

Les **variables quantitatives** (paramètres biologiques, âge, IMC, pourcentages de masse maigre et grasse, score d'activité physique, *social jetlag*, temps d'exposition à la lumière) ont été décrites par la **médiane** (5^{ème} – 95^{ème} percentiles), et ont été comparées entre les deux groupes par un test de **Mann Whitney**. La catégorie de chronotype étant une **variable catégorielle**, elle a été décrite par la **fréquence relative** (pourcentage), et a été comparée entre les groupes par un **test de Fisher exact**. La **comparaison des temps d'exposition à la lumière naturelle directe** entre les jours de **travail** et les jours de **week-end** pour chacune des patientes a été réalisée

par un **test de Wilcoxon, apparié**. Afin de rechercher des **corrélations** entre les différents paramètres, nous avons effectué des tests de **Spearman**.

Enfin, nous avons **décrit les trajectoires des différents paramètres** biologiques et cliniques tout au long du suivi (V1 à V5). Après discussion avec la biostatisticienne Madame Hélène BEHAL, la construction d'un modèle mixte linéaire a été abandonnée compte tenu du faible effectif de notre cohorte. Sur ses conseils, nous avons comparé, entre les deux groupes, la **variation de chaque paramètre entre la V2 et la V1**. Pour cela, nous avons calculé un **delta relatif entre la V2 et la V1** pour chaque **variable quantitative**, et comparé ce delta entre les deux groupes par un test de **Mann Whitney**. Le calcul du delta relatif, exprimé en pourcentage, était le suivant : $[(\text{valeur mesurée à la V2} - \text{valeur mesurée à la V1}) / \text{valeur mesurée à la V1} \times 100]$. L'objectif de cette comparaison était de détecter une **variation d'un paramètre entre la V2 et la V1**, pouvant **expliquer le statut de retour des règles à la V3**.

Résultats

1 Recherche d'associations entre différents biomarqueurs évalués à la V1

1.1 Associations entre la leptine et autres paramètres métaboliques

Nous avons dans un premier temps réalisé des tests de corrélations entre la leptine et différents paramètres cliniques mesurés à la V1, dans la population globale, à l'aide de tests de Spearman.

Comme attendu, la **masse maigre** est **inversement corrélée** à la **masse grasse** ($r = -0.808$, $p = 0.0002$), à la **leptine** ($r = -0.777$, $p = 0.0004$), et à l'**IMC** ($r = -0.833$, $p = 0.0001$). La **masse grasse** est **positivement corrélée** à la **leptine** ($r = 0.603$, $p = 0.0120$) et à l'**IMC** ($r = 0.817$, $p = 0.0001$). La **leptine** est **positivement corrélée** à l'**IMC** ($r = 0.621$, $p = 0.0091$).

Dans la continuité des analyses précédentes, une tendance de corrélation négative a été retrouvée entre l'insuline et la ghréline, ce qui est également attendu (Test de Spearman, $r = -0.433$, $p = 0.084$).

Ces résultats nous ont indiqué que le recueil des données cliniques et les dosages biologiques dans la population étudiée ont été effectués de manière correcte.

1.2 Associations entre l'IL-6 et autres paramètres mesurés à la V1

Comme indiqué dans l'introduction, l'**IL-6** a de multiples **rôles métaboliques** et est également impliquée dans l'**activation des follicules primordiaux ovariens**. Cela nous a amenés à effectuer des tests de corrélations entre l'**IL-6 mesurée à la V1** et d'**autres paramètres mesurés à la V1**, dans la population globale, à l'aide de tests de Spearman.

Nous n'avons pas observé de corrélation significative entre l'IL-6 et la masse maigre ($r = -0.1560$, $p = 0.5612$), la masse grasse ($r = 0.09118$, $p = 0.7379$), la leptine ($r = 0.1382$, $p = 0.6092$), la ghréline ($r = 0.2882$, $p = 0.2782$), l'insuline ($r = -0.2693$, $p = 0.3108$) ou l'IMC ($r = 0.2575$, $p = 0.3331$) dans la population globale. En revanche, nous avons remarqué une **corrélation statistiquement significative** entre l'IL-6 et l'AMH mesurées à la V1 ($r = 0.5119$, $p = 0.0444$), comme illustré par la figure 12.

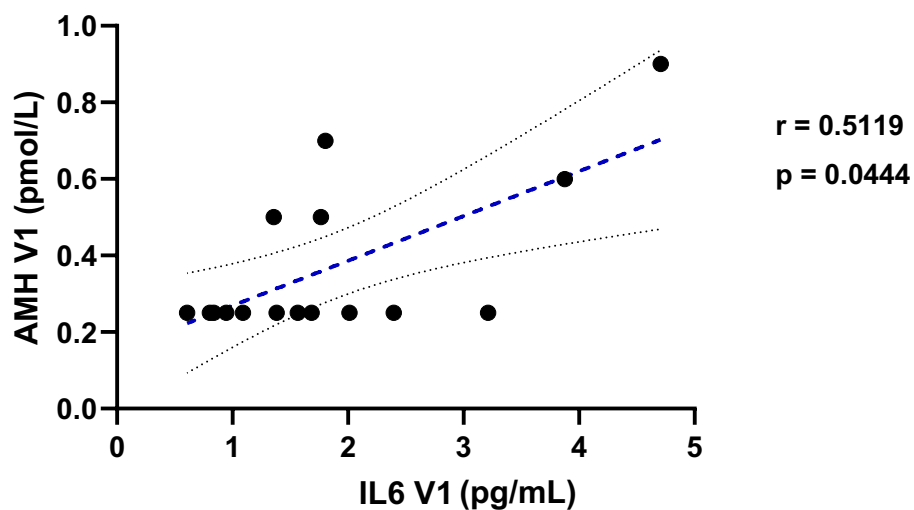


Figure 12 : Droite de corrélation (trait bleu) et intervalle de confiance (traits noirs pointillés) entre l'IL-6 et l'AMH mesurées à la V1 dans la population globale

2 Analyse des paramètres évalués à la V1

Pour répondre à nos objectifs, nous avons comparé les paramètres cliniques et biologiques mesurés **en fin de chimiothérapie (V1)** entre les deux groupes de patientes (« Réglée à la V3 » et « Aménorrhée à la V3 »).

2.1 Statistiques descriptives et comparaisons des paramètres cliniques à la V1

Le tableau 2 présente les **principales caractéristiques cliniques** des patientes **en fin de chimiothérapie (V1)** et les résultats des **tests de comparaisons**

effectués entre les groupes Régulée et Aménorrhée. Les masses musculaire et grasse sont exprimées en pourcentages de la masse corporelle totale de chaque patiente.

Les différents paramètres, excepté la catégorie de chronotype, ont été décrits par la **médiane (5^{ème} - 95^{ème} percentiles)** et ont été comparés par un **test de Mann-Whitney**.

Pour comparer la **catégorie de chronotype** entre les deux groupes, nous avons réparti les patientes, au sein de chaque groupe, en deux classes selon leur catégorie de chronotype :

- la **classe 1** : catégorie 0, 1 ou 2 (correspondant aux patientes « du matin »)
- et la **classe 2** : catégorie 3, 4, 5 ou 6 (correspondant aux patientes « intermédiaires » et « du soir »).

75% des patientes du groupe « Régulée à la V3 » appartenaient à la classe 1 et 25% à la classe 2. Dans le groupe « Aménorrhée à la V3 », toutes les patientes étaient dans la classe 1 de chronotype. Nous avons comparé ces fréquences par un **test de Fisher exact**.

Tableau 2 : Caractéristiques cliniques des patientes de l'étude METAB-OV en fin de chimiothérapie (V1) avec comparaisons statistiques (groupe Régulée à la V3 : n = 12, groupe Aménorrhée à la V3 : n = 5 ; a = Test de Mann-Whitney, b = Test de Fisher exact)

	Régulée	Aménorrhée	p =
Âge (années)	29 (25 – 35)	33 (30 – 36)	0.0362^a
IMC (kg/m²)	25.15 (18.3 – 28.5)	25.4 (20.6 – 34.2)	0.5952 ^a
Masse musculaire (%)	26.45 (11.1 – 32)	26.5 (22 – 31.8)	0.7807 ^a
Masse grasse (%)	37.6 (21 – 44.9)	38.1 (24.9 – 49.3)	0.7990 ^a
Score d'activité physique (/30)	19.5 (13 – 29)	18 (11 – 19)	0.2437 ^a
Classe 1 de chronotype (%)	75	100	0.5147 ^b
Classe 2 de chronotype (%)	25	0	
Social jetlag (minutes)	85 (25 – 210)	90 (30 – 105)	0.7017 ^a
Temps d'exposition à la lumière naturelle directe les jours de travail (minutes)	75 (10 – 840)	120 (30 – 120)	0.8017 ^a
Temps d'exposition à la lumière naturelle directe les jours de week-end (minutes)	195 (20 – 360)	180 (120 – 270)	0.9038 ^a

Les patientes du groupe **Régulée** étaient **significativement plus jeunes** en fin de chimiothérapie que les patientes du groupe **Aménorrhée** (médiane : 29 vs 33 ans, p = 0.0362, Test de Mann-Whitney). Les comparaisons des autres caractéristiques

cliniques en fin de chimiothérapie n'étaient **pas** statistiquement significatives entre les deux groupes.

Afin de mettre en évidence une éventuelle différence entre la durée d'exposition à la lumière **entre la semaine et le week-end** pour une même patiente, nous avons utilisé un **test de Wilcoxon, apparié**. Aucune différence significative n'a été observée, que ce soit dans le groupe « Régulée à la V3 » ($p = 0.3320$) ou dans le groupe « Aménorrhée à la V3 » ($p = 0.1250$).

2.2 Statistiques descriptives et comparaisons des paramètres biologiques à la V1

Le tableau 3 présente les résultats des **dosages biologiques** réalisés **en fin de chimiothérapie (V1)** avec les **comparaisons statistiques** entre les deux groupes de patientes. Nous avons décrit les différentes variables par la **médiane** des valeurs ainsi que l'intervalle entre le **5^{ème}** et le **95^{ème}** percentiles. Les comparaisons entre les deux groupes ont été effectuées par un **test de Mann-Whitney**.

Tableau 3 : Résultats des dosages biologiques de l'étude METAB-OV réalisés en fin de chimiothérapie (V1) avec comparaisons statistiques (Groupe Régulée à la V3 : n = 12, Groupe Aménorrhée à la V3 : n = 5 ; a = Test de Mann-Whitney)

	Régulée	Aménorrhée	p =
AMH (pmol/L)	0.25 (0.25 - 0.7)	0.25 (0.25 - 0.9)	0.9644 ^a
IL-6 (pg/mL)	1.381 (0.607 - 3.875)	2.012 (0.803 - 4.706)	0.2674 ^a
Insuline (mUI/L)	5.7 (1 - 32)	3.62 (2.9 - 8.5)	0.4906 ^a
Leptine (ng/mL)	19.65 (1.4 - 33)	12.60 (5.8 - 92.1)	0.8788 ^a
Ghréline (pg/mL)	1425 (782 - 2979)	1669 (824 - 3228)	0.5058 ^a

Aucune différence significative n'a été observée entre les deux groupes.

3 Analyse des paramètres évalués à la V2

Pour déterminer des **facteurs relevés à 3 mois post-chimiothérapie (V2)** associés à une **reprise précoce des cycles menstruels**, nous avons comparé les variables cliniques et biologiques mesurées à la **V2** entre les deux groupes de patientes (« Réglée à la V3 » et « Aménorrhée à la V3 »).

3.1 Statistiques descriptives et comparaisons des paramètres cliniques à la V2

Le tableau 4 présente les principales **caractéristiques cliniques des patientes à 3 mois post-chimiothérapie (V2)** et les résultats des **tests de comparaisons** effectués entre les deux groupes de patientes.

Comme pour les statistiques à la V1, nous avons décrit les variables quantitatives par la **médiane (5^{ème} – 95^{ème} percentiles)** et comparé ces variables par un **test de Mann-Whitney**.

Concernant la **catégorie de chronotype**, nous avons regroupé les patientes en **classes** et comparé les **fréquences** de ces classes dans les deux groupes par un **test de Fisher exact**. 71.43% des patientes du groupe Réglée étaient dans la classe 1 de chronotype (catégorie 0, 1 ou 2) et 28.57% étaient dans la classe 2 de chronotype (catégorie 3, 4, 5 ou 6). Dans le groupe Aménorrhée, toutes les patientes appartenaient à la classe 1 de chronotype.

Tableau 4 : Caractéristiques cliniques des patientes de l'étude METAB-OV à 3 mois post-chimiothérapie (V2) avec comparaisons statistiques (Groupe Régulée à la V3 : n = 12, Groupe Aménorrhée à la V3 : n = 5 ; a = Test de Mann-Whitney, b = Test de Fisher exact)

	Régulée	Aménorrhée	p =
Âge (années)	29.5 (25 – 35)	33 (30 – 36)	0.0611^a
IMC (kg/m2)	25.1 (18.7 – 29.1)	26.1 (20.8 – 35)	0.7214 ^a
Masse musculaire (%)	25.4 (14.5 – 33.4)	24.7 (21 – 30.9)	0.7807 ^a
Masse grasse (%)	39.95 (20.2 – 48)	41 (26.5 – 51)	0.8788 ^a
Score d'activité physique (/30)	15 (8 – 29)	15 (10 – 22)	0.8598 ^a
Classe 1 de chronotype (%)	71.43	100	>0.9999 ^b
Classe 2 de chronotype (%)	28.57	0	
Social jetlag (minutes)	40 (15 – 75)	60 (30 – 105)	0.2917 ^a
Temps d'exposition à la lumière naturelle directe les jours de travail (minutes)	90 (60 – 720)	75 (30 – 150)	0.3826 ^a
Temps d'exposition à la lumière naturelle directe les jours de week-end (minutes)	180 (60 – 840)	135 (60 – 150)	0.1628 ^a

Comme attendu, les patientes du groupe **Régulée** avaient tendance à être **plus jeunes** à la V2 que les patientes du groupe **Aménorrhée** (médiane : 29.5 vs 33 ans,

p = 0.0611, Test de Mann-Whitney). Les comparaisons des autres caractéristiques cliniques à la V2 n'étaient **pas** statistiquement significatives entre les deux groupes.

De la même manière que pour les statistiques à la V1, nous avons également comparé, dans chaque groupe de patientes, la durée d'exposition à la lumière entre les **jours de travail** et de **week-end** par un **test de Wilcoxon, apparié**. Ces comparaisons n'étaient **pas** statistiquement significatives : ni dans le groupe Régulée (p = 0.0977), ni dans le groupe Aménorrhée (p = 0.2500).

3.2 Statistiques descriptives et comparaisons des paramètres biologiques à la V2

Le tableau 5 présente les résultats des **dosages biologiques** réalisés à **3 mois post-chimiothérapie (V2)** avec les **comparaisons statistiques** entre les deux groupes de patientes. Nous avons décrit les différentes variables par la **médiane** des valeurs ainsi que l'intervalle entre le **5^{ème}** et le **95^{ème}** percentiles. Les comparaisons entre les deux groupes ont été effectuées par une **test de Mann-Whitney**.

Tableau 5 : Résultats des dosages biologiques de l'étude METAB-OV réalisés à 3 mois post-chimiothérapie (V2) avec comparaisons statistiques (Groupe Régulée à la V3 : n = 12, Groupe Aménorrhée à la V3 : n = 5 ; a = Test de Mann-Whitney)

	Régulée	Aménorrhée	p =
AMH (pmol/L)	0.95 (0.25 – 11.4)	0.25 (0.25 – 0.25)	0.0684^a
IL-6 (pg/mL)	1.137 (0.645 – 2.489)	1.064 (0.757 – 1.852)	0.9593 ^a
Insuline (mUI/L)	5.6 (1.92 – 7.8)	3.5 (1 – 43.79)	0.1867 ^a
Leptine (ng/mL)	22.9 (2.9 – 77.7)	14 (5.2 – 105.1)	0.7990 ^a
Ghréline (pg/mL)	1483 (823 – 3158)	1681 (1145 – 1972)	0.6461 ^a

La **concentration d'AMH** avaient tendance à être **plus élevée** à la **V2** dans le groupe **Réglée** que dans le groupe Aménorrhée (médiane 0.95 pmol/L vs 0.25 pmol/L, $p = 0.0684$, test de Mann-Whitney). Les autres comparaisons n'étaient **pas** statistiquement significatives.

4 Analyse des évolutions des différents paramètres entre la V2 et la V1 (Delta V2 – V1)

Comme expliqué précédemment, nous avons comparé, entre les deux groupes, la **variation de chaque paramètre entre la V2 et la V1**. Pour cela, nous avons calculé un **delta relatif entre la V2 et la V1** pour chaque **variable quantitative**, et comparé ce delta entre les deux groupes par un test de **Mann Whitney**.

Le calcul du delta relatif, exprimé en pourcentage, était le suivant :

[(valeur mesurée à la V2 – valeur mesurée à la V1)/valeur mesurée à la V1 x 100].

L'objectif de cette comparaison était de détecter une **variation d'un paramètre entre la V2 et la V1, associée au statut menstruel à la V3**.

4.1 Delta relatifs V2 – V1 des paramètres cliniques

Les résultats des comparaisons des delta relatifs des paramètres suivants : **IMC, proportions de masses musculaire et grasse, score d'activité physique, social jetlag, durée d'exposition à la lumière** les jours de travail et de week-end sont représentés par les figures 13 à 19. Nous n'avons pas calculé de delta relatif pour l'âge car la variation d'âge entre la V2 et la V1 est la même pour toutes les patientes, étant donné que ces deux visites sont espacées de 3 mois (± 1 mois). Nous n'avons pas non plus calculé de delta relatif pour la catégorie de chronotype car le calcul ne s'appliquait pas à cette variable catégorielle.

4.1.1 Variation d'IMC entre la V2 et la V1

La médiane de la variation d'IMC entre la V2 et la V1 dans le groupe **Réglée** est de **+1.13 %** (-3.75 % à +7.78 % ; 5^{ème} et 95^{ème} percentiles). Dans le groupe Aménorrhée, la médiane est de **+1.08 %** (-0.41 % à +2.76 % ; 5^{ème} et 95^{ème} percentiles). La comparaison de ces deux delta relatifs n'a **pas** montré de différence statistiquement significative (Test de Mann-Whitney, $p = 0.9593$). Ces résultats sont représentés sur la figure 13.

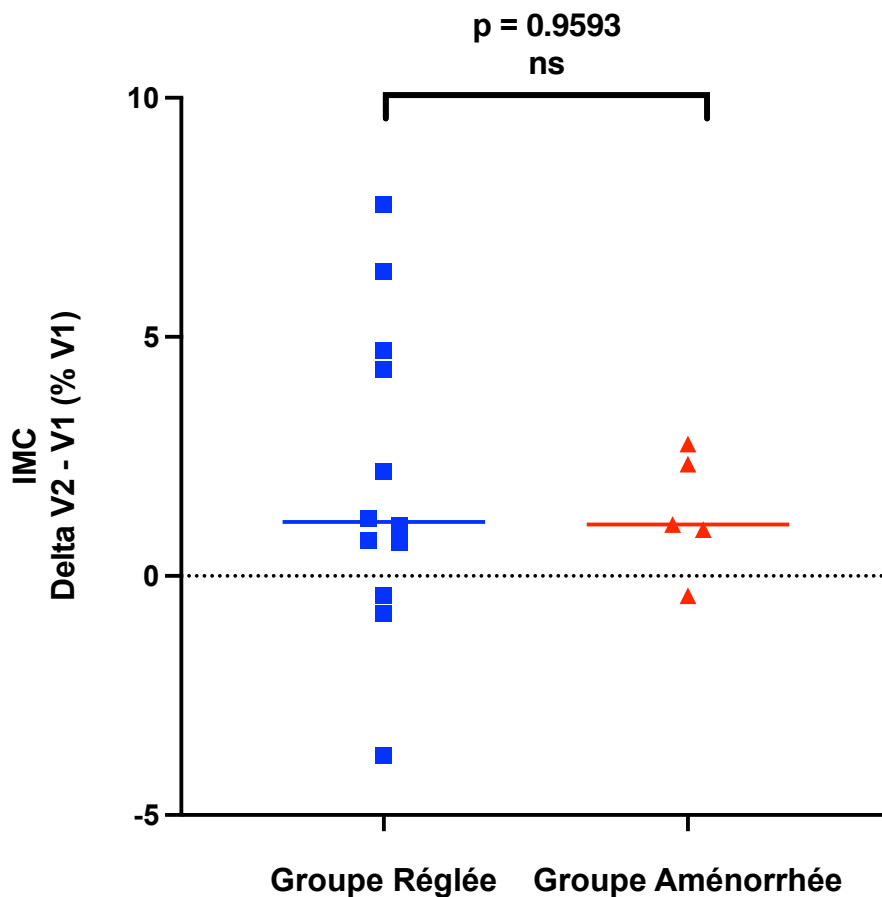


Figure 13 : Delta relatif de l'IMC ($IMC V2 - IMC V1$) / $IMC V1$ en % dans le groupe Réglée à la V3 et le groupe Aménorrhée à la V3 (barre horizontale = médiane des delta relatifs)

4.1.2 Variation de masse musculaire entre la V2 et la V1

Dans le groupe **Réglée**, la médiane de la variation de masse musculaire entre la V2 et la V1 est de **-0.73 %**, avec des différences importantes au sein du groupe : le 5^{ème} percentile est à -9.77 % et le 95^{ème} percentile à +30.63 %. Les delta relatifs du groupe **Aménorrhée** sont plus homogènes, avec une médiane de **-4.55 %** (-7.55 % à +2.74 % ; 5^{ème} et 95^{ème} percentiles). La comparaison des delta relatifs des deux groupes n'a **pas** montré de différence statistiquement significative (Test de Mann-Whitney, $p = 0.4281$). Ces résultats sont illustrés par la figure 14.

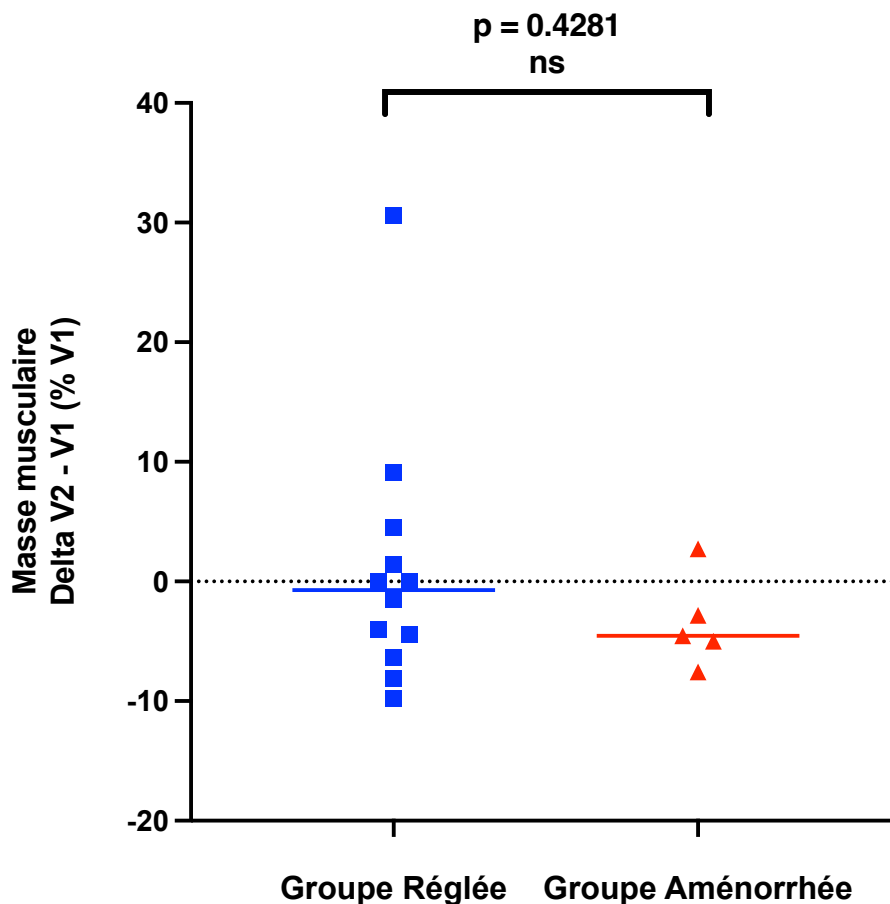


Figure 14 : Delta relatif de la masse musculaire (Masse musculaire V2 – Masse musculaire V1) / Masse musculaire V1 en % dans le groupe Réglée à la V3 et le groupe Aménorrhée à la V3 (barre horizontale = médiane des delta relatifs)

4.1.3 Variation de masse grasse entre la V2 et la V1

La variation médiane de masse grasse entre la V2 et la V1 dans le groupe **Réglée** est de **+2.42 %** (-12.93 % à +33.33 % ; 5^{ème} et 95^{ème} percentiles). La variation médiane dans le groupe **Aménorrhée** est de **+5.16 %** (-10.14 % à +7.61 % ; 5^{ème} et 95^{ème} percentiles). Aucune différence statistiquement significative n'a été retrouvée entre les deux groupes (Test de Mann-Whitney, $p = 0.5743$). Ces résultats sont représentés par le figure 15.

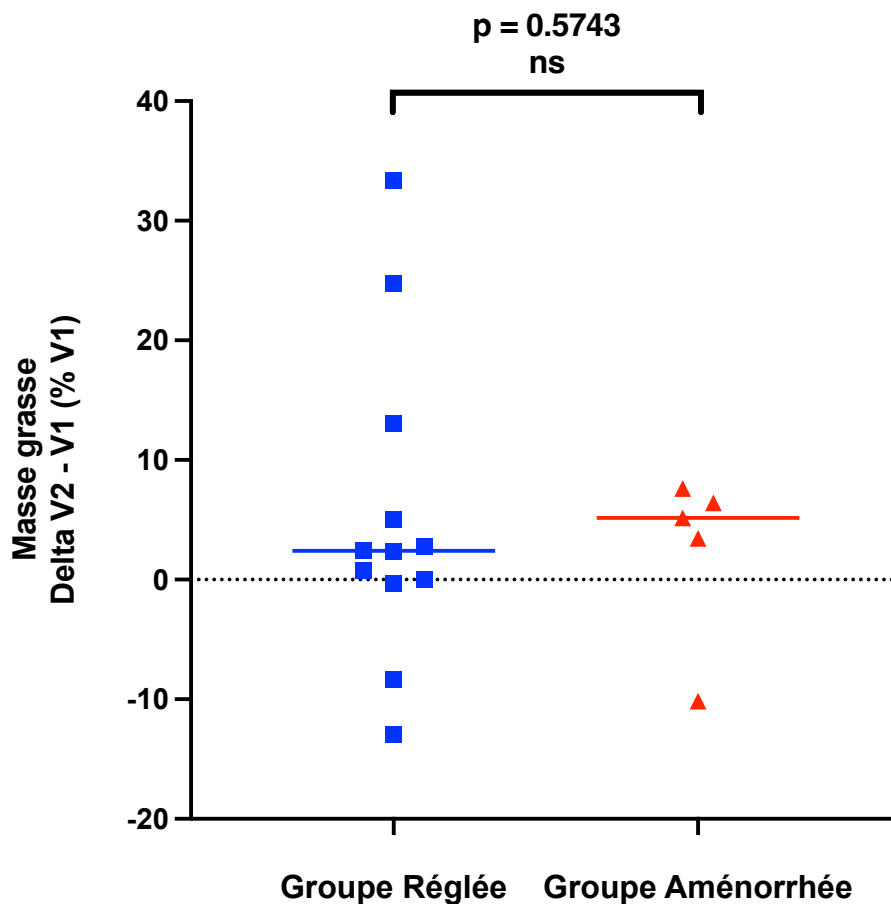


Figure 15 : Delta relatif de la masse grasse ($Masse\ grasse\ V2 - Masse\ grasse\ V1 / Masse\ grasse\ V1$) en % dans le groupe Réglée à la V3 et le groupe Aménorrhée à la V3 (barre horizontale = médiane des delta relatifs)

4.1.4 Variation du score d'activité physique entre la V2 et la V1

La variation médiane du score d'activité physique entre la V2 et la V1 dans le groupe **Réglée** est de **-9.86 %** (-60 % à +15.79 % ; 5^{ème} et 95^{ème} percentiles). La variation médiane dans le groupe **Aménorrhée** est de **+22.22 %** (-47.37 % à +37.5 % ; 5^{ème} et 95^{ème} percentiles). La comparaison de ces delta relatifs entre les deux groupes n'a **pas** montré de différence statistiquement significative (Test de Mann-Whitney, $p = 0.2960$). Ces résultats sont illustrés par la figure 16.

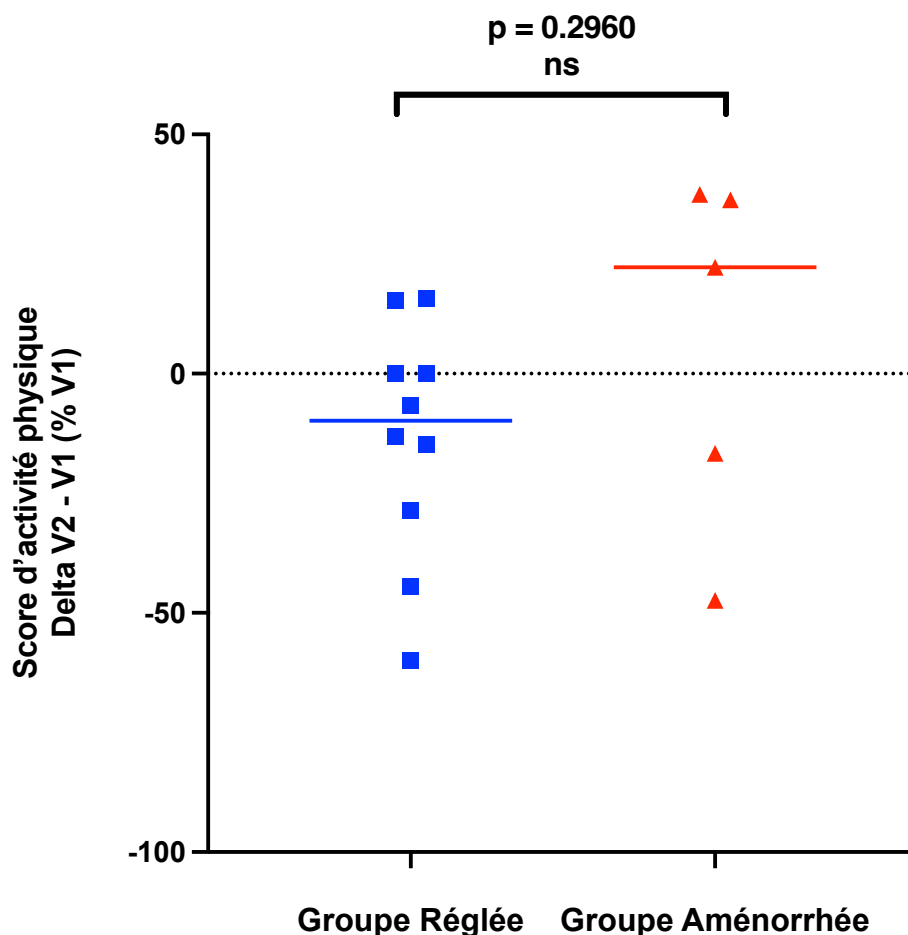


Figure 16 : Delta relatif du score d'activité physique (Activité physique V2 – Activité physique V1) / Activité physique V1 en % dans le groupe Réglée à la V3 et le groupe Aménorrhée à la V3 (barre horizontale = médiane des delta relatifs)

4.1.5 Variation du *social jetlag* entre la V2 et la V1

La variation médiane du *social jetlag* entre la V2 et la V1 dans le groupe **Réglée** est de **-26.67 %** (-85 % à +66.67 % ; 5^{ème} et 95^{ème} percentiles). La variation médiane dans le groupe **Aménorrhée** est de **0 %** (-40 % à +16.67 % ; 5^{ème} et 95^{ème} percentiles). La comparaison des delta relatifs de *social jetlag* entre les deux groupes n'a **pas** montré de différence significative (Test de Mann-Whitney, $p = 0.7000$). Ces résultats sont représentés par la figure 17.

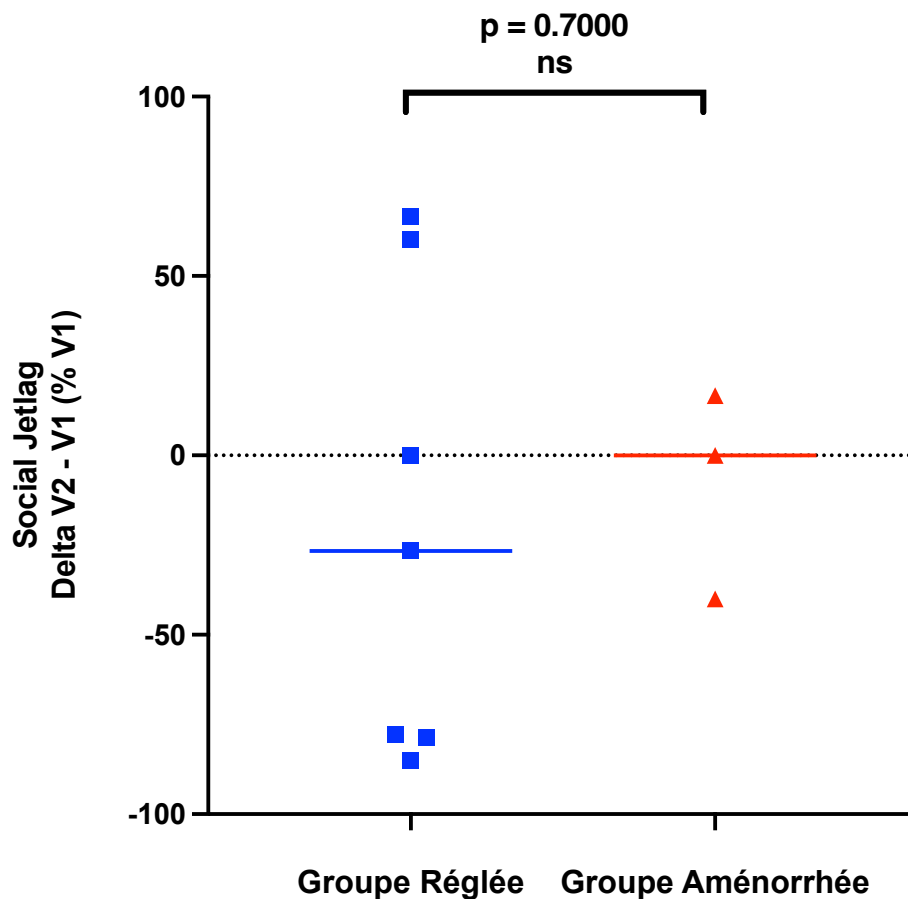


Figure 17 : Delta relatif du social jetlag (social jetlag V2 – social jetlag V1) / social jetlag V1 en % dans le groupe Réglée à la V3 et le groupe Aménorrhée à la V3 (barre horizontale = médiane des delta relatifs)

4.1.6 Variation de la durée d'exposition à la lumière naturelle directe les jours de travail entre la V2 et la V1

Dans le groupe **Réglée**, la médiane des delta relatifs d'exposition à la lumière les jours de travail est de **0 %** (-71.43 % à +1100 % ; 5^{ème} et 95^{ème} percentiles). Dans le groupe **Aménorrhée**, la médiane est de **+12.5 %** (-25 % à +100 % ; 5^{ème} et 95^{ème} percentiles). La différence des delta relatifs entre les deux groupes n'était **pas** statistiquement significative (Test de Mann-Whitney, $p = 0.7233$). Ces résultats sont représentés par la figure 18.

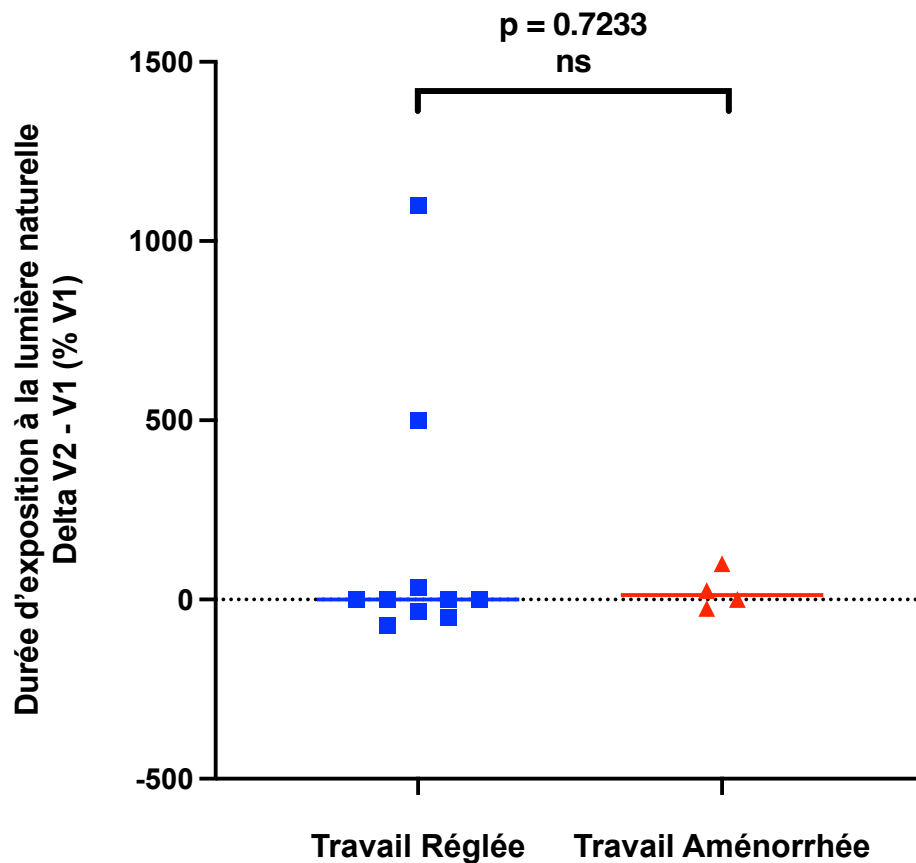


Figure 18 : Delta relatif de la durée d'exposition à la lumière naturelle les jours de travail (durée V2 – durée V1) / durée V1 en % dans le groupe Réglée à la V3 et le groupe Aménorrhée à la V3 (barre horizontale = médiane des delta relatifs)

4.1.7 Variation de la durée d'exposition à la lumière naturelle directe les jours de week-end entre la V2 et la V1

Dans le groupe **Réglée**, la médiane des delta relatifs d'exposition à la lumière les jours de week-end est de **0 %** (-80 % à +250 % ; 5^{ème} et 95^{ème} percentiles). Dans le groupe **Aménorrhée**, la médiane est de **-22.22 %** (-66.67 % à +25 % ; 5^{ème} et 95^{ème} percentiles). La différence des delta relatifs entre les deux groupes n'était **pas** statistiquement significative (Test de Mann-Whitney, $p = 0.6074$). Ces résultats sont représentés par la figure 19.

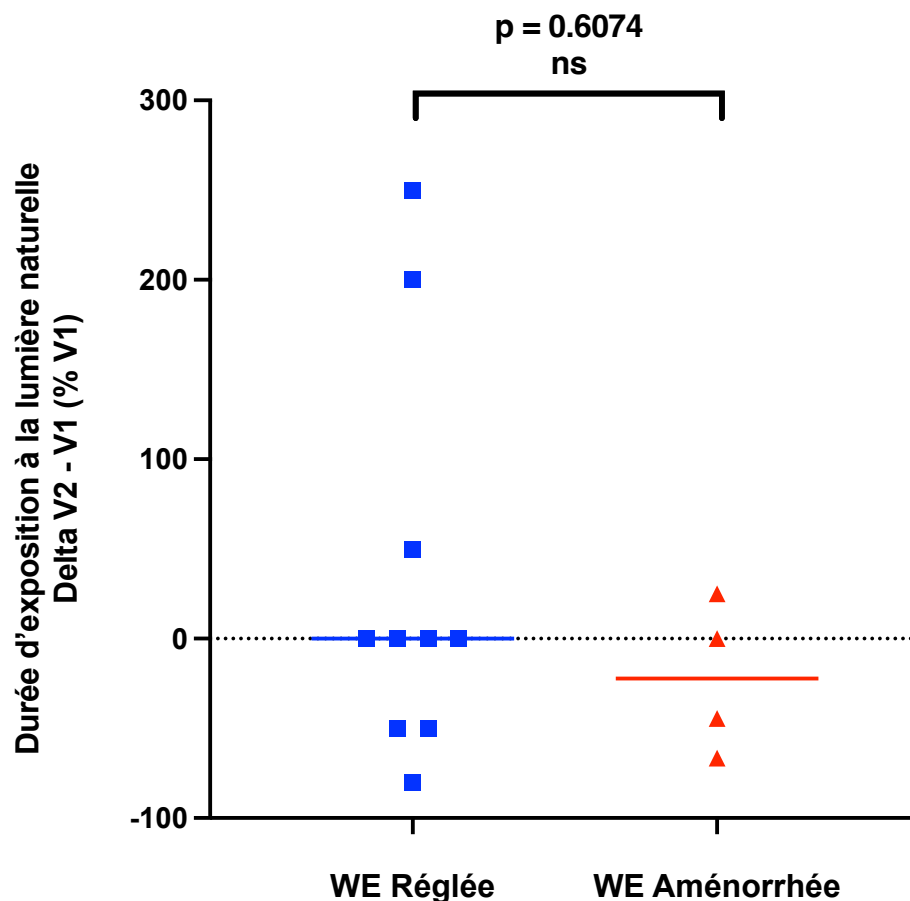


Figure 19 : Delta relatif de la durée d'exposition à la lumière naturelle les jours de week-end (durée V2 – durée V1) / durée V1 en % dans le groupe Réglée à la V3 et le groupe Aménorrhée à la V3 (barre horizontale = médiane des delta relatifs, WE = week-end)

4.2 Delta relatifs V2 – V1 des paramètres biologiques

Nous allons maintenant étudier les delta relatifs des paramètres biologiques : concentrations sanguines d'**AMH**, d'**IL-6**, d'**insuline**, de **leptine** et de **ghréline**.

4.2.2 Variation de l'IL-6 entre la V2 et la V1

La concentration plasmatique d'IL-6 a **diminué** entre la V1 et la V2 chez la plupart des patientes du groupe **Réglée** et chez toutes les patientes du groupe **Aménorrhée**. Dans le groupe Réglée, la variation médiane d'IL-6 est de **-23.03 %** (-54.36 % à +19.01 % ; 5^{ème} et 95^{ème} percentiles). Dans le groupe Aménorrhée, la variation médiane est de **-36.89 %** (-81.51 % à -5.73 % ; 5^{ème} et 95^{ème} percentiles). La comparaison des delta relatifs d'IL-6 entre les deux groupes n'est **pas** statistiquement significative (Test de Mann-Whitney, $p = 0.2674$). La figure 21 illustre ces résultats.

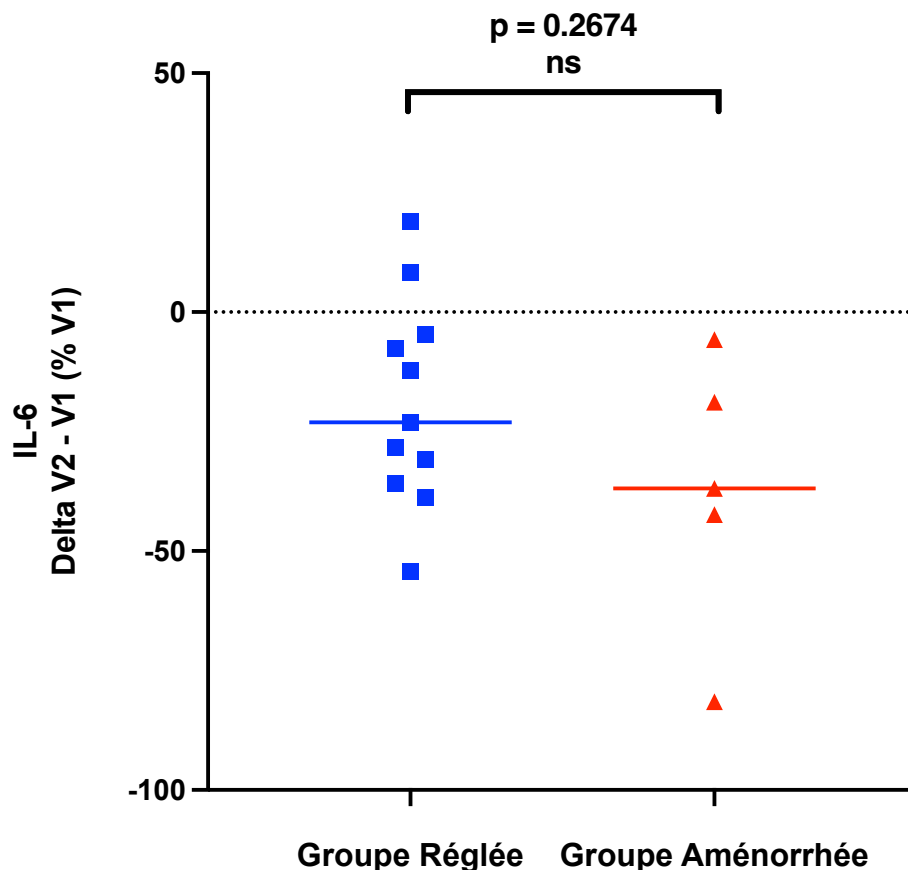


Figure 21 : Delta relatif de l'IL-6 ($IL-6 V2 - IL-6 V1 / IL-6 V1$ en % dans le groupe Réglée à la V3 et le groupe Aménorrhée à la V3 (barre horizontale = médiane des delta relatifs)

4.2.3 Variation de l'insuline entre la V2 et la V1

Dans les deux groupes, l'insulinémie a évolué à la hausse chez la moitié des patientes et à la baisse chez l'autre moitié. Dans le groupe **Réglée**, la médiane des delta relatifs de l'insulinémie est de **-6.74 %** (-83.75 % à +470 % ; 5^{ème} et 95^{ème} percentiles). Dans le groupe **Aménorrhée**, la médiane est de **-17.08 %** (-83.87 % à +17.24 % ; 5^{ème} et 95^{ème} percentiles). Nous n'avons **pas** mis en évidence de différence statistiquement significative entre les deux groupes (Test de Mann-Whitney, $p = 0.5989$). La figure 22 illustre ces résultats.

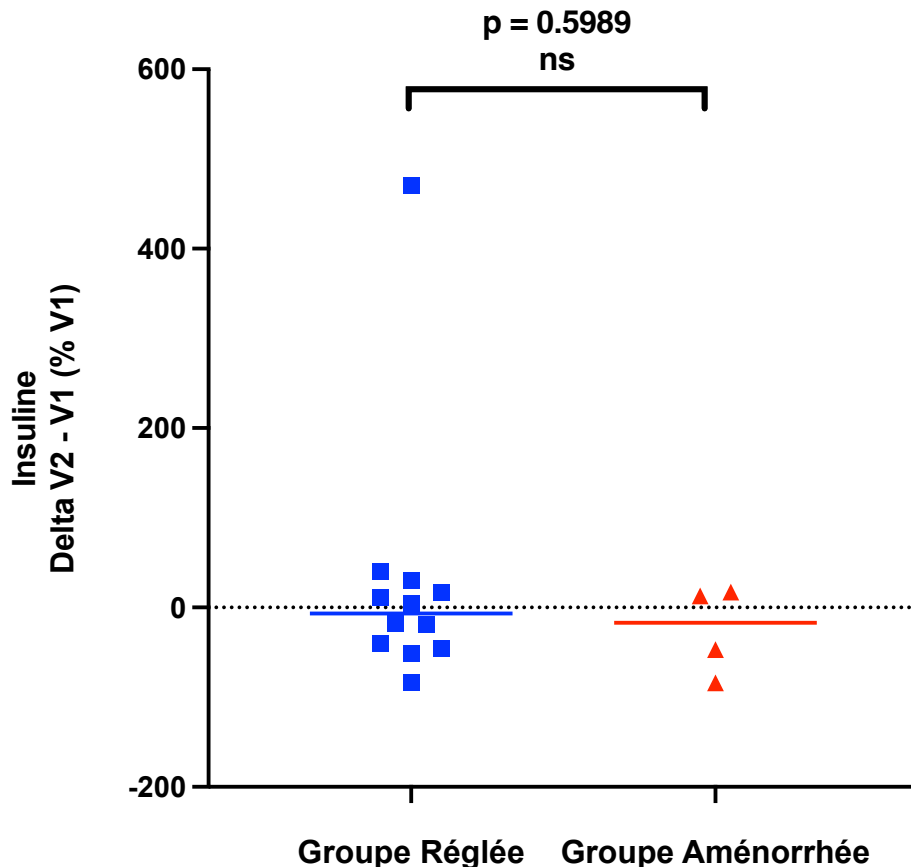


Figure 22 : Delta relatif de l'insuline (Insuline V2 - Insuline V1) / Insuline V1 en % dans le groupe Réglée à la V3 et le groupe Aménorrhée à la V3 (barre horizontale = médiane des delta relatifs)

4.2.4 Variation de la leptine entre la V2 et la V1

La leptinémie a **augmenté** entre la V1 et la V2 chez **8** patientes sur 12 dans le groupe **Réglée**, et chez **3** patientes sur 5 dans le groupe **Aménorrhée**. La médiane des delta relatifs de la leptinémie dans le groupe **Réglée** est de **+54.99 %** (-35.68 % à +571.4 % ; 5^{ème} et 95^{ème} percentiles). La médiane des delta relatifs dans le groupe **Aménorrhée** est de **+14.12 %** (-10.34 % à +62.79 % ; 5^{ème} et 95^{ème} percentiles). Nous n'avons **pas** mis en évidence de différence statistiquement significative entre les deux groupes (Test de Mann-Whitney, $p = 0.3827$). La figure 23 illustre ces résultats.

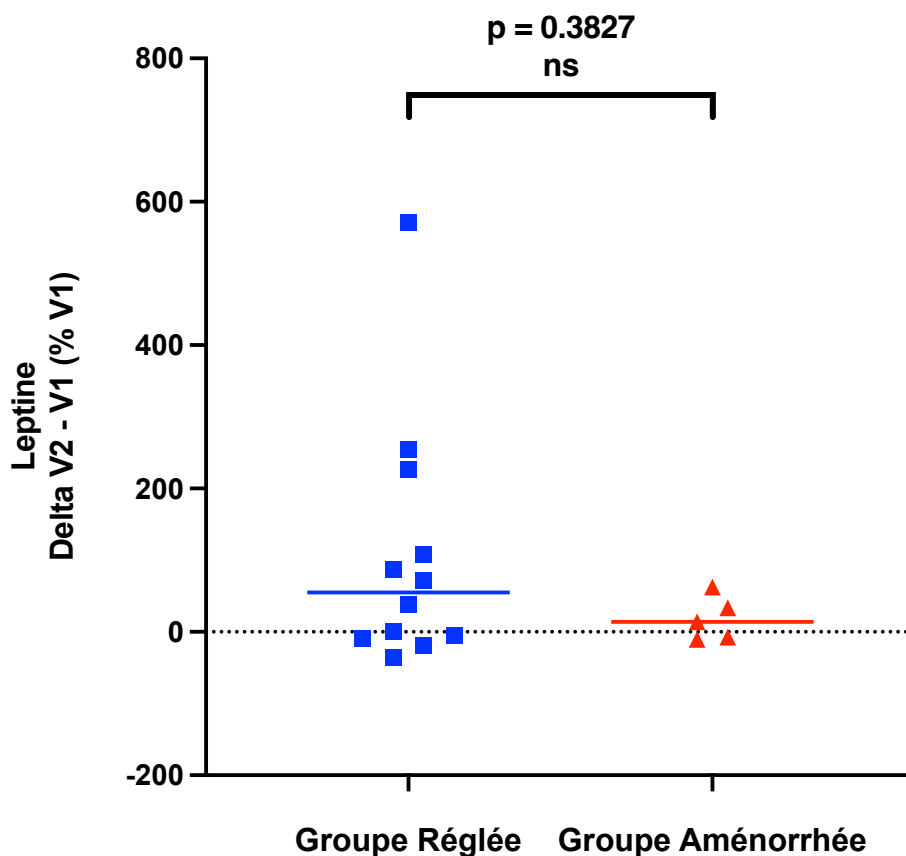


Figure 23 : Delta relatif de la leptine (Leptine V2 - Leptine V1) / Leptine V1 en % dans le groupe Réglée à la V3 et le groupe Aménorrhée à la V3 (barre horizontale = médiane des delta relatifs)

4.2.5 Variation de la ghréline entre la V2 et la V1

Dans le groupe **Réglée**, la concentration de ghréline a augmenté entre la V1 et la V2 chez la moitié des patientes et a diminué chez l'autre moitié. La médiane des delta relatifs est de **+2.22 %** (-26.65 % à +68.18 % ; 5^{ème} et 95^{ème} percentiles). Dans le groupe **Aménorrhée**, la concentration de ghréline a diminué chez 3 patientes sur 5 et a augmenté chez les deux autres patientes. La médiane des delta relatifs est de **-16.97 %** (-39.06 % à +78.4 % ; 5^{ème} et 95^{ème} percentiles). Nous n'avons **pas** mis en évidence de différence statistiquement significative entre les deux groupes (Test de Mann-Whitney, $p = 0.3827$). La figure 24 illustre ces résultats.

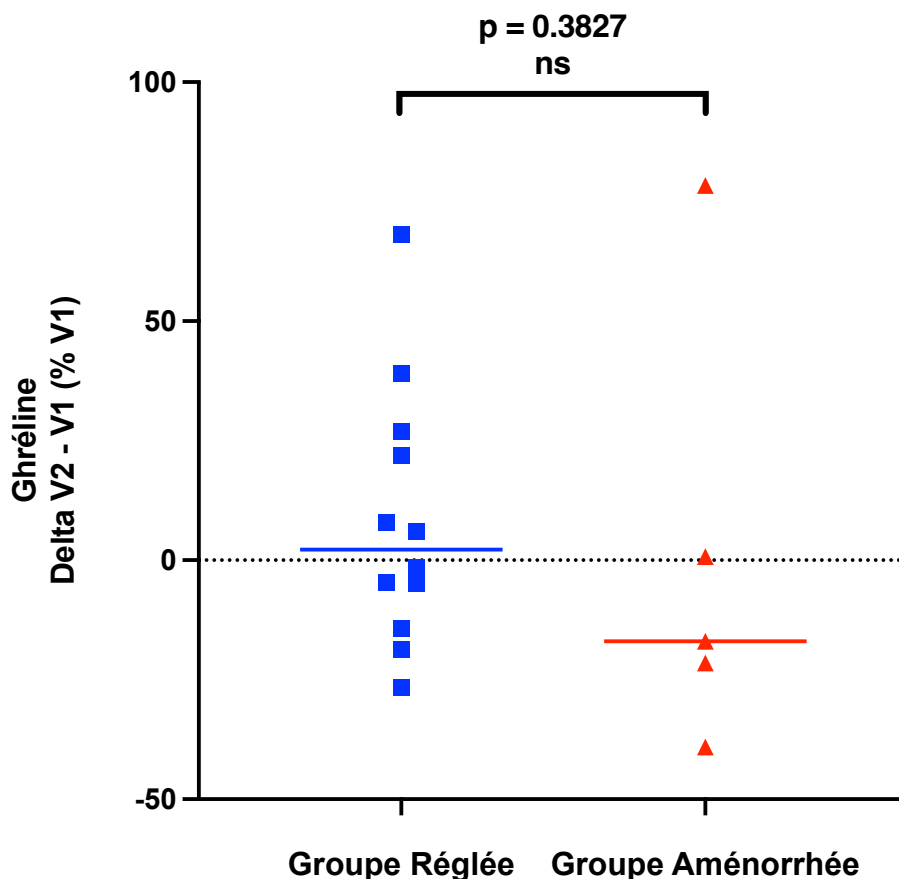


Figure 24 : Delta relatif de la ghréline (Ghréline V2 - Ghréline V1) / Ghréline V1 en % dans le groupe Réglée à la V3 et le groupe Aménorrhée à la V3 (barre horizontale = médiane des delta relatifs)

5 Évolution des paramètres de la V1 à la V5

Nous allons maintenant décrire les **trajectoires des paramètres cliniques et biologiques** tout au long du suivi. Les graphes suivants représentent la valeur **médiane** de chaque paramètre dans les deux groupes, en fonction des différents temps du suivi (V1 à V5).

5.1 Évolution des paramètres cliniques

Nous allons décrire l'évolution de l'**IMC**, des pourcentages de **masses musculaire et grasse**, du **score d'activité physique**, du **social jetlag** et des **durées d'exposition à la lumière naturelle les jours de travail et de week-end**. Nous n'avons pas représenté l'âge dans cette section car ce paramètre évolue de la même manière pour toutes les patientes (chaque visite de suivi étant espacée de 3 mois). La catégorie de chronotype n'est pas non plus représentée car le modèle que nous avons choisi pour décrire l'évolution des paramètres ne s'appliquait pas à cette variable catégorielle.

5.1.1 Évolution de l'IMC

La description de l'évolution de l'IMC au cours du suivi dans les deux groupes est représentée par la figure 25. Nous observons que l'IMC **évolue à la hausse** dans le groupe **Aménorrhée**, alors que cette variable reste **stable**, voire diminue, dans le groupe **Réglée**.

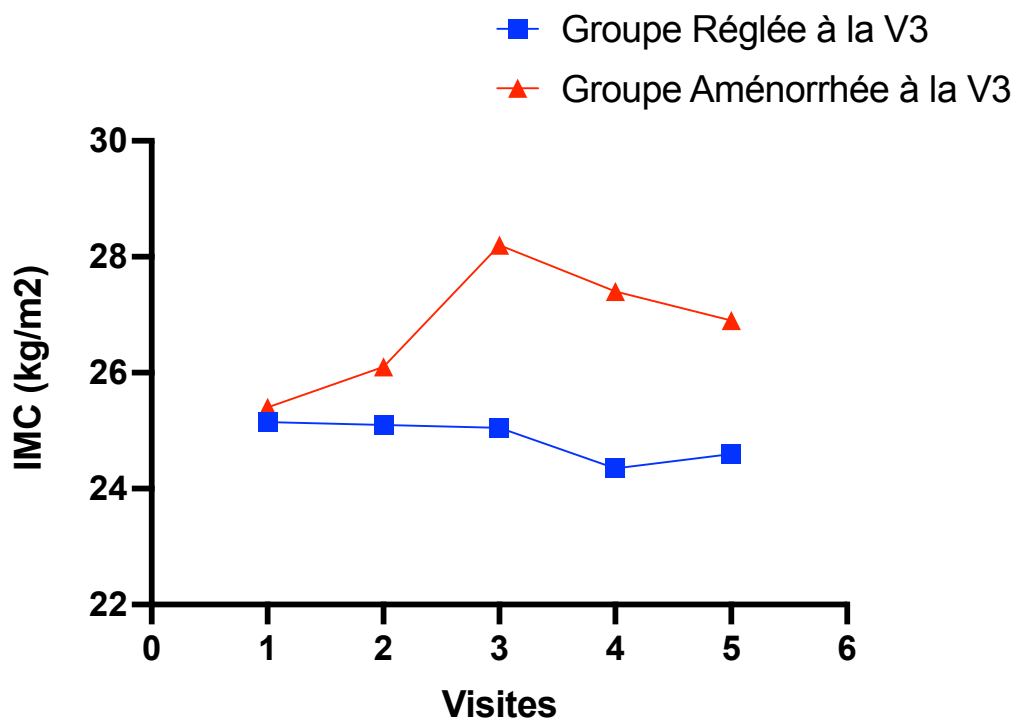


Figure 25 : Évolution de l'IMC (kg/m²) de la V1 à la V5 dans les groupes Réglée à la V3 et Aménorrhée à la V3 (carré bleu = médiane de l'IMC dans le groupe Réglée, triangle rouge = médiane de l'IMC dans le groupe Aménorrhée)

5.1.2 Évolution du pourcentage de masse musculaire

L'évolution du pourcentage de masse musculaire par rapport à la masse corporelle totale tout au long du suivi est représentée par la figure 26. Dans le groupe **Réglée**, la proportion de masse musculaire **diminue** de la **V1 à la V3** puis **augmente** de la **V3 à la V5**. Dans le groupe **Aménorrhée**, la proportion de masse musculaire **diminue** de la **V1 et à la V2**, puis **augmente** de la **V2 à la V3** et **diminue** à nouveau de la **V3 à la V5**.

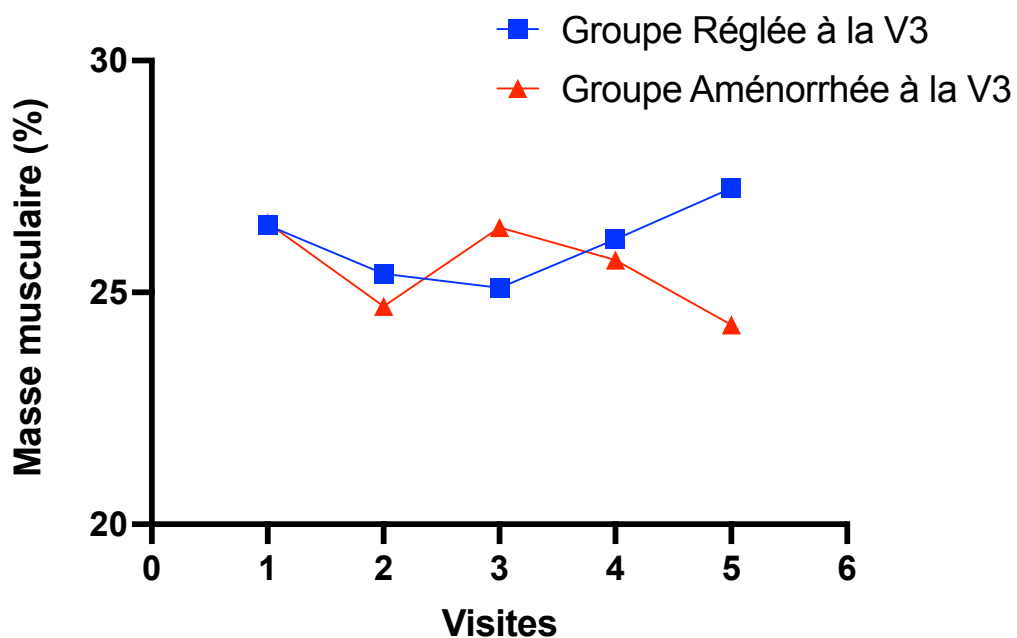


Figure 26 : Évolution de la masse musculaire (% par rapport à la masse corporelle totale) de la V1 à la V5 dans les groupes Réglée à la V3 et Aménorrhée à la V3 (carrés et triangles = valeurs médianes des pourcentages de masse musculaire)

5.1.3 Évolution de la masse grasse

L'évolution du pourcentage de masse grasse par rapport à la masse corporelle totale tout au long du suivi est représentée par la figure 27. **Dans les deux groupes** de patientes, la proportion de masse grasse **augmente** de la **V1 à la V2** puis reste à peu près **stable** de la **V2 à la V4**. De la **V4 à la V5**, la proportion de masse grasse **augmente** dans le groupe **Aménorrhée** et **diminue** dans le groupe **Réglée**.

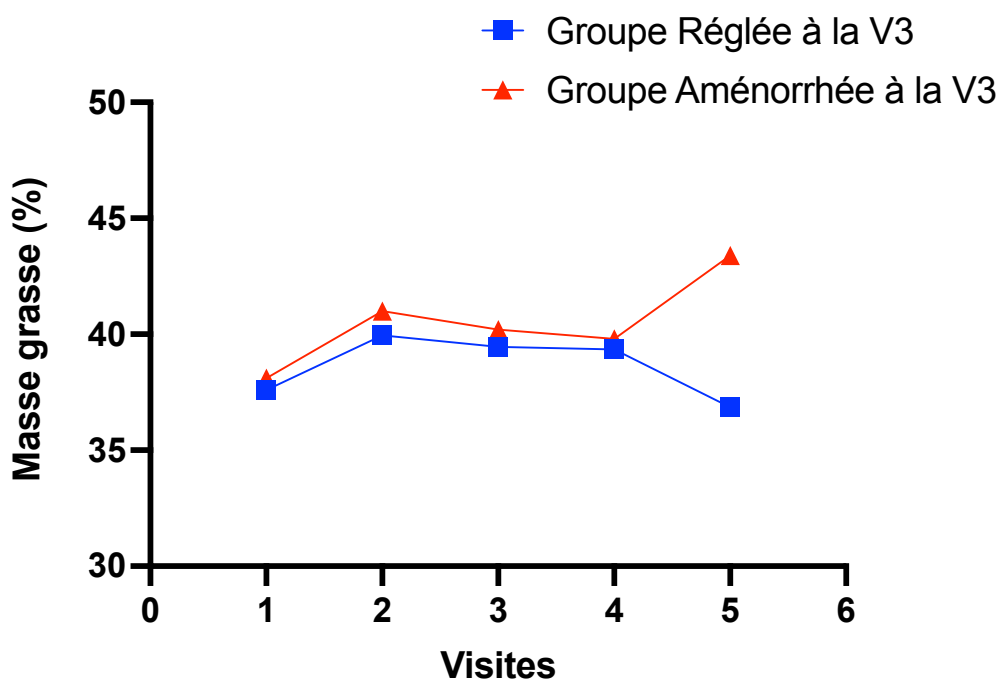


Figure 27 : Évolution de la masse grasse (% par rapport à la masse corporelle totale) de la V1 à la V5 dans les groupes Réglée à la V3 et Aménorrhée à la V3 (carrés et triangles = valeurs médianes des pourcentages de masse grasse)

5.1.4 Évolution du score d'activité physique

L'évolution du score d'activité physique de la V1 à la V5 dans les deux groupes est représentée par la figure 28. Dans le groupe **Réglée**, le score d'activité physique **diminue** de la **V1 à la V2**, puis **augmente** de la **V2 à la V4** et **diminue** à nouveau de la **V4 à la V5**. Dans le groupe **Aménorrhée**, le score d'activité physique **diminue** également de la **V1 à la V2**, puis **augmente** de la **V2 à la V3** et reste à peu près **stable** de la **V3 à la V5**.

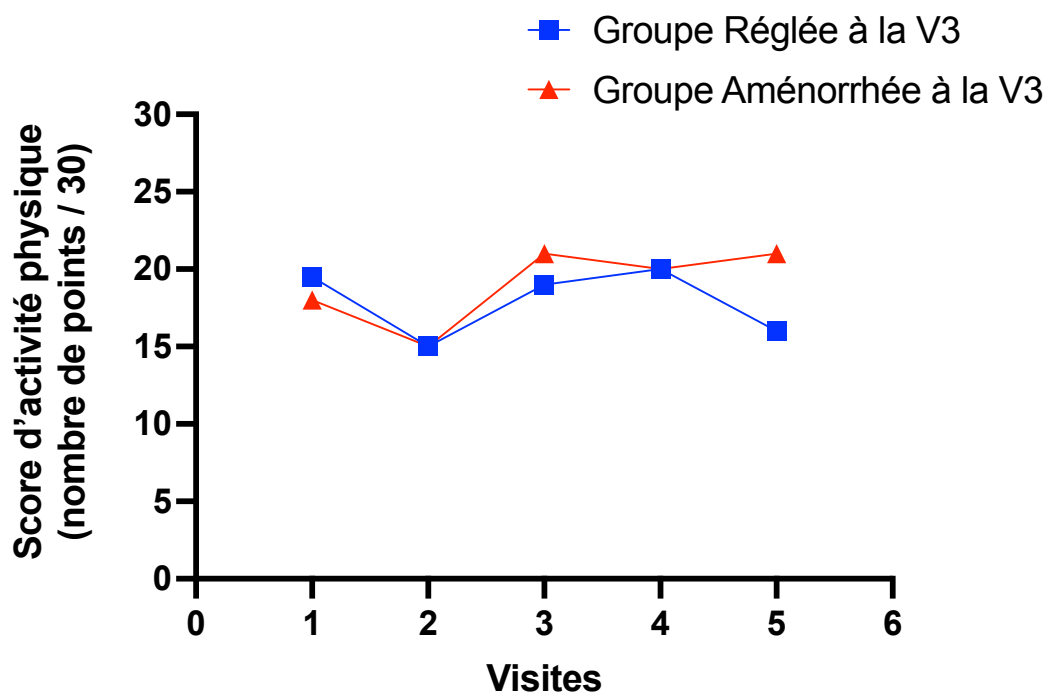


Figure 28 : Évolution du score d'activité physique (nombre de points / 30) de la V1 à la V5 dans les groupes Réglée à la V3 et Aménorrhée à la V3 (carrés et triangles = valeurs médianes du score d'activité physique)

5.1.5 Évolution du *social jetlag*

L'évolution du *social jetlag*, exprimé en minutes, tout au long du suivi dans les deux groupes, est représentée par la figure 29. Dans le groupe **Réglée**, le *social jetlag* **diminue** de la **V1** à la **V2**, **augmente** légèrement de la **V2** à la **V3** et reste à peu près **stable** de la **V3** à la **V5**. Dans le groupe **Aménorrhée**, le *social jetlag* **diminue** de la **V1** à la **V3**, **augmente** de la **V3** à la **V4**, puis **diminue** à nouveau de la **V4** à la **V5**.

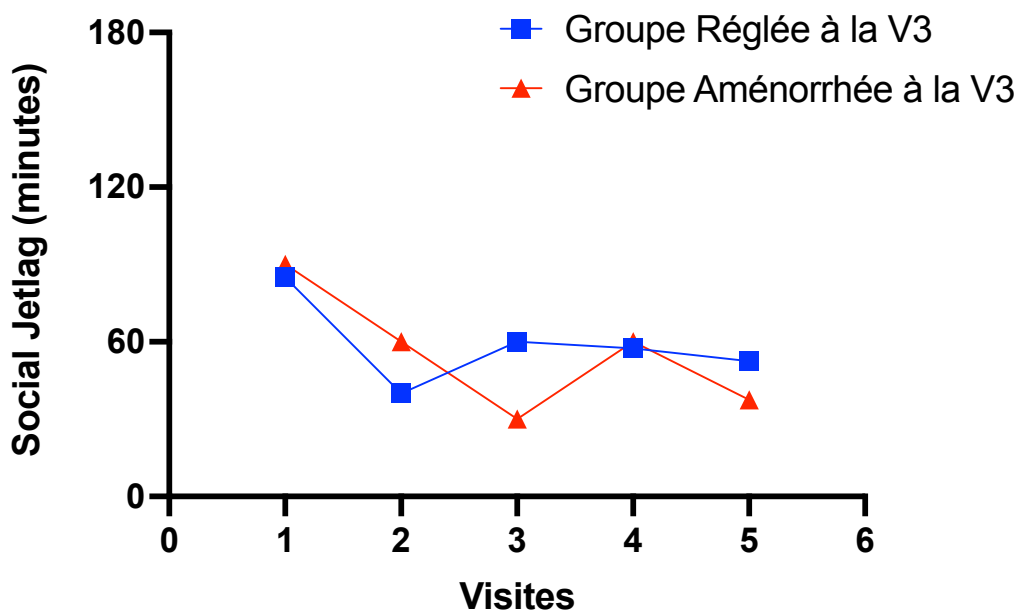


Figure 29 : Évolution du *social jetlag* (minutes) de la V1 à la V5 dans les groupes Régulée à la V3 et Aménorrhée à la V3 (carrés et triangles = valeurs médianes du *social jetlag*)

5.1.6 Évolution de la durée d'exposition à la lumière naturelle les jours de travail

L'évolution de la durée d'exposition à la lumière naturelle directe les jours de travail, tout au long du suivi, est représentée par la figure 30. On note une **augmentation** de la durée d'exposition à la lumière les jours de travail de la **V1 à la V5** dans le groupe **Réglée**, avec une médiane à 150 minutes par jour à la V5. Inversement, on observe une **diminution** de la durée d'exposition à la lumière les jours de travail tout au long du suivi dans le groupe **Aménorrhée**, avec une médiane à 60 minutes par jour à la V5.

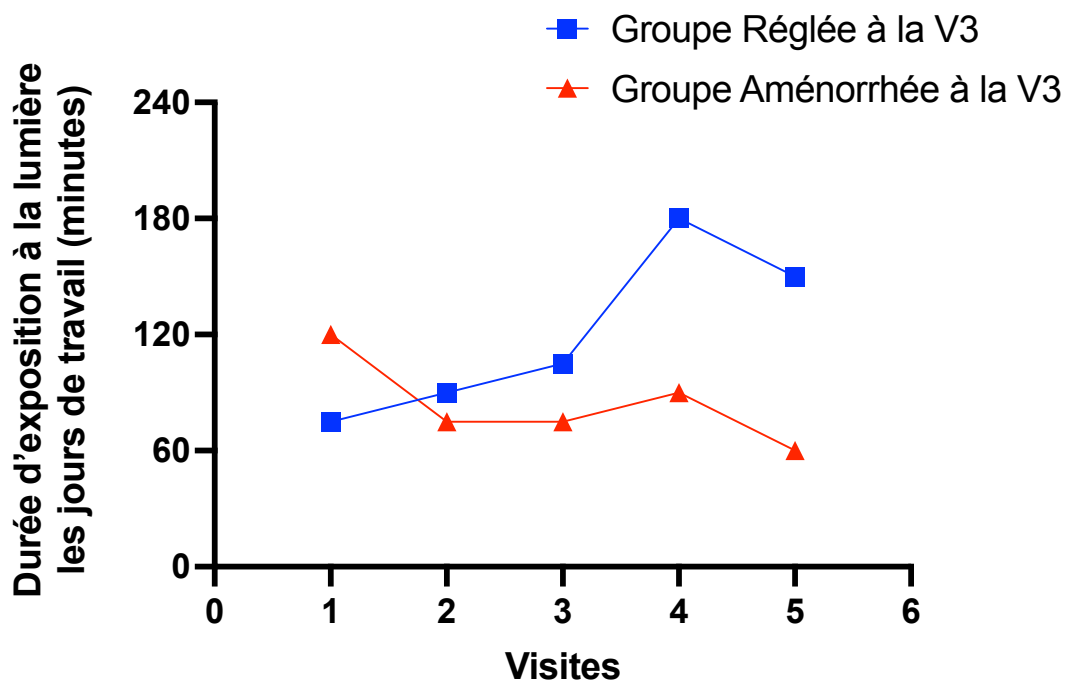


Figure 30 : Évolution de la durée d'exposition à la lumière les jours de travail (minutes) de la V1 à la V5 dans les groupes Réglée à la V3 et Aménorrhée à la V3 (carrés et triangles = valeurs médianes de la durée d'exposition à la lumière les jours de travail)

5.1.7 Évolution de la durée d'exposition à la lumière naturelle les jours de week-end

L'évolution de la durée d'exposition à la lumière naturelle directe les jours de week-end, tout au long du suivi, est représentée par la figure 31. Dans le groupe **Réglée**, la durée d'exposition à la lumière les jours de week-end reste globalement **stable** tout au long du suivi. Dans le groupe **Aménorrhée**, on note une **diminution** du temps d'exposition à la lumière **entre la V1 et la V5**, avec des **fluctuations** au cours du suivi. Plus précisément, la durée d'exposition **diminue entre la V1 et la V2**, reste stable entre la V2 et la V3, augmente entre la V3 et la V4 (sans atteindre la durée d'exposition initiale) puis diminue à nouveau entre la V4 et la V5.

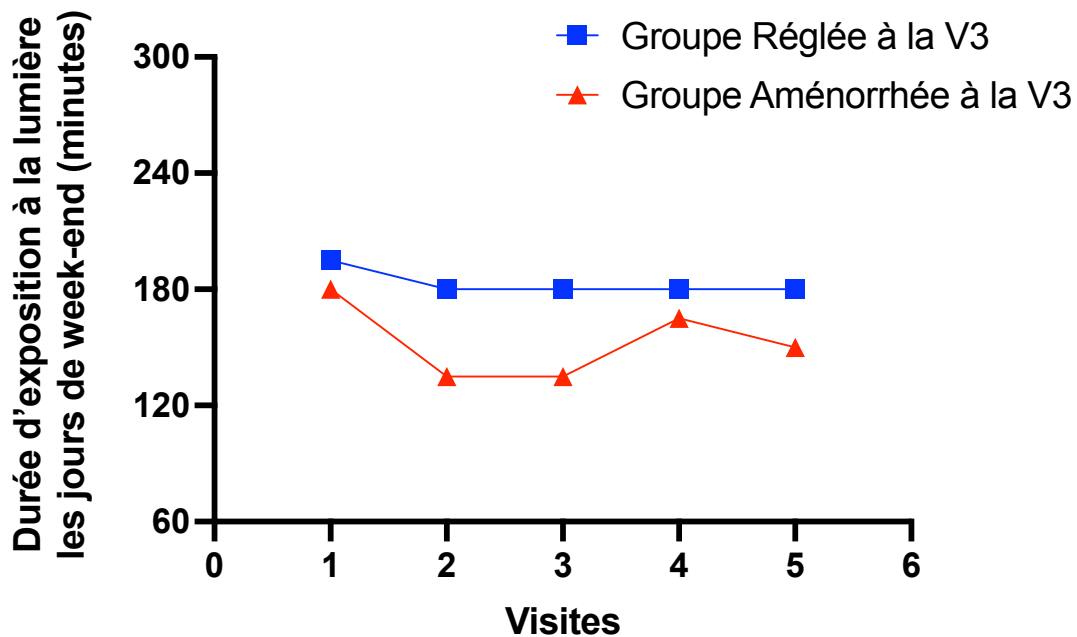


Figure 31 : Évolution de la durée d'exposition à la lumière les jours de week-end (minutes) de la V1 à la V5 dans les groupes Réglée à la V3 et Aménorrhée à la V3 (carrés et triangles = valeurs médianes de la durée d'exposition à la lumière les jours de week-end)

5.2 Évolution des paramètres biologiques

Nous allons maintenant décrire les **trajectoires d'évolution** des concentrations d'AMH, d'IL-6, d'insuline, de leptine et de ghréline tout au long du suivi (V1 à V5) dans les deux groupes de patientes.

5.2.1 Évolution de la concentration sérique d'AMH

La figure 32 illustre les profils évolutifs des concentrations d'AMH de la V1 à la V5. À la **V1**, l'AMH est **indélectable** dans les **deux groupes**. Au fur et à mesure du suivi, la concentration d'AMH **augmente** dans le groupe **Réglée**, tandis que l'AMH reste **indélectable** dans le groupe **Aménorrhée**.

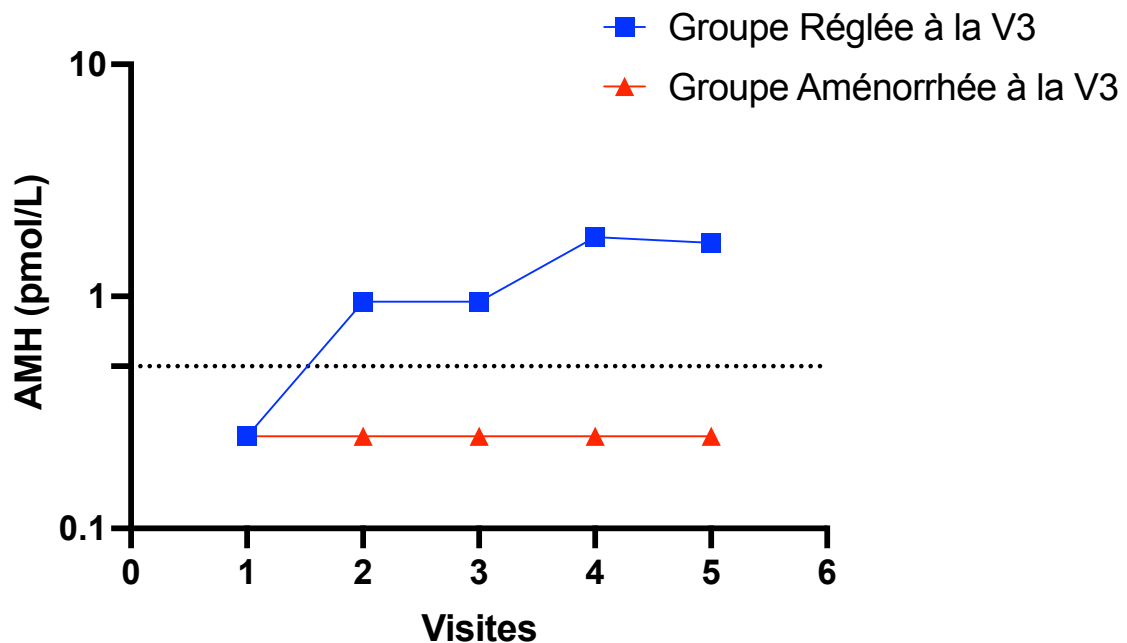


Figure 32 : Profils évolutifs des concentrations sériques d'AMH de la V1 à la V5 dans les groupes Réglée à la V3 et Aménorrhée à la V3 (carrés et triangles = valeurs médianes des concentrations d'AMH, ligne en pointillés = limite de détection de l'AMH)

5.2.2 Évolution de la concentration plasmatique d'IL-6

La figure 33 illustre les profils évolutifs des concentrations plasmatiques d'IL-6 de la V1 à la V5. **Dans les deux groupes**, on note une tendance à la **diminution** des concentrations plasmatiques d'IL-6 au cours du suivi, de façon plus marquée pour le groupe Aménorrhée.

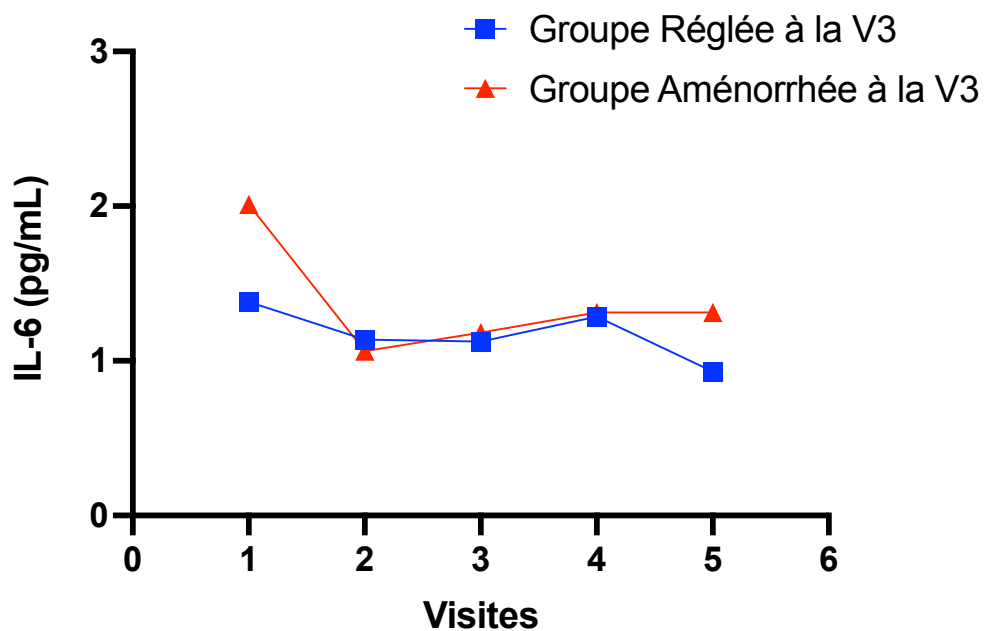


Figure 33 : Profils évolutifs des concentrations plasmatiques d'IL-6 de la V1 à la V5 dans les groupes Régulée à la V3 et Aménorrhée à la V3 (carrés et triangles = valeurs médianes des concentrations d'IL-6)

5.2.3 Évolution de la concentration sérique d'insuline

La figure 34 illustre les profils évolutifs des concentrations sériques d'insuline de la V1 à la V5. Dans le groupe **Aménorrhée**, les **valeurs d'insulinémie** sont **inférieures** à celles du groupe Réglée **aux visites V1 et V2**. Une élévation est ensuite observée entre la V2 et la V3, permettant au groupe Aménorrhée de rejoindre la trajectoire du groupe Réglée. À partir de la V3, les deux courbes deviennent superposables, avec une insulinémie globalement stable entre la V3 et la V4, puis une diminution à la V5.

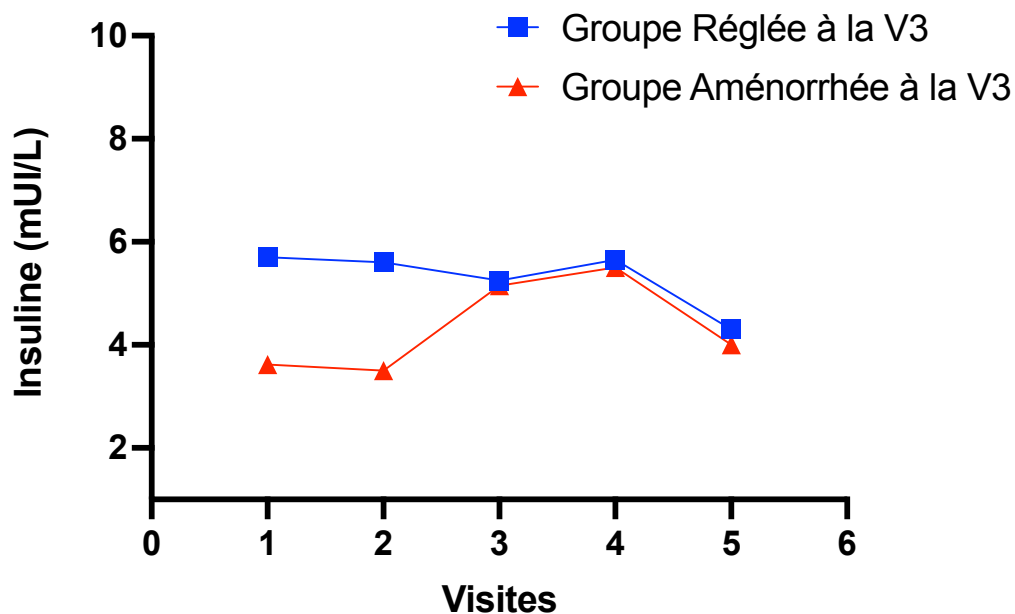


Figure 34 : Profils évolutifs des concentrations sériques d'insuline de la V1 à la V5 dans les groupes Réglée à la V3 et Aménorrhée à la V3 (carrés et triangles = valeurs médianes des concentrations d'insuline)

5.2.4 Évolution de la concentration sérique de leptine

La figure 35 illustre les profils évolutifs des concentrations de leptine de la V1 à la V5. Dans le groupe **Aménorrhée**, on note une **augmentation** de la leptinémie au cours du suivi. Dans le groupe **Réglée**, la leptinémie est globalement **stable entre la V1 et la V5**, avec cependant des **variations à la hausse et à la baisse** au cours du suivi.

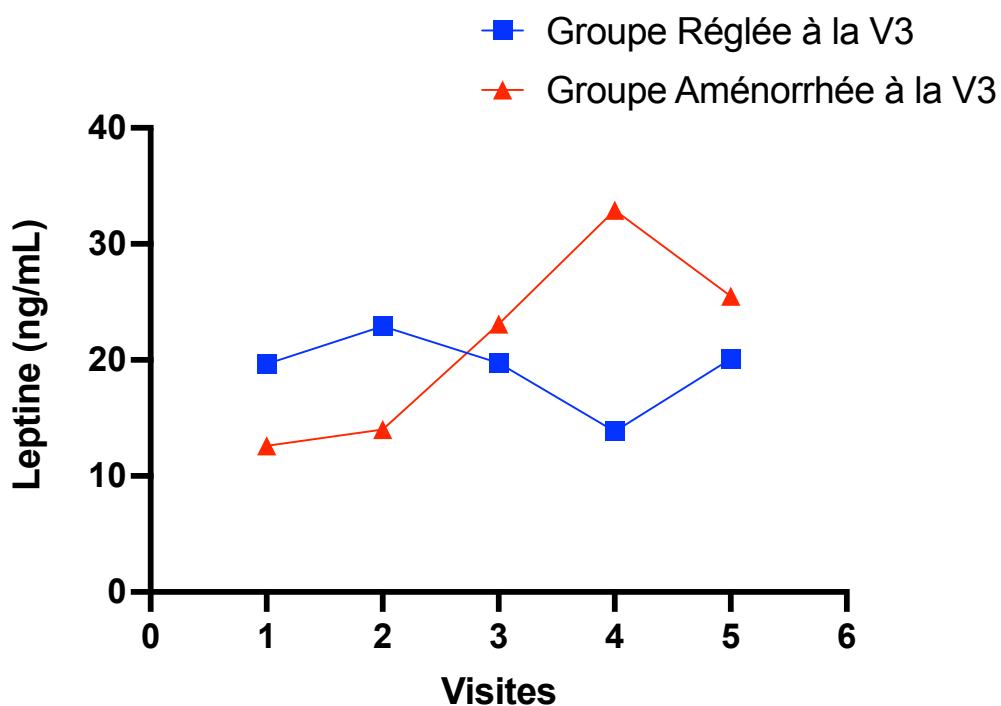


Figure 35 : Profils évolutifs des concentrations sériques de leptine de la V1 à la V5 dans les groupes Réglée à la V3 et Aménorrhée à la V3 (carrés et triangles = valeurs médianes des concentrations de leptine)

5.2.5 Évolution de la concentration plasmatique de ghréline

La figure 36 illustre les profils évolutifs des concentrations plasmatiques de ghréline de la V1 à la V5. Les courbes d'évolution pour les deux groupes de patientes sont superposables. **Dans les groupes Régulée et Aménorrhée, la concentration de ghréline est globalement stable entre la V1 et la V3 puis on note une augmentation marquée entre la V3 et la V5.**

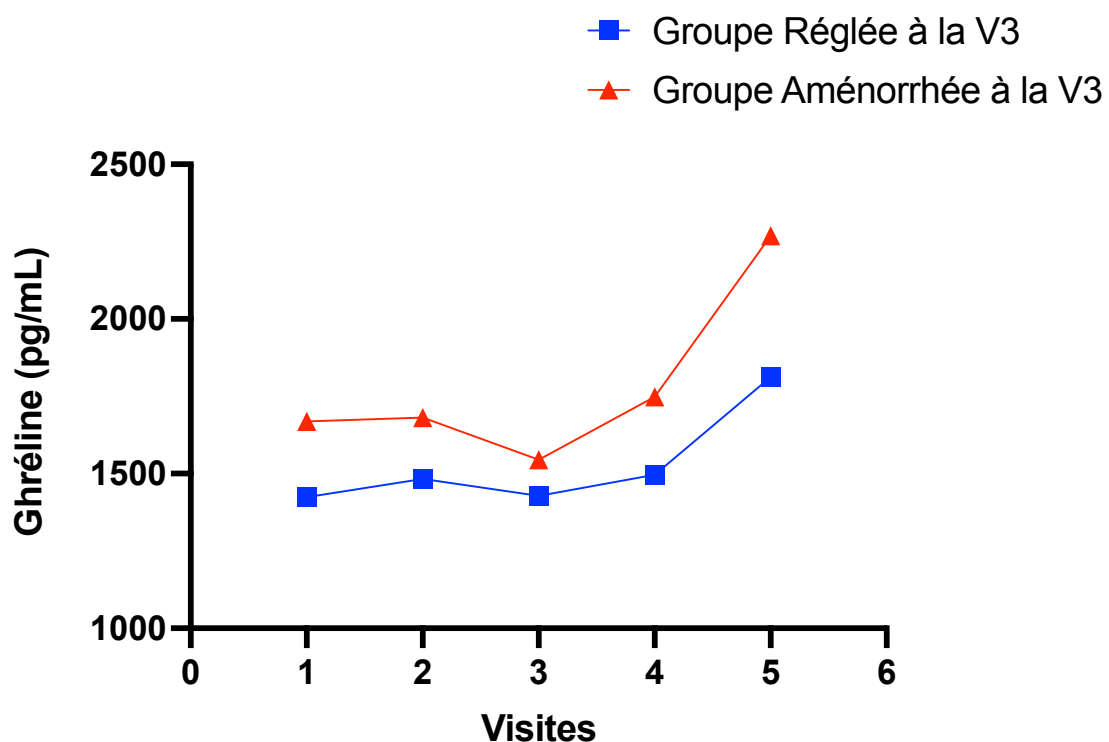


Figure 36 : Profils évolutifs des concentrations plasmatiques de ghréline de la V1 à la V5 dans les groupes Régulée à la V3 et Aménorrhée à la V3 (carrés et triangles = valeurs médianes des concentrations de ghréline)

Discussion

1 Limites et forces de l'étude METAB-OV

1.1 Limites de l'étude

1.1.1 Cohorte de faible effectif

Comme mentionné précédemment, nous avons initialement prévu de recruter 50 patientes pendant la période d'inclusion. Toutefois, la cohorte finale de l'étude ne comptait que **17 patientes**. Ce nombre restreint peut s'expliquer en partie par la nature du protocole. En effet, il s'agissait d'une étude **prospective** et **longitudinale**, comprenant **cinq visites de suivi** réparties sur une année. Ce suivi rigoureux représentait une contrainte importante, difficile à respecter en pratique. Nous avons choisi de n'inclure dans l'analyse que les **patientes ayant complété l'ensemble des cinq visites** prévues. Par ailleurs, plusieurs participantes ont été exclues de l'étude en raison d'une **mise sous analogue de la GnRH** ou d'une **rechute de leur cancer du sein**.

1.1.2 Déséquilibre entre les groupes Régulée et Aménorrhée

Dans la population globale, nous avons anticipé un **retour des règles précoce** (dans les 6 mois suivant la fin de la chimiothérapie) chez **50%** des patientes. Cependant, parmi les 17 patientes incluses, **12** appartenaient au groupe **Régulée à la V3** (6 mois post-chimiothérapie), contre seulement **5** dans le groupe **Aménorrhée à la V3**. Ce déséquilibre entre les groupes a limité la possibilité de détecter des différences statistiquement significatives. Il serait pertinent de **recruter davantage de patientes présentant une aménorrhée à 6 mois post-chimiothérapie** afin

d'équilibrer les groupes et de réévaluer les différents paramètres dans des conditions comparables.

1.1.3 Statistiques univariées

Compte tenu de ce faible effectif, nous n'avons pas pu utiliser de **modèle mixte linéaire** pour évaluer les courbes évolutives des différents paramètres, comme prévu initialement dans le protocole. De même, une cohorte plus large permettrait de construire un **modèle multivarié pouvant prédire le statut menstruel à 6 mois** en fonction de **plusieurs paramètres cliniques et biologiques**.

1.2 Forces de l'étude

1.2.1 Associations attendues entre les biomarqueurs métaboliques évalués à l'inclusion

Dans la population globale, nous avons constaté des associations entre les différents biomarqueurs métaboliques évalués à l'inclusion (V1). La **masse maigre** était **inversement corrélée** à la **masse grasse**, à la **leptine** et à l'**IMC**. La **masse grasse** était **positivement corrélée** à la **leptine** et à l'**IMC**. La **leptine** était **positivement corrélée** à l'**IMC**. Ces associations retrouvées entre la leptine et les autres paramètres métaboliques sont attendues d'après les connaissances actuelles. En effet, la **leptine**, une hormone produite principalement par les **adipocytes**, est un **signal clé de la disponibilité énergétique** dont les niveaux circulants sont proportionnels à la **masse grasse** de l'organisme. Elle agit sur l'hypothalamus pour **réduire la prise alimentaire** et **augmenter la dépense énergétique**, jouant ainsi un rôle fondamental dans la régulation du métabolisme[40][44][45][46][47].

Nous avons également observé une **tendance de corrélation négative entre l'insuline et la ghréline**, ce qui est attendu au vu de leurs **rôles physiologiques opposés**. L'**insuline**, sécrétée par le pancréas **après un apport alimentaire**, favorise le **stockage de l'énergie** : elle inhibe la production hépatique de glucose, stimule l'absorption du glucose par les muscles, et facilite le stockage lipidique dans le tissu adipeux[26][27][28][43]. À l'inverse, la **ghréline**, produite principalement par l'estomac en période de **restriction énergétique**, **stimule l'appétit** via l'activation des neurones NPY/AgRP et la libération de peptides orexigènes[42][43][47][48]. Ainsi, lorsque les niveaux d'insuline sont élevés en postprandial, ceux de ghréline diminuent, traduisant une **balance hormonale entre état de satiété et signal de faim**.

Les associations relevées sont donc en adéquation avec les connaissances actuelles sur la physiologie métabolique. La mise en évidence de ces associations, malgré le faible effectif de notre cohorte, constitue un **indicateur** de la **robustesse méthodologique** et de la **qualité de notre travail**. Ces résultats renforcent la cohérence interne de notre étude et suggèrent que les données recueillies sont **fiables** et scientifiquement pertinentes.

1.2.2 Différences significatives attendues entre les groupes Régulée et Aménorrhée

Nous avons mis en évidence des différences entre les deux groupes, qui, bien qu'elles ne constituent pas l'objet principal de notre étude, confirment des facteurs déjà établis comme étant associés à la récupération ovarienne post-chimiothérapie. Ces différences concernent l'âge des patientes et la concentration sérique d'AMH.

1.2.2.1 Influence de l'âge

Les patientes du groupe **Réglée à la V3** (6 mois post-chimiothérapie) étaient **significativement plus jeunes** en fin de chimiothérapie que les patientes du groupe **Aménorrhée à la V3** (médiane : 29 vs 33 ans, $p = 0.0362$). Comme vu en introduction, parmi les facteurs influençant la récupération de la fonction ovarienne après la chimiothérapie, l'**âge** de la patiente est connu comme étant un **déterminant majeur**. Cette résilience ovarienne relative des jeunes patientes peut s'expliquer par une **réserve ovarienne plus importante**, qui confère une meilleure résistance aux effets gonadotoxiques de certains agents chimiothérapeutiques[4][5].

1.2.2.2 Influence de l'AMH

Nous avons observé des **différences de concentration sérique d'AMH** entre les deux groupes, avec des **résultats proches de la significativité** à la visite **V2** (3 mois post-chimiothérapie) ainsi que dans la **comparaison des delta relatifs V2-V1**. Pour rappel, une augmentation de l'AMH entre la V1 (inclusion) et la V2 (3 mois post-chimiothérapie) a été observée chez 7 patientes du groupe Réglée, tandis que dans le groupe Aménorrhée, les concentrations sont restées stables ou ont diminué au cours de la même période. La comparaison des delta relatifs d'AMH entre les deux groupes approche le seuil de significativité ($p = 0.0886$).

En cohérence avec ces observations, les **concentrations d'AMH à la V2** avaient tendance à être **plus élevées** dans le groupe **Réglée** par rapport au groupe Aménorrhée (médiane : 0.95 pmol/L vs 0.25 pmol/L, $p = 0.0684$).

Dans le prolongement de ces résultats, l'analyse de l'**évolution des concentrations d'AMH entre la V1 et la V5** met en évidence une dynamique différente selon les groupes : alors que l'AMH était indétectable à la V1 dans les deux

groupes, une **augmentation progressive** est observée jusqu'à la V5 chez les patientes du groupe **Réglée**, tandis que dans le groupe **Aménorrhée**, les concentrations restent globalement stables et indétectables tout au long du suivi.

Ces résultats sont cohérents entre eux et en accord avec les données de la littérature. Comme vu en introduction, l'**AMH**, produite par les cellules de la granulosa des follicules en croissance, constitue un **marqueur stable de la réserve ovarienne** et permet d'**anticiper la récupération ovarienne après chimiothérapie**. Des études ont montré que des taux élevés d'AMH avant traitement sont associés à une meilleure reprise menstruelle et que l'AMH mesurée après la chimiothérapie reste un indicateur pertinent de la résilience ovarienne[7][8]. Pour détecter des concentrations très faibles d'AMH, Decanter et al. (2014) ont utilisé le dosage hypersensible picoAMH, plus performant chez les patientes présentant des concentrations d'AMH indétectables avec les tests classiques[9]. Cette méthode a permis à Decanter et al. (2018) de distinguer deux profils de récupération : un profil rapide, caractérisé par une élévation de l'AMH dès trois mois après la chimiothérapie chez les patientes ayant repris rapidement des cycles menstruels, et un profil plus lent, marqué par une persistance de faibles taux d'AMH chez celles présentant un retard dans la reprise menstruelle[10]. Nos résultats concordent avec ces données confirmant la valeur prédictive de l'AMH dans l'évaluation de la résilience ovarienne après un traitement gonadotoxique.

Les **différences significatives** ou **proches de la significativité** observées pour l'**âge** et les **concentrations d'AMH** sont donc en accord avec les données de la littérature, qui identifient ces deux paramètres comme des **facteurs majeurs de la récupération ovarienne** après chimiothérapie. Le fait d'observer ces différences

significatives, malgré la taille réduite de notre cohorte, témoigne de la **cohérence** et de la **qualité des données** recueillies dans le cadre de l'étude METAB-OV.

2 Éléments de réponse à nos hypothèses de recherche

2.1 Modulation de la durée de l'ACI par le statut métabolique

Dans le cadre de l'hypothèse portant sur l'**influence du statut métabolique** sur la récupération ovarienne après chimiothérapie, nous avons analysé plusieurs paramètres cliniques et biologiques. Les données **cliniques** comprenaient l'**IMC**, les proportions de **masse maigre** et de **masse grasse**, ainsi que le **score d'activité physique**, tandis que les marqueurs **biologiques** incluaient l'**IL-6**, l'**insuline**, la **leptine** et la **ghréline**. Aucune différence statistiquement significative n'a été observée entre les deux groupes pour ces paramètres. Toutefois, certains résultats étaient proches de la significativité, suggérant une possible tendance.

L'**insulinémie** mesurée à **3 mois post-chimiothérapie (V2)** était **plus élevée** dans le groupe **Réglée à la V3** (6 mois post-chimiothérapie) que dans le groupe **Aménorrhée à la V3** (médiane : 5.6 mUI/L vs 3.5 mUI/L, $p = 0.1867$). Bien que cette différence ne soit pas statistiquement significative, elle pourrait le devenir avec un nombre plus important de patientes incluses dans l'analyse. Ce constat est d'autant plus pertinent que, comme mentionné en introduction, l'insuline exerce une influence sur l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique (HPG) à plusieurs niveaux selon les données de la littérature.

Sur le plan mécanistique, l'insuline pourrait jouer un rôle clé dans la reprise des cycles menstruels après chimiothérapie, via ses actions combinées sur l'axe HPG. Au niveau **ovarien**, les cellules ovocytaires, de la granulosa et de la thèque expriment le **récepteur à l'insuline**, leur permettant de répondre à la **signalisation insulinique**

par la voie **PI3K/Akt/FOXO3**[29]. Cette voie est **essentielle dans le développement folliculaire** : l'activation de PI3K/Akt induit la phosphorylation de FOXO3, son expulsion du noyau, et par conséquent, l'activation des follicules primordiaux[30][31]. L'insuline agit ainsi comme un **promoteur majeur de l'activation folliculaire** et **soutient la maturation des follicules**, en favorisant notamment la survie des cellules de la granulosa[28][29]. Elle **stimule également le transport du glucose** dans ces cellules via le transporteur GLUT4, fournissant l'énergie nécessaire à leur développement[28].

En parallèle, l'insuline exerce une **action centrale sur l'axe HPG**. À l'image de la leptine, elle **stimule les neurones POMC/CART et les neurones à kisspeptine**, deux populations neuronales impliquées dans l'activation de la **sécrétion de GnRH**, condition essentielle au maintien d'une ovulation régulière en situation de balance énergétique suffisante[28][40].

Ainsi, par son **action à la fois périphérique sur les ovaires et centrale sur l'axe hypothalamo-hypophysaire**, l'insuline **favoriserait la reprise de l'activité ovarienne** en post-chimiothérapie. Cette hypothèse offre une piste d'explication à l'insulinémie plus élevée observée chez les patientes du groupe Régulée par rapport à celles du groupe Aménorrhée. Bien que cette différence ne soit pas statistiquement significative dans notre étude, elle s'en approche et pourrait atteindre le seuil de significativité avec une cohorte plus large. Ces données suggèrent donc une implication possible de l'insuline dans la reprise menstruelle post-chimiothérapie, un rôle qui mérite d'être exploré dans des études à plus grande échelle.

Ce rôle favorable de l'insuline doit toutefois être nuancé : dans des contextes pathologiques tels que le SOPK, une **hyperinsulinémie chronique** entraîne une

dérégulation de la voie PI3K/Akt/mTOR, conduisant à une activation folliculaire excessive, un épuisement prématuré de la réserve ovarienne et des troubles ovulatoires[28][29][30][31][43]. Elle **altère également, au niveau central, la pulsativité de la GnRH**, perturbant ainsi la régulation de l'axe HPG et contribuant à la dysovulation[43]. Cela souligne l'importance d'un **équilibre métabolique optimal** pour une fonction ovarienne efficace.

2.2 Modulation de la durée de l'ACI par les rythmes circadiens

Afin d'explorer l'hypothèse d'un lien entre les **rythmes circadiens** et la récupération ovarienne post-chimiothérapie, nous avons comparé plusieurs paramètres cliniques : la catégorie de **chronotype**, le **social jetlag**, ainsi que les **durées d'exposition à la lumière** les jours de travail et de week-end. Aucune différence statistiquement significative n'a été observée entre les deux groupes de patientes, bien que certains résultats tendent vers la significativité.

Parmi les paramètres étudiés, la durée d'**exposition à la lumière naturelle directe** présente des résultats particulièrement intéressants. À trois mois post-chimiothérapie (**V2**), les **patientes du groupe Régulée à la V3** (6 mois post-chimiothérapie) **s'exposaient davantage à la lumière naturelle** les jours de week-end comparées à celles du groupe Aménorrhée à la V3 (durée médiane par jour : 180 minutes vs 135 minutes, $p = 0.1628$). Bien que cette différence ne soit pas statistiquement significative, elle tend vers la significativité. De même, dans le groupe **Régulée**, la **comparaison intra-individuelle de la durée d'exposition entre les jours de travail et de week-end** à la **V2** montre une différence proche du seuil de significativité (durée médiane par jour : 90 minutes en semaine vs 180 minutes en

week-end, $p = 0.0977$), suggérant une variabilité du rythme d'exposition potentiellement favorable.

Cette tendance est également étayée par l'**évolution des durées d'exposition à la lumière naturelle au cours du suivi**. Dans le groupe **Réglée**, l'**exposition à la lumière s'accroît au fil du suivi** les jours de travail (atteignant une médiane de 150 minutes par jour à la V5) et se maintient de façon stable les week-ends. À l'inverse, les patientes du groupe **Aménorrhée** présentent une **diminution progressive de leur temps d'exposition**, aussi bien les jours de travail que les week-ends, avec une médiane de seulement 60 minutes par jour en semaine à la V5.

Ces données suggèrent une **exposition plus soutenue et régulière à la lumière naturelle dans le groupe Réglée à la V3** (6 mois post-chimiothérapie), ce qui pourrait contribuer, au moins en partie, à la reprise de l'activité ovarienne dans ce groupe. L'exposition à la lumière jouerait donc potentiellement un rôle dans la reprise des cycles menstruels, à confirmer sur un effectif plus large de patientes. Cette interprétation repose à la fois sur nos résultats et sur les données de la littérature, présentées en introduction, qui montrent l'influence des rythmes circadiens et de l'exposition à la lumière sur la régulation de l'axe HPG.

Plus précisément, la différence d'exposition à la lumière observée entre les groupes Réglée et Aménorrhée pourrait s'expliquer par le **rôle central de la lumière dans la régulation des rythmes circadiens**, eux-mêmes **impliqués dans le contrôle de l'axe HPG**. En effet, la lumière constitue le principal **synchroniseur** de l'horloge biologique centrale, localisée dans les **noyaux suprachiasmatiques (NSC)** de l'hypothalamus, comme l'ont démontré de nombreuses études chez l'animal et l'humain[32][58][59]. L'information lumineuse est transmise aux NSC par la **voie**

rétino-hypothalamique, reliant les photorécepteurs rétiniens à ces structures. Les NSC projettent ensuite vers plusieurs régions de l'hypothalamus et d'autres structures cérébrales impliquées dans la régulation des fonctions endocriniennes, métaboliques et comportementales[32][58][59].

L'**axe HPG**, qui contrôle la reproduction, est étroitement **synchronisé par cette horloge centrale**. Le pic préovulatoire de GnRH, essentiel au déclenchement de l'ovulation, dépend non seulement d'une concentration suffisante d'estradiol, mais également d'un signal temporel précis émanant des NSC[32][55][61][62]. Les **neurones à GnRH**, cibles directes des NSC, possèdent également leur **propre rythme circadien**, faisant d'eux des oscillateurs semi-autonomes[56][66][67]. Toutefois, leur activité reste **dépendante des signaux de l'horloge centrale** pour maintenir une synchronisation optimale de la libération de GnRH[32]. De la même manière, l'**ovaire** possède une **horloge circadienne interne**, reposant sur l'expression de *clock genes* dans différents types cellulaires[51][55][56][74][75][76]. Ces horloges locales participent à la régulation de fonctions clés telles que la folliculogenèse ou la stéroïdogénèse, mais leur bon fonctionnement repose sur une **coordination avec les rythmes circadiens centraux**, eux-mêmes **régulés par l'exposition à la lumière**[32][55][56][51][74][75][76].

En favorisant la synchronisation de l'horloge centrale, une **exposition régulière et suffisante à la lumière naturelle** permettrait de **maintenir des rythmes circadiens cohérents**, condition essentielle à une **régulation efficace de l'axe HPG**. Ce bon alignement des rythmes circadiens pourrait notamment optimiser la libération rythmique de GnRH, la sécrétion des gonadotrophines, ainsi que la production ovarienne d'œstrogènes, **facilitant ainsi la reprise des cycles menstruels** après la

chimiothérapie. À l'inverse, une **exposition lumineuse réduite ou irrégulière** pourrait entraîner une **désynchronisation des rythmes biologiques** et **perturber la reprise de l'activité ovarienne**.

Par ailleurs, des données expérimentales chez l'animal suggèrent que la lumière pourrait **agir de manière plus directe sur la régulation hormonale**, indépendamment des photorécepteurs rétiniens. Des études ont en effet mis en évidence une **photoréception non visuelle**, médiée par des opsines exprimées dans l'hypophyse, notamment l'*opsin 5* (OPN5), capable de détecter directement la lumière et d'influencer certaines fonctions endocriniennes, dont l'**axe HPG**[85][86][87]. Chez les mammifères, la présence d'OPN5 dans l'hypophyse et l'hypothalamus ouvre la voie à l'hypothèse d'une régulation hormonale directe par la lumière. Toutefois, ces mécanismes n'ont pour l'instant été décrits que chez l'animal, et leur pertinence en reproduction humaine reste à établir.

3 Perspectives et implications cliniques

En conclusion, les résultats de l'étude METAB-OV, bien que limités par un effectif restreint, ouvrent plusieurs pistes de réflexion et de recherche. Certaines différences observées entre les groupes Régulée et Aménorrhée, notamment concernant l'insulinémie et l'exposition à la lumière naturelle, se rapprochent du seuil de significativité statistique. Ces tendances, cohérentes avec les données de la littérature, mériteraient d'être **confirmées sur une cohorte plus large de patientes**, afin de valider leur robustesse et leur portée clinique.

Sur le plan métabolique, nos résultats montrent une insulinémie plus élevée à 3 mois post-chimiothérapie chez les patientes du groupe Régulée par rapport à celles du

groupe Aménorrhée, suggérant un lien possible entre l'insuline et la reprise de l'activité ovarienne post-chimiothérapie. Associés aux données de la littérature, ces résultats amènent à penser qu'une insulïnémie trop basse, potentiellement en lien avec un apport énergétique insuffisant, pourrait freiner la reprise des cycles menstruels, tandis qu'une insulïnémie trop élevée, dans un contexte de syndrome métabolique, serait également défavorable. Ces éléments convergent vers l'idée qu'un excès comme un déficit d'insuline peut compromettre la récupération ovarienne. Il s'agirait donc de **viser un équilibre métabolique optimal**, en évitant à la fois la sous-nutrition et l'insulino-résistance. Cette perspective pourrait encourager la mise en place de **recommandations nutritionnelles** et d'une **activité physique adaptée**, dans le cadre d'un accompagnement global des patientes, afin de soutenir au mieux leur rétablissement hormonal et ovarien après chimiothérapie.

Par ailleurs, la différence d'exposition à la lumière naturelle entre les deux groupes, combinée aux connaissances actuelles sur le rôle de la lumière dans la régulation des rythmes circadiens, ouvre une autre piste d'intervention. L'**exposition suffisante à la lumière du jour**, en particulier le matin, pourrait être encouragée chez les patientes afin de soutenir la synchronisation de l'horloge circadienne, et ainsi, potentiellement, de favoriser la reprise de l'axe HPG. De manière plus large, l'adoption d'un **mode de vie respectant les rythmes circadiens biologiques** (incluant un rythme veille-sommeil régulier, une bonne qualité de sommeil, la limitation du travail posté et la réduction du *social jetlag*) pourrait constituer une stratégie simple et non invasive pour soutenir la récupération ovarienne après chimiothérapie.

L'ensemble de ces éléments souligne l'intérêt d'une **approche multidimensionnelle de la récupération ovarienne post-chimiothérapie**, intégrant

non seulement les aspects oncologiques et hormonaux, mais aussi les dimensions métaboliques, circadiennes et comportementales. Des études complémentaires, combinant une approche clinique, biologique et chronobiologique, seront nécessaires pour approfondir ces hypothèses et envisager, à terme, des **recommandations globales et intégrées** en faveur de la récupération ovarienne post-chimiothérapie.

Liste des tables

Tableau 1 : Caractéristiques analytiques des immunodosages utilisés dans METAB-OV	71
Tableau 2 : Caractéristiques cliniques des patientes de l'étude METAB-OV en fin de chimiothérapie (V1) avec comparaisons statistiques (groupe Régulée à la V3 : n = 12, groupe Aménorrhée à la V3 : n = 5 ; a = Test de Mann-Whitney, b = Test de Fisher exact)	78
Tableau 3 : Résultats des dosages biologiques de l'étude METAB-OV réalisés en fin de chimiothérapie (V1) avec comparaisons statistiques (Groupe Régulée à la V3 : n = 12, Groupe Aménorrhée à la V3 : n = 5 ; a = Test de Mann-Whitney).....	79
Tableau 4 : Caractéristiques cliniques des patientes de l'étude METAB-OV à 3 mois post-chimiothérapie (V2) avec comparaisons statistiques (Groupe Régulée à la V3 : n = 12, Groupe Aménorrhée à la V3 : n = 5 ; a = Test de Mann-Whitney, b = Test de Fisher exact)	81
Tableau 5 : Résultats des dosages biologiques de l'étude METAB-OV réalisés à 3 mois post-chimiothérapie (V2) avec comparaisons statistiques (Groupe Régulée à la V3 : n = 12, Groupe Aménorrhée à la V3 : n = 5 ; a = Test de Mann-Whitney)	82

Liste des figures

Figure 1 : Voie de signalisation PI3K/Akt/mTOR impliquée dans l'activation des follicules primordiaux ovariens[16] (Un rond jaune indique la présence d'un résidu phosphate. KL = Kit ligand, ERK = extracellular signal-regulated kinase, HGF = hepatocyte growth factor, mTORC = mammalian target of rapamycin complex, PIP2 = phosphatidylinositol-4,5-biphosphate, PIP3 : phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphate, PDK1 = phosphoinositide 3-kinase-dependent kinase 1).....	10
Figure 2 : Mécanismes impliqués dans l'activation et la quiescence des follicules primordiaux[13]	12
Figure 3 : Synthèse des mécanismes de la déplétion folliculaire chimio-induite[13] .	18
Figure 4 : Rôles métaboliques, immunologiques et implications en pathologie de l'IL-6[24]	23
Figure 5 : Voies de signalisation de l'insuline[28].....	25
Figure 6 : Organisation des circuits neuronaux faisant le lien entre métabolisme et reproduction[39]	32
Figure 7 : Représentation schématique du lien entre métabolisme et reproduction[38]	35
Figure 8 : Impact de la ghréline sur l'axe HPG en situation de restriction calorique[43]	36
Figure 9 : Variations hormonales en fonction de la balance énergétique et liens avec l'axe gonadotrope[29] (Les triangles rouges ou verts indiquent respectivement une baisse ou une augmentation des concentrations hormonales).....	38
Figure 10 : Synthèse des liens entre les noyaux suprachiasmatiques, la mélatonine, la lumière et l'ovaire[84] (SCN = suprachiasmatic nucleus, RHT = retinal-hypothalamic tract, PCOS = polycystic ovarian syndrome)	48
Figure 11 : Organisation des visites de suivi des patientes de l'étude METAB-OV ...	61
Figure 12 : Droite de corrélation (trait bleu) et intervalle de confiance (traits noirs pointillés) entre l'IL-6 et l'AMH mesurées à la V1 dans la population globale	76
Figure 13 : Delta relatif de l'IMC (IMC V2 – IMC V1) / IMC V1 en % dans le groupe Régulée à la V3 et le groupe Aménorrhée à la V3 (barre horizontale = médiane des delta relatifs).....	84
Figure 14 : Delta relatif de la masse musculaire (Masse musculaire V2 – Masse musculaire V1) / Masse musculaire V1 en % dans le groupe Régulée à la V3 et le groupe Aménorrhée à la V3 (barre horizontale = médiane des delta relatifs).....	85
Figure 15 : Delta relatif de la masse grasse (Masse grasse V2 – Masse grasse V1) / Masse grasse V1 en % dans le groupe Régulée à la V3 et le groupe Aménorrhée à la V3 (barre horizontale = médiane des delta relatifs)	86

Figure 16 : Delta relatif du score d'activité physique (Activité physique V2 – Activité physique V1) / Activité physique V1 en % dans le groupe Régulée à la V3 et le groupe Aménorrhée à la V3 (barre horizontale = médiane des delta relatifs).....	87
Figure 17 : Delta relatif du social jetlag (social jetlag V2 – social jetlag V1) / social jetlag V1 en % dans le groupe Régulée à la V3 et le groupe Aménorrhée à la V3 (barre horizontale = médiane des delta relatifs).....	88
Figure 18 : Delta relatif de la durée d'exposition à la lumière naturelle les jours de travail (durée V2 – durée V1) / durée V1 en % dans le groupe Régulée à la V3 et le groupe Aménorrhée à la V3 (barre horizontale = médiane des delta relatifs).....	89
Figure 19 : Delta relatif de la durée d'exposition à la lumière naturelle les jours de week-end (durée V2 – durée V1) / durée V1 en % dans le groupe Régulée à la V3 et le groupe Aménorrhée à la V3 (barre horizontale = médiane des delta relatifs, WE = week-end)	90
Figure 20 : Delta relatif de l'AMH (AMH V2 - AMH V1) / AMH V1 en % dans le groupe Régulée à la V3 et le groupe Aménorrhée à la V3 (barre horizontale = médiane des delta relatifs).....	92
Figure 21 : Delta relatif de l'IL-6 (IL-6 V2 - IL-6 V1) / IL-6 V1 en % dans le groupe Régulée à la V3 et le groupe Aménorrhée à la V3 (barre horizontale = médiane des delta relatifs).....	93
Figure 22 : Delta relatif de l'insuline (Insuline V2 - Insuline V1) / Insuline V1 en % dans le groupe Régulée à la V3 et le groupe Aménorrhée à la V3 (barre horizontale = médiane des delta relatifs)	94
Figure 23 : Delta relatif de la leptine (Leptine V2 - Leptine V1) / Leptine V1 en % dans le groupe Régulée à la V3 et le groupe Aménorrhée à la V3 (barre horizontale = médiane des delta relatifs)	95
Figure 24 : Delta relatif de la ghréline (Ghréline V2 - Ghréline V1) / Ghréline V1 en % dans le groupe Régulée à la V3 et le groupe Aménorrhée à la V3 (barre horizontale = médiane des delta relatifs)	96
Figure 25 : Évolution de l'IMC (kg/m ²) de la V1 à la V5 dans les groupes Régulée à la V3 et Aménorrhée à la V3 (carré bleu = médiane de l'IMC dans le groupe Régulée, triangle rouge = médiane de l'IMC dans le groupe Aménorrhée)	98
Figure 26 : Évolution de la masse musculaire (% par rapport à la masse corporelle totale) de la V1 à la V5 dans les groupes Régulée à la V3 et Aménorrhée à la V3 (carrés et triangles = valeurs médianes des pourcentages de masse musculaire) ...	99
Figure 27 : Évolution de la masse grasse (% par rapport à la masse corporelle totale) de la V1 à la V5 dans les groupes Régulée à la V3 et Aménorrhée à la V3 (carrés et triangles = valeurs médianes des pourcentages de masse grasse)	100
Figure 28 : Évolution du score d'activité physique (nombre de points / 30) de la V1 à la V5 dans les groupes Régulée à la V3 et Aménorrhée à la V3 (carrés et triangles = valeurs médianes du score d'activité physique).....	101
Figure 29 : Évolution du social jetlag (minutes) de la V1 à la V5 dans les groupes Régulée à la V3 et Aménorrhée à la V3 (carrés et triangles = valeurs médianes du social jetlag)	102

Figure 30 : Évolution de la durée d'exposition à la lumière les jours de travail (minutes) de la V1 à la V5 dans les groupes Régulée à la V3 et Aménorrhée à la V3 (carrés et triangles = valeurs médianes de la durée d'exposition à la lumière les jours de travail)	103
Figure 31 : Évolution de la durée d'exposition à la lumière les jours de week-end (minutes) de la V1 à la V5 dans les groupes Régulée à la V3 et Aménorrhée à la V3 (carrés et triangles = valeurs médianes de la durée d'exposition à la lumière les jours de week-end)	104
Figure 32 : Profils évolutifs des concentrations sériques d'AMH de la V1 à la V5 dans les groupes Régulée à la V3 et Aménorrhée à la V3 (carrés et triangles = valeurs médianes des concentrations d'AMH, ligne en pointillés = limite de détection de l'AMH).....	105
Figure 33 : Profils évolutifs des concentrations plasmatiques d'IL-6 de la V1 à la V5 dans les groupes Régulée à la V3 et Aménorrhée à la V3 (carrés et triangles = valeurs médianes des concentrations d'IL-6)	106
Figure 34 : Profils évolutifs des concentrations sériques d'insuline de la V1 à la V5 dans les groupes Régulée à la V3 et Aménorrhée à la V3 (carrés et triangles = valeurs médianes des concentrations d'insuline)	107
Figure 35 : Profils évolutifs des concentrations sériques de leptine de la V1 à la V5 dans les groupes Régulée à la V3 et Aménorrhée à la V3 (carrés et triangles = valeurs médianes des concentrations de leptine).....	108
Figure 36 : Profils évolutifs des concentrations plasmatiques de ghréline de la V1 à la V5 dans les groupes Régulée à la V3 et Aménorrhée à la V3 (carrés et triangles = valeurs médianes des concentrations de ghréline).....	109

Références

- [1] F. Molinié, B. Trétarre, A.S. Woronoff, P. Arveux, A.V. Guizard, E. Marrer. Estimations nationales de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine entre 1990 et 2018. Volume 1 – Tumeurs solides n.d.
- [2] Institut national du cancer. Les cancers en France, l'essentiel des faits et chiffres / Édition 2019 n.d.
- [3] Yoo C, Yun MR, Ahn J-H, Jung KH, Kim HJ, Kim JE, et al. Chemotherapy-induced amenorrhea, menopause-specific quality of life, and endocrine profiles in premenopausal women with breast cancer who received adjuvant anthracycline-based chemotherapy: a prospective cohort study. *Cancer Chemother Pharmacol* 2013;72:565–75. <https://doi.org/10.1007/s00280-013-2227-5>.
- [4] Silva C, Caramelo O, Almeida-Santos T, Ribeiro Rama AC. Factors associated with ovarian function recovery after chemotherapy for breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod* 2016;31:2737–49. <https://doi.org/10.1093/humrep/dew224>.
- [5] Lambertini M, Demeestere I. Another step towards improving oncofertility counselling of young women with Hodgkin's lymphoma. *Lancet Oncol* 2018;19:1264–6. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(18\)30562-X](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(18)30562-X).
- [6] Decanter C, Morschhauser F, Pigny P, Lefebvre C, Gallo C, Dewailly D. Anti-Müllerian hormone follow-up in young women treated by chemotherapy for lymphoma: preliminary results. *Reprod Biomed Online* 2010;20:280–5. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2009.11.010>.
- [7] Anderson RA, Rosendahl M, Kelsey TW, Cameron DA. Pretreatment anti-Müllerian hormone predicts for loss of ovarian function after chemotherapy for early breast cancer. *Eur J Cancer* 2013;49:3404–11. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2013.07.014>.
- [8] Kim H-A, Choi J, Park CS, Seong M-K, Hong S-E, Kim J-S, et al. Post-chemotherapy serum anti-Müllerian hormone level predicts ovarian function recovery. *Endocr Connect* 2018;7:949–56. <https://doi.org/10.1530/EC-18-0180>.
- [9] Decanter C, Peigne M, Mailliez A, Morschhauser F, Dassonneville A, Dewailly D, et al. Toward a better follow-up of ovarian recovery in young women after chemotherapy with a hypersensitive antimüllerian hormone assay. *Fertil Steril* 2014;102:483–7. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2014.05.014>.
- [10] Decanter C, Cloquet M, Dassonneville A, D'Orazio E, Mailliez A, Pigny P. Different patterns of ovarian recovery after cancer treatment suggest various individual ovarian susceptibilities to chemotherapy. *Reprod Biomed Online* 2018;36:711–8. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2018.02.004>.
- [11] Su H-CI, Haunschild C, Chung K, Komrokian S, Boles S, Sammel MD, et al. Prechemotherapy antimüllerian hormone, age, and body size predict timing of return of ovarian function in young breast cancer patients. *Cancer* 2014;120:3691–8. <https://doi.org/10.1002/cncr.28942>.

- [12] Ruddy KJ, Schaid DJ, Partridge AH, Larson NB, Batzler A, Häberle L, et al. Genetic predictors of chemotherapy-related amenorrhea in women with breast cancer. *Fertil Steril* 2019;112:731-739.e1. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2019.05.018>.
- [13] Kashi O, Meirou D. Overactivation or Apoptosis: Which Mechanisms Affect Chemotherapy-Induced Ovarian Reserve Depletion? *Int J Mol Sci* 2023;24:16291. <https://doi.org/10.3390/ijms242216291>.
- [14] Ernst EH, Grøndahl ML, Grund S, Hardy K, Heuck A, Sunde L, et al. Dormancy and activation of human oocytes from primordial and primary follicles: molecular clues to oocyte regulation. *Hum Reprod* 2017;32:1684–700. <https://doi.org/10.1093/humrep/dex238>.
- [15] John GB, Gallardo TD, Shirley LJ, Castrillon DH. Foxo3 is a PI3K-dependent molecular switch controlling the initiation of oocyte growth. *Dev Biol* 2008;321:197–204. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2008.06.017>.
- [16] Giaccari C, Antonouli S, Anifandis G, Cecconi S, Di Nisio V. An Update on Physiopathological Roles of Akt in the ReprodAKTive Mammalian Ovary. *Life Basel Switz* 2024;14:722. <https://doi.org/10.3390/life14060722>.
- [17] Kalich-Philosoph L, Roness H, Carmely A, Fishel-Bartal M, Ligumsky H, Paglin S, et al. Cyclophosphamide Triggers Follicle Activation and “Burnout”; AS101 Prevents Follicle Loss and Preserves Fertility. *Sci Transl Med* 2013;5:185ra62-185ra62. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3005402>.
- [18] Guo Y, Xue L, Tang W, Xiong J, Chen D, Dai Y, et al. Ovarian microenvironment: challenges and opportunities in protecting against chemotherapy-associated ovarian damage. *Hum Reprod Update* 2024;30:614–47. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmae020>.
- [19] Szymanska KJ, Tan X, Oktay K. Unraveling the mechanisms of chemotherapy-induced damage to human primordial follicle reserve: road to developing therapeutics for fertility preservation and reversing ovarian aging. *Mol Hum Reprod* 2020;26:553–66. <https://doi.org/10.1093/molehr/gaaa043>.
- [20] Spears N, Lopes F, Stefansdottir A, Rossi V, De Felici M, Anderson RA, et al. Ovarian damage from chemotherapy and current approaches to its protection. *Hum Reprod Update* 2019;25:673–93. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmz027>.
- [21] Zegeye MM, Lindkvist M, Fälker K, Kumawat AK, Paramel G, Grenegård M, et al. Activation of the JAK/STAT3 and PI3K/AKT pathways are crucial for IL-6 trans-signaling-mediated pro-inflammatory response in human vascular endothelial cells. *Cell Commun Signal* 2018;16:55. <https://doi.org/10.1186/s12964-018-0268-4>.
- [22] Matsuda F, Inoue N, Manabe N, Ohkura S. Follicular growth and atresia in mammalian ovaries: regulation by survival and death of granulosa cells. *J Reprod Dev* 2012;58:44–50. <https://doi.org/10.1262/jrd.2011-012>.
- [23] Li S-J, Chang H-M, Xie J, Wang JH, Yang J, Leung PCK. The interleukin 6 trans-signaling increases prostaglandin E2 production in human granulosa cells†. *Biol Reprod* 2021;105:1189–204. <https://doi.org/10.1093/biolre/ioab128>.
- [24] Ghanemi A, St-Amand J. Interleukin-6 as a “metabolic hormone.” *Cytokine* 2018;112:132–6. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2018.06.034>.
- [25] Chow LS, Gerszten RE, Taylor JM, Pedersen BK, van Praag H, Trappe S, et al. Exerkines in health, resilience and disease. *Nat Rev Endocrinol* 2022;18:273–89.

<https://doi.org/10.1038/s41574-022-00641-2>.

[26] Salties AR. Insulin signaling in health and disease. *J Clin Invest* 2021;131:e142241. <https://doi.org/10.1172/JCI142241>.

[27] Savova MS, Mihaylova LV, Tews D, Wabitsch M, Georgiev MI. Targeting PI3K/AKT signaling pathway in obesity. *Biomed Pharmacother* 2023;159:114244. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.114244>.

[28] Dupont J, Reverchon M, Bertoldo MJ, Froment P. Nutritional signals and reproduction. *Mol Cell Endocrinol* 2014;382:527–37. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2013.09.028>.

[29] Athar F, Karmani M, Templeman NM. Metabolic hormones are integral regulators of female reproductive health and function. *Biosci Rep* 2024;44:BSR20231916. <https://doi.org/10.1042/BSR20231916>.

[30] Li L, Shi X, Shi Y, Wang Z. The Signaling Pathways Involved in Ovarian Follicle Development. *Front Physiol* 2021;12:730196. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.730196>.

[31] Tong C, Wu Y, Zhang L, Yu Y. Insulin resistance, autophagy and apoptosis in patients with polycystic ovary syndrome: Association with PI3K signaling pathway. *Front Endocrinol* 2022;13:1091147. <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.1091147>.

[32] Evans MC, Anderson GM. Integration of Circadian and Metabolic Control of Reproductive Function. *Endocrinology* 2018;159:3661–73. <https://doi.org/10.1210/en.2018-00691>.

[33] Hill JW, Alreja M, Elias CF. From precocious puberty to infertility: metabolic control of the reproductive function. *Front Endocrinol* 2013;4:43. <https://doi.org/10.3389/fendo.2013.00043>.

[34] Hill JW, Elias CF. Neuroanatomical Framework of the Metabolic Control of Reproduction. *Physiol Rev* 2018;98:2349–80. <https://doi.org/10.1152/physrev.00033.2017>.

[35] Navarro VM, Tena-Sempere M. Neuroendocrine control by kisspeptins: role in metabolic regulation of fertility. *Nat Rev Endocrinol* 2011;8:40–53. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2011.147>.

[36] Rønnekleiv OK, Qiu J, Kelly MJ. Arcuate Kisspeptin Neurons Coordinate Reproductive Activities with Metabolism. *Semin Reprod Med* 2019;37:131–40. <https://doi.org/10.1055/s-0039-3400251>.

[37] Castellano JM, Roa J, Luque RM, Dieguez C, Aguilar E, Pinilla L, et al. KiSS-1/kisspeptins and the metabolic control of reproduction: physiologic roles and putative physiopathological implications. *Peptides* 2009;30:139–45. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2008.06.007>.

[38] Castellano JM, Tena-Sempere M. Metabolic regulation of kisspeptin. *Adv Exp Med Biol* 2013;784:363–83. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-6199-9_17.

[39] Navarro VM, Kaiser UB. Metabolic influences on neuroendocrine regulation of reproduction. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2013;20:335–41. <https://doi.org/10.1097/MED.0b013e32836318ce>.

[40] Evans MC, Anderson GM. Neuroendocrine integration of nutritional signals on reproduction. *J Mol Endocrinol* 2017;58:R107–28. <https://doi.org/10.1530/JME-16->

0212.

- [41] Sliwowska JH, Fergani C, Gawalek M, Skowronska B, Fichna P, Lehman MN. Insulin: its role in the central control of reproduction. *Physiol Behav* 2014;133:197–206. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.05.021>.
- [42] Padilla SL, Qiu J, Nestor CC, Zhang C, Smith AW, Whiddon BB, et al. AgRP to Kiss1 neuron signaling links nutritional state and fertility. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2017;114:2413–8. <https://doi.org/10.1073/pnas.1621065114>.
- [43] Muccioli G, Lorenzi T, Lorenzi M, Ghè C, Arnoletti E, Raso GM, et al. Beyond the metabolic role of ghrelin: a new player in the regulation of reproductive function. *Peptides* 2011;32:2514–21. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2011.10.020>.
- [44] Egan OK, Inglis MA, Anderson GM. Leptin Signaling in AgRP Neurons Modulates Puberty Onset and Adult Fertility in Mice. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 2017;37:3875–86. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3138-16.2017>.
- [45] Evans MC, Campbell RE, Anderson GM. Physiological regulation of leptin as an integrative signal of reproductive readiness. *Curr Opin Pharmacol* 2022;67:102321. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2022.102321>.
- [46] Pérez-Pérez A, Sánchez-Jiménez F, Maymó J, Dueñas JL, Varone C, Sánchez-Margalet V. Role of leptin in female reproduction. *Clin Chem Lab Med* 2015;53:15–28. <https://doi.org/10.1515/cclm-2014-0387>.
- [47] Tena-Sempere M. Roles of ghrelin and leptin in the control of reproductive function. *Neuroendocrinology* 2007;86:229–41. <https://doi.org/10.1159/000108410>.
- [48] Tena-Sempere M. Ghrelin as a pleiotrophic modulator of gonadal function and reproduction. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2008;4:666–74. <https://doi.org/10.1038/ncpendmet1003>.
- [49] Fontana R, Della Torre S. The Deep Correlation between Energy Metabolism and Reproduction: A View on the Effects of Nutrition for Women Fertility. *Nutrients* 2016;8:87. <https://doi.org/10.3390/nu8020087>.
- [50] Ongaro L, Zhou X, Wang Y, Schultz H, Zhou Z, Buddle ERS, et al. Muscle-derived myostatin is a major endocrine driver of follicle-stimulating hormone synthesis. *Science* 2025;387:329–36. <https://doi.org/10.1126/science.adi4736>.
- [51] Sciarra F, Franceschini E, Campolo F, Gianfrilli D, Pallotti F, Paoli D, et al. Disruption of Circadian Rhythms: A Crucial Factor in the Etiology of Infertility. *Int J Mol Sci* 2020;21:3943. <https://doi.org/10.3390/ijms21113943>.
- [52] Boden MJ, Varcoe TJ, Kennaway DJ. Circadian regulation of reproduction: from gamete to offspring. *Prog Biophys Mol Biol* 2013;113:387–97. <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2013.01.003>.
- [53] Aryal RP, Kwak PB, Tamayo AG, Gebert M, Chiu P-L, Walz T, et al. Macromolecular Assemblies of the Mammalian Circadian Clock. *Mol Cell* 2017;67:770–782.e6. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2017.07.017>.
- [54] Chiou Y-Y, Yang Y, Rashid N, Ye R, Selby CP, Sancar A. Mammalian Period represses and de-represses transcription by displacing CLOCK-BMAL1 from promoters in a Cryptochrome-dependent manner. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2016;113:E6072–9. <https://doi.org/10.1073/pnas.1612917113>.
- [55] Sati L. Chronodisruption: effects on reproduction, transgenerational health of

offspring and epigenome. *Reprod Camb Engl* 2020;160:R79–94. <https://doi.org/10.1530/REP-20-0298>.

[56] Sen A, Sellix MT. The Circadian Timing System and Environmental Circadian Disruption: From Follicles to Fertility. *Endocrinology* 2016;157:3366–73. <https://doi.org/10.1210/en.2016-1450>.

[57] Refinetti R. Comparison of light, food, and temperature as environmental synchronizers of the circadian rhythm of activity in mice. *J Physiol Sci JPS* 2015;65:359–66. <https://doi.org/10.1007/s12576-015-0374-7>.

[58] Welsh DK, Takahashi JS, Kay SA. Suprachiasmatic nucleus: cell autonomy and network properties. *Annu Rev Physiol* 2010;72:551–77. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021909-135919>.

[59] Bellastella A, De Bellis A, Bellastella G, Esposito K. Opposite influence of light and blindness on pituitary-gonadal function. *Front Endocrinol* 2014;4:205. <https://doi.org/10.3389/fendo.2013.00205>.

[60] Reiter RJ, Tamura H, Tan DX, Xu X-Y. Melatonin and the circadian system: contributions to successful female reproduction. *Fertil Steril* 2014;102:321–8. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2014.06.014>.

[61] Vieyra E, Ramírez DA, Lagunas N, Cárdenas M, Chavira R, Damián-Matsumura P, et al. Unilaterally blocking the muscarinic receptors in the suprachiasmatic nucleus in proestrus rats prevents pre-ovulatory LH secretion and ovulation. *Reprod Biol Endocrinol RBE* 2016;14:34. <https://doi.org/10.1186/s12958-016-0168-7>.

[62] Miller BH, Takahashi JS. Central circadian control of female reproductive function. *Front Endocrinol* 2013;4:195. <https://doi.org/10.3389/fendo.2013.00195>.

[63] Beymer M, Henningsen J, Bahougne T, Simonneaux V. The role of kisspeptin and RFRP in the circadian control of female reproduction. *Mol Cell Endocrinol* 2016;438:89–99. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2016.06.026>.

[64] Tonsfeldt KJ, Mellon PL, Hoffmann HM. Circadian Rhythms in the Neuronal Network Timing the Luteinizing Hormone Surge. *Endocrinology* 2022;163:bqab268. <https://doi.org/10.1210/endo/bqab268>.

[65] Williams WP, Kriegsfeld LJ. Circadian control of neuroendocrine circuits regulating female reproductive function. *Front Endocrinol* 2012;3:60. <https://doi.org/10.3389/fendo.2012.00060>.

[66] Chappell PE, Goodall CP, Tonsfeldt KJ, White RS, Bredeweg E, Latham KL. Modulation of gonadotrophin-releasing hormone secretion by an endogenous circadian clock. *J Neuroendocrinol* 2009;21:339–45. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2009.01845.x>.

[67] Tonsfeldt KJ, Chappell PE. Clocks on top: the role of the circadian clock in the hypothalamic and pituitary regulation of endocrine physiology. *Mol Cell Endocrinol* 2012;349:3–12. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2011.07.003>.

[68] Olcese J, Domagalski R, Bednorz A, Weaver DR, Urbanski HF, Reuss S, et al. Expression and regulation of mPer1 in immortalized GnRH neurons. *Neuroreport* 2003;14:613–8. <https://doi.org/10.1097/00001756-200303240-00018>.

[69] Chappell PE, White RS, Mellon PL. Circadian gene expression regulates pulsatile gonadotropin-releasing hormone (GnRH) secretory patterns in the

hypothalamic GnRH-secreting GT1-7 cell line. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 2003;23:11202–13. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-35-11202.2003>.

[70] Gillespie JMA, Chan BPK, Roy D, Cai F, Belsham DD. Expression of circadian rhythm genes in gonadotropin-releasing hormone-secreting GT1-7 neurons. *Endocrinology* 2003;144:5285–92. <https://doi.org/10.1210/en.2003-0802>.

[71] Mansuy V, Risold P-Y, Glauser M, Fraichard A, Pralong FP. Expression of the GABAA receptor associated protein Gec1 is circadian and dependent upon the cellular clock machinery in GnRH secreting GnV-3 cells. *Mol Cell Endocrinol* 2009;307:68–76. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2009.02.029>.

[72] Hickok JR, Tischkau SA. In vivo circadian rhythms in gonadotropin-releasing hormone neurons. *Neuroendocrinology* 2010;91:110–20. <https://doi.org/10.1159/000243163>.

[73] Boden MJ, Kennaway DJ. Circadian rhythms and reproduction. *Reprod Camb Engl* 2006;132:379–92. <https://doi.org/10.1530/rep.1.00614>.

[74] Karman BN, Tischkau SA. Circadian clock gene expression in the ovary: Effects of luteinizing hormone. *Biol Reprod* 2006;75:624–32. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.106.050732>.

[75] Fahrenkrug J, Georg B, Hannibal J, Hindersson P, Gräs S. Diurnal rhythmicity of the clock genes Per1 and Per2 in the rat ovary. *Endocrinology* 2006;147:3769–76. <https://doi.org/10.1210/en.2006-0305>.

[76] Gräs S, Georg B, Jørgensen HL, Fahrenkrug J. Expression of the clock genes Per1 and Bmal1 during follicle development in the rat ovary. Effects of gonadotropin stimulation and hypophysectomy. *Cell Tissue Res* 2012;350:539–48. <https://doi.org/10.1007/s00441-012-1489-2>.

[77] Sellix MT. Circadian clock function in the mammalian ovary. *J Biol Rhythms* 2015;30:7–19. <https://doi.org/10.1177/0748730414554222>.

[78] Ratajczak CK, Boehle KL, Muglia LJ. Impaired steroidogenesis and implantation failure in Bmal1^{-/-} mice. *Endocrinology* 2009;150:1879–85. <https://doi.org/10.1210/en.2008-1021>.

[79] Liu Y, Johnson BP, Shen AL, Wallisser JA, Krentz KJ, Moran SM, et al. Loss of BMAL1 in ovarian steroidogenic cells results in implantation failure in female mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014;111:14295–300. <https://doi.org/10.1073/pnas.1209249111>.

[80] Mereness AL, Murphy ZC, Forrestel AC, Butler S, Ko C, Richards JS, et al. Conditional Deletion of Bmal1 in Ovarian Theca Cells Disrupts Ovulation in Female Mice. *Endocrinology* 2016;157:913–27. <https://doi.org/10.1210/en.2015-1645>.

[81] Sellix MT, Yoshikawa T, Menaker M. A circadian egg timer gates ovulation. *Curr Biol CB* 2010;20:R266–267. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2010.01.045>.

[82] Tamura H, Takasaki A, Taketani T, Tanabe M, Lee L, Tamura I, et al. Melatonin and female reproduction. *J Obstet Gynaecol Res* 2014;40:1–11. <https://doi.org/10.1111/jog.12177>.

[83] Olcese JM. Melatonin and Female Reproduction: An Expanding Universe. *Front Endocrinol* 2020;11:85. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00085>.

[84] Brzezinski A, Rai S, Purohit A, Pandi-Perumal SR. Melatonin, Clock Genes, and

Mammalian Reproduction: What Is the Link? *Int J Mol Sci* 2021;22:13240. <https://doi.org/10.3390/ijms222413240>.

[85] Fukuda A, Sato K, Fujimori C, Yamashita T, Takeuchi A, Ohuchi H, et al. Direct photoreception by pituitary endocrine cells regulates hormone release and pigmentation. *Science* 2025;387:43–8. <https://doi.org/10.1126/science.adj9687>.

[86] Liufu S, Pan J, Sun J, Shen X, Jiang D, Ouyang H, et al. OPN5 Regulating Mechanism of Follicle Development Through the TSH-DIO2/DIO3 Pathway in Mountain Ducks Under Different Photoperiods. *Front Physiol* 2022;13:813881. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.813881>.

[87] Calligaro H, Dkhissi-Benyahya O, Panda S. Ocular and extraocular roles of neuropsin in vertebrates. *Trends Neurosci* 2022;45:200–11. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2021.11.008>.

[88] Mills J, Kuohung W. Impact of circadian rhythms on female reproduction and infertility treatment success. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2019;26:317–21. <https://doi.org/10.1097/MED.0000000000000511>.

[89] Willis SK, Hatch EE, Wise LA. Sleep and female reproduction. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2019;31:222–7. <https://doi.org/10.1097/GCO.0000000000000554>.

[90] Gamble KL, Resuehr D, Johnson CH. Shift work and circadian dysregulation of reproduction. *Front Endocrinol* 2013;4:92. <https://doi.org/10.3389/fendo.2013.00092>.

[91] Chau YM, West S, Mapedzahama V. Night work and the reproductive health of women: an integrated literature review. *J Midwifery Womens Health* 2014;59:113–26. <https://doi.org/10.1111/jmwh.12052>.

[92] Zhang W-X, Chen S-Y, Liu C. Regulation of reproduction by the circadian rhythms. *Sheng Li Xue Bao* 2016;68:799–808.

[93] Lawson CC, Whelan EA, Lividoti Hibert EN, Spiegelman D, Schernhammer ES, Rich-Edwards JW. Rotating shift work and menstrual cycle characteristics. *Epidemiol Camb Mass* 2011;22:305–12. <https://doi.org/10.1097/EDE.0b013e3182130016>.

[94] Mínguez-Alarcón L, Souter I, Williams PL, Ford JB, Hauser R, Chavarro JE, et al. Occupational factors and markers of ovarian reserve and response among women at a fertility centre. *Occup Environ Med* 2017;74:426–31. <https://doi.org/10.1136/oemed-2016-103953>.

[95] Robert H, Casillas JM, Iskandar M, D’Athis P, Antoine D, Taha S, et al. Le Score d’activité physique de Dijon : reproductibilité et corrélations avec l’aptitude physique de sujets sains âgés. *Ann Réadapt Médecine Phys* 2004;47:546–54. <https://doi.org/10.1016/j.annrmp.2004.03.005>.

[96] Roenneberg T, Wirz-Justice A, Meroz M. Life between clocks: daily temporal patterns of human chronotypes. *J Biol Rhythms* 2003;18:80–90. <https://doi.org/10.1177/0748730402239679>.

[97] Roenneberg T, Pilz LK, Zerbini G, Winnebeck EC. Chronotype and Social Jetlag: A (Self-) Critical Review. *Biology* 2019;8:54. <https://doi.org/10.3390/biology8030054>.

[98] Roenneberg T, Kuehnle T, Juda M, Kantermann T, Allebrandt K, Gordijn M, et al. Epidemiology of the human circadian clock. *Sleep Med Rev* 2007;11:429–38. <https://doi.org/10.1016/j.smr.2007.07.005>.

[99] Gifford RM, O'leary T, Cobb R, Blackadder-Weinstein J, Double R, Wardle SL, et al. Female Reproductive, Adrenal, and Metabolic Changes during an Antarctic Traverse. *Med Sci Sports Exerc* 2019;51:556. <https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000001803>.

[100] Garin MC, Butts SF, Sarwer DB, Allison KC, Senapati S, Dokras A. Ghrelin is independently associated with anti-mullerian hormone levels in obese but not non-obese women with polycystic ovary syndrome. *Endocrine* 2017;55:907–13. <https://doi.org/10.1007/s12020-016-1210-4>.

Annexe 1 : Score d'activité physique

Score d'activité physique de Dijon[95]

1) Vous considérez-vous comme :	
1. très actif et de caractère sportif	3
2. moyennement actif physiquement	2
3. plutôt peu actif physiquement	1
4. franchement sédentaire	0
2) Considérez-vous que vos activités quotidiennes (sociales et/ou professionnelles : déplacements, manutentions, bricolage, courses, ménages, vaisselle, repassage...) correspondent :	
1. à une sollicitation physique intense	3
2. à une sollicitation physique moyenne	2
3. à une sollicitation physique modérée	1
4. à l'absence de sollicitation physique véritable	0
3) Vos activités quotidiennes vous prennent environ :	
1. plus de 10 heures par semaine	4
2. entre 6 et 10 heures par semaine	3
3. entre 2 et 6 heures par semaine	2
4. moins de 2 heures par semaine	1
5. aucun temps consacré par semaine	0
4) L' activité sportive ou de loisir que vous exercez est	
1. de forte intensité : fatigue musculaire importante	3
2. d'intensité modérée : fatigue musculaire modérée	2
3. d'intensité légère : sans fatigue musculaire	1
4. vous n'en exercez pas	0
5) Vous avez l'habitude de pratiquer cette ou ces activités (sport, loisir) :	
1. Quotidiennement	4
2. 3 à 6 fois par semaine	3
3. 1 à 2 fois par semaine	2
4. de façon irrégulière	1
5. jamais	0
6) La durée moyenne de vos séances d'activité physique (sport, loisir) :	
1. 60 minutes et plus	4
2. 30 à 60 minutes	3
3. 15 à 30 minutes	2
4. moins de 15 minutes	1
5. aucune activité	0
7) Combien de mois par an exercez-vous cette ou ces activités (sport, loisir) ?	
1. plus de 9 mois	3
2. entre 4 et 9 mois	2
3. moins de 4 mois	1
4. jamais	0
8) L'activité physique (sport, loisir) entraîne-t-elle habituellement chez vous :	
1. une fatigue importante et/ou un essoufflement important	3
2. une fatigue et un essoufflement modérés	2
3. pas de sensation de fatigue ni d'essoufflement	1
9) Vous restez au repos (sommeil, sieste ou repos éveillé)	
1. moins de 12 heures par jour	3
2. entre 12 et 16 heures par jour	2
3. entre 16 et 20 heures par jour	1
4. plus de 20 heures	0
TOTAL =	/30

Annexe 2 : Questionnaire de chronotype

Version française adaptée du *Munich ChronoType Questionnaire (MCTQ)*[96][97][98]

Les jours de la semaine où je travaille :

- Je dois me réveiller à _____ heures.
- Il me faut _____ minutes pour me lever.
- Je me réveille régulièrement : avant le réveil à l'aide du réveil
- À partir de _____ heures je suis pleinement réveillée.
- Les nuits précédant une journée de travail, je vais au lit à _____ heures et il me faut _____ minutes pour m'endormir.

Les jours de week-end normaux (c'est-à-dire sans fêtes...) :

- Mon rêve serait de dormir jusque _____ heures.
- Je me réveille normalement (sans réveil) à _____ heures.
- J'ai besoin de _____ minutes pour me lever.
- À partir de _____ heures je suis pleinement réveillée.
- Les nuits précédant une journée de week-end normal, je vais au lit à _____ heures et il me faut _____ minutes pour m'endormir.

- Une fois allongée dans le lit, j'aime lire pendant _____ minutes, mais généralement je m'endors après _____ minutes.

- Je préfère dormir dans une pièce totalement obscure : oui non
- Je me réveille plus facilement quand la lumière du jour brille dans ma chambre : oui non

Combien de temps chaque jour passez-vous à l'extérieur exposée à la lumière naturelle directe ?

- Les jours de travail : _____ heure(s) ; _____ minutes
- Les jours de week-end : _____ heure(s) ; _____ minutes

Encadré à remplir par le service :

- **DSR** (Durée Sommeil Repos) = _____ heures
- **DST** (Durée Sommeil Travail) = _____ heures
- **DMS** (Durée Moyenne de Sommeil sur la semaine) = $(2 \times \text{DSR} + 5 \times \text{DST}) / 7 =$ _____ heures
- **MSR** (Milieu du Sommeil Repos) = Heure de réveil les jours de week-end - $\frac{1}{2} \times \text{DSR} =$ _____ heures
- **MST** (Milieu du Sommeil Travail) = Heure de réveil les jours de travail - $\frac{1}{2} \times \text{DST} =$ _____ heures
- **MSR corrigé** = $\text{MSR} - \frac{1}{2} \times (\text{DSR} - \text{DMS}) =$ _____ heures

MSR corrigé (en heures)	Catégorie de chronotype	Interprétation
0 à 2	0	patiente extrêmement du matin
2 à 3	1	patiente modérément du matin
3 à 4	2	patiente légèrement du matin
4 à 5	3	patiente intermédiaire
5 à 6	4	patiente légèrement du soir
6 à 7	5	patiente modérément du soir
7 à 12	6	patiente extrêmement du soir

- **Catégorie de Chronotype** : 0 1 2 3 4 5 6

- **Social Jetlag** = $\text{MSR} - \text{MST} =$ _____ heures

AUTEURE : Nom : BASSIL Prénom : Anne-Claire

Date de soutenance : Mardi 22 avril 2025

Titre de la thèse : Impact du statut métabolique et des rythmes circadiens sur la récupération ovarienne post-chimiothérapie chez les patientes traitées pour un cancer du sein

Thèse – Médecine – Lille 2025

Cadre de classement : Biologie médicale

DES + FST/option : Biologie médicale, option Biologie Générale

Mots-clés : Cancer du sein, chimiothérapie, récupération ovarienne, métabolisme, IL-6, insuline, leptine, ghréline, activité physique, rythmes circadiens, exposition à la lumière

Contexte : La chimiothérapie pour cancer peut altérer la fertilité féminine, se traduisant par la survenue d'une aménorrhée chimio-induite (ACI) transitoire ou prolongée. Notre hypothèse était que le statut métabolique et les rythmes circadiens, par leur influence sur l'axe hypothalamo-hypophysio-gonadique à plusieurs niveaux, pouvaient moduler la durée de l'ACI.

Matériel et méthodes : L'étude monocentrique de cohorte prospective, intitulée METAB-OV, a inclus 17 patientes en ACI, suivies tous les 3 mois pendant un an après la fin de leur chimiothérapie pour cancer du sein. À chaque visite, des paramètres cliniques (IMC, proportions de masses musculaire et grasse, score d'activité physique, chronotype, *social jetlag*, exposition à la lumière) et biologiques (AMH, IL-6, insuline, leptine, ghréline) ont été recueillis. Les patientes ont été réparties selon leur statut menstruel à 6 mois : groupe Régulée (n=12) et groupe Aménorrhée (n=5).

Résultats : Les patientes du groupe Régulée étaient significativement plus jeunes en fin de chimiothérapie que les patientes du groupe Aménorrhée ($p = 0.0362$). Les concentrations d'AMH à 3 mois étaient plus élevées dans le groupe Régulée par rapport au groupe Aménorrhée, avec une différence proche du seuil de significativité ($p = 0.0684$). Aucune différence significative n'a été observée pour les autres paramètres, mais deux tendances intéressantes sont à souligner : à 3 mois, l'insulinémie et l'exposition à la lumière étaient plus élevées dans le groupe Régulée ($p = 0.1867$ et $p = 0.1628$ respectivement).

Conclusion : Malgré un effectif limité, ces résultats soutiennent l'intérêt d'approfondir le rôle du statut métabolique et des rythmes circadiens dans la récupération ovarienne post-chimiothérapie. Ces données suggèrent des pistes de recommandations pour accompagner les patientes en ACI : équilibre nutritionnel, activité physique adaptée, mode de vie respectant les rythmes circadiens biologiques.

Composition du jury :

Présidente : Madame le Professeur Myriam LABALETTE

Assesseurs : Madame le Professeur Marie-Christine VANTYGHM

Madame le Professeur Christine DECANter

Directeur de thèse : Monsieur le Professeur Pascal PIGNY

