

THÈSE
pour le

DIPLÔME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE
par

Carine ANTUNÈS

Présentée et soutenue publiquement le 30 Juin 2008

<p>LA TOXICITÉ DE LA RADIOTHÉRAPIE ET DE LA CHIMIOTHÉRAPIE SUR L'APPAREIL REPRODUCTEUR FÉMININ ET LES MÉTHODES DE PRÉSERVATION DE LA FERTILITÉ CHEZ LA FEMME ET LA FILLETTE</p>

Président : M. Alain Pineau, Professeur de Toxicologie

Membres du Jury :

Mme Sophie Mirallié, Praticien Hospitalier

Mme Nicole Grimaud, Maître de Conférences de Pharmacologie

TABLE DES MATIERES

LISTE DES ABREVIATIONS.....	9
INTRODUCTION.....	11
PREMIERE PARTIE	14
RAPPELS SUR L'APPAREIL REPRODUCTEUR FEMININ	14
A. Anatomie de l'appareil féminin	15
1. Les ovaires.....	15
1.1. Localisation	15
1.2. Structure et histologie.....	15
a. Structure	15
b. Histologie	15
1.3. Rôles des ovaires.....	16
a. Fonction exocrine des ovaires	16
b. Fonction endocrine des ovaires	16
2. Les voies génitales	18
2.1. Les trompes	18
a. Structure	18
b. Histologie et cycle tubaire.....	18
c. Les différents rôles des trompes	19
1. Elimination du liquide péritonéal	19
2. Accueil de l'ovocyte.....	19
3. Sièges de la fécondation et transfert de l'embryon.....	19
2.2. L'utérus	19
a. Localisation	19
b. Structure	19
c. Histologie et cycle utérin.....	20
d. Rôle de l'utérus	21
2.3. Le vagin.....	22
a. Localisation	22
b. Structure et histologie.....	22
c. Cycle vaginal	22
d. Les différents rôles du vagin	22
3. Les organes génitaux externes.....	22
B. Physiologie de l'appareil féminin	24
1. De la fécondation à la naissance	24
2. De la naissance à la puberté	24
3. La puberté.....	24
3.1. Influence des hormones hypophysaires : FSH et LH	24

3.2. Influences des hormones ovariennes et interactions avec les autres cycles	25
3.3. Développement des caractères sexuels secondaires	25
4. De la puberté à la ménopause	25
4.1. Ovogenèse et cycle ovarien	25
a. Les différents stades de la maturation ovocytaire	25
b. L'ovulation	26
c. La phase post-ovulatoire ou lutéale	26
4.2. La régulation neuro-hormonale	27
4.3. L'atrésie folliculaire	29
5. La ménopause	30
5.1. La péri-ménopause	30
5.2. La ménopause	30
a. Conséquences physiques et psychologiques de la péri-ménopause	30
b. Conséquences physiques et biologiques de la ménopause	30
6. L'insuffisance ovarienne prématurée (IOP) ou premature ovarian failure (POF)	31
C. La reproduction	32
1. Les différentes étapes de la fécondation	32
1.1. La migration des spermatozoïdes dans le tractus génital féminin	32
a. Le passage du col	32
b. Le passage utéro-tubaire	32
c. Rôle de la migration	33
1.2. Adhésion des spermatozoïdes et réaction acrosomiale	34
1.3. Traversée de la zone pellucide et réaction corticale	34
1.4. La restauration de la diploïdie	34
2. Le développement embryonnaire	35
2.1. Migration et modifications de l'oeuf	35
2.2. Nidation et gestation	35
DEUXIEME PARTIE	36
LES ANTI-CANCEREUX ET LEUR TOXICITE SUR LES FONCTIONS	
REPRODUCTIVES DE LA FEMME	36
A. La radiothérapie	37
1. Définition de la radiothérapie	37
2. Origine des radiations ionisantes	37
3. Les différents types de radiothérapies	37
3.1. La radiothérapie externe	37
3.2. La curiethérapie	38
3.3. La radiothérapie interne	38
4. Les indications de la radiothérapie	38

4.1. But curatif.....	39
4.2. But palliatif.....	39
4.3. Autres indications.....	39
5. Le mécanisme d'action des radiations ionisantes	40
5.1 Etape physique	40
a. Action directe	40
b. Action indirecte	40
5.2 Etape physico-chimique	41
a. L'acide désoxyribonucléique : ADN.....	41
b. La membrane cellulaire	41
5.3 La réponse cellulaire	41
5.4 Etape tissulaire	42
6. La toxicité de la radiothérapie sur les différents systèmes.....	43
6.1 Les effets secondaires aigus	43
6.2 Les effets secondaires chroniques	44
6.3 Les effets de la radiothérapie sur la croissance et le développement intellectuel	45
7. La toxicité de la radiothérapie sur les fonctions reproductives	46
7.1 Action sur le développement pubertaire.....	46
7.2 Action sur le développement mammaire.....	46
7.3 Action sur les fonctions ovariennes	46
a. Exposition des ovaires aux radiations	46
b. Mécanisme de la toxicité des radiations sur l'ovaire	47
c. Les insuffisances ovariennes aiguës ou acute ovarian failure (AOF)	47
1. L'âge.....	47
1.1. Avant la puberté	47
1.2. Après la fin de la puberté	48
2. La dose cumulée.....	49
3. Le volume irradié	49
d. La ménopause précoce	49
7.4. Action sur l'utérus.....	50
a. Observations histologiques.....	50
b. Observations macroscopiques	51
c. Mécanisme.....	51
d. Facteurs aggravants	51
1. L'âge.....	51
2. La dose	51
7.5 Action sur la procréation et la fertilité	52
7.6 Action sur la descendance	53
7.7. Conclusion.....	53
B. La chimiothérapie.....	53
1. Définition	53
2. Indications	54
2.1. Mode d'administration	54
2.2. Les différents types de chimiothérapies	54

a. La chimiothérapie adjuvante	54
b. La chimiothérapie néo-adjuvante	54
3. Pharmacologie des anti-cancéreux	54
3.1. Les anti-tumoraux réagissant directement avec l'ADN	55
a. Les agents électrophiles	55
b. Les agents intercalants	55
c. Les agents scindants	55
3.2. Les anti-tumoraux réagissant indirectement avec l'ADN	56
a. Les anti-métabolites : agents inhibant la synthèse d'acides nucléiques	56
1. Les anti-foliques	56
2. Les analogues de bases puriques	56
3. Les analogues de bases pyrimidiques	56
4. Les inhibiteurs de Topoisomérases	57
b. Les agents agissant sur les protéines	57
1. Les poisons du fuseau	57
2. L-asparaginase = Kidrolase®	58
4. Effets secondaires des anti-cancéreux	58
4.1. Effets secondaires aigus	58
a. Toxicité gastro-intestinale	58
1. Nausées, vomissements	58
2. Mucites, stomatites	58
3. Troubles du transit	59
b. Toxicité hématologique	59
c. Toxicité dermatologique	59
d. Toxicités particulières	59
4.2. Effets secondaires chroniques	60
5. Action des anti-cancéreux sur les fonctions de la reproduction	61
5.1. Conséquences histologiques	61
a. Altération de la structure des follicules	61
b. Altération de la structure de l'ovaire	61
5.2. Les manifestations cliniques de la toxicité ovarienne des cytotoxiques	63
a. Insuffisance ovarienne aigue	63
b. Ménopause précoce	63
5.3. Mécanisme de la toxicité ovarienne des cytotoxiques	64
a. Première hypothèse : l'apoptose chimio-induite	64
b. Deuxième hypothèse : les dommages vasculaires chimio-induits	64
5.4. Les facteurs influençant le risque d'insuffisance ovarienne aigue	64
a. Toxicité par classe pharmacologique	64
1. Les Alkylants	64
2. Les sels de Platine	65
3. Les poisons du fuseaux	65
4. Les Anti-métaboliques	65
5. Les Anthracyclines	66
b. La toxicité dose dépendante	66
c. La toxicité liée à l'âge de la patiente	66
1. Cas de la femme	66
1.1. Exemple de protocole	66

1.2. Délai de survenue de l'insuffisance ovarienne.....	67
1.3. Durée de l'aménorrhée	67
2. Cas de l'enfant.....	67
d. Les polychimiothérapies	68
5.5. Les facteurs influençant le risque de ménopause précoce.....	68
5.6. Effet sur l'utérus.....	68
5.7. Effets sur la fertilité.....	68
5.8. Effets sur la descendance	69
5.9 Conclusion.....	69
TROISIEME PARTIE.....	70
LES DIFFERENTES METHODES DE PRESERVATION DE LA FERTILITE	70
A. La radioprotection des organes de la reproduction	71
1. La protection des ovaires.....	71
2. La protection de l'utérus	71
B. Les méthodes chirurgicales.....	71
1. La transplantation hétérotopique ovarienne	72
1.1. Le premier cas	72
1.2. Le second cas	72
1.3. Conclusion.....	73
2. La transposition ovarienne ou oophoropexie	73
2.1. La transposition médiane	74
2.2. La transposition latérale	74
2.3. Indications de la coelio-transposition ovarienne.....	75
2.4. Résultats	75
a. La dose.....	76
b. La préservation de la fonction ovarienne	76
c. La fertilité	77
2.5. Les risques.....	77
2.6. Conclusion.....	77
C. Les méthodes chimiques ou médicamenteuses	77
1. Les progestatifs et les oestroprogestatifs.....	78
1.1. Les progestatifs	78
1.2. Les oestroprogestatifs.....	78
a. Dans l'espèce animale	78
b. Chez la femme.....	78
1. Effet chimioprotecteur.....	78
2. Amélioration de la qualité utérine	79
2. Les anti-oxydants	79
3. Les analogues de la Gonadotrophin Releasing Hormone (GnRH-a).....	79

3.1. Indications	79
3.2. Mécanisme d'action pharmacologique.....	80
3.3. Les résultats de leur utilisation sur la protection de la fonction ovarienne	80
a. Chez l'animal.....	80
b. Chez la femme.....	81
3.4. Mécanismes évoqués.....	81
3.5. Conclusion.....	82
4. Les Inhibiteurs des voies de l'apoptose.....	82
4.1. La sphingosine-1-phosphate.....	83
a. L'effet chimioprotecteur de la sphingosine-1-phosphate	83
b. L'effet radioprotecteur de la sphingosine-1-phosphate.....	83
c. Conclusion	83
4.2. Le céramide	84
4.3. Autres voies de recherche	84
D. Les méthodes de cryoconservation : Congélation d'embryons, d'ovocytes et de tissu ovarien	84
1. Rappel sur le déroulement d'une fécondation <i>in vitro</i> (FIV).....	84
1.1. La stimulation ovarienne	85
a. Une phase de stimulation.....	85
b. Une phase de blocage	85
1. Les protocoles utilisant un agoniste de la GnRH.	85
2. Les protocoles utilisant un antagoniste de la GnRH	86
1.2. Le déclenchement de l'ovulation et la ponction ovocytaire.....	86
1.3. Le prélèvement et la préparation du sperme	87
1.4. L'insémination	87
1.5. Le transfert embryonnaire	87
2. La cryoconservation d'embryons	88
2.1. Indication.....	88
2.2. Les contraintes relatives à la patiente.....	88
2.3. Alternatives aux protocoles classiques de stimulation	88
a. Le Tamoxiphène	89
1. Indications	89
2. Mécanisme d'action	89
3. Utilisation	89
b. Le Létrozole	89
1. Indication et mécanisme pharmacologique	89
2. Utilisation	89
2.4. Principes de la cryoconservation et conséquences sur l'embryon	90
a. Congélation de l'eau	90
b. Congélation de solution contenant des embryons	90
c. Les cryoprotecteurs	91
1. Les cryoprotecteurs pénétrants dans les cellules.....	91
2. Les cryoprotecteurs non pénétrants.....	91
d. La vitesse de diminution de la température : La congélation lente et la vitrification ..	91
1. La congélation lente	91
2. La vitrification.....	92

3. Techniques dérivées de la vitrification.....	92
e. Les procédés de décongélation.....	92
2.5. Les résultats de la cryoconservation embryonnaire	93
a. La survie embryonnaire.....	93
b. Les résultats en terme de grossesses	93
c. Facteurs influençant les taux de grossesse par transfert.....	93
1. Facteur âge	94
2. Facteur nombre d'embryons.....	94
3. la technique de fécondation.....	94
4. Le rang de la tentative	95
2.6. Conclusion.....	95
3. Congélation d'ovocytes matures	95
3.1. Indications	95
3.2. Les contraintes liées à la patiente	96
3.3. Conséquences de la congélation sur l'ovocyte en métaphase II	96
a. Lésions cellulaires	96
b. Lésions fusoriales.....	96
c. Altérations de la zone pellucide	97
3.4. Les résultats de la congélation d'ovocytes matures	97
a. Taux de survie ovocytaire	97
b. Taux de fertilisation	97
c. Naissances	98
3.5. Conclusion.....	98
4. La cryoconservation d'ovocytes immatures (prophase I)	99
4.1. Propriétés de l'ovocyte immature	99
4.2. Indication.....	99
4.3. Résultats	99
a. La survie ovocytaire	99
b. La maturation ovocytaire	100
c. La fertilisation et le développement embryonnaire	100
d. Avec la vitrification.....	100
4.4. Conclusion.....	101
5. La Cryoconservation de cortex ovarien	101
5.1. Indication.....	101
5.2. Avantages de la conservation de tissu ovarien.....	102
a. Propriétés du tissu ovarien.....	102
b. Facilité du prélèvement	102
5.3. Les différentes étapes d'une congélation de tissu ovarien	102
a. Aspect légal et réglementaire	102
b. Le prélèvement.....	103
c. La préparation du tissu ovarien	103
d. La congélation	103
e. La décongélation	104
5.4. Survie folliculaire.....	104
5.5. Les différentes modalités d'utilisation du tissu ovarien.....	104
a. Introduction	104

b. Les greffes	104
1. Les Autogreffes de tissu ovarien	104
1.1. Les greffes orthotopiques	105
1.2. Les greffes hétérotopiques	105
1.3. Les résultats	106
1.3.1. Le délai et la durée de fonctionnement du greffon	106
1.3.2. Les naissances	106
-La première naissance	106
-La deuxième naissance	106
-La troisième naissance	107
1.3.3. Résultats de greffe de tissu ovarien immature	107
1.4. Risques d'une autogreffe	108
1.4.1. Ischémie	108
1.4.2. Transmission de la pathologie	108
1.5. Conclusion	108
2. La Xénogreffe	109
2.1. Résultats	109
2.2. Avantages d'une xénogreffe	109
2.3. Inconvénients d'une xénogreffe	109
2.4. Conclusion	110
3. La greffe de follicules primordiaux	110
3.1. Avantages	110
3.2. Inconvénient	110
3.3. Résultats	110
3.4. Conclusion	111
c. La culture de follicules <i>in vitro</i>	111
1. Principe	111
2. Résultats chez l'animal	111
3. Résultats chez l'humain	112
4. Conclusion	112
d. Conclusion	112
6. Les nouveaux challenges de la cryoconservation : La cryoconservation d'ovaire entier ..	113
6.1. Intérêt	113
6.2. Difficultés	113
6.3. Résultats	113
6.4. Conclusion	114
E. La transplantation de l'utérus	114
1. Introduction	114
2. Résultats	114
3. Conclusion	115
CONCLUSION	116
LISTE DES FIGURES	117
LISTE DES TABLEAUX	118
ANNEXES	119

LISTE DES ABREVIATIONS

AC : Protocole Doxorubicine – Cyclophosphamide

AOF : Acute Ovarian Failure

ADN : Acide Désoxyribonucléique

AMP : Assistance Médicale à la Procréation

APS : Autoimmune Polyendocrinopathy Sindrom

ARN : Acide ridonucléique

CCPPRB : Comité Consultatif de Protection des Personnes dans la Recherche Biomédicale

CCSB : Childhood Cancer Survivor Study

CMF : Protocole Cyclophosphamide – Méthotrexate – 5-Fluoro-uracile

CSP : Code de la Santé Publique

DCI : Dénomination Commune Internationale

DMSO : diméthylsulfoxyde

FAC : Protocole 5FU - Doxorubicine – Cyclophosphamide

FIV : Fécondation In Vitro

FSH : Follicle Stimulating Hormone

GARFT : Glicinamide Ribonucléotide Formyltransférase

GnRH : Gonadotrophin Releasing Hormone

GnRH-a : analogue de la Gonadotrophin Releasing Hormone

hCG : human Chorionic gonadotrophin

ICSI : Injection Intra-Cytoplasmique de Spermatozoïdes

IOP : Insuffisance Ovarienne Précoce

ITG : Interruption Thérapeutique de Grossesse

LCR : Liquide céphalo-rachidien

LH : Luteinizing Hormone

MOPP : Protocole Moutarde à l'azote – Vincristine – Procarbazine – Prednisolone

MVPP : Protocole Moutarde à l'azote – Vinblastine – Procarbazine – Prednisone

OPS : Open pulled straw

POF : Premature Ovarian Failure

PVP : Polyvinylpyrrolidone

SCID : Severe Combined Immunodeficiency Disease

TAC : Protocole Docetaxel – Doxorubicine – Cyclophosphamide

TEC : Transfert d'embryon congelé

TBI : Total Body Irradiation

THS : Traitement Hormonal Substitutif

TS : Thymidilate Synthétase

VADS : Voies aéro-digestives supérieures

INTRODUCTION

Le nombre de nouveaux cas de cancers augmente chaque année. En France, en 20 ans, ce chiffre est passé de 160 000 à 278 000. Aujourd'hui la probabilité de développer un cancer au cours de sa vie est de 1/2 pour un homme et 1/3 pour une femme. On estime à 1800 le nombre annuel de nouveaux cas de cancers pédiatriques. Chez les 15-19 ans, l'incidence est d'environ 160 pour 1 million. Le cancer représente encore la 3^{ème} cause de mortalité chez les jeunes (15-24 ans) même si les progrès de la thérapeutique ont permis d'améliorer la survie à 5 ans de ces enfants pour atteindre 80%. D'ici à 2 ans, un individu sur 250 à 715 sera un survivant d'un cancer pédiatrique (92, 93, 96).

Les différentes thérapeutiques anti-cancéreuses telles que la radiothérapie et les chimiothérapies n'agissent pas seulement sur les tumeurs. Elles sont aussi néfastes pour les différents systèmes de l'organisme notamment pour ceux dont le renouvellement tissulaire est rapide conduisant à de nombreux effets secondaires.

De la même manière, ces thérapeutiques sont connues comme étant gonadotoxiques. Leur degré de toxicité envers les organes de la reproduction dépend du protocole de traitement (dose et champs d'irradiation, classe des cytotoxiques, association chimiothérapie radiothérapie...) et de l'âge de la patiente.

Ces traitements peuvent être à l'origine de fibrose ovarienne ou utéro-ovarienne et d'une destruction de la réserve folliculaire conduisant à plus ou moins long terme à la perte de la fonction ovarienne. Chez les plus jeunes, ils sont à l'origine d'impubérisme ou d'arrêt de la puberté. Plus tard, ils conduisent à une interruption ponctuelle ou définitive des cycles et exposent à un risque de ménopause précoce.

Des traitements de substitution permettent de pallier les déficits hormonaux et d'améliorer la qualité de vie de ces femmes trop rapidement exposées aux symptômes et aux risques de la ménopause. Mais ils ne permettent pas de restaurer leur fonction ovarienne ni leur fertilité. C'est pourquoi aujourd'hui, il est proposé aux femmes devant subir un traitement potentiellement castrateur de préserver leur fertilité future.

Cette prévention passe par l'utilisation de protocoles permettant de limiter les effets gonadotoxiques tout en préservant l'action thérapeutique. Par exemple, l'exposition des ovaires aux radiations pourra être limitée par l'utilisation de caches ou leur déplacement en dehors du champ. La protection de la fonction ovarienne est également possible par la mise au repos des ovaires par des procédés médicamenteux tels que les oestroprogestatifs ou les analogues de la gonadotrophin releasing hormone (GnRH) mais aussi par l'action inhibitrice de certaines molécules comme la sphingosine-1-phosphate sur l'apoptose induite par les traitements.

L'effet protecteur de ces molécules n'étant pas réellement démontré, il est nécessaire d'avoir recours aux techniques de cryoconservation afin d'améliorer les chances de procréation de ces femmes. Le choix de la technique parmi la congélation embryonnaire, ovocytaire ou ovarienne doit tenir compte de la patiente, de sa pathologie et de l'urgence de la situation.

Ainsi les femmes avec conjoint, disposant de temps avant la mise en place du traitement peuvent bénéficier d'une congélation embryonnaire. Pour les autres femmes, d'autres options comme la congélation d'ovocytes quand cela est autorisé ou la congélation ovarienne sont possibles. Mais pour les fillettes, la seule alternative reste la cryoconservation de tissu ovarien.

Chez des femmes en rémission, les progrès des techniques d'Assistance Médicale à la Procréation (AMP) et des protocoles de congélation ont permis d'obtenir des grossesses et des naissances. Mais les chances de réussite sont diminuées par l'urgence des traitements et leur effet fibrosant sur l'utérus. De plus, dans le cadre de la congélation ovarienne, la réutilisation du tissu n'est pas sans risque. Cette technique pose problème quant au droit de prendre le risque de réintroduire la maladie face au désir de grossesse des patientes.

Dans un premier temps, nous effectuerons des rappels anatomiques et physiologiques sur l'appareil reproducteur féminin. Puis nous décrirons l'effet de la radiothérapie et de la chimiothérapie sur les différents organes de la reproduction. La troisième partie de ce travail consistera à décrire les différentes options possibles pour préserver la fertilité des femmes allant subir ce type de traitement et leurs résultats.

PREMIERE PARTIE

RAPPELS SUR L'APPAREIL REPRODUCTEUR FEMININ

A. Anatomie de l'appareil féminin (17, 42)

L'appareil génital féminin se situe en grande partie dans la cavité abdominale. Il est composé de trois parties : Les glandes, ou ovaires, les voies génitales et les organes génitaux externes. Chacune d'entre elles possède des rôles bien précis et leur structure histologique évolue au cours du cycle menstruel.

1. Les ovaires

1.1. Localisation

Les ovaires, organes pairs, de la forme et de la taille d'une amande, sont situés dans la cavité pelvienne, de part et d'autre de l'utérus. Ils sont maintenus en place au niveau des trompes par le ligament propre de l'ovaire, le ligament suspenseur de l'ovaire à sa partie supérieure, le ligament utéro-ovarien à sa partie moyenne et le mésovarium (partie haute du ligament large de l'utérus). La taille des ovaires varie en fonction de l'âge et de l'activité ovarienne de 1 à 3 cm en moyenne (91)

1.2. Structure et histologie

a. Structure

L'ovaire est constitué de l'extérieur vers l'intérieur d'une zone corticale et d'une zone médullaire. La zone corticale de l'ovaire, est elle-même constituée d'un épithélium ovarien externe se confondant avec l'épithélium du mésovarium, d'une albuginée ovarienne et d'un stroma cortical.

b. Histologie

L'épithélium ovarien se compose d'une simple couche de cellules cubiques. L'albuginée est un tissu conjonctif fibreux. Dans le stroma cortical, se trouvent des follicules à différents stades de maturation, des corps jaunes et des produits de dégénérescence de l'ensemble de ces organites ainsi que des fibroblastes et myofibroblastes.

La zone médullaire est essentiellement formée de tissu conjonctif dont la forme évolue avec la croissance des organites.

La vascularisation est assurée par l'artère ovarienne et l'artère utérine à partir du hile vers la corticale et vers la médullaire et de la médullaire vers la corticale. L'innervation se fait également à partir du hile.

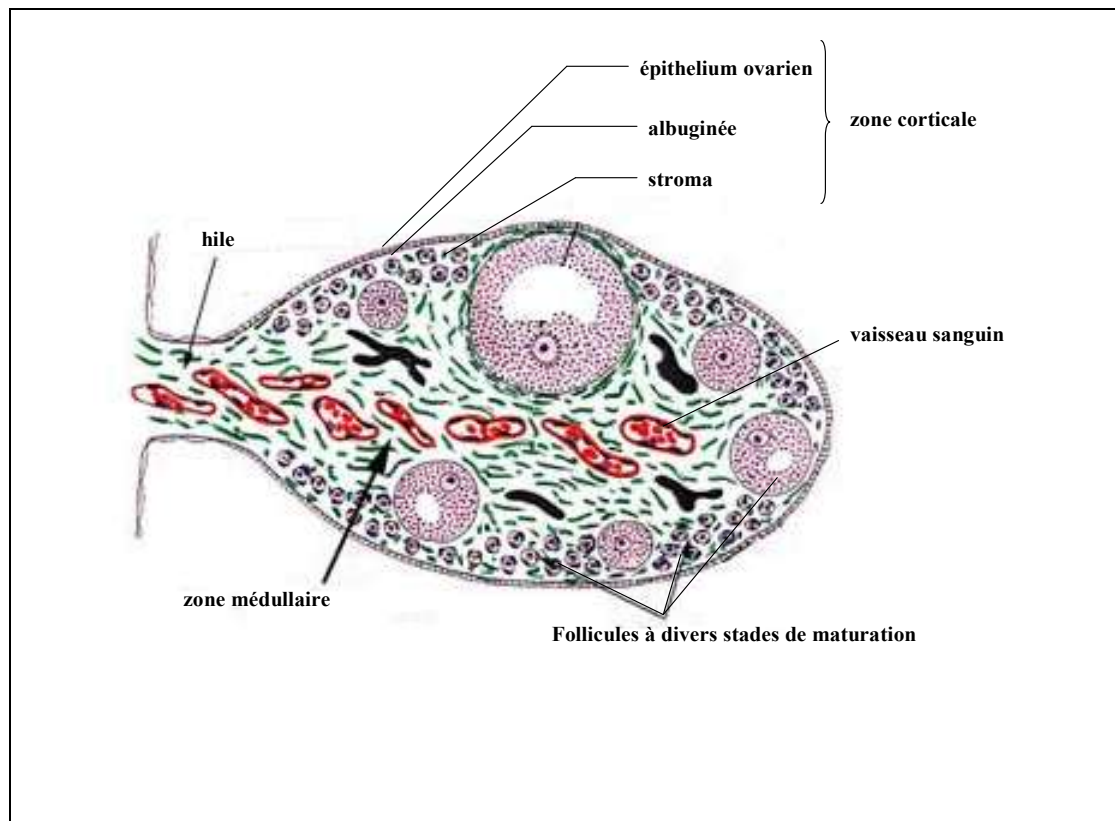


Figure 1 : Structure ovarienne (99)

1.3. Rôles des ovaires

Les ovaires assurent dans l'organisme une double fonction par la production de gamètes et celle d'hormones sexuelles.

a. Fonction exocrine des ovaires

De la puberté à la ménopause, les ovaires droit et gauche produisent alternativement et de façon cyclique un ovocyte, le gamète féminin. Ce phénomène dit ovulation se fait par rupture de la paroi ovarienne. Il intervient chez la femme, une fois par cycle, et généralement quatorze jours avant le premier jour du cycle suivant.

b. Fonction endocrine des ovaires

Sous l'influence des hormones gonadotropes ou gonadotrophines sécrétées par l'antéhypophyse, les ovaires produisent des hormones stéroïdiennes : oestrogènes, progestérone et androgènes.

Les follicules, le corps jaune et le stroma cortical produisent ces hormones en réponse à la fixation des gonadotrophines sur leurs récepteurs. La quantité produite varie en fonction de la période du cycle.

En phase pré-ovulatoire ou phase folliculaire, les oestrogènes sont produits par la *granulosa* de quelques follicules recrutés. Cette synthèse d'oestrogènes par aromatisation des androgènes fait suite à la fixation de la gonadotrophine FSH ou Follicle Stimulating Hormone sur les récepteurs de la *granulosa* des follicules. La quantité produite augmente progressivement jusqu'à atteindre un pic au treizième jour du cycle. Puis elle diminue progressivement.

Pendant la phase lutéale ou post-ovulatoire, la production d'oestrogènes est assurée par les cellules de la thèque interne (petites cellules lutéales) du follicule. Au cours d'un cycle, la production endogène d'oestrogènes varie de 60 à 300 pg/mL.

La progestérone est synthétisée, en phase folliculaire, par les cellules folliculeuses. La production est alors de l'ordre de 0,5 ng/mL. Après l'ovulation, la progestérone est synthétisée par les cellules lutéales du corps jaune par action de la LH (Luteinizing Hormone) sur les récepteurs de ces cellules. La production est alors plus importante puisqu'elle peut atteindre 25 ng/mL.

Les androgènes sont produits pendant tout le cycle ovarien par les cellules de la thèque interne des follicules et par le stroma cortical par action de la LH.

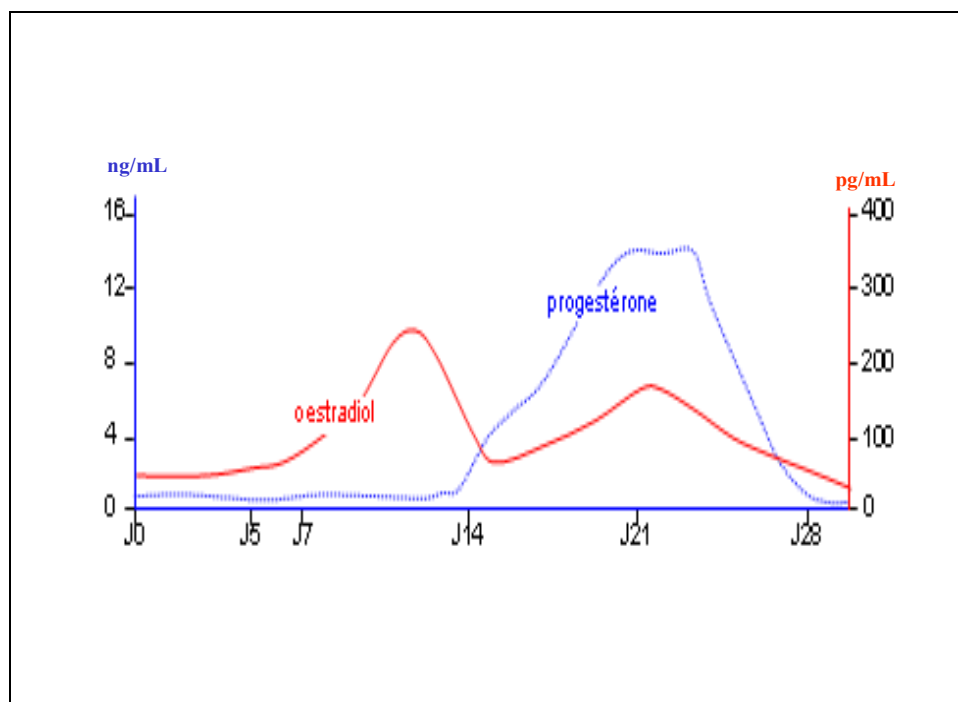


Figure 2 : Variations des sécrétions hormonales ovariennes en fonction du cycle (101)

2. Les voies génitales

2.1. Les trompes

a. Structure

Les trompes utérines ou de Fallope sont des organes creux allant d'un ovaire jusqu'à l'utérus. D'une longueur de dix à douze centimètres, elles se composent d'un pavillon qui vient presque au contact de l'ovaire, d'une ampoule, d'un isthme et d'une partie interstitielle qui s'abouche dans l'utérus par l'*ostium uterinum*. A son autre extrémité, la lumière tubaire est en contact avec la cavité péritonéale par l'*ostium abdominale*. Les trompes sont situées dans un repli péritonéal du ligament large : le mésosalpinx.

b. Histologie et cycle tubaire

Les trompes sont composées de quatre couches. L'épaisseur de ces couches, leur histologie et leur activité varient en fonction de la localisation mais aussi en fonction du cycle ovarien définissant ainsi un cycle tubaire.

On trouve de la lumière à la périphérie de la trompe : la tunique muqueuse, la musculuse, la sous-séreuse, la séreuse.

La tunique muqueuse est composée d'un tissu conjonctif dans lequel se trouvent des vaisseaux sanguins et d'un épithélium unistratifié où se trouvent quatre types de cellules : des cellules ciliées, des cellules non ciliées, des cellules basales et des cellules intercalaires. Cette tunique muqueuse, peu importante dans la partie interstitielle, forme de véritables franges dans la lumière de l'ampoule des trompes.

La musculuse se compose d'une couche de fibres musculaires lisses circulaires et d'une couche de fibres musculaires longitudinales.

Pendant la phase folliculaire, le nombre de cellules ciliées au niveau de l'épithélium augmente. Juste avant l'ovulation, des ondes, dues aux contractions de la musculuse, se propagent de la partie interstitielle vers la jonction isthme-ampoule de la trompe. Juste après l'ovulation les ondes cessent et ne recommenceront qu'en phase lutéale en sens inverse. Pendant cette phase, le nombre de cellules ciliées diminue tandis que le nombre de cellules non ciliées sécrétrices augmente. Pendant la phase de menstruation, ce sont les cellules intercalaires qui sont les plus présentes.

c. Les différents rôles des trompes

1. Elimination du liquide péritonéal

Les trompes permettent de drainer en permanence le liquide péritonéal par l'intermédiaire de l'*ostium abdominale*. Ce liquide est ensuite résorbé en partie par les cellules épithéliales.

2. Accueil de l'ovocyte

Au moment de l'ovulation, le pavillon de la trompe vient coiffer l'ovaire. Les cellules ciliées des franges, très actives à ce moment du cycle, viennent balayer la surface de l'ovaire créant ainsi un courant dans le liquide péritonéal et permettant au gamète femelle entouré de son *cumulus oophorus* d'être entraîné jusqu'à l'ampoule de la trompe. Le déplacement de l'ovocyte est également favorisé par la contraction de la musculature. La trompe et la cavité péritonéale permettent également d'évacuer le liquide folliculaire émis lors de l'ovulation.

3. Siège de la fécondation et transfert de l'embryon

Les trompes sont le lieu de la rencontre des gamètes féminin et masculins. En présence de spermatozoïdes, l'ovocyte émis peut être fécondé par l'un d'entre eux. La fécondation a généralement lieu au niveau de l'ampoule. Le zygote obtenu va alors se diriger vers l'utérus pour y poursuivre sa maturation. Ce sont les contractions de la paroi tubaire qui assurent ce transfert.

2.2. L'utérus

a. Localisation

L'utérus est un organe creux, unique, situé au centre de l'appareil génital féminin. Il reçoit les trompes à gauche et à droite de sa partie supérieure. Il est maintenu en place, entre la vessie et le rectum, par les ligaments utéro-sacrés, les ligaments ronds, les ligaments cardinaux et le ligament large. Sa taille est variable avec l'âge et l'activité ovarienne.

b. Structure

L'utérus possède la forme d'un cône. Il est composé d'un fond, d'un corps, d'un isthme et d'un col. La partie située au dessus du point d'insertion des trompes est appelée fond de l'utérus. La partie située en dessous correspond au corps de l'utérus. Il se poursuit par l'isthme puis le col, sommet arrondi de l'utérus. Ce col correspond au canal cervical. Il communique avec la cavité utérine par l'orifice cervical interne et avec le vagin par l'orifice cervical externe.

c. Histologie et cycle utérin

La paroi de l'utérus est constituée de trois couches : la couche séreuse ou adventice, la couche musculuse ou myomètre, la couche muqueuse ou endomètre.

La couche séreuse est en partie constituée du péritoine, celui-ci recouvrant partiellement l'utérus au niveau de la face postérieure du corps et du fond utérin.

Le myomètre est également organisé en trois couches dont l'épaisseur et l'orientation des fibres musculaires lisses, sont différentes. Il y a d'abord la couche externe, puis la couche moyenne et enfin la couche interne. C'est la couche moyenne qui possède l'épaisseur la plus importante. Les fibres musculaires sont situées dans un tissu conjonctif dans lequel on trouve également des vaisseaux sanguins.

L'activité musculaire de l'utérus est liée au cycle ovarien. En effet, en phase folliculaire, l'augmentation du taux d'oestrogènes entraîne une augmentation de la fréquence et de l'amplitude des contractions utérines. En phase lutéale, l'utérus est un muscle silencieux car la progestérone inhibe le tonus musculaire utérin.

L'endomètre, muqueuse de l'utérus, est la couche qui évolue le plus en réponse aux hormones ovariennes en terme d'épaisseur et d'histologie. L'endomètre est constitué d'un épithélium et d'un chorion. Dans ce chorion se trouvent des vaisseaux sanguins et des glandes tubaires correspondant aux invaginations de l'épithélium.

On peut définir trois stades d'évolution de cette muqueuse. En tout début de phase folliculaire, du premier au quatrième jour du cycle, on parle de phase de desquamation ou menstruation. La zone fonctionnelle de l'endomètre est éliminée dans la cavité utérine. Reste une zone résiduelle constituée d'une fine couche de chorion abrasé dans lequel on trouve quelques vaisseaux sanguins et des culs-de-sac glandulaires. La desquamation de l'endomètre est due à la chute des taux d'hormones ovariennes.

Du cinquième au treizième jour, le chorion va s'épaissir, l'épithélium va se régénérer par mitoses à partir des culs-de-sac glandulaires et les vaisseaux sanguins se développer. Cette phase dite de régénération puis de prolifération est due à l'augmentation du taux d'oestrogènes.

Au quatorzième jour du cycle, la muqueuse atteint 3 mm d'épaisseur, les tubes glandulaires rectilignes sont devenus sinueux, les vaisseaux se spiralisent.

En phase lutéale, l'endomètre est très épais, les tubes glandulaires de plus en plus tortueux sécrètent du glycogène, les vaisseaux continuent leur spiralisation. Cette dernière phase dite de sécrétion est sous l'influence des taux d'oestrogènes et de progestérone.

Au vingt-huitième jour, des spasmes vasculaires annoncent la reprise de la phase de desquamation.

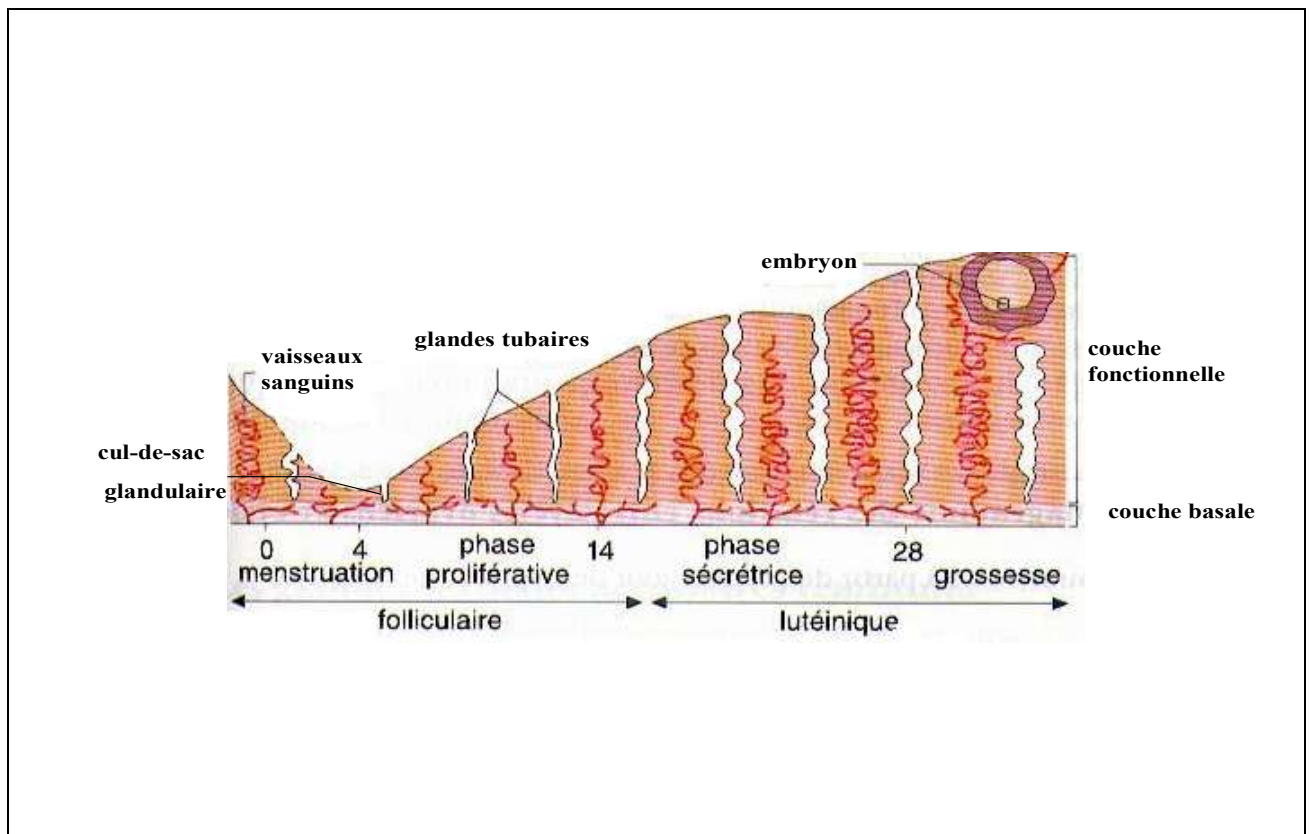


Figure 3 : Aspect de la muqueuse utérine durant les différentes phases du cycle (28)

La muqueuse du canal cervical est constituée d'un épithélium possédant des cellules ciliées et des cellules glandulaires ainsi que d'un chorion richement vascularisé dans lequel on retrouve des glandes muqueuses, invaginations de l'épithélium. Les cellules glandulaires sécrètent le mucus cervical ou glaire cervicale. La composition et la viscosité de ce mucus varient en fonction de la période du cycle.

En péri-ovulatoire, la glaire doit permettre le passage des spermatozoïdes. La glaire est filante, ses mailles sont lâches et son pH alcalin. Pendant le reste du cycle, la glaire ne permet pas le passage des spermatozoïdes car elle est alors visqueuse et ses mailles sont serrées. Elle joue un rôle important dans la fécondation car elle a une fonction nourricière vis-à-vis des spermatozoïdes qui la traversent et une fonction sélective des spermatozoïdes mobiles.

d. Rôle de l'utérus

Après la fécondation, l'embryon obtenu voyage dans les trompes, jusqu'à l'utérus tout en poursuivant sa maturation. Contrairement à un cycle sans implantation, les taux d'hormones ne chutent pas, la muqueuse est donc maintenue en place. Le corps jaune synthétise de la progestérone pour maintenir la gestation, jusqu'à ce que le placenta prenne le relais. Au septième jour après la fécondation (vingt et unième jour du cycle) c'est la nidation : l'endomètre accueille l'embryon pour son développement jusqu'à l'accouchement.

2.3. Le vagin

a. Localisation

Le vagin est un conduit qui s'insère directement sur le canal cervical et qui s'étend jusqu'au vestibule des organes génitaux externes et qui s'ouvre dans celui-ci par l'orifice vaginal.

b. Structure et histologie

Le vagin est également pourvu de trois couches : L'adventice, la musculuse, et la muqueuse. La musculuse possède une couche de fibres musculaires lisses longitudinales et une couche de fibres musculaires lisses circulaires.

La couche muqueuse est constituée d'un chorion richement vascularisé et possédant de nombreuses fibres élastiques, et d'un épithélium pavimenteux pluristratifié.

c. Cycle vaginal

L'épithélium vaginal est également sensible aux variations cycliques des hormones ovariennes. En phase folliculaire, l'épithélium prolifère et sécrète de façon importante du glycogène. En période péri-ovulatoire, l'épithélium se kératinise. En phase lutéale, on observe une desquamation des cellules de l'épithélium entraînant une diminution de l'épaisseur de la muqueuse ainsi qu'un ralentissement de la production de glycogène.

d. Les différents rôles du vagin

Le vagin est l'organe copulateur. Il accueille les spermatozoïdes après l'éjaculation. Il représente les voies de passage de l'enfant et les voies d'excrétion des sécrétions utérines. Enfin, il assure une protection anti-infectieuse des voies génitales par la présence permanente d'une flore vaginale maintenant dans cette cavité, un pH entre 4 et 5 en dehors des périodes de menstruations. Ce pH est également à l'origine de la destruction des spermatozoïdes ne pénétrant pas dans la glaire après l'éjaculation.

3. Les organes génitaux externes

Les organes génitaux externes féminins, également appelés vulve, se composent : du mont du pubis, des grandes et petites lèvres, du vestibule de la vulve et des organes érectiles.

Le mont du pubis se situe en avant de la symphyse pubienne, il correspond à une masse de tissu adipeux recouverte d'une pilosité plus ou moins importante selon les individus. Le mont du pubis présente ensuite une fente médiane allant du mont du pubis jusqu'au périnée. Cette fente constitue les grandes lèvres, replis cutanés recouverts de poils sur la face extérieure et glabres sur la face intérieure. Entre les grandes lèvres, se trouvent les petites lèvres, minces replis cutanés qui protègent le vestibule de la vulve.

Dans ce vestibule se trouvent : le méat urétral, les glandes péri-urétrales, l'orifice inférieur du vagin, les glandes de Bartholin situées de part et d'autre de l'orifice vaginal et permettant la lubrification de ce vestibule.

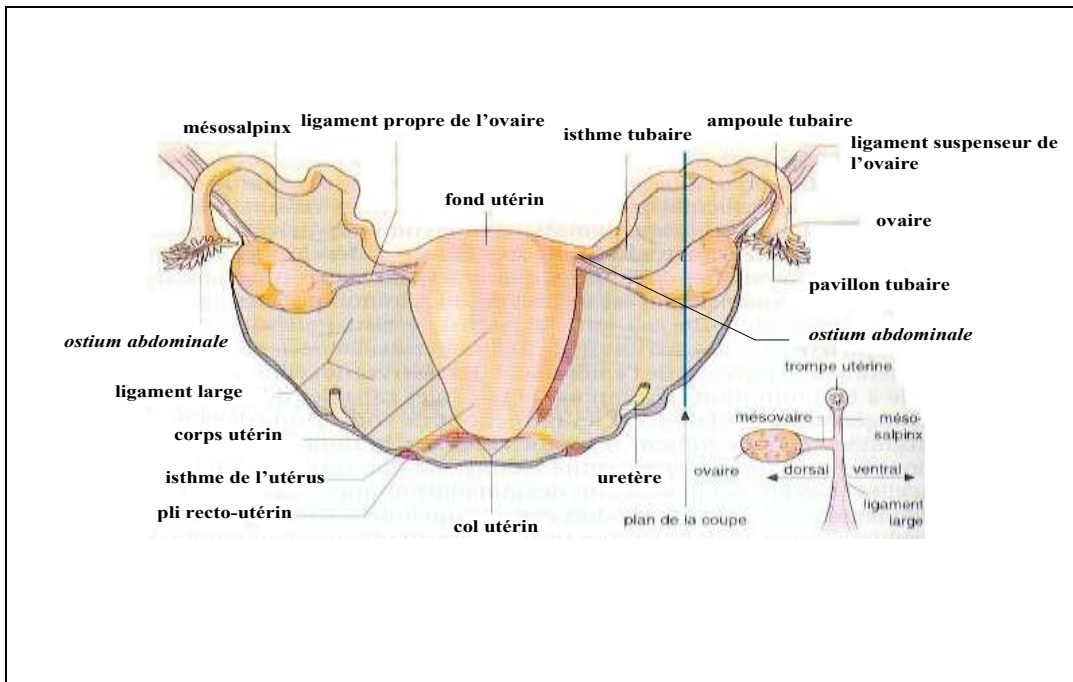


Figure 4 : Vue postérieure de l'appareil génital interne (28)

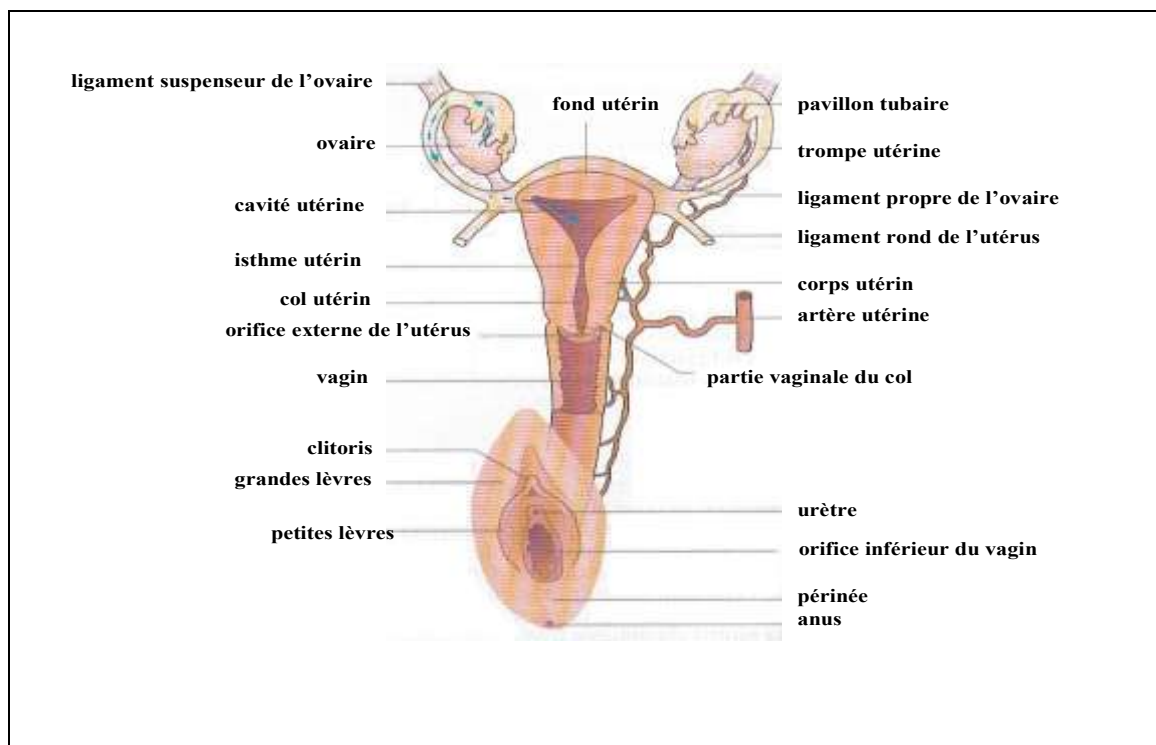


Figure 5 : Vue schématique de l'appareil génital féminin (28)

B. Physiologie de l'appareil féminin (17, 42)

1. De la fécondation à la naissance

Dans les premières semaines après la fécondation, les ovaires se forment, ils contiennent chacun un grand nombre de cellules souches. Ces cellules ou ovogonies situées dans le cortex ovarien, vont entrer en mitose dès le deuxième mois de développement (2-7 mois) et évoluer en ovocyte primaire (3-9 mois). Cet ovocyte s'entoure également d'une couche de cellules folliculeuses formant ainsi un follicule primordial. Entre sept et neuf mois après la fécondation, les ovaires du fœtus féminin possèdent un stock définitif de follicules primordiaux de six à sept millions. Dès le deuxième mois de vie, l'hypothalamus sécrète de façon pulsatile de la GnRH (Gonadotropin Releasing Hormone).

2. De la naissance à la puberté

Le stock de follicules primordiaux est d'environ un million à la naissance. Ce nombre ne cesse de diminuer et atteint un nombre de deux à trois cent mille à la puberté.

Pendant l'enfance, les ovaires sécrètent en permanence une petite quantité d'oestrogènes permettant d'inhiber les sécrétions hypothalamiques de GnRH.

3. La puberté

A l'approche de la puberté, l'inhibition de l'hypothalamus est levée par une désensibilisation de celui-ci aux oestrogènes. L'hypothalamus sécrète alors de façon pulsatile de la GnRH entraînant la production et la sécrétion dans la circulation sanguine de FSH et de LH par l'antéhypophyse.

3.1. Influence des hormones hypophysaires : FSH et LH

Les hormones hypophysaires agissent uniquement sur l'ovaire. En plus de la production de stéroïdes, la FSH entraîne la maturation folliculaire et la LH est responsable de l'ovulation. La sécrétion cyclique de ces hormones permet donc de mettre progressivement en place un cycle ovarien. Celui-ci est de vingt-huit jours en moyenne, il se compose d'une phase folliculaire dominée par la maturation folliculaire et la sécrétion d'oestrogènes. Cette phase est suivie de l'ovulation vers le quatorzième jour et d'une phase lutéale de quatorze jours dominée par le développement du corps jaune et par la sécrétion de progestérone. Les premiers cycles seront anovulatoires et de durée variable.

3.2. Influences des hormones ovariennes et interactions avec les autres cycles

Les oestrogènes sont à l'origine de la croissance staturale rapide au moment de la puberté et également d'une rapide soudure des cartilages.

D'autre part, les hormones ovariennes sécrétées en quantité variable pendant le cycle sont à l'origine des modifications histologiques et physiologiques des différents organes sexuels : trompes, utérus, vagin. Les cycles tubaire, utérin, et vaginal sont donc en étroite relation avec le cycle ovarien et indirectement avec les sécrétions cycliques hypothalamo-hypophysaires.

3.3. Développement des caractères sexuels secondaires

Chez la jeune fille, le début de la puberté est marqué par le développement des caractères sexuels secondaires : développement des seins, de la pilosité, répartition gynoïde des graisses, premières menstruations.

4. De la puberté à la ménopause

4.1. Ovogenèse et cycle ovarien

L'ovogenèse représente toutes les étapes de production du gamète féminin. Elle commence dès la période fœtale par la multiplication des ovogonies et se termine par la production du gamète féminin une fois par cycle.

a. Les différents stades de la maturation ovocytaire

Les follicules primordiaux de 50 μm sont constitués d'un ovocyte, bloqué en prophase de la première étape de la méiose. Il est dit ovocyte I. Celui-ci est entouré d'une couche de cellules folliculeuses. L'ensemble est entouré par la membrane de Slavjanski.

Le follicule primordial évolue ensuite en follicule primaire. Sa taille a augmenté jusqu'à 180 μm . L'ovocyte synthétise des glycoprotéines entourant celui-ci et constituant ainsi la membrane pellucide. Celle-ci est entourée de quatre ou cinq couches de cellules folliculeuses entrant en contact avec l'ovocyte I en émettant vers lui des microvillosités.

Ce follicule primaire évolue en ovocyte secondaire d'une taille d'environ 500 μm . La membrane pellucide plus épaisse devient la zone pellucide. Elle a un aspect strié de part l'importance des microvillosités qui la traversent. Les cellules folliculeuses se multiplient jusqu'à atteindre une population de un million. On peut distinguer deux couches : la *corona radiata* au contact de l'ovocyte, la *granulosa* correspondant au reste des cellules folliculeuses. La membrane de Slavjanski est recouverte d'une couche supplémentaire, la thèque, formée par des cellules du stroma cortical.

Ce follicule secondaire évolue ensuite en follicule tertiaire se distinguant du précédent par une zone pellucide plus épaisse, une thèque organisée en une thèque externe et une thèque interne

et surtout par la formation d'une cavité dans les cellules de la *granulosa*. Cet *antrum* est rempli de liquide folliculaire provenant des cellules folliculeuses.

Enfin, le follicule tertiaire ou cavitaire de 12 mm évolue en follicule mûr pré-ovulatoire ou follicule de De Graaf de 25 mm. Ce follicule est dominé par un *antrum* de taille importante repoussant les cellules de la *granulosa* au bord du follicule. Les autres sont regroupées au pôle où se trouve l'ovocyte. Les quelques couches entourant celui-ci représentent le *cumulus oophorus*. La zone pellucide de l'ovocyte est encore plus importante et des granules corticaux remplis de glycoprotéines viennent se positionner sous la membrane plasmique de l'ovocyte.

b. L'ovulation

Juste avant l'ovulation, l'ovocyte I reprend sa maturation nucléaire qui se bloque à nouveau en métaphase de la deuxième étape de la méiose.

Au moment de l'ovulation, le follicule de De Graaf se situe à la surface de l'ovaire. La paroi du follicule et la paroi ovarienne se rompent, le liquide folliculaire contenant le complexe cumulo-ovocyttaire s'écoule dans les trompes. Le gamète féminin ou ovocyte II peut alors être fécondé.

c. La phase post-ovulatoire ou lutéale

Le follicule rompu se transforme dans l'ovaire en corps jaune. Le volume des cellules de la thèque interne et de la *granulosa* augmente tandis qu'elles deviennent des cellules lutéales et synthétisent de la progestérone en grande quantité.

(secondaires) est recruté. Un seul d'entre eux, le follicule dominant, achèvera son ovogenèse et deviendra l'ovocyte II.

Les follicules pré-antraux sécrètent dans leur liquide folliculaire des oestrogènes synthétisés par les cellules de la *granulosa*. L'aromatase au niveau du follicule dominant sélectionné, entraîne une augmentation des taux plasmatiques d'oestrogènes marquée à partir du sixième jour. La quantité d'oestrogènes produits ne cesse alors d'augmenter jusqu'à un pic au treizième jour.

Cette quantité plasmatique d'oestrogènes exerce un rétrocontrôle positif sur :

- l'hypothalamus entraînant une fréquence et une amplitude plus importante des pulses de GnRH,
- l'hypophyse entraînant une brusque libération de FSH et de LH accumulées au niveau de l'hypophyse.

Trente-six heures après le pic de LH, l'ovulation se déclenche.

Juste après l'ovulation, le taux d'oestrogènes diminue rapidement. La LH permet la formation du corps jaune qui sécrète une petite quantité d'oestrogènes et de progestérone. Le taux plasmatique d'oestrogènes exerce un rétrocontrôle négatif sur la libération des hormones hypophysaires. Au bout du vingt et unième jour du cycle, le corps jaune dégénère. La chute des taux hormonaux déclenche la phase de desquamation. L'hypophyse n'étant plus inhibé, il peut à nouveau sécréter les gonadotrophines et la FSH stimuler la maturation de quelques follicules pré-antraux.

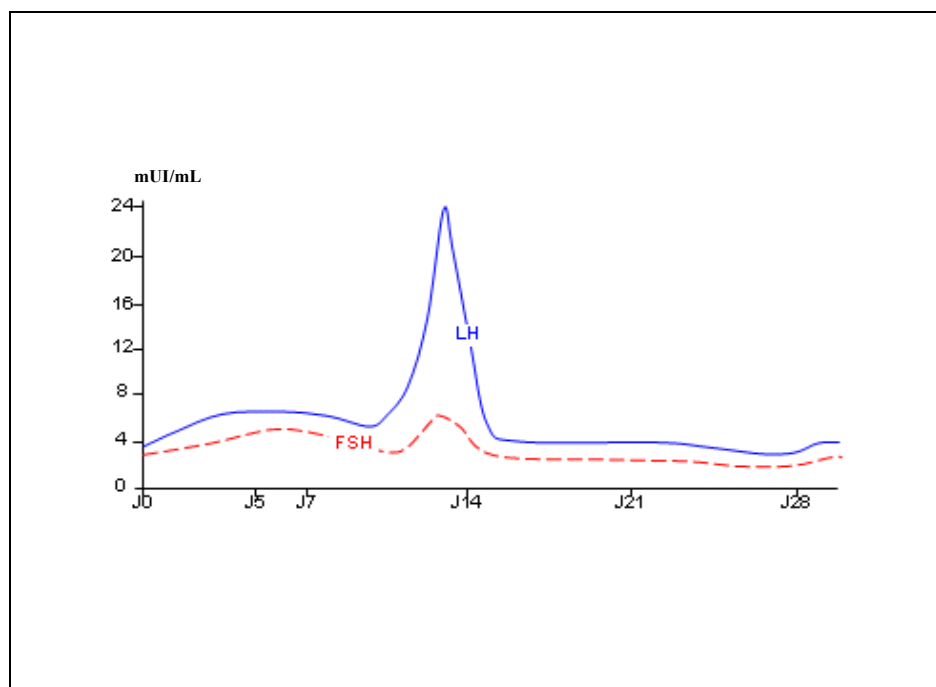


Figure 7 : Variations des sécrétions de gonadotrophines en fonction du cycle ovarien (101)

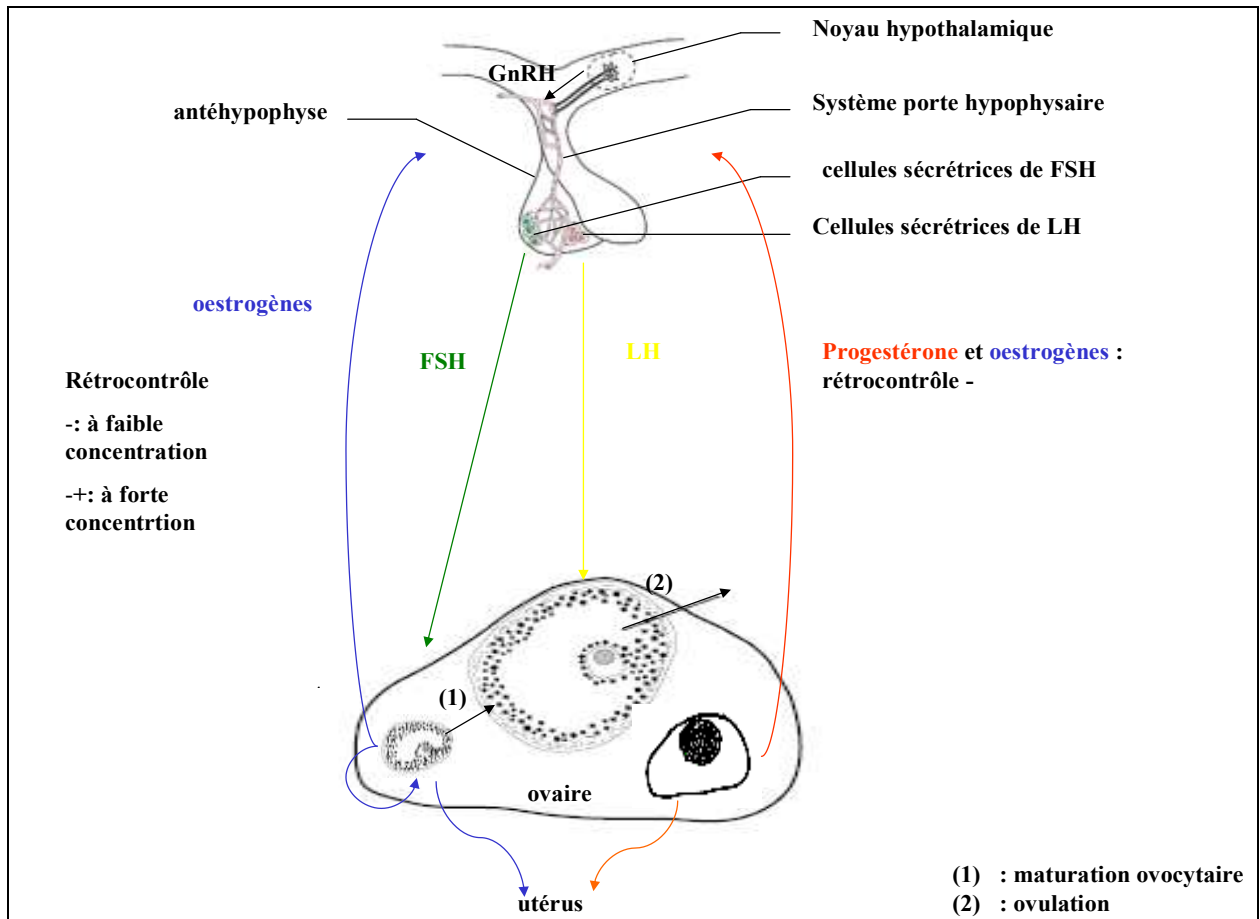


Figure 8 : Schéma de la régulation neuro-hormonale (101)

4.3. L'atrésie folliculaire

La maturation ne concerne pas tous les follicules primordiaux en même temps. Avant la puberté, beaucoup de follicules primordiaux amorcent leur maturation. Mais aucun n'atteint le stade de follicule mûr en raison d'une sécrétion de FSH insuffisante et tous dégèrent à différents stades de maturation. On parle d'atrésie folliculaire. Les produits de dégénérescence sont des corps atrétiques.

A la puberté, le nombre de follicules primordiaux n'est plus que de deux à trois cent mille. Cette atrésie va continuer tout au long de la période d'activité génitale. Seulement très peu de follicules primordiaux de départ arrivent au stade de follicule mûr soit environ quatre à cinq cents.

A partir de 37 ans, l'atrésie folliculaire s'accélère sous l'influence de l'augmentation du taux de FSH. La qualité des ovocytes diminue également (53).

5. La ménopause

La ménopause se définit par une aménorrhée d'au moins douze mois. Elle est précédée d'une période dite de péri-ménopause de durée variable selon les individus, de plusieurs mois à plusieurs années.

5.1. La péri-ménopause

La régulation hormonale disparaît progressivement du fait de l'atrésie folliculaire. Le taux plasmatique de FSH augmente par diminution de la sensibilité de l'hypophyse aux facteurs inhibiteurs. Cette augmentation concerne d'abord la phase folliculaire puis tout le cycle. La maturation folliculaire est accélérée, la phase folliculaire plus courte et donc les cycles plus courts.

En péri-ménopause, la femme est en hyperoestrogénie relative. En effet, le taux de progestérone est effondré par rapport à la normale. Mais les sécrétions d'oestrogènes sont insuffisantes pour déclencher régulièrement des pic de LH et donc l'ovulation. Des cycles plus longs succèdent aux cycles trop courts.

5.2. La ménopause

a. Conséquences physiques et psychologiques de la péri-ménopause

En période de péri-ménopause, les symptômes pré-menstruels augmentent : congestions, oedèmes abdominaux. Des signes climatériques apparaissent : bouffées de chaleur, sueurs nocturnes. Des troubles cutanés dus à l'hyperandrogénie apparaissent : acné, séborrhée.

Les symptômes pré-menstruels psychologiques sont exagérés : humeur modifiée, fatigue, irritabilité, des dépressions peuvent survenir. On constate également une modification de la libido.

b. Conséquences physiques et biologiques de la ménopause

Avec l'avancée dans l'âge, des troubles apparaissent. Ceux-ci se confondent et sont augmentés avec la ménopause : Troubles urinaires, troubles trophiques vulvo-vaginaux, ostéoporose.

Pendant leur période d'activité génitale, le profil hormonal des femmes leur confère une certaine protection vis-à-vis des maladies cardio-vasculaires. Après la ménopause, les femmes ont les mêmes risques cardio-vasculaires que les hommes.

Du point de vue biologique, les sécrétions d'hormones ovariennes sont quasi abolies car le stock de follicules primordiaux est presque nul. Les sécrétions de FSH et de LH en sont augmentées par rapport à la normale car les rétrocontrôles n'existent plus. Les femmes sont également en hyperandrogénie relative due à la synthèse des androgènes au niveau des

surrénales. La sécrétion de base des oestrogènes est assurée par la transformation des androgènes au niveau du tissu adipeux.

La ménopause ne survient pas au même âge chez toutes les femmes. En moyenne, on peut la situer vers cinquante et un ans. Chez certaines femmes, le stock folliculaire peut être épuisé à l'âge de quarante ans. On parle de ménopause précoce. Elle survient chez 0,9 % des femmes (53).

6. L'insuffisance ovarienne prématurée (IOP) ou premature ovarian failure (POF) (95)

La ménopause intervient en moyenne vers l'âge de 51 ans, quand le stock de follicules primordiaux atteint un nombre compris entre 1000 et 1500. L'insuffisance ovarienne prématurée se définit par l'arrêt de la fonction ovarienne bien avant l'âge moyen, c'est-à-dire avant l'âge de 40 ans et par des taux sanguins élevés de gonadotrophines (FSH et LH >32UI/L) et des concentrations d'estradiol basses (<40pmol/L) (87).

Elle touche environ 1% des femmes de 30 à 40 ans, 0,1% des femmes de 20 à 30 ans et 1 femme de moins de 20 ans sur 10000. Trois mécanismes peuvent entraîner une insuffisance ovarienne prématurée :

- Une anomalie de la formation des réserves de follicules primordiaux,
- Un blocage de la maturation folliculaire,
- Une atésie trop importante des différents stades de maturation.

Dans 80% des cas, les IOP sont idiopathiques. Dans le reste des cas, l'étiologie peut être de nature génétique, virale, auto-immune ou iatrogène. Dans tout les cas, elles se révèlent par un impubérisme ou une aménorrhée primaire ou secondaire

a- Causes génétiques

D'après différentes études, l'âge de survenue de la ménopause physiologique est génétiquement déterminé et en particulier par le chromosome X. Diverses anomalies génétiques peuvent entraîner des anomalies de la fonction ovarienne dont la survenue de POF. Ces anomalies, de nature diverses : mutations, délétions, translocations, concernent les chromosomes sexuels ainsi que les autosomes. Elles peuvent être récessives ou dominantes.

b- Causes virales

La contamination par le virus des oreillons serait à l'origine d'ovarite chez 2 à 8% des femmes déclarant cette pathologie. Ces ovarites pourraient entraîner des cas de IOP.

c- Causes auto-immunes

Les IOP se retrouvent associées à beaucoup de maladies auto-immunes comme : le diabète de type 1, la maladie de Basedow, la maladie de Crohn, le lupus érythémateux, la myasthénie et l'APS (autoimmune polyendocrinopathy syndrome). Le rôle d'anticorps dirigés contre les ovaires n'est pas établi malgré leur existence dans des cas d'IOP.

d- Causes iatrogènes

Les insuffisances ovariennes prématurées sont le fait des traitements anti-cancéreux comme la radiothérapie, la chimiothérapie, la chirurgie par les ovariectomies bilatérales.

C. La reproduction (17, 42)

1. Les différentes étapes de la fécondation

1.1. La migration des spermatozoïdes dans le tractus génital féminin

Lors de l'éjaculation, deux à trois cent millions de spermatozoïdes sont déposés au fond du vagin mais un seul d'entre eux permettra la formation d'un zygote après fusion avec l'ovocyte II. Le passage des voies génitales exerce une véritable sélection vis-à-vis des gamètes masculins.

a. Le passage du col

En période ovulatoire, le canal cervical est ouvert et laisse s'écouler une glaire cervicale fluide. Les spermatozoïdes présents entrent rapidement en contact avec elle. Celle-ci va alors exercer une première étape de sélection. En effet, elle permet la filtration du sperme séparant les spermatozoïdes mobiles des autres constituants du sperme : liquide séminal, cellules rondes, spermatozoïdes morts ou immobiles, constituants protéiques. La glaire possède également un pouvoir anti-bactérien.

Les spermatozoïdes, aidés par les contractions de la musculature, traversent le canal de façon linéaire. Tous n'atteignent pas la cavité utérine. Certains se perdent dans les invaginations de l'épithélium, d'autres sont anormaux ou n'ont pas une mobilité suffisante ou normale. La durée de vie des spermatozoïdes dans la glaire est de 24 à 48 heures.

b. Le passage utéro-tubaire

Un à deux millions des spermatozoïdes de départ arrivent au niveau de la cavité utérine. Animés d'un mouvement flagellaire rapide, ils remontent la cavité utérine. Ceux qui ne survivent pas sont détruits par des macrophages et des polynucléaires. Les spermatozoïdes se dirigent indifféremment vers les deux trompes et parcourent celles-ci pour se rendre sur le lieu de la fécondation. Quelques uns, migrent dans la cavité péritonéale. Seulement quelques centaines se retrouveront au niveau de l'ampoule de la trompe qui contient l'ovocyte.

c. Rôle de la migration

Outre la diminution du nombre de spermatozoïdes, important pour éviter la polyspermie, les voies génitales tiennent un autre rôle indispensable : celui de rendre les gamètes masculins aptes à la fécondation (fécondants).

Lors de leur passage dans le tractus, les spermatozoïdes entrent en contact avec la glaire, le liquide utérin et le liquide tubaire. Leurs composants enzymatiques permettent d'éliminer de la membrane plasmique des spermatozoïdes certaines protéines acquises lors de la maturation de ces derniers dans les voies génitales masculines. Leur membrane devient alors plus perméable aux ions calciques. Les mouvements flagellaires sont plus amples, la vitesse de déplacement plus rapide. Ceci correspond à la capacitation des spermatozoïdes. Des protéines plasmiques sont également lysées permettant plus tard la réaction acrosomiale.

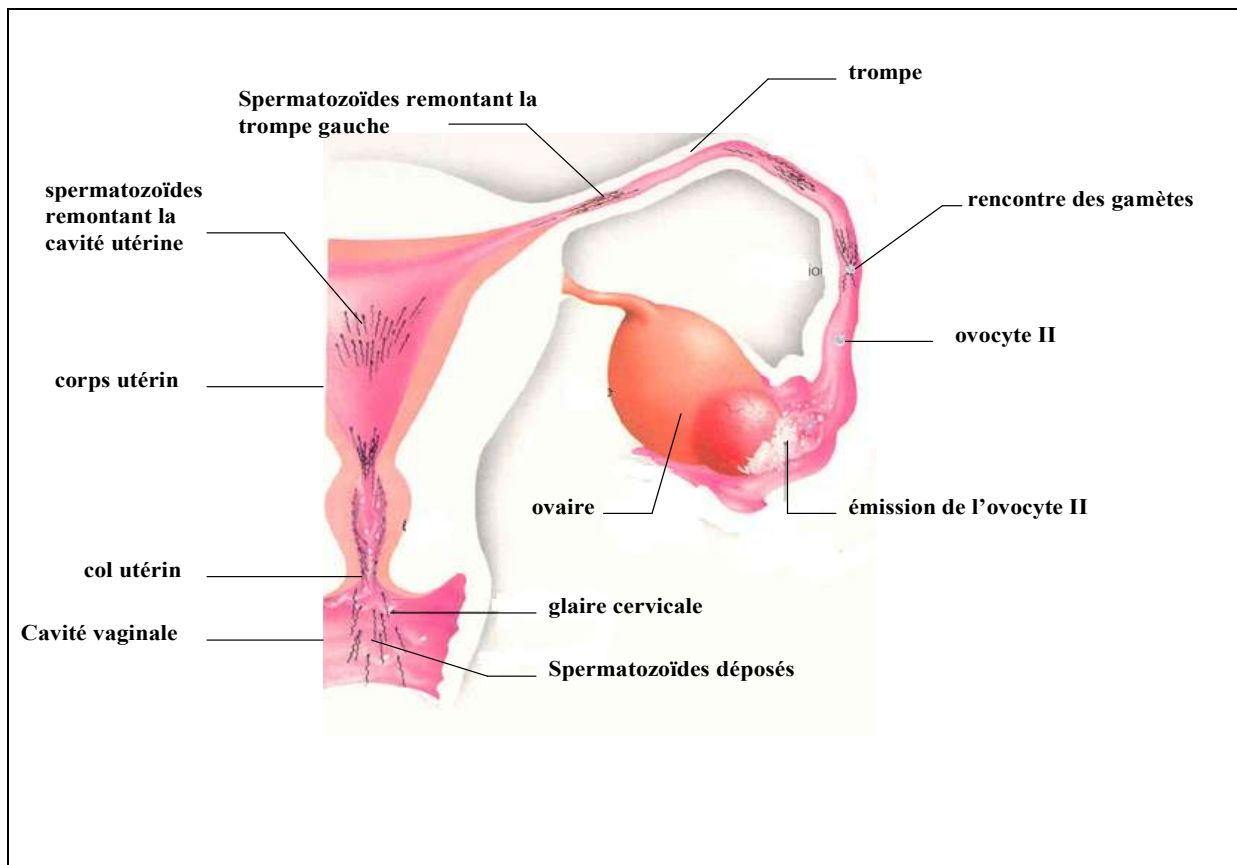


Figure 9 : Migration des spermatozoïdes dans le tractus génital féminin (91)

1.2. Adhésion des spermatozoïdes et réaction acrosomiale

Au niveau de l'isthme de l'ampoule tubaire, les spermatozoïdes sont immobilisés dans le liquide tubaire. Ils peuvent survivre plusieurs jours avant d'être libérés par petit groupe pour aller vers l'ovocyte.

Les spermatozoïdes sont munis d'un flagelle indispensable à leur mouvement et d'une tête. Dans cette tête se trouve le noyau renfermant le matériel génétique : vingt-trois chromatides. Entre le noyau et la membrane plasmique se trouve l'acrosome, réserve enzymatique.

Les quelques spermatozoïdes arrivant au niveau de l'ovocyte, traversent facilement les cellules folliculeuses en libérant une hyaluronidase à partir de leur acrosome. Ils peuvent alors établir une liaison spécifique entre les protéines de leur membrane plasmique et les protéines de la zone pellucide.

L'adhésion à cette dernière déclenche la réaction acrosomiale. Dans la partie antérieure de la tête des spermatozoïdes, la membrane externe de l'acrosome fusionne avec la membrane plasmique des spermatozoïdes libérant et activant ainsi un ensemble d'enzymes.

1.3. Traversée de la zone pellucide et réaction corticale

Suite à la libération des enzymes, une cavité se forme dans la zone pellucide, permettant aux spermatozoïdes de finir la traversée de celle-ci. En règle générale, un seul y parvient. Celui-ci se retrouve alors dans l'espace péri-vitellin situé entre la zone pellucide et la membrane de l'ovocyte. Juste après avoir pénétré dans cet espace, il y a fusion entre le spermatozoïde et la membrane ovocytaire à partir de la partie postérieure de la tête du spermatozoïde. Tous les composants de celui-ci, le noyau excepté sont détruits.

Cette fusion déclenche à son tour la réaction corticale. Les granules corticaux situés jusqu'alors sous la membrane plasmique de l'ovocyte libèrent leur contenu entraînant l'imperméabilité de la zone pellucide à d'autres spermatozoïdes formant ainsi la « zona hardenning ».

1.4. La restauration de la diploïdie

Une fois dans le cytoplasme de l'ovocyte, le noyau du gamète mâle est soumis à l'action de différents composants ovocytaires et se transforme en pronoyau mâle. En parallèle, l'ovocyte termine sa méiose, et devient le pronoyau femelle possédant lui aussi vingt-trois chromatides. Ces deux *pronuclei* haploïdes (vingt-trois chromosomes à une chromatide décondensés à ce moment) sont situés à l'opposé l'un de l'autre dans la cellule.

Les deux *pronuclei* migrent l'un vers l'autre. Pendant cette migration, les chromatides se dupliquent, les chromosomes s'individualisent. Une fois au centre de la cellule, le matériel génétique des deux *pronuclei* est mis en commun pour former un zygote diploïde à vingt-trois paires de chromosomes.

2. Le développement embryonnaire

2.1. Migration et modifications de l'oeuf

Pendant 48h, le zygote formé reste au niveau de la jonction isthme-ampoule et se divise pour donner un embryon à deux, puis à quatre cellules nommées blastomères. Puis il va migrer vers la cavité utérine tout en continuant son développement. A son arrivée dans l'utérus, 4 jours après la fécondation, l'œuf est au stade de morula contenant jusqu'à une trentaine de blastomères. L'embryon évolue en blastocyste formé par le trophoblaste (couche périphérique de cellules aplaties), le bouton embryonnaire (groupe de cellules accolées au trophoblaste) et du blastocèle (cavité liquidienne).

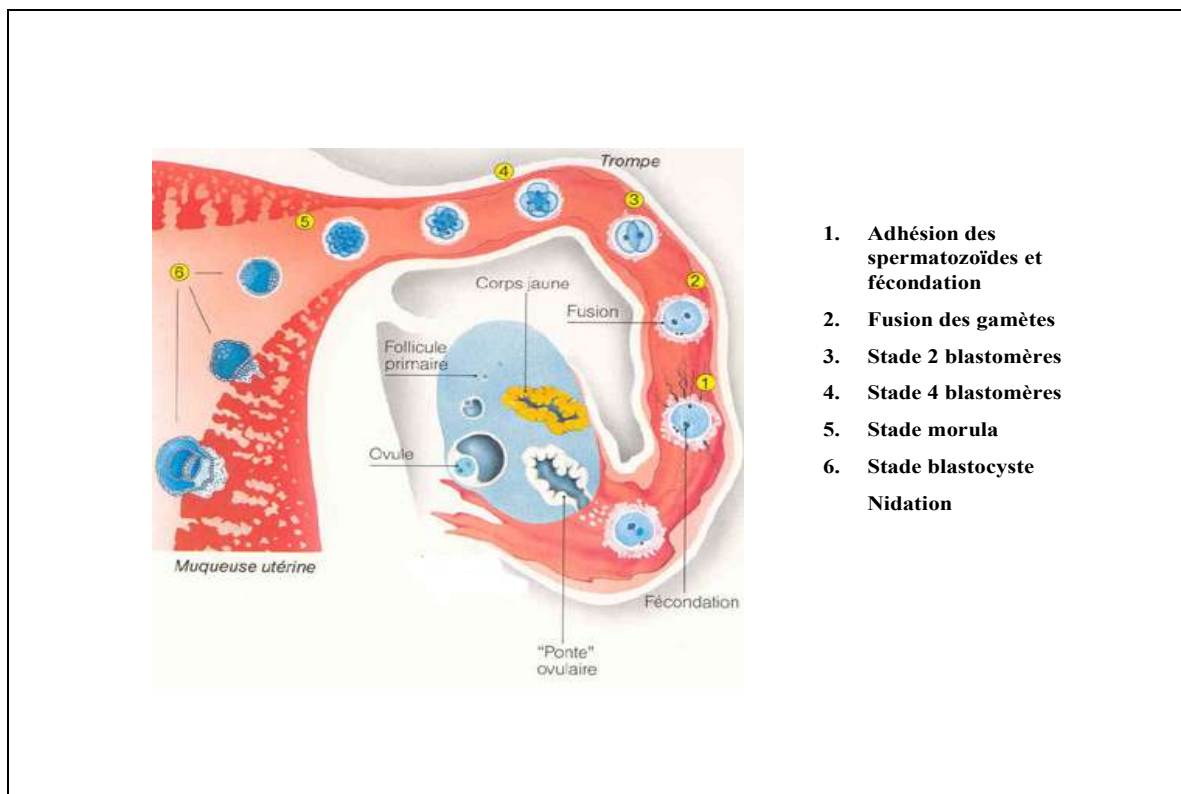


Figure 10 : Migration et développement du zygote (91)

2.2. Nidation et gestation

C'est le sixième jour après la fécondation que la zone pellucide s'ouvre pour libérer le blastocyste. Il s'accroche puis s'implante dans l'endomètre à partir du septième jour. Au bout de 12 jours, l'œuf est complètement incorporé dans la muqueuse utérine. L'organisme fœtal établit des relations avec l'organisme maternel par l'intermédiaire du placenta annoncé par le trophoblaste. Par l'apport de nutriments et d'oxygène par le cordon ombilical, le fœtus évolue pendant neuf mois dans la cavité utérine avant d'être libéré lors de l'accouchement.

DEUXIEME PARTIE

LES ANTI-CANCEREUX ET LEUR TOXICITE SUR LES FONCTIONS REPRODUCTIVES DE LA FEMME

La deuxième partie de ce travail comprend deux parties. Dans la première, nous décrirons successivement les principes de la radiothérapie, ses effets sur l'organisme et en particulier sur les organes de l'appareil reproducteur féminin. Puis de la même manière, nous évoquerons les principes et les effets de la chimiothérapie.

A. La radiothérapie (55)

1. Définition de la radiothérapie

La radiothérapie correspond à l'utilisation de radiations ionisantes dans le but de contrôler et de traiter des cancers en détruisant localement et le plus sélectivement possible les cellules tumorales.

Les radiations ionisantes sont constituées d'un flux de particules (électrons, protons, neutrons, ions) ou de photons (X ou γ) en mouvement dont l'énergie varie de quelques dizaines de KeV à quelques centaines de MeV.

On utilise comme unité de dose le Gray (Gy). Il correspond à la quantité d'énergie en Joules reçue par kilogramme de matière.

L'effet thérapeutique recherché est obtenu par l'interaction des radiations ionisantes avec le fonctionnement cellulaire. Ce processus comprend plusieurs étapes et fait intervenir de nombreux acteurs cellulaires.

2. Origine des radiations ionisantes

Les radiations ionisantes sont produites par deux mécanismes :

- La désintégration radioactive d'atomes naturels ou artificiels dont sont issus les photons γ et les électrons.
- L'accélération de particules dont sont issus neutrons, protons, ions, électrons et photon X.

3. Les différents types de radiothérapies

On peut distinguer trois types de radiothérapies : la radiothérapie externe, la curiethérapie et la radiothérapie interne.

3.1. La radiothérapie externe

Les radiations émises sont de nature photonique ou particulaire. Elles sont émises par deux types d'appareils :

- des générateurs de rayons X

-des accélérateurs de particules :

-accélérateurs d'électrons : linéaires

-accélérateurs de particules lourdes (protons) : cyclotron, synchrocyclotron

Lors d'un même traitement, des radiations ionisantes de différente nature peuvent être associées.

Avant d'effectuer le traitement, il faut déterminer le volume à traiter (imagerie, tatouages), la position du patient (moyens de contention), la nature et la puissance du rayonnement. Ceci se fait lors de séances de simulation.

La dose thérapeutique en radiothérapie externe varie de 15 à 85 Gy fractionnée en plusieurs séances échelonnées sur une plus ou moins longue période.

Toute la dose émise n'atteint pas le site tumoral à traiter : une partie est absorbée par le milieu, une autre est déviée, la dernière se propage en ligne droite vers le site et les tissus plus profonds. Les tissus sains sont donc également concernés par l'action des radiations ionisantes.

3.2. La curiethérapie

La source radioactive émettrice de rayonnements est placée via des dispositifs médicaux (tubes, gouttière ou aiguille) dans ou à proximité de la tumeur.

Les sources radioactives les plus couramment utilisées en curiethérapie sont : le Césium 137, l'Iridium 192 et l'Iode 125.

Les rayons γ générés ont une énergie comprise entre 30 keV et 0,66 MeV.

Avec cette technique, c'est d'abord la tumeur qui est atteinte limitant ainsi une exposition trop importante des tissus sains.

3.3 La radiothérapie interne

Cette technique correspond à l'injection d'un radioélément (ex Iode 131) à l'aide d'un vecteur.

4. Les indications de la radiothérapie

Aujourd'hui, la prise en charge des cancers passe d'abord par la chirurgie (50%) puis par la radiothérapie (28%). Mais celle-ci possède de nombreuses indications.

4.1. But curatif

La radiothérapie est principalement utilisée à visée curative : 65% des indications (90).

Seule, la radiothérapie externe permet de traiter certains types de cancers dans lesquels les tumeurs sont :

- radiosensibles en utilisant une dose fractionnée de 25 à 45 Gy,
- ou de petite taille (ORL, mammaires, gynécologiques, prostatiques) par une dose de 45 à 70 Gy délivrée dans un petit volume (associée ou non à la curithérapie).

Elle permet également de prendre en charge des cancers inopérables du fait de la localisation de la tumeur ou de l'état du patient.

Mais le plus souvent, la radiothérapie est associée à la chirurgie et/ou à la chimiothérapie :

- Avant une chirurgie : Elle permet de diminuer le volume des tumeurs en utilisant une dose inférieure à 45 Gy.
- Après la chirurgie, elle permet de compléter l'exérèse ou diminuer le risque de récurrence locale.

En *per* opératoire, 15 à 25 Gy permettent de stériliser le site en éliminant les cellules tumorales qui auraient pu rester. Associée à la chimiothérapie, elle permet de diminuer le risque de récurrence locale et de métastases.

4.2. But palliatif

La radiothérapie est aussi utilisée à titre palliatif : comme antalgique lors de la présence de métastases hépatiques ou osseuses ou comme hémostatique dans les métrorragies de cancers gynécologiques.

4.3. Autres indications

Seule, la radiothérapie est utilisée pour prévenir le risque de récurrence locale ou le développement de métastases à l'aide de 18 à 60 Gy. Elle est également utilisée dans la préparation des greffes de moelle et dans le traitement de certaines maladies auto-immunes.

5. Le mécanisme d'action des radiations ionisantes (55, 69)

Le mécanisme d'action des radiations ionisantes se fait en plusieurs étapes. L'effet cytotoxique résulte de l'action des radiations et d'espèces réactives générées *in situ* sur les composants cellulaires.

5.1 Etape physique

Cette étape conduit la matière dans un état énergétique supérieur par interaction entre le flux de particules incidentes et l'environnement. L'ionisation se fait à la fois de manière directe et indirecte et dure 10^{-15} secondes.

a. Action directe

Ici, ce sont les radiations qui sont elles mêmes à l'origine de l'ionisation de la matière. Le type d'interaction varie selon la nature et l'énergie du rayonnement incident :

Un flux composé d'électrons (10 KeV-30 MeV) interagit avec la matière selon des forces Coulombiennes. Un flux composé de photons interagit avec la matière selon l'effet Compton (>20 KeV) ou l'effet photoélectrique.

Dans les deux cas, les particules incidentes sont déviées et les électrons délogés de leur couche électronique sont émis à plus ou moins longue distance et peuvent à leur tour ioniser la matière. Parfois les collisions sont à l'origine de la production de photons X pouvant également interagir avec la matière.

A chaque interaction, les électrons secondaires perdent un peu d'énergie et l'ionisation se poursuit jusqu'à ce que celle-ci soit proche de 10 eV. De ce fait, le volume d'action de ces radiations ionisantes est important.

A l'inverse un flux composé de particules lourdes (particules α) ionise peu de volume et selon un trajet relativement linéaire.

b. Action indirecte

Les radiations agissent également sur l'environnement aqueux de la matière et sont responsables de la radiolyse de l'eau. Cette action génère *in situ* des espèces radicalaires hyper-réactives du fait de leur instabilité.

De telles espèces sont également issues de notre métabolisme (chaîne respiratoire) et sont produites en plus grande quantité que celle induite par les radiations ionisantes mais leurs effets sont limités par un ensemble de systèmes enzymatiques (superoxyde dismutase, catalases...)

5.2 Etape physico-chimique

Après la phase d'excitation/ionisation, les différents composés cellulaires retombent à leur niveau énergétique de base par rupture de liaison covalente entraînant la formation de radicaux libres eux-mêmes instables puis par réarrangement de ceux-ci. Quelques secondes à quelques minutes après l'irradiation, les cellules présentent de nombreuses lésions.

Les cibles des radiations ionisantes sont les macromolécules cellulaires : protéines de la membrane, du plasma, du noyau. Les deux plus importantes sont :

a. L'acide désoxyribonucléique : ADN

L'ADN représente la principale cible des radiations et des radicaux. Suite à une irradiation, la double hélice d'acides nucléiques présente diverses lésions :

- Modification ou perte d'une base,
- Cassures simple ou double brin,
- Pontages protéine-ADN,
- Réarrangements chromosomiques.

b. La membrane cellulaire

Après irradiation, on peut observer :

- Péroxydation lipidique,
- Pontage Protéine-ADN,
- Changement conformationnel,
- Activation de protéines membranaires telle que la shingomyélinase à l'origine du céramide impliqué dans l'apoptose.

5.3 La réponse cellulaire

Les lésions radio-induites vont perturber le fonctionnement de la vie cellulaire. L'effet biologique des radiations se traduit par des lésions de l'ADN, des mutations, des aberrations chromosomiques ou la mort cellulaire.

La réponse cellulaire aux agressions met en place de nombreuses cascades de réactions et d'interactions entre plusieurs groupes d'acteurs cellulaires dont le rôle est :

- De détecter les lésions : lieux, nature,
- D'arrêter le cycle afin de remédier aux lésions ou engager le processus d'apoptose.

Le choix de la mort cellulaire dépend de la nature des lésions et les capacités de réparation de la cellule. En effet, les cellules possèdent des systèmes enzymatiques de réparation de l'ADN faisant intervenir selon la nature de la lésion des : ligases, polymérase, endonucléases....

On classe les atteintes en trois catégories :

-Les lésions létales : elles ne peuvent être réparées et conduisent inévitablement à la mort cellulaire

-Les lésions sublétales : elles peuvent être réparées. Elles deviennent létales si la cellule ne possède pas les capacités suffisantes : altérations trop nombreuses, systèmes enzymatiques dépassés

-Les lésions potentiellement létales : leur réparation dépend des conditions. Elle ne peut se faire si la multiplication cellulaire est trop rapide.

La membrane plasmique intervient également dans la réponse cellulaire mais son rôle n'est pas complètement connu. Il a été observé que des cellules non irradiées, au voisinage de cellules irradiées développaient des anomalies au niveau de l'ADN.

5.4 Etape tissulaire

Les deux types de populations cellulaires, qu'elles soient d'origine tumorale ou non, sont concernés par les lésions radio-induites et les réparations.

Les cellules cancéreuses sont des cellules à multiplication rapide, anarchique, favorisant l'accumulation des lésions. Leurs systèmes enzymatiques moins performants ne permettent pas des réparations correctes ou suffisantes. Les cellules tumorales sont des cellules dites « à faible capacité de réparation » rendant ce type de cellules plus radiosensibles que les cellules saines.

D'autre part, le fractionnement de la dose permet entre deux séances, la réparation des lésions au niveau des cellules saines et une repopulation des tissus sains à partir des cellules souches résiduelles. Même si la radiothérapie entraîne la perte des deux types de populations cellulaires, le fractionnement permet une perte de masse tumorale limitant les effets délétères sur les tissus sains.

Cependant, suite à l'action des différentes enzymes, le brin d'ADN peut être restitué à l'identique, le métabolisme cellulaire peut se poursuivre. Parfois, la persistance d'erreur entraîne la formation d'un brin d'ADN présentant des mutations. Celles-ci peuvent être sans conséquence sur le fonctionnement cellulaire ou à l'origine de cancérisation. Ces mutations peuvent également être transmises à la descendance si elles concernent les cellules germinales.

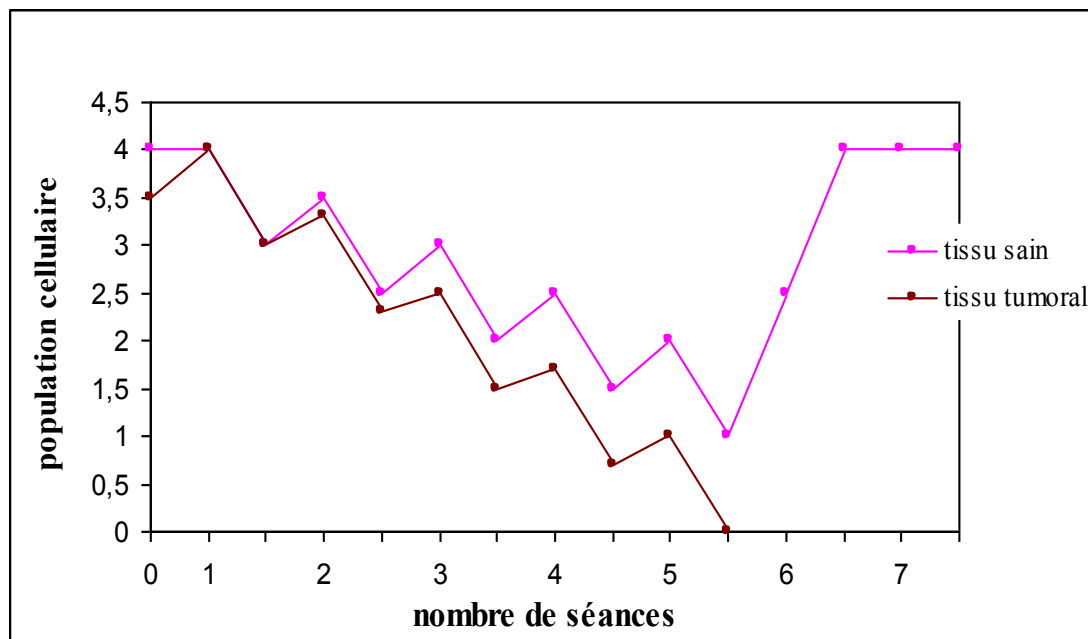


Figure 11 : Action des radiations ionisantes sur les populations cellulaires (90)

6. La toxicité de la radiothérapie sur les différents systèmes

La radiothérapie est à l'origine de nombreux effets secondaires. Ceux-ci peuvent être classés en deux catégories : des effets déterministes qui surviennent toujours dès que la dose de tolérance pour un organe est dépassée et des effets aléatoires qui se manifestent surtout dans le temps par suite de transformations cellulaires : cancérisation secondaire.

Mais on classe surtout les effets secondaires selon leur délai de survenue. Qu'ils soient aigus ou chroniques, leur apparition est fonction du volume irradié, de la dose administrée, de la tolérance spécifique de l'organe et de l'association à une chimiothérapie (55).

6.1 Les effets secondaires aigus (55, 73, 94)

Dans les tissus sains, les cellules souches en se divisant assurent le renouvellement des populations cellulaires vieillissantes et le maintien d'un stock de cellules souches. L'ADN de ces cellules, encore capables de se diviser, est la cible la plus importante des radiations ionisantes. Suite à leur action, la multiplication insuffisante des cellules souches résiduelles est à l'origine de la raréfaction des cellules dans les tissus sains et de la manifestation de signes cliniques.

Les effets secondaires aigus se manifestent pendant le traitement et/ou dans les quelques semaines qui suivent, et ceci d'autant plus rapidement que le tissu est à renouvellement rapide : tissu cutanéomuqueux, digestif et moelle osseuse.

Ces effets secondaires sont pour la plupart réversibles et nécessitent une surveillance du patient pendant le traitement et souvent la mise en place de thérapeutiques adaptées. Ils peuvent aussi être une cause d'interruption du traitement.

Tableau 1 : Effets secondaires aigus suite à l'irradiation de différents systèmes (55, 73)

Irradiation	Effets recensés	Dose totale
Cutanée	Radiodermites : épilation, érythème, oedème, sécheresse, desquamation.	
Des voies aéro-digestives supérieures (VADS)	Mucites, Dysphagies, dysgueusies ou agueusies, Xérostomies.	Dès 15 Gy Dès 30 Gy
Abdominale	Nausées, vomissements, diarrhées, douleurs abdominales, inflammation et ulcération de la muqueuse intestinale, malabsorption de nutriments, sténose, nécrose, Cystites.	
De la moelle osseuse	Neutropénie thrombopénie anémie	
De la moelle épinière	Paresthésies	Dès 45 Gy
Cardiaque et médiastinale	Péricardite aigue	
Pulmonaire	Pneumopathie aiguë symptomatique ou non	Dès 40 Gy.
Encéphalique	Hypertension intracrânienne Signes neurologiques : somnolence, ralentissement intellectuel, difficulté d'apprentissage (démyélinisation des fibres nerveuses.)	

6.2 Les effets secondaires chroniques (55, 73)

Les effets secondaires chroniques ne se manifestent qu'au moins six mois après la fin de la radiothérapie voire plusieurs années après. Ils sont la conséquence de l'atteinte cellulaire et de l'atteinte de l'endothélium des vaisseaux sanguins provoquant une fibrose progressive.

Tableau 2: Effets secondaires chroniques suite à l'irradiation de différents systèmes (55, 73)

Irradiation	Effets recensés	Dose totale
Cutanée	Radiodermites chroniques : fibrose sous cutanée, xérose, hypo- ou hyperpigmentation, télangiectasies. Risque de nécrose cutanée.	> à 60 Gy
ORL	Radiomucites chroniques et risque de radionécrose Xérostomies chroniques : réversibles ou non (Sensibilité aux infections buccales et dentaires). Coloration noire des dents.	> à 65 Gy > à 35 Gy
De la glande thyroïde	Développement de nodules bénins, de la maladie de Graves Basedow, d'Hashimoto et de cancer de la thyroïde.	
Médiastino-pulmonaire	Péricardite chronique, Dommages valvulaires Risque de développer une maladie ischémique Fibrose pulmonaire	> à 45 Gy Plus de 2 Gy par séances et dès 20 Gy.
Abdomino-pelvienne	Fibroses et adhérences digestives, Iléite et rectite radique chroniques Occlusion intestinale, nécrose Sclérose et atrophie du glomérule rénal et des tubules Insuffisance rénale chronique Cystites radiques non bactérienne	Dès 10 Gy (+ Chimiothérapie)
De la moelle épinière	Troubles neurologiques irréversibles : paraplégie ou tétraplégie.	45 Gy en 4,5 semaines (faute technique)

6.3 Les effets de la radiothérapie sur la croissance et le développement intellectuel (55, 73)

Les enfants souffrant d'une pathologie cancéreuse ont une croissance staturale ralentie du fait d'un hypercatabolisme engendré par la pathologie et les traitements. Après la thérapie, le retard se comble mais la taille finale est souvent inférieure à celle prévue. Les radiations ionisantes peuvent affecter la croissance par une action directe sur les cartilages de croissance ou en entraînant un déficit neuro-endocrinien nécessitant un traitement par hormone de croissance.

En agissant sur l'axe hypothalamo-hypophysaire, la radiothérapie peut être à l'origine de puberté plus précoce contribuant également à réduire la taille finale. L'âge est aussi un facteur clé : plus l'enfant est jeune, plus les conséquences sur la croissance sont importantes.

Des irradiations partielles des vertèbres sont à l'origine de douleurs dorsales, de scoliose se révélant au moment de la puberté. Une distribution asymétrique du poids et un gain de poids peuvent aussi être observés du fait d'une sensibilité du tissu adipeux.

L'irradiation du système nerveux est rarement à l'origine d'un grave déficit mental mais plutôt de difficultés d'apprentissage liées à des troubles de l'attention ou de la mémorisation. L'importance de ces effets est fonction de la dose reçue et de l'âge de l'enfant. Pour des doses de 18-24 Gy, les enfants de moins de deux ans montrent des difficultés à apprendre les bases alors que des enfants plus âgés en présentent pour des choses plus complexes. Des doses supérieures à 36 Gy entraînent des déficits plus importants nécessitant une prise en charge adaptée.

7. La toxicité de la radiothérapie sur les fonctions reproductives

7.1 Action sur le développement pubertaire

Les irradiations crâniennes à fortes doses, supérieures à 24Gy, peuvent induire un retard dans le développement pubertaire. A l'inverse, des doses inférieures sont responsables d'une puberté précoce. Ces effets sont la conséquence de l'action des radiations sur l'axe hypothalamo- hypophysaire. Pour cela, il est nécessaire que le développement et la croissance des petites filles soient suivis pour instaurer une hormonothérapie si nécessaire. (16, 73).

7.2 Action sur le développement mammaire (73)

Des radiations locales de 10 Gy entraînent des hypoplasies mammaires, 20 Gy suffisent pour stopper le développement mammaire. Une croissance asymétrique survient après irradiation unilatérale.

7.3 Action sur les fonctions ovariennes

a. Exposition des ovaires aux radiations (87)

Les ovaires se trouvent exposés aux radiations ionisantes lorsqu'ils sont contenus dans le champs d'irradiation ou à proximité lors des traitements de pathologies abdomino-pelviennes (les cancers du col de l'utérus, les cancers rectaux), de pathologies cancéreuses hématologiques ou lors d'irradiation corporelle totale.

Ils sont également exposés aux rayonnements diffusés lors d'une irradiation à forte dose d'un volume adjacent.

b. Mécanisme de la toxicité des radiations sur l'ovaire (57)

Les radiations ionisantes sont à l'origine :

- d'une déplétion folliculaire,
- d'une fibrose ovarienne consécutive à l'ischémie.

Le mécanisme de cette toxicité n'est pas encore totalement élucidé, mais il fait en partie intervenir les lésions radio-induites de l'ADN et l'induction de l'apoptose dans les cellules germinales.

Le stock de follicules primordiaux étant fixé et non renouvelable, l'atteinte de celui-ci entraîne une perte d'activité ovarienne qui concerne à la fois la production de gamètes et celle d'hormones.

La perte de la fonction ovarienne ou insuffisance ovarienne peut se manifester de façon aigue : on parle d'«acute ovarian failure» (AOF). Mais elle peut également intervenir des années après le traitement et ainsi être à l'origine d'une ménopause précoce (13, 77).

c. Les insuffisances ovariennes aiguës ou acute ovarian failure (AOF)

Dans le cadre des anti-cancéreux et plus particulièrement de la radiothérapie, les AOF se définissent par l'absence de règles depuis toujours ou l'arrêt des menstruations dans les 5 ans qui suivent le diagnostic du cancer (13).

Trois facteurs interviennent dans le degré et la persistance de ces effets : l'âge de la patiente au moment de l'irradiation, la dose cumulée, le volume irradié.

1. L'âge

Les AOF se manifestent différemment selon l'âge au moment de la radiothérapie.

1.1. Avant la puberté

Quand la radiothérapie a lieu pendant l'enfance, elle peut entraîner un impubérisme à l'adolescence. Lorsque celle-ci a lieu pendant la puberté, elle peut entraîner un arrêt de celle-ci. Dans ces deux cas, une thérapie hormonale substitutive sera mise en place (87).

Si le développement est spontané, les jeunes filles peuvent présenter des irrégularités menstruelles et des taux temporairement élevés de gonadotrophines.

Une étude récente a évalué la prévalence des AOF dans une cohorte de 3390 patientes traitées dans leur enfance ou leur adolescence pour un cancer par radiothérapie et/ou chimiothérapie (13).

Elle estime que les AOF surviennent chez peu de patientes (6,3% de la cohorte). Elle fait de la radiothérapie un important facteur de survenue d'AOF puisque 54% des « patientes AOF » de cette cohorte ont reçu au moins 10 Gy au niveau des ovaires.

Cette étude ne précise pas le délai moyen d'apparition de l'AOF après la radiothérapie, mais elle montre que le risque est majoré par l'administration concomitante de certaines chimiothérapies, par un âge supérieur à 12 ans au moment du traitement et l'utilisation de doses importantes.

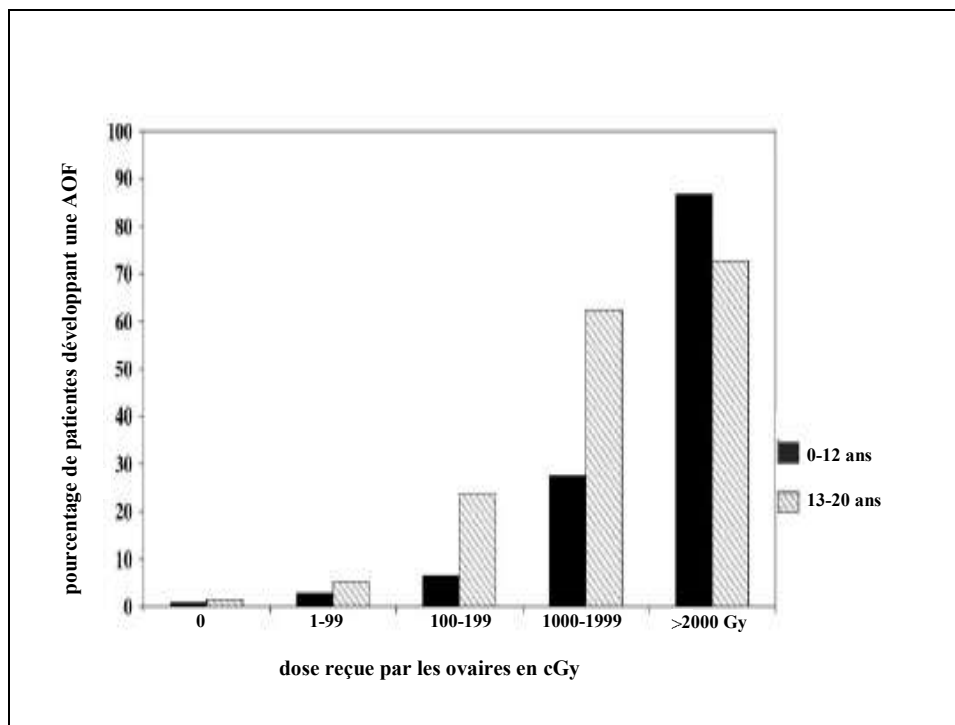


Figure 12 : Incidence de développement d'AOF en fonction de la dose reçue par les ovaires selon l'âge au moment du diagnostic (13)

1.2. Après la fin de la puberté

Peu de données sont disponibles sur les effets biologiques et cliniques de la radiothérapie effectuée pendant la période d'activité génitale. Après de faibles doses d'irradiations crâniennes, on peut observer une diminution de la sécrétion de LH, de la durée de la phase lutéale. Des irrégularités menstruelles et des aménorrhées sont observées suite à des irradiations abdomino-pelviennes (87).

Le rétablissement de l'activité ovarienne et des cycles dépend alors de la sensibilité individuelle, de l'âge et de la dose administrée.

Les femmes plus âgées sont plus sensibles à la radiotoxicité du fait d'un stock de follicules amoindri. Plus l'âge au moment du traitement est avancé, plus la période d'aménorrhée est grande, entraînant ainsi une ménopause définitive par perte de la fonction ovarienne.

En 1976, des études montraient qu'une ménopause pouvait être induite par 6 Gy chez une femme de plus de 40 ans et par 20 Gy chez une femme de moins de 40 ans. Aujourd'hui la sensibilité ovarienne des femmes plus âgées est confirmée puisqu'on estime qu'une femme de plus de 40 ans peut être ménopausée par 1Gy (57).

Plus l'âge au moment du traitement augmente, plus la dose stérilisante effective, à partir de laquelle l'insuffisance ovarienne survient immédiatement après traitement et dans 97,5% des patientes, diminue. Elle est de 16,5 Gy à 20 ans et 14,3 Gy à 30 ans (36).

2. La dose cumulée

La destruction des follicules primordiaux est dose-dépendante (100). Depuis 1989, on considérait qu'à partir de 4 Gy, la moitié des réserves folliculaires pouvaient être détruites (57). Aujourd'hui, de nouveaux modèles mathématiques permettent de ramener la DL50 des follicules primordiaux humains à moins de 2 Gy (87).

Aujourd'hui, on estime que 8-9 Gy représente une dose castratrice (« immédiate »), c'est-à-dire pouvant induire une ménopause définitive chez toutes les adultes. En revanche, 4 Gy permettent un cycle ovarien normal chez 80% des femmes âgées de moins de 30 ans (87).

Chez les fillettes, la réserve folliculaire plus importante permet une moins grande sensibilité des ovaires aux radiations. A partir de 10 Gy, les AOF peuvent survenir et le risque croît avec la dose (53). La dose potentiellement castratrice est évaluée entre 15 et 20 Gy. Par modèle mathématique, elle a été plus précisément définie à 20,3Gy à la naissance et à 18,4 Gy vers 10 ans (36).

Le fractionnement de la dose est également un facteur important. Lors d'irradiations corporelles totales par des doses \leq à 10 Gy avant la puberté, 55 à 80% des patientes développent une insuffisance ovarienne, alors que de plus fortes doses fractionnées sont moins toxiques. Mais au-delà de 15 Gy, même délivrés de façon fractionnée, 100% des patientes présentent une AOF. A partir de 25 ans, les irradiations corporelles totales sont plus toxiques (57).

3. Le volume irradié (32)

Le risque d'insuffisance ovarienne augmente selon la position des gonades par rapport au champ d'irradiation. Selon une étude, le risque :

- Est presque nul quand au moins un des deux ovaires est en dehors de ce champs recevant une dose d'environ 1,5 Gy.
- Il augmente à 14% quand les deux ovaires sont en bordures de champs recevant 1 à 10 Gy et à 68% quand les deux sont contenus dans le champ recevant 12 à 50 Gy.

d. La ménopause précoce

Les femmes considérées ménopausées précocement sont celles (77) :

- expérimentant une longue période d'aménorrhée (plus de 12 mois) juste après le traitement, considérée comme aménorrhée définitive,

- ainsi que les femmes qui maintiennent des cycles pendant le traitement ou qui récupèrent des cycles rapidement après, mais qui cesseront avant l'âge de 40 ans.

En effet le maintien d'une fonction ovarienne pendant, ou une récupération juste après le traitement ne veut pas dire que celle-ci soit indemne. La déplétion folliculaire et l'inhibition de la croissance folliculaire entraînent un épuisement prématuré du stock, avançant d'autant la disparition des cycles menstruels et l'âge de la ménopause. Encore une fois, la dose et l'âge sont deux facteurs augmentant le risque de survenue de ménopause précoce.

Le risque de ménopause précoce augmente significativement avec la dose d'irradiation pelvienne (16) :

Chez des femmes ayant reçu des irradiations pelviennes +/- chimiothérapie lors de leur enfance, le risque relatif de ménopause précoce par rapport à celles traitées uniquement par chirurgie conservatrice (non stérilisante) augmente avec la dose reçue (57) :

- 1,02 pour des doses inférieures à 20 Gy,
- 1,37 pour des doses comprises entre 20 et 35 Gy,
- 3,27 pour des doses supérieures à 35 Gy.

Le risque de ménopause précoce augmente significativement avec l'âge au moment du traitement (16).

Chez l'enfant, un système d'autorégulation permettrait de diminuer l'atrophie folliculaire physiologique pour diminuer l'atteinte de la réserve folliculaire par les anti-cancéreux et maintenir la fonction ovarienne à plus long terme. Avec l'âge, les réserves folliculaires diminuant, cette régulation disparaîtrait. La ménopause précoce surviendrait donc plus tôt chez des femmes recevant des radiations à l'âge adulte que chez celles qui en ont reçu pendant leur enfance (100).

Toute femme ménopausée prématurément se retrouve alors exposée plus rapidement et plus longtemps aux mêmes facteurs de risques cardiovasculaires et d'ostéoporose qu'une femme ménopausée à un âge normal, nécessitant une prise en charge thérapeutique et un suivi.

7.4. Action sur l'utérus (16)

Les irradiations abdomino-pelviennes ont également des effets délétères sur l'utérus affectant sa structure et sa vascularisation. Des doses supérieures à 30 Gy peuvent rendre ces effets irréversibles malgré une administration de stéroïdes sexuels.

Les données disponibles proviennent essentiellement de l'observation de l'utérus de femmes irradiées pendant l'enfance.

a. Observations histologiques (52)

L'endomètre peut présenter une atrophie des glandes épithéliales, une inflammation sous-épithéliale ou une fibrose. Le myomètre montre des zones d'atrophie musculaire et de sclérose des artéioles utérines

b. Observations macroscopiques (16, 52)

Les patientes ayant subi une radiothérapie pendant l'enfance ont un volume utérin réduit à l'âge adulte:

Des irradiations corporelles totales par 14,4 Gy reçues pendant l'enfance sont à l'origine d'un volume utérin adulte réduit d'environ 40% par rapport à la normale (40 mL) après un traitement hormonal.

c. Mécanisme (16)

Cette croissance insuffisante s'explique par l'atteinte des artères utérines ne permettant pas une vascularisation optimale ainsi que par l'insuffisance ovarienne.

L'insuffisance oestrogénique est également à l'origine d'une non prolifération de l'endomètre.

d. Facteurs aggravants (52)

1. L'âge

L'utérus est d'autant plus sensible que l'irradiation a lieu avant la puberté avec un volume final d'autant plus réduit que l'enfant était jeune au moment de l'irradiation. L'utérus des femmes en pré-ménopause subit également les effets de la radiothérapie : réduction de la taille utérine et de l'épaisseur endométriale.

2. La dose

Pour de faibles doses, la femme peut présenter un utérus asymptomatique. En revanche, pour 30 Gy, l'utérus peut ne pas répondre à une stimulation oestrogénique (taille, endomètre).

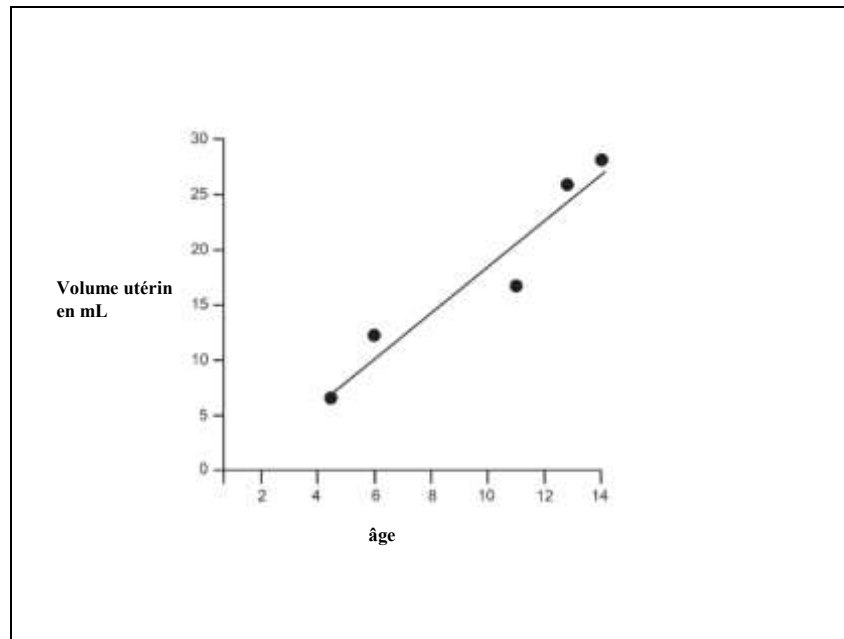


Figure 13 : Relation entre le volume utérin après trois mois d'hormonothérapie et l'âge au moment de l'irradiation (16)

7.5 Action sur la procréation et la fertilité

Les femmes traitées dans leur enfance par radiothérapie, voient leur fertilité diminuer de part l'action de celle-ci sur l'axe hypothalamo-hypophysaire, la réserve ovarienne et sur l'utérus.

En 1989, Byrne *et al* estimaient une fertilité relative de 0,85 (0,78 à 0,92) pour les femmes ayant reçu des irradiations sous diaphragmatiques par rapport aux autres (16).

Plus tard, en 1999, Chiarelli *et al* ont étudié le risque d'infertilité chez des femmes ayant été traitées dans leur enfance par radiothérapie, plus ou moins chimiothérapie, par rapport à celle des femmes traitées uniquement par chirurgie non stérilisante.

Leur étude montre que la dose est un facteur important puisque 20 à 35 Gy sont responsables d'infertilité dans 22% des cas, et que plus de 35 Gy entraînent 32% d'infertilité (57).

Quand une grossesse intervient chez les femmes ayant été traitées par radiothérapie, les complications obstétricales sont plus nombreuses que dans le reste de la population. On observe une augmentation (16, 52) :

- du nombre de fausses couches : 20-30 Gy peuvent entraîner l'arrêt de grossesse par non-distensibilité utéro-abdominale,
- de placentation anormale,
- de la mortalité péri-natale (14,9%),
- de la prématurité (21%).

7.6 Action sur la descendance (32, 52, 68)

L'effet tératogène de l'irradiation *in utero* varie en fonction du stade de développement.

L'œuf, soumis à des radiations pendant la période d'implantation ne survit pas. Ensuite, pendant l'embryogenèse et l'organogenèse, il existe un risque de malformations. Ce risque est maximal entre la huitième et la seizième semaine de développement :

- Malformations de membres,
- Anomalies du système nerveux central,
- Retard de croissance *in utero*.

L'atteinte de la vascularisation utérine est à l'origine de ce retard de croissance *in utero* et d'enfant avec un petit poids de naissance (<2500 g). Les enfants nés de mère ayant subi une irradiation corporelle totale (TBI) sont de poids encore inférieur. En revanche, il n'y aurait pas d'augmentation du nombre de cas d'enfant mort-né.

Le risque de cancérogenèse reste très faible en dessous de 0,3 Gy. Les recommandations de radioprotection font envisager aux patientes une interruption thérapeutique de grossesse (ITG) au-delà de 0,2 Gy, dose d'examen radiologique. Les radiations sont à l'origine de fausse-couche à partir de 3,5 Gy (68).

Il n'est pas noté d'augmentation d'anomalies congénitales, de maladies génétiques ou de cancers chez les enfants de femmes traitées pour un cancer dans leur enfance (32).

7.7. Conclusion

La radiothérapie est responsable de nombreux effets secondaires comprenant une gonadotoxicité. Celle-ci se manifeste par une fibrose utéro-ovarienne et une destruction folliculaire menant à une perte de la fonction ovarienne à plus ou moins long terme. Ces effets dépendent de l'âge, de la dose et du volume d'irradiation et conduisent à une hypofertilité voire à une infertilité des patientes.

B. La chimiothérapie

1. Définition

La chimiothérapie consiste en l'utilisation de substances cytotoxiques dans le but de traiter des cancers. Une substance cytotoxique définie également par les termes anti-cancéreux, anti-tumorale ou anti-néoplasique doit posséder une certaine sélectivité vis-à-vis des cellules génétiquement transformées (33).

2. Indications

2.1. Mode d'administration (83)

La chimiothérapie est un traitement administré le plus souvent par voie systémique (*per os*, intraveineuse...).

Dans certains cas, la chimiothérapie peut être locorégionale (intra-artérielle, intra-péritonéale, intra-téchale). Par exemple, le traitement de tumeurs méningées peut se faire par voie intra-téchale du fait de la faible diffusion des anti-cancéreux dans le liquide céphalo-rachidien (LCR).

2.2. Les différents types de chimiothérapies (33, 83)

L'objectif du traitement peut être curatif. Dans ce cas, l'association à un traitement local comme la chirurgie et/ou la radiothérapie, est le plus souvent utilisée. Selon le moment d'administration des cytotoxiques par rapport au traitement local, on définit la chimiothérapie adjuvante et la chimiothérapie néo-adjuvante.

a. La chimiothérapie adjuvante

Elle est réalisée après le traitement local et permet de compléter l'action de celui-ci en détruisant les éventuelles cellules cancéreuses qui auraient pu migrer dans l'organisme. Elle est surtout utilisée lorsque le risque métastatique est élevé.

b. La chimiothérapie néo-adjuvante

A l'inverse, elle est réalisée avant le traitement local et a pour fonction :

- De diminuer la taille des tumeurs, facilitant leur exérèse ou évitant ainsi des chirurgies trop mutilantes,
- D'éviter le développement de métastases.

Dans des cas de maladies trop avancées ou de tumeurs chimio-résistantes, l'administration d'anti-tumoraux est utilisée dans un but palliatif : soulager les malades, allonger leur survie.

3. Pharmacologie des anti-cancéreux (33, 83)

Le but des thérapeutiques anti-néoplasiques est d'inhiber la prolifération des cellules tumorales en bloquant la réplication de l'ADN à différents niveaux.

3.1. Les anti-tumoraux réagissant directement avec l'ADN

a. Les agents électrophiles

Ils forment une liaison covalente avec l'ADN par l'intermédiaire d'un radical alkyle empêchant la lecture par les ADN polymérase et bloquant ainsi les mécanismes de réplication. (cf. Annexe 1 : Classification des agents électrophiles)

b. Les agents intercalants

Ces molécules d'origine naturelle (*Streptomyces*) ou synthétique sont composées de plusieurs noyaux aromatiques. Cette conformation plane leur permet de se fixer à l'ADN par liaison électrostatique et d'entraîner une déformation de la double hélice rendant impossible la progression des polymérase.

Tableau 3 : Classification des agents intercalants (23)

Les Anthracyclines		Les Anthracènediones
Daunorubicine	Céribidine® Daunoxome®	Mitoxantrone = Novantrone®
Doxorubicine ou Adryamycine	Adriblastine® Caelix® Myocet®	
Epirubicine	Farmorubicine®	
Idarubicine	Zavedos®	
Pirarubicine	Théprubicine®	

Les Anthracyclines génèrent également des radicaux libres toxiques pour les cellules.

c. Les agents scindants

Ces molécules planes se glissent dans la molécule d'ADN en formant des complexes instables à l'origine de la production de radicaux libres. De part leur action, ces agents sont considérés comme des radiomimétiques.

Tableau 4 : Classification des agents scindants (23)

DCI	Nom commercial	Origine
Bléomycine	Bléomycine bellon®	issus des <i>Streptomyces</i>
Dactinomycine = Actinomycine D	Cosmegen®	issus des <i>Streptomyces</i>
Acétate d'elliptinium	Celeptium®	végétale

3.2. Les anti-tumoraux réagissant indirectement avec l'ADN

a. Les anti-métabolites : agents inhibant la synthèse d'acides nucléiques

D'une façon générale, ils interfèrent dans la synthèse d'ADN en inhibant des enzymes nécessaires à sa fabrication ou en s'incorporant dans la chaîne d'acides nucléiques néoformée.

1. Les anti-foliques

Ces agents possèdent une analogie structurale avec l'acide folique. Leur liaison à la dihydrofolate réductase entraîne une inhibition compétitive de celle-ci.

Il en résulte une carence en folates réduits dans la cellule et ainsi une inhibition d'enzymes folates dépendantes et clés de la synthèse de Thymidine et de bases puriques : la Thymidilate Synthétase (TS) et la Glicinamide Ribonucléotide Formyltransférase (GARFT).

Les molécules commercialisées sont :

Méthotrexate = Ledertrexate®

Raltitrexed = Tomudex®

Pemetrexed = Altima®

2. Les analogues de bases puriques

Ce sont des analogues structuraux qui après activation métabolique, s'incorporent dans la chaîne d'acides nucléiques stoppant sa synthèse. Certains inhibent en plus des enzymes impliquées dans la synthèse d'Adénine (A) et de Guanine (G). Les molécules commercialisées sont :

Mercaptopurine = Purinéthol®

Pentostatine = Nipent® (molécule active)

Cladribine = Leustatine®, Litak®

Fludarabine = Fludara®

Thioguanine = Lanvis®

3. Les analogues de bases pyrimidiques

De la même façon, l'incorporation de ces molécules dans la chaîne d'acides nucléiques leurre les enzymes et inhibe la synthèse d'ADN. C'est le cas de la Cytarabine (Cytarbel®, Aracytine®), analogue de la Cytosine.

D'autres analogues empêchent la synthèse de bases pyrimidiques : Le 5-fluorouracile (Fluoro-Uracile®) et la Capécitabine (Xeloda®) inhibent la Thymidilate Synthétase. Il s'incorpore également dans la molécule d'acide ribonucléique (ARN) entraînant des erreurs de traduction de celle-ci.

D'autres comme la Gemcitabine (Gemsar®) ont la particularité de bloquer les mécanismes de réparations de l'ADN.

L'Hydroxycarbamide (Hydréa®) empêche la dégradation des ribonucléotides (bases de l'ARN) en désoxyribonucléotides en inhibant la Ribonucléotide Réductase.

4. Les inhibiteurs de Topoisomérases

En inhibant les Topoisomérases, enzymes nécessaires à la désenroulement de la molécule d'ADN, ces agents empêchent l'accès aux facteurs de transcription et bloquent la poursuite de la synthèse d'ADN. De plus, cette inhibition rend la religation des bases impossible et conduit à l'apoptose de la cellule.

Tableau 5 : Classification des inhibiteurs de Topoisomérases (23)

Les inhibiteurs de Topoisomérases I	Les inhibiteurs de Topoisomérases II
Irinotécan = Campto® Topotécan = Hycamtin®	Etoposide = Celtop®, Etopophos®, Vépéside®

Les anthracyclines possèdent également cette activité.

b. Les agents agissant sur les protéines

1. Les poisons du fuseau

Ces agents bloquent la multiplication cellulaire en agissant sur le fuseau mitotique. Deux groupes d'origine végétale existent : les Vinca-alcaloïdes et les Taxanes. Les Vinca-alcaloïdes empêchent la polymérisation des dimères de tubuline à l'origine de la formation du fuseau. A l'inverse, les Taxanes stabilisent le fuseau mitotique en bloquant sa dépolymérisation.

Tableau 6 : Classification des poisons du fuseau (23)

Les Vinca-alcaloïdes ou alcaloïdes de la pervenche		Les Taxanes	
DCI	Nom commercial	DCI	Nom commercial
Vinblastine	Vinblastine®, Velbe®	Paclitaxel	Taxol®
Vincristine	Vincristine®, Oncovin®	Docétaxel	Taxotère®
Vindésine	Eldisine®		
Vinorelbine	Navelbine®		

2. L-asparaginase = Kidrolase®

Cette enzyme catalyse la dégradation d'asparagine par hydrolyse. L'apport de cette enzyme entraîne une carence en cet acide aminé dans les cellules. Dépourvues d'Asparagine Synthétase, les cellules cancéreuses ne peuvent pallier ce manque et poursuivre la synthèse protéique.

4. Effets secondaires des anti-cancéreux (33, 83)

Ces molécules de part leur mécanisme d'action n'agissent pas seulement sur les cellules malignes. En effet, l'existence de leurs cibles dans les populations de cellules saines est à l'origine de la manifestation d'effets secondaires.

4.1. Effets secondaires aigus

Cette toxicité se manifeste dans les quelques heures à quelques jours suivant l'administration d'un anti-cancéreux. Elle est le fait de l'atteinte des systèmes à renouvellement rapide entraînant principalement une toxicité gastro-intestinale, hématologique et dermatologique. La fréquence de survenue de ces effets varie pour chaque molécule. Ces toxicités sont pour la plupart caractérisées par une réversibilité et un effet dose dépendant.

a. Toxicité gastro-intestinale

1. Nausées, vomissements

Leur survenue dépend de la ou des molécules utilisées, de la dose, du mode d'administration et du patient.

Ils sont de nature aigue lorsqu'ils surviennent dans les 24 heures qui suivent le début du traitement et de nature retardée quand ils ont lieu entre la 24^{ème} et la 144^{ème} heure. Cependant l'anxiété du patient ou le souvenir d'une précédente cure peuvent déclencher des vomissements anticipés.

Une prise en charge thérapeutique adaptée permet de pallier ces effets. Différentes classes thérapeutiques peuvent être utilisées seules ou en association (sétrons, neuroleptiques d'action périphérique, corticoïdes).

2. Mucites, stomatites

L'épithélium buccal étant un tissu à renouvellement très rapide, il est une cible privilégiée des cytotoxiques. Les lésions érythémateuses peuvent se compliquer d'ulcération ou de contamination par la flore commensale de la cavité buccale et représentent une porte d'entrée pour les infections systémiques. Ces lésions sont également le siège de douleurs importantes rendant l'alimentation parfois impossible.

La prévention des mucites se fait par l'utilisation de bains de bouche alcalins limitant la prolifération de la flore.

Le développement d'infections dentaires est favorisé par les anti-cancéreux. Il est donc important de faire un bilan de l'état dentaire et de traiter les infections existantes avant tout traitement.

3. Troubles du transit

Les anti-tumoraux sont à l'origine de diarrhées par stimulation du péristaltisme et par destruction des cellules intestinales. A l'inverse les alcaloïdes de la pervenche peuvent entraîner une constipation. Des conseils hygiéno-diététiques permettent de réduire ces effets.

b. Toxicité hématologique

Toutes les lignées sont touchées par la toxicité des anti-cancéreux. Neutropénie, lymphopénie, thrombocytopénie et anémie surviennent plus ou moins rapidement en fonction du protocole et des patients.

Ces effets nécessitent une surveillance biologique pour éviter les complications infectieuses, hémorragiques, anémiques. Seules la Bléomycine et la L-asparaginase sont dépourvues d'une toxicité hématologique.

Un intervalle suffisant entre deux cures permet souvent une récupération spontanée. Mais aujourd'hui, le développement et l'utilisation de facteurs de croissance ont permis de limiter la toxicité myéloïde des anti-cancéreux.

c. Toxicité dermatologique

- Les anti-tumoraux ont une action sur les phanères. Une alopecie survient assez rapidement après l'administration de cytotoxiques (15 jours). Cet effet peut être limité par l'usage de casques réfrigérants. La peau et les ongles se pigmentent sous forme de taches ou de bandes en fonction des molécules. La matrice unguéale est fragilisée voir détruite.

- Lors de l'administration, une extravasation entraîne des nécroses cutanées.

d. Toxicités particulières

Chaque classe de cytotoxiques ou une molécule parmi l'ensemble de son groupe peut posséder une toxicité qui lui est propre. L'effet est en général dose-dépendant.

Tableau 7 : Exemple de toxicité particulière par molécule ou par classe (33, 83)

Classe ou molécule	Effet particulier	Prise en charge possible
Cyclophosphamide, Isophosphamide	Toxicité vésicale (acroléïne)	Diurèse Administration de Mesna (Uromitexan®)
	Toxicité cardiaque régressive	
Cisplatine	Toxicité rénale	Hyperhydratation Administration d'Amifostine (Ethylol®)
	Toxicité cochléaire	
	Toxicité neurologique périphérique	Administration d'Amifostine (Ethylol®)
Méthotrexate	Précipitation en milieu acide et à forte dose	Diurèse osmotique alcaline
Les inhibiteurs de Topoisomérases (+ Irinotécan)	Syndrome cholinergique	Administration d'un atropinique
Les alcaloïdes de la perveenche (+Vincristine)	Constipation	Conseils hygiéno-diététiques Administration de laxatifs

4.2. Effets secondaires chroniques

Plusieurs anti-tumoraux sont impliqués dans des toxicités chroniques. Deux grandes classes sont particulièrement incriminées. Ces toxicités sont souvent peu ou non réversibles.

Les agents alkylants en se fixant à l'ADN, altèrent le patrimoine chromosomique des cellules saines. Cette action est à l'origine de l'apparition de cancers secondaires et notamment des leucémies dans les 4-5 ans qui suivent le traitement. Cet effet est aussi retrouvé avec les inhibiteurs de Topoisomérases dans un délai plus court : 18 mois à 2 ans. L'Amifostine, cible leurre des alkylants, est un chimioprotecteur permettant de limiter leurs effets sur les cellules saines.

Les Anthracyclines sont à l'origine d'une toxicité myocardique. Les radicaux libres issus des fonctions quinones des molécules entraînent une péroxidation des lipides des mitochondries myocardiques. Avec la Doxorubicine, molécule la plus incriminée, cette toxicité peut survenir pour une dose cumulée supérieure à 500 mg/m². Le Dexrazoxane = Cardioxane® protège la fonction cardiaque en chélatant le fer (Fe³⁺) indispensable à la genèse des radicaux libres.

5. Action des anti-cancéreux sur les fonctions de la reproduction

5.1. Conséquences histologiques

a. Altération de la structure des follicules

L'observation au microscope électronique de follicules auparavant exposés à des cytotoxiques, montre une membrane basale épaissie, des cellules folliculeuses de plus grande taille contenant des éléments cytoplasmiques, des cellules de la prégranulosa possédant un noyau de volume important (57).

Meirow a également décrit ces changements par la mise en contact *in vitro* de cortex ovarien sain avec du Cisplatine. Les cellules de la prégranulosa et leur noyau présentent un gonflement correspondant à un phénomène d'apoptose. Les follicules primordiaux sont détruits ou ont une architecture modifiée (57, 59).

b. Altération de la structure de l'ovaire

Les premières biopsies ovariennes réalisées après différentes chimiothérapies, montraient une épaisseur plus importante de l'albuginée et une hyalinisation du stroma. Plusieurs études histologiques montrent une déplétion folliculaire importante voire une disparition complète de la réserve ovarienne (2, 59) ainsi qu'une atteinte vasculaire.

Aujourd'hui les techniques permettent de décrire plus précisément les atteintes ovariennes induites par les chimiothérapies. Meirow en 2007 étudie le tissu ovarien de 35 patientes par coloration et immunohistochimie (59). Le tissu était prélevé en vue d'une cryoconservation.

Chez 13 des 17 patientes (76%), exposées à des doses non stérilisantes de différents agents cytotoxiques (toutes classes confondues et en association), les coupes histologiques mettent en évidence trois grands phénomènes :

- Un changement dans la structure des vaisseaux : fibrose de l'intima, épaissement de la musculature, rétrécissement ou effacement endoluminal (cf. Figure 15).
- Le développement d'une néovascularisation à proximité des vaisseaux atteints cités précédemment (cf. Figure 15).
- Des zones de fibrose du cortex ovarien dénuées de follicules jouxtant des zones contenant des follicules primordiaux normaux (cf. Figure 15).

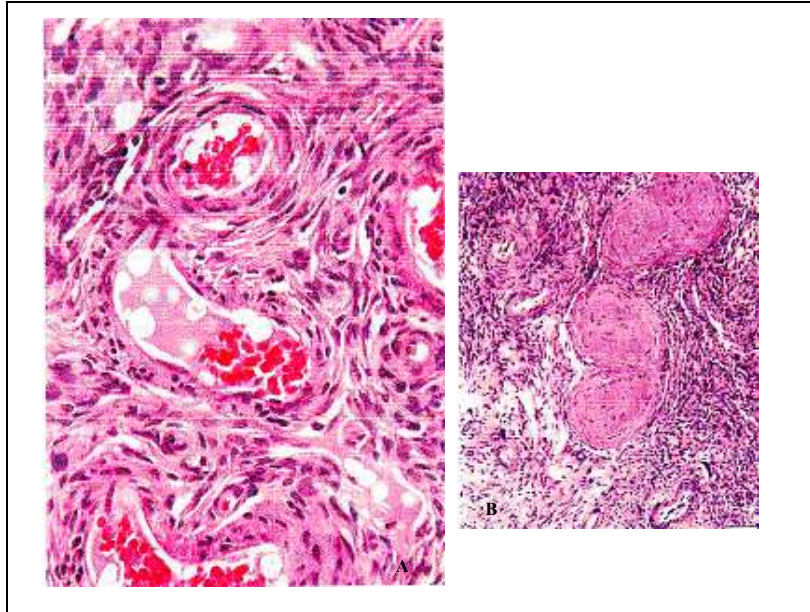


Figure 14 : (A) Vaisseaux d'ovaire non exposé à la chimiothérapie (x 400) ; (B) Changement de structure des vaisseaux ovariens après exposition à une chimiothérapie (x 200) (59)

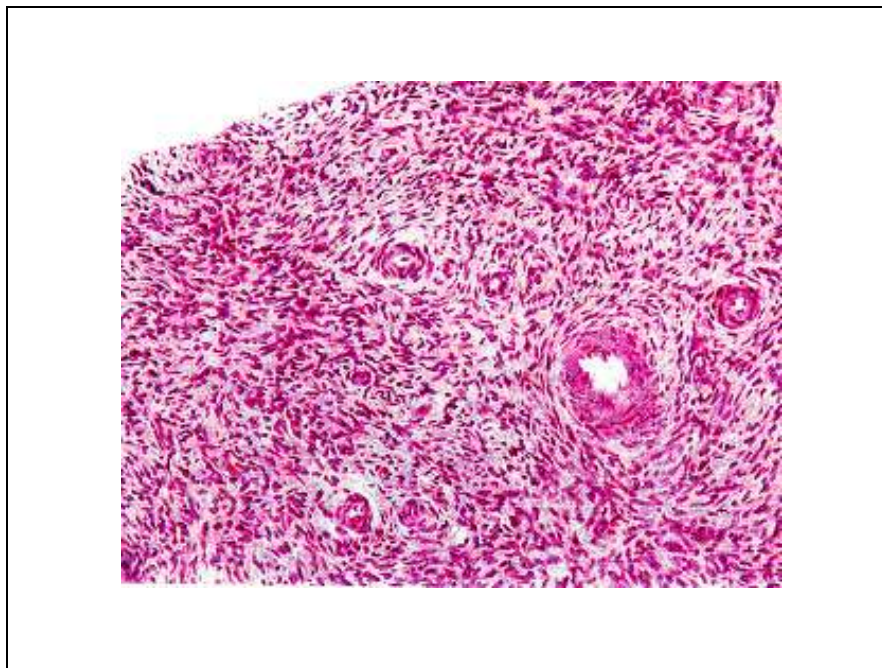


Figure 15 : Développement d'une vascularisation anarchique après exposition ovarienne à une chimiothérapie (x 400) (59)

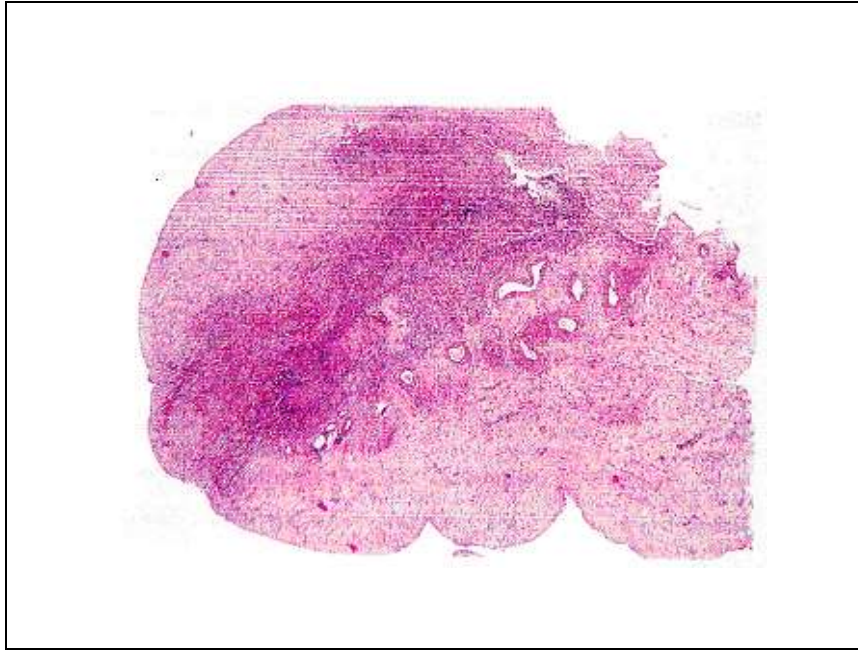


Figure 16 : Zone d'atrophie ovarienne après exposition à une chimiothérapie (59)

A noter que ces changements histologiques ont également été observés chez les femmes non exposées de plus de 37 ans.

5.2. Les manifestations cliniques de la toxicité ovarienne des cytotoxiques (77)

Les cytotoxiques sont responsables d'une déplétion de l'ensemble de la population ovarienne et d'une atrophie tissulaire. En fonction de l'atteinte de la réserve folliculaire, la perte de la fonction ovarienne se manifeste immédiatement ou de façon retardée.

a. Insuffisance ovarienne aigue

Les aménorrhées peuvent intervenir pendant ou après le traitement (AOF dans les 5ans). Ces aménorrhées peuvent être transitoires, d'une durée variable ou définitives (+de 12 mois).

Parfois les femmes peuvent présenter des irrégularités de cycle (péri-ménopause), évoluant vers des aménorrhées définitives.

b. Ménopause précoce

Comme avec la radiothérapie, le maintien des cycles pendant les cures ou une rapide récupération de ceux-ci après la fin du traitement, notamment chez les femmes les plus jeunes (< 35 ans), ne sont pas la preuve que la fonction ovarienne ait été épargnée. L'atteinte du stock de follicules primordiaux entraîne chez ces femmes un grand risque de ménopause prématurée.

5.3. Mécanisme de la toxicité ovarienne des cytotoxiques

Le mécanisme de la destruction cellulaire n'est pas encore totalement connu. Deux hypothèses, sans doute complémentaires, permettent de l'expliquer partiellement.

a. Première hypothèse : l'apoptose chimio-induite

Cette hypothèse met en cause une action directe des cytotoxiques sur les follicules primordiaux. Ils sont à l'origine de la destruction de ceux-ci par l'induction de l'apoptose dont l'étape initiale se situerait au niveau des cellules de la prégranulosa. En l'absence de follicule, la vascularisation ne se maintient pas et le tissu se fibrose (45, 56, 59).

Ce mécanisme permet d'expliquer la perte folliculaire observée sur les coupes histologiques mais implique une répartition relativement homogène de la destruction folliculaire. Or d'après Meiorow, les coupes histologiques montrent à la fois des aires de fibroses et des aires non fibrosées. D'où l'idée que l'apoptose n'est pas ou n'est pas le seul mécanisme en cause (59).

b. Deuxième hypothèse : les dommages vasculaires chimio-induits (59)

Les cytotoxiques par leur action sur la structure des vaisseaux diminuent le flux sanguin et l'irrigation du tissu ovarien. La néovascularisation se développe alors pour pallier le manque mais est insuffisante. Des zones d'ischémie locale se forment contribuant à la mort cellulaire et au développement de la fibrose.

5.4. Les facteurs influençant le risque d'insuffisance ovarienne aigue

Plusieurs facteurs comme l'âge, la classe thérapeutique, la dose et le protocole sont étroitement liés et déterminent l'importance des effets de la chimiothérapie sur la fonction ovarienne.

a. Toxicité par classe pharmacologique

L'induction d'aménorrhées par les anti-cancéreux a d'abord été observée avec l'utilisation de Busulfan, puis de Chlorambucil et de Cyclophosphamide (2). Les anti-cancéreux s'utilisant souvent en association, il est difficile d'imputer la responsabilité d'un agent dans la survenue d'insuffisance ovarienne. L'étude de Meiorow permet de hiérarchiser l'effet des différentes classes (57).

1. Les Alkylants

Les agents alkylants apparaissent comme les plus grands inducteurs d'AOF devant les sels de Platine, les vinca-alcaloïdes, les anti-métaboliques et les anti-biotiques comme la Bléomycine ou les Anthracyclines (57).

Ceci a été confirmé par l'étude CCSB (Childhood Cancer Survivor Study) (13) qui montre que les Alkylants sont un facteur de risque de survenue d'AOF, en particulier la Procarbazine indépendamment de l'âge et le Cyclophosphamide.

La toxicité des Alkylants s'explique par leur action sur l'ensemble du cycle cellulaire et leur action destructrice des follicules primordiaux. Chez la souris, des doses croissantes de Cyclophosphamide détruisent les follicules primordiaux de façon exponentielle : la dose de 75 mg/kg a atteint 54% des réserves (56).

2. Les sels de Platine

Ils suivent les Alkylants avec un Odd ratio de 1,77 (57). Ils ont également une action dommageable sur les chromosomes, action démontrée chez la souris (101). Le Cisplatine a entraîné des aménorrhées chez 14% des patientes traitées (53).

3. Les poisons du fuseaux

- La toxicité ovarienne des vinca-alcaloïdes, et en particulier celle de la Vinblastine a été démontrée chez l'animal par l'induction d'ovocytes aneuploïdes (53). La Vinblastine a été à l'origine d'aménorrhées induites chez des patientes traitées pour la maladie de Hodgkin (2/3) (2).

- Le rôle des Taxanes dans la survenue d'aménorrhée semble lié à leur utilisation concomitante avec d'autres classes notamment lorsque le Paclitaxel quand il est utilisé avec une Anthracycline (80).

Cependant, une étude montre que l'addition de Paclitaxel au protocole AC (Doxorubicine – Cyclophosphamide) n'augmenterait pas le risque de survenue d'AOF. En revanche, d'après une autre étude, le risque serait plus important dans le protocole TAC (Docetaxel – Doxorubicine – Cyclophosphamide) que dans le protocole FAC (5FU - Doxorubicine – Cyclophosphamide) (80).

4. Les Anti-métaboliques

Cette classe qui agit plus spécifiquement sur une phase du cycle semble moins toxique. Le Méthotrexate utilisé à forte dose avec ou sans Vincristine n'entraîne pas d'insuffisance ovarienne (32).

Les traitements de leucémies utilisant de fortes doses d'anti-métaboliques, des Anthracyclines et de faibles doses d'Alkylants (Cyclophosphamide) permettent de maintenir une fonction ovarienne dans plus de 85% des cas (81).

5. Les Anthracyclines

La toxicité des Anthracyclines semble être corrélée à l'âge. Chez des femmes recevant de la Doxorubicine, aucune des moins de 30 ans n'a présenté une aménorrhée pendant le traitement. En revanche, 33% des 30-39 ans et 96% des 40-49 ans et 100% des plus de 50ans en ont été victimes (80).

Il a également été noté un important effet mutagène sur les ovocytes de souris (53).

b. La toxicité dose dépendante

La durée de la chimiothérapie et la dose cumulée sont également des facteurs clés. Plus la dose cumulée reçue augmente et plus le risque de toxicité sur la fonction ovarienne est important. A titre d'exemple, le Chlorambucil est inducteur d'aménorrhée pour une dose totale de 840 à 1200mg (2).

L'utilisation de Cyclophosphamide dans le lupus érythémateux disséminé montre également des effets sur la fonction ovarienne : 12% des patientes traitées mensuellement par une dose de 0,5 à 1 g/m² de Cyclophosphamide pendant 7 mois ont développé une aménorrhée. Ce chiffre passe à 39% pour une thérapie d'au moins 15 mois et plus particulièrement chez les plus de 25 ans (57).

L'effet dose-dépendant est également lié à l'âge de la patiente. Une même molécule utilisée à une même dose s'avère plus néfaste chez les femmes plus âgées : 5,2 g/m² de cyclophosphamide sont responsables de l'induction d'aménorrhée chez les femmes ayant la quarantaine. Cette dose est augmentée à 9,3 g/m² chez les femmes d'une trentaine d'années (2). A plus de 20 g/m², beaucoup d'adolescentes ont des cycles normaux (73).

c. La toxicité liée à l'âge de la patiente

1. Cas de la femme

Toutes les femmes sont susceptibles de développer une aménorrhée pendant ou à la suite d'un traitement anti-cancéreux, mais l'atrésie physiologique diminuant le stock de follicules primordiaux rend naturellement les femmes plus âgées, plus sensibles à ces agents. Plus l'âge au moment de la chimiothérapie est élevé, plus les femmes risquent de développer une aménorrhée rapidement et définitivement. La présence d'un stock plus important de follicules primordiaux chez les femmes jeunes (<35 ans) permet de diminuer l'incidence des AOF (80).

1.1. Exemple de protocole

Il a d'abord été noté que le Chlorambucil induisait plus particulièrement des aménorrhées chez les femmes de plus de 40 ans (2). Puis le suivi de nombreuses patientes confirme cet effet âge-dépendant.

- 40% des femmes de moins de 40 ans recevant un protocole CMF (Cyclophosphamide – Méthotrexate – 5-Fluoro-uracile) développent une aménorrhée.

- L'incidence chez les femmes de plus de 40 ans est beaucoup plus élevée (29) : 76%. La durée de ce traitement variant de 4 mois à 24 mois. (80, 81)

1.2. Délai de survenue de l'insuffisance ovarienne

Ce délai est lié au protocole et à l'âge de la patiente. Plus l'âge au moment de la chimiothérapie est élevé, plus l'AOF survient rapidement. Dans les protocoles CMF, les femmes de moins de 40 ans développent une AOF en 4 à 8 mois. Ce délai est réduit de 2 à 4 mois chez les femmes plus âgées (45).

1.3. Durée de l'aménorrhée

Il n'y a pas de consensus sur la durée de l'aménorrhée. Certains auteurs montrent que la récupération de la fonction ovarienne semble improbable lorsque les cycles ne se sont pas rétablis dans les 3 mois qui suivent la fin du traitement (32). D'autres montrent que si elle survient pendant le traitement, le rétablissement des cycles se fait dans les 6 mois (80) qui suivent la fin de celui-ci.

En revanche, la reprise des cycles après 12 mois chez les moins de 35 ans n'est pas bien connue. Elle pourrait avoir un lien avec une pathologie utérine (45). Après une période de 12 mois d'aménorrhée, celle-ci est considérée comme définitive.

La durée de l'AOF dépend à la fois de la ou des molécules utilisées ainsi que de l'âge. Plus les femmes ont un âge avancé au moment du traitement, plus l'aménorrhée risque d'être définitive. En effet, pendant le temps nécessaire à une étude, 56% des moins de 40 ans ont retrouvé une fonction ovarienne comparés à moins de 11% des femmes de plus de 40 ans (80).

2. Cas de l'enfant

L'ovaire des fillettes et des adolescentes résiste mieux à la toxicité des anti-cancéreux que l'ovaire adulte (2, 77).

Les agents Alkylants se montrent encore une fois plus toxiques et surtout à forte dose. Mais seulement 13 % des filles développent une aménorrhée suite à un traitement contenant des Alkylants (MOPP) et les cas d'aménorrhée permanente sont rares.

Les traitements réalisés avant la puberté ont également un effet sur la croissance folliculaire et les réserves ovariennes entraînant un risque d'impubérisme.

d. Les polychimiothérapies

L'utilisation d'une association de cytotoxiques permet d'augmenter le pouvoir thérapeutique, mais elle entraîne également une augmentation des risques de survenue des effets secondaires.

La présence d'un Alkylant dans le protocole est le facteur le plus important. Les femmes recevant une forte dose d'Alkylants ont un fort risque de développer une insuffisance ovarienne (77).

5.5. Les facteurs influençant le risque de ménopause précoce

Le risque est fonction des agents utilisés, de la dose et de l'âge au moment du traitement.

Les femmes traitées dans leur enfance, entre 13 et 19 ans et encore réglées à 21 ans, ont un risque d'être ménopausées entre l'âge de 21 et 25 ans 4 fois plus important que le reste de la population. 40% des femmes traitées dans leur enfance par des agents Alkylants, encore réglées à 21 ans seront ménopausées à 30 ans (73).

Un traitement par Alkylants multiplierait par 9,2 le risque de survenue d'une POF (77) et par 27 si il est associé à une radiothérapie abdomino-pelvienne (57). Une autre étude montre que le risque est plus important quand la chimiothérapie a lieu après la puberté et chez celles qui ont reçu des Alkylants et une irradiation abdomino-pelvienne (RR = 5,96) (77). Mais aucune des deux études ne précise toutes les modalités du traitement.

5.6. Effet sur l'utérus

A la différence des radiations ionisantes, la chimiothérapie n'affecte pas le développement de l'utérus ni sa taille définitive. Il n'a pas été noté de dommages ou de lésions utérines liés à une chimiothérapie (16).

5.7. Effets sur la fertilité

L'étude de Meirou réalisée sur des souris, montre que l'exposition au Cyclophosphamide à une dose de 75 mg/kg, n'affecte pas les capacités de reproduction en terme de taux d'ovulation, de fertilisation et de gestation de celles-ci. Mais une fécondation réalisée trop rapidement après traitement entraîne un risque d'échec et de malformation (58).

Les femmes ayant conservé ou récupéré leur fonction ovarienne après chimiothérapie ont la possibilité de conduire une grossesse à terme. Les études montrent que les grossesses de ces patientes se sont déroulées normalement (2). Il n'y a pas d'augmentation du nombre de fausse-couche (53) par rapport à la population générale.

5.8. Effets sur la descendance

Utilisés précocement au premier trimestre de la grossesse, les différents cytotoxiques entraînent la mort fœtale et un avortement spontané. Ensuite, ils sont responsables de malformations à hauteur de 17%.

Utilisés pendant le reste de la grossesse, ils entraînent avortement, retard de croissance *in utero*, naissance prématurée, faible poids de naissance. (83).

L'action mutagène des cytotoxiques sur les cellules germinales fait penser qu'il devrait y avoir une augmentation des anomalies génétiques dans la descendance des patientes traitées par chimiothérapie. Mais les études montrent qu'il n'y a pas d'augmentation du nombre de malformations, d'anomalies congénitales, ni de cancers chez les enfants nés de ces femmes. Le développement de ces enfants du point de vue physique et intellectuel est semblable à celui des autres (2, 32).

Des mécanismes d'autocorrection et la survenue d'avortements spontanés à un stade précoce de développement pourraient contribuer à ne pas faire augmenter la fréquence des anomalies génétiques (32). Compte tenu des probables effets mutagènes des traitements de chimiothérapie et radiothérapie, il est recommandé aux femmes traitées de ne pas débiter une grossesse avant 6-12 mois. Mais la destruction de la réserve ovarienne avançant d'autant l'âge de la ménopause amène ces femmes à ne pas trop retarder une maternité (57).

5.9 Conclusion

A la différence de la radiothérapie, les cytotoxiques n'entraînent pas de lésions utérines. Cependant, ils sont pourvoyeurs des mêmes effets ovariens compromettant la qualité de vie et la fertilité des patientes.

TROISIEME PARTIE

LES DIFFERENTES METHODES DE PRESERVATION DE LA FERTILITE

Les effets néfastes des traitements à l'encontre de l'appareil reproducteur nécessitent une prise en charge des patientes en vue de maintenir leur qualité de vie et de préserver leur fertilité future. Cette prise en charge passe par la mise en place d'une thérapeutique préventive qu'elle soit mécanique, médicamenteuse, chirurgicale ou cryoconservatrice visant à protéger les organes et la fonction ovarienne, si possible avant le début des traitements.

Le choix des techniques employées est l'aboutissement d'une réflexion pluridisciplinaire incluant les souhaits de la patiente. De nombreux facteurs doivent entrer en considération. Ceux-ci concernent le traitement lui-même mais aussi l'âge, la situation familiale, la pathologie de la patiente et le temps dont elle bénéficie avant le début du traitement.

A. La radioprotection des organes de la reproduction (52)

Les protocoles thérapeutiques doivent permettre de protéger au mieux les organes de la reproduction tout en conservant leur efficacité thérapeutique : calculs de doses, protections plombées.

1. La protection des ovaires

La maturation folliculaire des ovocytes résiduels, survivants aux radiations, peut être obtenue. Cependant, la fibrose radio-induite limite leur capacité de développement. Protéger les ovaires des radiations représente une chance d'obtenir une grossesse spontanée.

2. La protection de l'utérus

L'obtention et le maintien d'une grossesse nécessitent une qualité utérine permettant à la fois la nidation, le développement placentaire et fœtal et le travail. Les séquelles radio-induites telles que l'hypovascularisation et l'atrophie utérine sont des éléments importants à prendre en compte lors de la mise en place du traitement pour préserver au mieux la fertilité future des patientes.

B. Les méthodes chirurgicales

Ces méthodes ont pour but de protéger la fonction ovarienne et la fertilité des patientes contre les effets délétères de la radiothérapie externe et la curiethérapie.

Il s'agit de déplacer les ovaires en dehors du champ d'irradiation. Deux grands procédés chirurgicaux existent : la transplantation ovarienne et la transposition ovarienne.

1. La transplantation hétérotopique ovarienne

La transplantation consiste à sectionner l'ensemble des pédicules vasculaires de l'ovaire, puis à les ré-anastomoser sur le site receveur (100). Peu de cas de transplantation d'ovaires (non cryoconservés) sont relatés dans la littérature.

1.1. *Le premier cas* (38, 50)

La première transplantation ovarienne date de 1987 et a été réalisée par Leporrier et son équipe.

La patiente âgée de 18 ans devait subir une irradiation pelvienne pour traiter une maladie de Hodgkin. Trois mois avant l'intervention, une prothèse avait été placée au niveau du site receveur pour ménager une cavité sous-cutanée.

Après prélèvement, l'ovaire de la patiente a été placé dans cette cavité située au niveau de son avant-bras puis des anastomoses vasculaires avec la circulation locale ont été établies.

Un an après la procédure, une ponction ovarienne a permis d'identifier le premier ovocyte mature. L'ovaire transplanté a été fonctionnel pendant 16 années.

1.2. *Le second cas* (38)

En 2002, Hilders et son équipe ont réalisé avec succès la deuxième transplantation ovarienne.

Lors de la prise en charge chirurgicale d'un carcinome cervical par hystérectomie et lymphadectomie, l'ovaire gauche de la patiente a été prélevé. Il a ensuite été placé au niveau antérieur du bras gauche après une incision de 7 cm de celui-ci. Enfin des anastomoses veineuses et artérielles ont été réalisées.

Le suivi de cette patiente pendant plus de un an a montré une bonne vascularisation et une activité folliculaire cyclique du transplant (34).



Figure 17 : Prélèvement ovarien concomitant à une chirurgie suivi de la transplantation au niveau de l'avant-bras (38)

1.3. Conclusion

La transplantation ovarienne est rarement pratiquée mais offre une possibilité de maintenir une activité folliculaire suite à une irradiation pelvienne. Le suivi de cohorte plus importante permettrait d'évaluer le bénéfice réel de cette technique : maintien de la fonction ovarienne à long terme, qualité de vie.

2. La transposition ovarienne ou oophoropexie

La transposition ovarienne consiste à déplacer l'ovaire jusqu'au site receveur en conservant au moins un des pédicules vasculaires (100).

La première transposition visant à protéger la fonction ovarienne lors du traitement d'un cancer du col de l'utérus, date de la fin des années 50. Elle a été réalisée lors d'une laparotomie et les ovaires ont été fixés en position latérale (53, 62).

Avec l'évolution des techniques chirurgicales, les transpositions lors de laparotomie se font plus rares. Celles-ci ne s'effectuant plus que lors de la prise en charge chirurgicale du cancer.

Aujourd'hui c'est par des techniques moins invasives que les transpositions sont réalisées. La coelio-transposition, technique par coelioscopie permet ainsi de (15, 53, 57) :

- Réduire le temps d'hospitalisation,
- Réduire le risque de complications,
- D'instaurer le traitement plus rapidement,
- D'éviter l'échec par la migration des ovaires à leur position physiologique.

Deux variantes existent en fonction du site receveur.

2.1. La transposition médiane

Dans cette technique, la fixation des ovaires se fait par suture de façon postérieure à l'utérus. Parfois la faible longueur du ligament utéro-ovarien et du ligament infundibulo-pelvien ne permet pas d'atteindre le site receveur nécessitant alors des incisions supplémentaires (74).

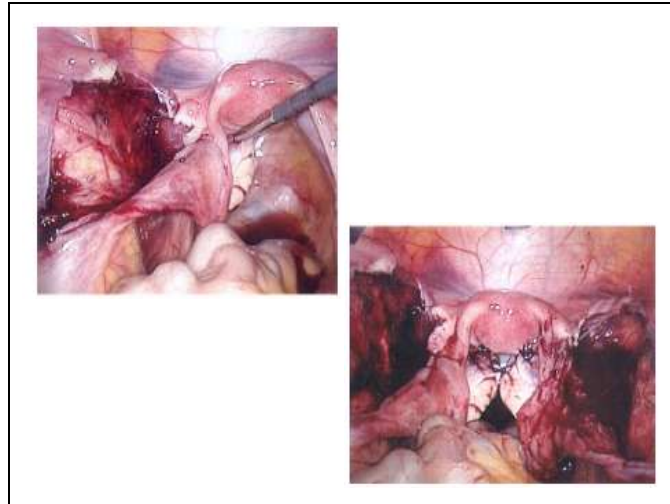


Figure 18 : Dissection péritonéale suivie de la fixation des ovaires derrière l'utérus (74)

2.2. La transposition latérale

Les premières transpositions latérales ovariennes fixaient les ovaires en dehors du pelvis protégeant des radiations pelviennes mais pas suffisamment des radiations abdominales (74).

Par la suite, les équipes ont positionné les ovaires le plus haut et le plus latéralement possible dans la gouttière pariéto-colique (53). Cette transposition latérale consiste en une section du ligament utéro-ovarien suivi d'une pédiculisation de l'ovaire sur le ligament lombo-ovarien (49, 74).

L'ovaire est ensuite fixé à l'aide d'un fil résorbable ou de tissu péritonéal latéralement et au dessus de la crête iliaque antéro-supérieure (15).

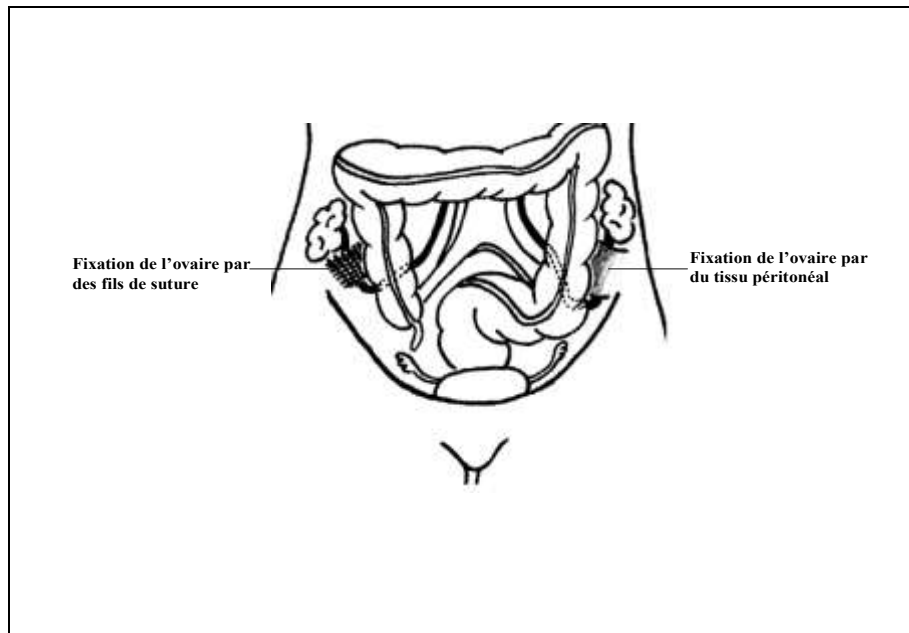


Figure 19 : Transposition des ovaires dans la gouttière pariéto-colique (15)

La transposition des deux ovaires est possible. Cependant l'intervention à gauche est compliquée par la présence du colon sigmoïde. Une mono-transposition concernera préférentiellement l'ovaire droit (57).

2.3. Indications de la coelio-transposition ovarienne (57)

Cette technique s'adresse aux patientes allant subir une irradiation pelvienne pour traiter :

- Un cancer gynécologique, pelvien,
- Une maladie hématologique comme maladie de Hodgkin.

Mais également aux patientes ayant subi un échec d'oophoropexie lors d'une laparotomie.

Le choix de déplacer les ovaires de façon médiane ou latérale dépend de l'anatomie de la patiente et de la pathologie donc du champ d'irradiation.

Par exemple, dans un cancer du col de l'utérus, une transposition latérale sera effectuée. Dans une maladie de Hodgkin, les ovaires pourront subir les deux types de déplacement. Mais dans ce cas, c'est la transposition latérale qui est préférée, positionnant ceux-ci vraiment en dehors du champ (16). En effet, même derrière l'utérus, les ovaires restent situés dans le champ d'irradiation et peuvent être soumis aux rayonnements diffusés.

2.4. Résultats

On peut évaluer l'efficacité de l'oophoropexie selon trois critères : la dose reçue, les cycles et la fertilité.

a. La dose

Des clips placés au niveau des ovaires transposés permettent leur détection radiologique ainsi que la mesure du niveau de radiations reçues.

La dose reçue par les ovaires transposés dans la gouttière pariéto-colique serait environ égale à 10% de la dose reçue par des ovaires non transposés (53, 76).

Lors d'un traitement d'une maladie de Hodgkin par irradiation en Y inversé, avec une dose totale de 40 Gy, moins de 4 Gy ont été reçus par la crête iliaque antéro-supérieure (15). Une autre étude montre une dose reçue entre 0,4 et 3,7 Gy sur une dose totale de 45 Gy (57).

b. La préservation de la fonction ovarienne

La coelio-transposition permet une conservation de la fonction ovarienne, c'est-à-dire évite une insuffisance ovarienne. Mais les taux de réussite varient de 15 à presque 90% (53, 76, 79).

Plusieurs raisons peuvent être évoquées :

- La dose totale et le rayonnement diffusé,
- La chimiothérapie utilisée en association ou précédemment,
- L'âge de la patiente : La transposition ovarienne chez les femmes de moins de 40 ans permet une conservation de la fonction ovarienne dans 80,6% des cas (4).
- La technique (57, 74) :
 - Des dommages vasculaires peuvent être créés lors de l'intervention,
 - Un délai trop long entre la laparotomie et la radiothérapie est responsable d'une migration ovarienne,
 - Un déplacement des ovaires insuffisamment en dehors du champ.

Le délai de retour des cycles spontanés et de la normalisation des taux hormonaux ne fait pas l'objet d'étude. Cependant on peut les préciser par la citation de deux cas :

- Dans le cadre d'une transposition médiane réalisée chez une jeune fille de 19 ans, le retour des cycles s'est fait 16 mois après la fin de la thérapie. La normalisation des taux de gonadotrophines et d'oestrogènes s'est étalée sur 22 mois. A noter que cette jeune fille traitée pour une maladie de Hodgkin avait précédemment subi une chimiothérapie (74).
- Le suivi sur 20 mois de 4 femmes ayant subi une transposition ovarienne latérale, met en évidence un retour des cycles rapidement après la fin de la thérapie : 2 à 10 mois. Leurs taux d'hormones ovariennes et gonadotropes étaient également normaux. Pour l'une d'entre elles, les cycles n'avaient pas été perturbés (15).

c. La fertilité

Suite à ces techniques, une centaine de grossesses a été obtenue dans le monde. Il est estimé qu'environ 15% des patientes auront une grossesse après transposition (100).

Des cas de grossesses spontanées après transposition sont recensés dans la littérature (43) notamment après des transpositions médianes (74).

Cependant dans la majorité des cas, la conception requiert des techniques de fécondation *in vitro* (57). Le recueil des ovocytes après stimulation ovarienne s'avère alors plus compliquée nécessitant une deuxième intervention pour replacer les ovaires dans leur position initiale. Ce recueil peut également se faire en percutané diminuant son efficacité (43).

A noter que certains auteurs à la vue de leurs résultats, concluent que la re-transposition après transposition latérale n'est pas essentielle (62).

2.5. Les risques

L'intervention peut entraîner des dommages au niveau de la vascularisation ovarienne, des trompes, des uretères (57). Dans 24% des cas, la formation de kystes ovariens a été observée nécessitant dans 1 à 4% des cas une intervention chirurgicale. Suite à la formation d'adhérences, des inclusions péritonéales peuvent se former (75).

Des cas de métastases ovariennes après transposition ont été démontrés limitant l'indication de celle-ci en présence de certains facteurs comme : l'infiltration de l'isthme et du corps utérin, un type adénocarcinomateux, la présence d'embolies vasculaires et/ou lymphatiques et l'envahissement ganglionnaire (49).

2.6. Conclusion

La transposition ovarienne doit préférentiellement se faire par coelioscopie et concerner l'ovaire droit. Elle s'adresse aux patientes de moins de trente ans devant subir une irradiation dont le champ contient les ovaires.

Elle a pour avantage de permettre une mise en route rapide du traitement par irradiation : les études font état d'une semaine (15, 74).

Des résultats positifs ont été obtenus, cependant, l'oophoropexie ne présente pas un intérêt majeur pour de fortes doses d'irradiation (35 Gy), pour des irradiations abdominales et totales ou quand une chimiothérapie a été ou doit être effectuée.

C. Les méthodes chimiques ou médicamenteuses

Les procédés médicamenteux sont dans la majorité des cas utilisés dans le but de protéger la fonction ovarienne en menant à un état pré-pubère artificiel démontré comme moins sensible

aux traitements. De plus, certaines molécules ont montré que leur utilisation pouvait faire régresser les effets d'une radiothérapie.

1. Les progestatifs et les oestroprogestatifs

1.1. Les progestatifs

Chez le rat, la progestérone administrée une semaine avant le traitement par Cyclophosphamide à la dose de 6 mg/kg pendant 3 semaines permet de maintenir les taux de fertilité et de fécondité (61).

Chez la femme, l'éventuel rôle protecteur de la Médroxyprogestérone a été étudié par Familiari *et al.* Les résultats des biopsies de cortex ovarien montrent que la perte de follicules est moins importante dans le groupe ayant reçu de la Médroxyprogestérone mais l'atrésie folliculaire reste cependant importante (29).

1.2. Les oestroprogestatifs

a. Dans l'espèce animale (51)

Chez le rat, une étude montre qu'il n'existe pas de différence significative du nombre de follicules ovariens résiduels entre un groupe traité par Cyclophosphamide uniquement et un autre groupe traité conjointement par Cyclophosphamide, 50 mg d'Ethinylestradiol et de 2 mg de Norgestrel (avant et pendant le traitement).

Ces résultats ne concluent pas à un effet protecteur de cette association oestroprogestative.

b. Chez la femme

1. Effet chimioprotecteur

Chapman *et al* ont montré que l'administration d'Ethinylestradiol (50 µg) et de Noréthistérone (2,5 mg) chez la femme traitée par MVPP (moutarde à l'azote – Vinblastine – Procarbazine – Prednisone) lors de la maladie de Hodgkin permet de maintenir le nombre de follicules ovariens et un cycle hormonal (12). Ces résultats ne concordent pas avec ceux d'autres auteurs notamment ceux de Whitehead. Pour lui, les contraceptifs n'exercent pas d'effet protecteur (53).

Le suivi récent de femmes souffrant d'un lymphome de Hodgkin semble montrer un effet bénéfique d'une contraception durant le traitement : 10,1% des femmes sous contraceptif ont présenté une aménorrhée contre 44,1% des femmes sans contraception (3).

2. Amélioration de la qualité utérine (52)

Un traitement hormonal de substitution permet (pour des irradiations inférieures à 30 Gy) une amélioration des paramètres utérins : volume, vascularisation ainsi que le développement endométrial. Ceci a été montré chez des jeunes filles ayant subi une irradiation corporelle totale. Cependant la récupération est moindre chez les patientes irradiées avant la puberté.

Une augmentation des doses d'oestradiol chez des femmes ovarioprives sous traitement hormonal substitutif (THS) a favorisé l'implantation d'embryons issus de dons d'ovocytes et de fécondation *in vitro* (FIV) entraînant une augmentation du taux de grossesse clinique par transfert de 0 à 11%.

La mise en place de traitements anti-oxydants est également une réponse que l'on peut apporter face à la fibrose et au manque de développement utérin conséquents à l'irradiation.

2. Les anti-oxydants (52)

Il a été montré par Sugino, qu'un traitement anti-oxydant pouvait agir sur la prolifération de l'endomètre et permettre le maintien d'une grossesse.

L'association de deux anti-oxydants, la Pentoxifylline (800 mg/J) et la vitamine E (1000 UI/J), a permis la régression de la fibrose utérine : 53 à 66% en respectivement 6 mois et un an.

Ce traitement est également à l'origine d'une amélioration significative des paramètres utérins (volume, vascularisation, épaisseur endométriale) chez des femmes irradiées par plus de 45 Gy 25 ans auparavant.

Deux grossesses (issues du don d'ovocytes) ont été obtenues chez des femmes ménopausées suite à une irradiation corporelle totale et ayant utilisé cette association médicamenteuse.

L'effet réel de l'ensemble de ces molécules n'est pas encore démontré et est même controversé pour certaines. De nouvelles investigations, surtout dans l'espèce humaine sont nécessaires. Cependant, certains traitements comme les anti-oxydants nourrissent beaucoup d'espoir quant à l'amélioration voire la disparition des effets d'une radiothérapie sur l'utérus.

3. Les analogues de la Gonadotrophin Releasing Hormone (GnRH-a)

3.1. Indications

Les analogues de la GnRH (agonistes) trouvent leurs indications habituelles dans différents domaines.

Tableau 8 : Indications des GnRH-a par molécule (23)

DCI	Spécialités	Indications		
		Oncologie	Gynécologie	PMA
Buséréline	Bigonist®	Cancer de la prostate		
	Suprefact®	Cancer de la prostate		Stimulation de l'ovulation
Goséréline	Zoladex®	Cancer de la prostate Cancer du sein		
Leuproréline	Enantone®	Cancer de la prostate Cancer du sein	Fibrome utérin, Endométriose Puberté précoce	
	Lucrin®	Cancer de la prostate		
Nafaréline	Synarel®			Stimulation de l'ovulation
Triptoréline	Décapeptyl®	Cancer de la prostate	Fibrome utérin Endométriose Puberté précoce	Stimulation de l'ovulation

3.2. Mécanisme d'action pharmacologique (23)

La fixation de ces molécules sur les récepteurs centraux et tissulaires de la GnRH entraîne une augmentation primaire de la sécrétion des gonadotrophines hypophysaires puis une inhibition de celle-ci résultant en une castration pharmacologique.

3.3. Les résultats de leur utilisation sur la protection de la fonction ovarienne

a. Chez l'animal

Plusieurs investigations chez la rate ont montré que ces analogues pouvaient empêcher les dommages d'une chimiothérapie (5).

Chez la souris, de nouvelles études ne montrent pas de bénéfice à leur utilisation lors d'un traitement par Cyclophosphamide. En effet, l'atteinte folliculaire des différents groupes (Cyclophosphamide vs Cyclophosphamide + GnRH-a) est semblable (80).

Cependant Montz avait auparavant expérimenté que l'administration de Lupron (acétate de leuprolide) pouvait préserver la fertilité mais pas le taux de fécondité (61).

Chez le singe, l'utilisation d'un agoniste de la GnRH pendant un traitement avec le Cyclophosphamide, a montré une diminution de la destruction des follicules primordiaux : 71% de la réserve ovarienne sont conservés contre 35% sans analogue. En revanche, aucun effet protecteur n'est montré vis-à-vis des radiations (57, 80).

b. Chez la femme

Chez la femme, les résultats des études menées divergent.

L'une d'entre elles réalise le suivi pendant 3 ans de 18 femmes, traitées pour une maladie de Hodgkin. Cette étude n'a pas montré de différence significative concernant la survenue d'aménorrhée entre le groupe témoin et le groupe traité par Buséreline (0,6 mg/Jour) avant et pendant la chimiothérapie. Les auteurs ne concluent donc pas à un effet bénéfique des analogues à ces doses (67, 79, 80).

En revanche, différentes études de Blumenfeld s'opposent à ces résultats. L'une de ces études étudie chez 60 patientes, l'administration mensuelle de Décapeptyl®, commençant 7 à 10 jours avant les traitements oncologiques (Chimiothérapie +/- Radiothérapie) et se poursuivant pendant 6 mois. Ce groupe a été comparé à un groupe témoin semblable en tout point excepté l'administration de Décapeptyl®.

Dans cette étude, 95% des femmes traitées par Décapeptyl® retrouvent une fonction ovarienne cyclique contre 45% sans analogue (5).

En revanche, les taux de grossesses (spontanées) sont similaires dans les deux groupes. Mais on note que chez les patientes ayant pu concevoir, la moyenne d'âge au moment de la thérapie est plus importante dans le groupe traité. Blumenfeld conclue que les analogues pourraient prolonger la durée de la fertilité (5, 6).

Deux grossesses spontanées dont l'une a conduit à une naissance ont été obtenues chez une femme ayant subi à deux reprises une préparation à une greffe de moelle osseuse. Un traitement par analogue de la GnRH aurait permis d'augmenter ses chances de conception considérées comme négligeables après ces traitements (89).

3.4. Mécanismes évoqués

Le mécanisme visant au maintien de la fonction ovarienne n'est pas connu. Différentes hypothèses sont avancées (6, 59).

- L'hypogonadisme induit par ces molécules conduirait à une hypoperfusion utéro-ovarienne et diminuerait l'exposition des ovaires aux cytotoxiques.
- Les analogues de la GnRH préserveraient le stock de follicules primordiaux par une action indirecte (ceux-ci n'exprimant pas les récepteurs de la GnRH) :

Lors d'un traitement, la diminution du taux d'oestrogènes et d'inhibine due à la destruction des différents follicules, lèverait le rétrocontrôle sur l'hypothalamus. La sécrétion d'hormones hypophysaires résultante induirait la maturation de follicules primordiaux les exposant aux cytotoxiques et aggravant le phénomène.

En inhibant l'axe hypothalamo-hypophysaire, les analogues de la GnRH empêchent la croissance folliculaire. Les follicules primordiaux étant dénués de cellules de la granulosa, l'apoptose n'intervient pas. Ainsi le stock de follicules primordiaux et la fonction ovarienne sont conservés (6, 38).

- Les analogues de la GnRH seraient à l'origine d'une sécrétion intra-ovarienne de sphingosine-1-phosphate, molécule potentiellement inhibitrice de l'apoptose (5).

3.5. Conclusion

Beaucoup de recherches concernent aujourd'hui les analogues de la GnRH, mais leur effet protecteur de la fonction ovarienne vis-à-vis des cytotoxiques est loin d'être démontré et pourrait dépendre de certains facteurs comme l'agent cytotoxique, la dose ou l'âge de la patiente. Peu de recherches concernent la radiothérapie.

Des études montrent des résultats positifs (maintien des cycles, grossesses) mais ne font pas état de la préservation du stock de follicules primordiaux et de la fonction ovarienne à long terme (ménopauses précoces) du fait d'un suivi trop court.

De futures investigations pourraient permettre de définir le véritable mode d'action et d'établir des protocoles : le moment de l'administration, la dose et la durée. Mais leur action potentiellement néfaste sur l'efficacité de la chimiothérapie pourrait devenir un frein à leur utilisation (67).

4. Les Inhibiteurs des voies de l'apoptose (37)

L'apoptose est un phénomène naturel conduisant à la mort cellulaire. Faisant intervenir une cascade de signaux cellulaires, ce phénomène est régi par un équilibre entre des acteurs pro-apoptotiques et des acteurs anti-apoptotiques. Sous l'influence de différents facteurs comme le stress et les toxiques, l'équilibre est rompu laissant place à l'action des différents acteurs.

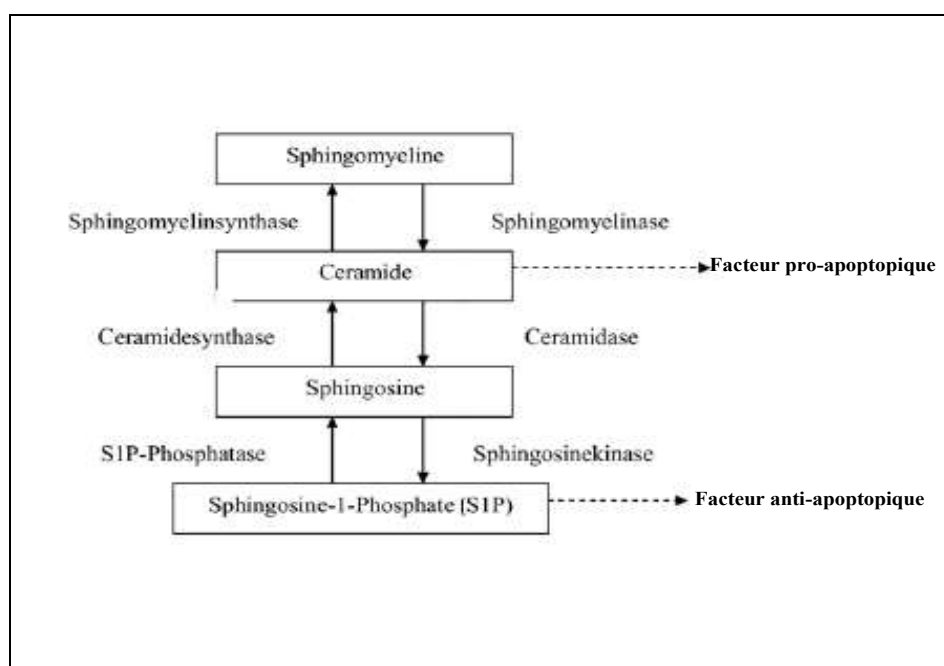


Figure 20 : Synthèse des facteurs impliqués dans l'apoptose à partir de lipides membranaires (37)

4.1. La sphingosine-1-phosphate (37)

L'apoptose étant un phénomène majeur dans la destruction des follicules ovariens par les toxiques, on peut penser que l'action sur l'équilibre pourrait éviter une destruction folliculaire et protéger la fonction ovarienne.

Cette hypothèse a été étudiée chez la souris par différentes équipes et notamment par l'utilisation de sphingosine-1-phosphate comme inhibiteur de l'apoptose.

La sphingosine-1-phosphate est un sphingolipide synthétisé par une kinase à partir de lipides membranaires. Elle est impliquée dans des phénomènes tels que la prolifération et la différenciation cellulaire.

a. L'effet chimioprotecteur de la sphingosine-1-phosphate

L'administration *ex-vivo* de sphingosine-1-phosphate permet aux follicules de résister à l'apoptose induite par la Doxorubicine et de prévenir ainsi la perte de follicules ovariens (53, 57, 80)

Ce résultat a été confirmé par une autre équipe en 2002. Dans cette étude, les femelles ayant reçu 2 mM de sphingosine-1-phosphate 1 heure avant l'administration de Dacarbazine, possèdent un nombre plus important de follicules que celles ayant reçu un véhicule neutre ou une plus faible concentration de sphingosine-1-phosphate (0,5 mM).

De plus le nombre de follicules présents sur les coupes histologiques est équivalent à celui des sujets n'ayant pas reçu l'anti-cancéreux. En revanche, les résultats ne permettent pas de conclure à de meilleurs taux de fécondité (37).

b. L'effet radioprotecteur de la sphingosine-1-phosphate

Cet effet protecteur a également été recherché lors de traitement par irradiation. L'injection de sphingosine-1-phosphate dans la cavité ovarienne de souris 2 heures avant irradiation permet d'éviter l'action des radiations. En effet, les souris recevant une forte concentration de cet inhibiteur possèdent un nombre de follicules semblable à celui des souris non irradiées. Des études complémentaires montrent que la descendance ne possède pas d'anomalie génétique (37).

c. Conclusion

Si l'effet protecteur de cet inhibiteur vis-à-vis des irradiations et des anti-cancéreux semble établi, il n'y a pour le moment pas d'application à l'espèce humaine. De futures études pourront évaluer dans quelle mesure la sphingosine-1-phosphate pourra être utilisée chez la femme.

4.2. Le céramide

Il est également possible d'agir sur les facteurs pro-apoptotiques. Le céramide est un sphingolipide synthétisé par une sphingomyélinase. A l'inverse de la sphingosine-1-phosphate, ce céramide est un facteur pro-apoptotique (37).

Il a été montré que l'inhibition de synthèse du céramide a permis d'empêcher l'action de la Doxorubicine (53).

4.3. Autres voies de recherche

L'implication de la famille des caspases dans la destruction des follicules ovariens (82) en fait une voie de recherche pour la préservation de la fonction ovarienne.

Dans l'avenir, la découverte des mécanismes exacts de l'apoptose permettra d'identifier des cibles spécifiques permettant de limiter l'action des toxiques.

D. Les méthodes de cryoconservation : Congélation d'embryons, d'ovocytes et de tissu ovarien

Différentes techniques de cryoconservation sont disponibles pour tenter de préserver la fertilité des patientes avant la mise en route d'un traitement gonadotoxique. Toutes les méthodes ne peuvent être proposées à l'ensemble des patientes :

Pour les femmes adultes vivant en couple, il est possible d'effectuer une cryoconservation d'embryons, ou théoriquement pour les célibataires une congélation ovocytaire. Ceci sous réserve de ne pas retarder la prise en charge médicale. Seule la cryoconservation de tissu ovarien est possible chez la petite fille pré-pubère.

Pour une plus grande efficacité, ces différentes techniques devraient se faire avant toute exposition à des toxiques. Cependant, ce n'est pas toujours possible compte tenu de l'existence d'un premier traitement dans le passé ou de l'urgence des traitements.

1. Rappel sur le déroulement d'une fécondation *in vitro* (FIV) (57, 97)

La FIV se réalise en différentes étapes :

- La stimulation ovarienne,
- La ponction ovocytaire,
- Le prélèvement et la préparation du sperme,
- La mise en contact des gamètes (ou insémination),
- La fécondation *in vitro*,
- La mise en culture.

Les embryons obtenus sont alors conservés dans de l'azote. Si plus tard, la patiente désire un enfant, des embryons pourront être décongelés et transférés dans son utérus après préparation de celui-ci.

1.1. La stimulation ovarienne

Lors d'un cycle naturel, un seul ovocyte est obtenu par mois. La mise en contact de celui-ci avec des spermatozoïdes n'aboutit pas dans 100% des cas à la formation d'un embryon. La stimulation ovarienne, en vue d'une FIV a pour objectif le développement simultané de plusieurs follicules. Ainsi on multiplie les chances de fécondation et d'obtention d'embryons.

Cette stimulation comporte deux étapes :

a. Une phase de stimulation

Le développement et la maturation des follicules sont obtenus par l'administration de gonadotrophines folliculostimulantes (FSH, LH). Aujourd'hui, ce sont majoritairement les gonadotrophines obtenues par génie génétique, douées d'une activité FSH, qui sont utilisées en AMP.

Elles sont commercialisées sous le nom de Gonal-F® (follitropine α) et Purégon® (follitropine β).

Des dosages hormonaux (estradiol) et des échographies ovariennes seront régulièrement réalisés à partir du 6ème jour de stimulation. Ce monitoring a pour but de contrôler la réponse ovarienne permettant :

- D'adapter la posologie à chaque patiente,
- De prévenir les syndromes d'hyperstimulation.

En général, 10 à 12 jours de traitement sont nécessaires.

b. Une phase de blocage

La fonction de cette étape est de prévenir les ovulations spontanées en supprimant le pic de LH endogène. Le blocage des ovaires est réalisé par l'administration d'un analogue de la GnRH.

Différents protocoles existent en fonction de la nature de l'analogue.

1. Les protocoles utilisant un agoniste de la GnRH.

En se fixant sur les récepteurs hypophysaires de la GnRH, ces médicaments sont à l'origine d'une augmentation primaire de la sécrétion de gonadotrophines puis d'une inhibition de

celle-ci par désensibilisation de l'hypophyse (suppression de la pulsativité). Il en résulte une mise au repos des ovaires.

Les différentes spécialités utilisées dans cette indication sont commercialisées sous le nom de : Triptoréline = Décapeptyl®, Buséreléline = Suprefact®, Nafaréline = Synarel®.

En règle générale, le traitement par agoniste de la GnRH commence une quinzaine de jours avant la stimulation par la FSH recombinante, temps nécessaire à la désensibilisation. La stimulation ne débute que lorsque le monitoring montre des ovaires bloqués.

Cependant, dans ce type de protocoles dits longs, on distingue deux sous-types en fonction de la forme galénique du médicament : les protocoles longs simples, les protocoles longs retardés.

D'autres procédés de stimulation par agoniste existent. Dans ces protocoles dits courts, l'agoniste de la GnRH est débuté en même temps que la stimulation entre le 1er et le 3ème jour du cycle.

Dans tous les cas, le blocage des ovaires se poursuit pendant toute la durée de la stimulation jusqu'au déclenchement de l'ovulation.

2. Les protocoles utilisant un antagoniste de la GnRH

Ces médicaments se fixent sur les récepteurs de la GnRH endogène empêchant l'action de celle-ci. L'antagonisme compétitif de ces molécules entraîne rapidement un hypogonadisme. Les spécialités commercialisées sont : Cétrorelis = Cétrotid® et Ganirélix = Orgalutran®.

Dans ces protocoles, le blocage des ovaires est plus tardif. L'administration de ces analogues ne se fait qu'après 6 ou 7 jours de stimulation et se poursuit jusqu'au déclenchement de l'ovulation.

1.2. Le déclenchement de l'ovulation et la ponction ovocytaire (J1)

Les échographies et les dosages hormonaux permettent de définir si la durée de stimulation est suffisante. L'ovulation est déclenchée quand :

- Plusieurs follicules de 15 à 18 mm se sont développés à la surface de l'ovaire,
- L'endomètre montre une épaisseur d'au moins 8 mm,
- L'oestradiolémie est suffisante.

On réalise le déclenchement de l'ovulation par l'injection de gonadotrophine Chorionique Humaine (hCG = Ovitrelle®). Cette hormone mime les effets du pic de LH et permet de rendre les ovocytes fécondables c'est-à-dire de terminer leur maturation.

Pour collecter les ovocytes, la patiente bénéficie d'une ponction folliculaire sous anesthésie locale ou générale 36 heures après l'injection d'hCG.

Sous contrôle échographique, le gynécologue introduit une sonde par voie vaginale. L'aiguille traverse la paroi et atteint les ovaires. Le contenu des follicules matures est aspiré dans la

seringue. L'ensemble du liquide folliculaire est examiné au microscope. Seuls les ovocytes matures entourés de leur *cumulus oophorus* sont incubés à 37° dans un milieu de culture permettant leur survie.

1.3. Le prélèvement et la préparation du sperme

Le jour de la ponction ovocytaire et après 2 à 3 jours d'abstinence, le conjoint recueille l'éjaculat par masturbation après une toilette rigoureuse. Le sperme est alors traité au laboratoire afin de préparer les spermatozoïdes à la fécondation. Les différentes étapes de ce traitement remplacent le pouvoir de la glaire cervicale à sélectionner et à capaciter les spermatozoïdes.

L'échantillon est déposé sur un gradient de particules de silice colloïdale puis centrifugé (1800 tours/min pendant 20 min) afin de séparer les différentes fractions. Tout le surnageant contenant le liquide séminal, divers débris cellulaires et les spermatozoïdes morts ou anormaux, est éliminé. Seul le culot contenant les spermatozoïdes normaux est conservé.

Du milieu de culture (Ferticult®) est déposé dans le tube contenant le culot. Une homogénéisation est réalisée avec une pastette afin d'effectuer un lavage. Une seconde centrifugation est alors effectuée (2000 tours/min pendant 10min) et permet d'éliminer les débris résiduels.

Au-dessus du culot, 500 µL du milieu de culture sont ajoutés. Les tubes sont ensuite placés en étuve à 37° pendant 2 heures, sous 5% de CO₂ dans l'air.

En l'absence de spermatozoïdes dans l'éjaculat, le recueil se fait par prélèvement chirurgical. Dans une FIV traditionnelle, le sperme peut provenir du conjoint ou d'un donneur anonyme.

1.4. L'insémination

Après les étapes de préparation propre à chaque type de gamète, ovocytes et spermatozoïdes sont mis en contact dans un milieu de culture et placés dans un incubateur à 37° (J1). Parfois la qualité des spermatozoïdes est insuffisante et nécessite une aide à la fécondation se faisant par ICSI (Injection Intra-Cytoplasmique de Spermatozoïdes).

Au bout de 24 heures (J2), si la fécondation a eu lieu, le biologiste observe dans les différents puits, un ou plusieurs zygotes à deux pronuclei. Ces embryons seront régulièrement examinés pour évaluer leur cinétique de développement et les stades embryonnaires.

1.5. Le transfert embryonnaire

Après discussion avec le couple et en fonction du cas, le biologiste décide du nombre d'embryons à implanter (pas plus de 2). La possibilité de congélation des embryons surnuméraires est également évoquée.

Dans une FIV traditionnelle, le ou les embryons obtenus peuvent être transférés à plusieurs stades : J3 à 8 cellules ou J5 au stade blastocyste. Le transfert dans l'utérus est indolore et s'effectue à l'aide d'un cathéter de transfert.

Pour favoriser la nidation de l'embryon, un traitement par progestérone est instauré chez la patiente (400 mg/jour par voie vaginale). Un dosage de β -hCG sera effectué 11 jours après le transfert pour diagnostiquer une grossesse.

2. La cryoconservation d'embryons

2.1. Indication

La cryoconservation d'embryons est traditionnellement utilisée pour conserver les embryons surnuméraires lors des protocoles de procréation médicale assistée par fécondation *in vitro*. La cryoconservation permet ainsi d'augmenter les chances de grossesse à partir d'une même ponction.

C'est l'une des méthodes qui pourra être proposée aux patientes allant recevoir un traitement potentiellement castrateur en vue de préserver leur fertilité future.

2.2. Les contraintes relatives à la patiente (45, 53, 80)

Cette technique bien qu'elle permette de préserver la fertilité, ne peut concerner toutes les patientes.

Il faut que la patiente remplisse les conditions permettant de bénéficier d'une AMP (Art. L. 2141-2 du code de la santé publique) :

- être en âge de procréer (pubère),
- être accompagnée d'un conjoint consentant et que le couple soit stable (mariés ou justifiant de 2 ans de vie commune).

La patiente doit ensuite disposer d'un certain temps avant de débiter son traitement anti-cancéreux. Mais parfois l'état de la patiente et l'urgence des traitements ne sont pas compatibles avec une prise en charge (durée de la stimulation).

Enfin, la stimulation ovarienne nécessaire est à l'origine d'une forte augmentation de l'oestradiolémie (dix à quinze fois la valeur normale) pouvant représenter une contre-indication dans le cadre des cancers hormono-dépendants (cancer du sein, cancer du col de l'utérus). Pour ces patientes, d'autres protocoles de stimulation ont été étudiés.

2.3. Alternatives aux protocoles classiques de stimulation

L'utilisation hors-AMM d'anti-oestrogènes et d'inhibiteurs de l'aromatase permet d'assurer une bonne stimulation sans mettre la patiente en danger.

a. Le Tamoxiphène

1. Indications (23)

Ce dérivé du triphényléthylène est indiqué dans :

- Le traitement du cancer du sein et de ses métastases,
- La prévention secondaire du cancer du sein (2^{ème} après atteinte du 1^{er}).

2. Mécanisme d'action (23)

Le Tamoxiphène se fixe sur les récepteurs oestrogéniques. Il mime l'action des oestrogènes sur certains tissus et empêche l'action des oestrogènes endogènes sur d'autres tissus notamment du sein.

3. Utilisation

Il a été observé que cette molécule pouvait stimuler la croissance folliculaire et être aussi efficace que le Clomiphène (inducteur de l'ovulation de 1^{ère} intention) dans la prise en charge des infertilités par anovulation.

Une étude a montré que l'administration de Tamoxiphène (40 à 60 mg par jour) au 2 ou 3^{ème} jour du cycle permet d'obtenir un nombre d'ovocytes matures et d'embryons plus important que lors d'un cycle non stimulé de FIV.

Cette étude rapporte également la première grossesse obtenue par le transfert d'un embryon congelé issu d'une FIV après stimulation par le Tamoxiphène (53, 80).

b. Le Létrozole

1. Indication et mécanisme pharmacologique (23)

Le Létrozole est un inhibiteur spécifique de l'aromatase. Il empêche la transformation des androgènes en oestrogènes. Il est indiqué dans le traitement du cancer du sein hormono-dépendant chez la femme ménopausée.

2. Utilisation

Le Létrozole a été étudié comme inducteur de l'ovulation seul ou en association avec une hormone folliculostimulante. L'utilisation de Létrozole combiné à la FSH lors de cycles de FIV permet d'obtenir un nombre d'ovocytes et d'embryons similaire à des cycles de FIV classiques (80). Les résultats sont même supérieurs à ceux obtenus par l'utilisation de Tamoxiphène seul ou en association avec la FSH.

Cette molécule agirait en levant le rétrocontrôle négatif des oestrogènes sur l'axe hypothalamo-hypophysaire et en augmentant la sensibilité des follicules aux gonadotrophines.

Ce type de stimulation permet d'obtenir des taux d'oestrogènes légèrement plus élevés que lors de cycle naturel et plus faibles qu'avec des protocoles classiques de stimulation (80). Plusieurs naissances ont ainsi été obtenues.

Ces molécules permettent de stimuler la fonction ovarienne en inhibant les effets délétères des oestrogènes sur les tissus cancéreux hormono-dépendants.

2.4. Principes de la cryoconservation et conséquences sur l'embryon (34, 48)

Les premières congélations embryonnaires animales (souris et vache) datent des années 70. Dans l'espèce humaine, cette conservation a été proposée dans les années 80 avec une première naissance obtenue en 1983 (35). Le but est de conserver l'embryon à des températures telles que les phénomènes biologiques soient arrêtés et de restaurer ensuite la vie biologique par décongélation avant transfert de l'embryon dans l'utérus (34).

a. Congélation de l'eau

La congélation de l'eau pure est le résultat d'un brutal passage de l'eau liquide à l'état solide. Cette transformation a lieu entre -4° et 0°C , zone dite de « surfusion ». C'est une réaction exothermique faisant remonter la température à 0° , température de congélation de l'eau.

Le point de surfusion des sels est inférieur à celui de l'eau pure. La congélation d'une eau contenant des sels entraîne ainsi une modification de la pression oncotique par concentration des sels dans un volume de plus en plus réduit. C'est « l'effet solution ».

b. Congélation de solution contenant des embryons

L'embryon humain est très sensible à la formation de cristaux de glace et à l'effet solution de part sa taille et sa richesse en eau.

La descente en température entraîne une cristallisation débutant dans le milieu extracellulaire. L'hypertonie résultante entraîne une sortie d'eau intracellulaire vers le milieu extracellulaire, donc une déshydratation de l'embryon.

Avec une déshydratation trop excessive, la concentration des solutés intracellulaires entraîne des modifications de la conformation des protéines ou la mort cellulaire. Si la déshydratation est insuffisante, des cristaux de glace intracellulaires de volume important se forment provoquant des lésions au niveau des organites et des membranes et la mort cellulaire.

C'est pourquoi depuis le début de ces techniques, différents procédés se sont développés visant à induire une déshydratation optimale et à empêcher au maximum la

formation des cristaux de glace et les « chellings injuries ». Toutes prennent en compte deux facteurs : l'utilisation de cryoprotecteurs et la vitesse de diminution de la température.

c. Les cryoprotecteurs

1. Les cryoprotecteurs pénétrants dans les cellules

Les plus utilisés sont : Le diméthylsulfoxyde (DMSO), le glycérol, le propane-1,2-diol (propanediol).

Solubles dans l'eau, ils augmentent la viscosité du milieu en fonction de leur concentration limitant la taille des cristaux. Ils permettent une déshydratation en se substituant à l'eau intracellulaire, diminuent l'effet solution et abaissent le point de congélation des solutions. Ils sont qualifiés d' « anti-gel cellulaire ».

2. Les cryoprotecteurs non pénétrants

De nature osidique (saccharose (sucrose), galactose, tréhalose...), leur pouvoir osmotique facilite la déshydratation en augmentant l'osmolarité du milieu extracellulaire, la sortie du cryoprotecteur et évite une entrée trop massive d'eau à la décongélation.

Les macromolécules comme le polyvinylpyrrolidone (PVP), le Ficoll (polymère de saccharose) ou des protéines augmentent la viscosité du milieu (limitant la rapidité des mouvements et la taille des cristaux) et augmentent la pression oncotique réduisant la quantité de cryoprotecteur pénétrant nécessaire à la congélation.

d. La vitesse de diminution de la température : La congélation lente et la vitrification

1. La congélation lente

Dans la technique de congélation lente ou congélation à l'équilibre, les embryons sont passés dans des milieux contenant une concentration faible mais croissante de cryoprotecteurs.

Les embryons contenus dans la solution cryoprotectrice sont ensuite conditionnés dans des paillettes (250 µL) puis refroidis selon des protocoles de descente lente en température pour permettre la déshydratation.

La présence de cryoprotecteurs dans les solutions de congélation abaisse le point de cristallisation de la solution (-15°) et augmente la zone de surfusion et le risque de formation de gros cristaux de glace dans le milieu intracellulaire. Il est nécessaire de diminuer ce risque en induisant la cristallisation à une température supérieure. Le seeding ou induction de la cristallisation est en général réalisé à -7°C.

Après avoir atteint une certaine température (-30 ou -80°C en fonction des protocoles), les paillettes sont rapidement plongées dans l'azote liquide à -196°C.

2. La vitrification

Dans cette technique apparue dans les années 80, les embryons sont exposés à une solution de cryoprotecteur(s) (éthylène glycol +/- DMSO) en forte concentration pendant un temps très bref. Les embryons contenus dans cette solution sont ensuite conditionnés dans des paillettes et rapidement plongés dans l'azote liquide à -196°C.

La forte concentration en cryoprotecteur associée à un refroidissement rapide permet une bonne déshydratation du milieu et la transformation du milieu intracellulaire en un milieu amorphe ou « vitreux » où l'organisation en cristaux de glace n'a pas le temps de se faire évitant ainsi les dommages cellulaires.

Il faut noter que la vitrification présente quelques inconvénients :

- Toxicité des cryoprotecteurs utilisés à forte concentration. Pour y remédier on peut : Associer plusieurs cryoprotecteurs pour diminuer la concentration de chacun d'entre eux ou utiliser des macromolécules augmentant la viscosité du milieu pour diminuer la concentration des cryoprotecteurs pénétrants
- Mauvaises conditions de sécurité microbiologique (au début de son utilisation) : les échanges thermiques devant être rapides, des dispositifs de stockage non étanches étaient utilisés.

3. Techniques dérivées de la vitrification

Pour améliorer la technique de vitrification, des kits de vitrification, des formules cryoprotectrices et de nouveaux supports (paillettes ultra-fines, anneaux...) se développent donnant naissance à de nouvelles techniques (OPS, super OPS, cryoloop).

e. Les procédés de décongélation

Les embryons seront soumis au protocole de décongélation la veille ou le matin du transfert dans l'utérus. Les procédés de décongélation dépendent du protocole de congélation choisi (35).

Le réchauffement des paillettes peut se faire dans un bain marie à 37° ou à l'étuve. Dans tous les cas, le réchauffement sera suivi de l'élimination du cryoprotecteur par passage des embryons dans des bains de cryoprotecteurs de concentration décroissante (48).

Le transfert dans l'utérus se fait de façon similaire à un transfert d'embryons frais.

2.5. Les résultats de la cryoconservation embryonnaire

a. La survie embryonnaire

Un embryon est considéré comme ayant survécu à la congélation/décongélation si au moins la moitié de ses blastomères sont intacts.

La congélation embryonnaire est aujourd'hui une technique de routine permettant d'obtenir des taux de survie de plus de 80%. Ces valeurs varient en fonction des procédés mis en œuvre (technique, cryoprotecteurs...) et du stade de congélation choisi : zygote, embryon clivé précoce, blastocyste (35, 48).

Tableau 9 : Taux de survie embryonnaire en fonction du stade choisi pour la congélation (35, 48)

	zygote	embryon	blastocyste
Taux de survie	74 à 87 %	62 à 80 %	52 à 80 %

b. Les résultats en terme de grossesses (24)

Les protocoles de congélation/décongélation ont évolué pour amener les résultats de la congélation embryonnaire à des « rendements » proches des protocoles avec transfert d'embryons frais. Cependant les résultats restent inférieurs :

Tableau 10 : Comparaison des résultats des transferts d'embryons frais et d'embryons congelés selon l'étude FIVNAT 2006 (24)

	Frais	Congelés
Nombre de transferts	40098	9999
Nombre de grossesses	10632	1500
<i>Taux de grossesses par transfert</i>	26,5%	15%

De plus selon l'étude FIVNAT 2006 regroupant les données de 50 centres Français, les fausses couches sont plus fréquentes après transfert d'embryons congelés (TEC) qu'après transfert d'embryons frais et d'autant plus que le transfert se fait au stade blastocyste.

En revanche, la comparaison des deux types de transfert montre que les TEC sont à l'origine de moins de grossesses multiples, de pathologies de la grossesse, de prématurité et faible poids de naissance.

c. Facteurs influençant les taux de grossesse par transfert (24)

Les résultats de FIV avec transfert d'embryons congelés semblent influencés par les mêmes facteurs que ceux avec transfert d'embryons frais (âge de la femme, nombre d'embryons transférés) mais pas par la technique de fécondation ou le rang de la tentative.

1. Facteur âge

Tableau 11 : Résultats des TEC en fonction de l'âge au moment de la ponction (24)

Age lors de la ponction	≤ 29 ans	30-34 ans	35-37 ans	38-39 ans	40-41 ans	≥42 ans
% de Grossesses/Transfert	19,5	19,6	19	16,8	11,8	9,4

L'âge de la patiente au moment de la ponction influe le résultat du transfert d'embryons congelés surtout à partir de 38 ans. Ceci s'explique par l'atrésie physiologique qui est responsable d'une diminution du nombre et de la qualité folliculaire.

2. Facteur nombre d'embryons

Tableau 12 : Résultats des TEC en fonction du nombre d'embryons transférés (24)

Nombre d'embryons transférés	1	2	3	≥4
%Grossesses/Transfert	11,4	18,4	19,2	18,6

Les chances de grossesse augmentent avec le nombre d'embryons transférés. Cependant au-delà de deux embryons, la différence n'est pas significative. Aujourd'hui, le transfert embryonnaire (frais ou congelé) doit se limiter à deux évitant les risques obstétricaux d'une grossesse triple.

3. la technique de fécondation

Tableau 13 : Résultats des TEC en fonction de la technique de fécondation (24)

	FIV classique	FIV ICSI
Nombre de transferts	4536	5169
Nombre de grossesses	863	958
Taux de grossesses par transfert	19%	18,5%

4. Le rang de la tentative

Tableau 14 : Résultats des TEC en fonction du nombre de tentatives (24)

Rang de TEC	Nombre de cycles	Nombre de grossesses	Taux de grossesses par transfert en %	Taux de grossesses cumulées en %
1	9712	1511	15,6	83
2	1669	257	15,4	97
3	312	44	14,1	99,5
4	69	8	11,6	99,9
5	20	1	5	100
6	3	0	0	
7	0			

Le taux de grossesses diminue avec le rang de la tentative sans que la différence ne soit significative. 97% des grossesses ont été obtenues suite au deuxième TEC.

2.6. Conclusion

Les résultats de la congélation embryonnaire obtenus en routine font de cette technique une bonne option pour les patientes désireuses de maintenir leurs possibilités de concevoir après les traitements et la maladie.

Sous réserve que la situation de la patiente au moment du traitement (âge, famille) lui permette d'accéder à la conservation embryonnaire, les traitements et l'urgence de ceux-ci amenuisent les chances de grossesses.

En effet, si l'état de la patiente permet d'effectuer une stimulation ovarienne, la durée de ces protocoles ne permet souvent qu'un seul cycle avant la mise en place des traitements. Or la stimulation ne conduit pas forcément à l'obtention d'ovocytes aptes à la fécondation et/ou en nombre suffisant, ni la fécondation à des embryons.

En cas de réussite, le ou les embryons pourront être congelés et transférés le moment venu. L'obtention et le maintien de la grossesse dépendront alors des traitements effectués et des paramètres utérins (fibrose).

3. Congélation d'ovocytes matures

3.1. Indications

La congélation d'ovocytes en métaphase II peut se présenter comme une alternative :

- Aux problèmes que posent la congélation embryonnaire: légaux, éthiques voir religieux (7, 14, 71).
- Aux échecs de prélèvement de sperme le jour de la FIV (14),

- A des stimulations répétées (14), au recueil d'un nombre élevé d'ovocytes (35).

Elle représente pour les patientes allant subir une chirurgie ou un traitement potentiellement castrateurs et n'ayant pas accès à la conservation embryonnaire, une possibilité de préserver leur fertilité future (7, 14). En l'absence de contre-indication, les femmes célibataires pourraient bénéficier d'une cryoconservation ovocytaire (14, 35, 80) mais les résultats qu'offrent cette technique en terme de naissances sont encore faibles. En France, la congélation d'ovocytes n'est pas pratiquée dans ce cadre.

3.2. Les contraintes liées à la patiente

Toutes les patientes désireuses de préserver leur fertilité ne peuvent pas bénéficier de cette technique. En effet, pour obtenir un nombre suffisant d'ovocytes matures, il est nécessaire d'avoir recours à une stimulation ovarienne. Celle-ci se faisant selon les mêmes protocoles utilisés en FIV classique, la pathologie et le temps représentent encore une fois un obstacle pour certaines patientes (53).

3.3. Conséquences de la congélation sur l'ovocyte en métaphase II (14)

Les premiers protocoles de congélation ovocytaire découlaient de ceux utilisés lors de la conservation embryonnaire : congélation lente, utilisation de cryoprotecteurs tels que le DMSO et le propanediol. Mais les résultats montrent que la cellule ovocytaire est plus sensible que l'embryon à la congélation.

a. Lésions cellulaires

Les caractéristiques de la membrane plasmique d'un ovocyte en métaphase II limitent les mouvements liquidiens de part et d'autre de celle-ci. L'efflux de cryoprotecteur et la sortie d'eau étant ainsi limités, la déshydratation cellulaire est plus difficile entraînant alors un risque important de formation de cristaux de glace et de lésions cellulaires.

b. Lésions fusoriales

Le fuseau est constitué par des microtubules formés eux mêmes par la polymérisation de dimères de tubuline (α et β). Il permet la migration des chromosomes lors de la méiose et des différentes mitoses. Son rôle est important lors de la fécondation : achèvement de la méiose, expulsion du second globule polaire, migration des *pronuclei*. L'altération du fuseau méiotique peut être à l'origine d'anomalies chromosomiques.

Dans toutes les espèces et quelle que soit la technique de congélation, l'observation d'ovocytes exposés à la congélation et aux cryoprotecteurs montre une dépolymérisation des microtubules menant à une aneuploïdie ou à une polyploïdie.

Cependant, cet effet est réversible avec le réchauffement. En fonction des espèces et de la méthode de congélation, une incubation de 1 à 3 heures à 37° permet la restauration du

fuseau ; même si moins de la moitié des ovocytes congelés présenteront celui-ci après 1 à 4 heures d'incubation.

c. Altérations de la zone pellucide (7, 26, 35)

Des brèches au niveau de la zone pellucide ont été observées après congélation ovocytaire. Ces altérations facilitant le passage de plusieurs spermatozoïdes peuvent être à l'origine de polyploïdie embryonnaire.

D'autre part, les solutions de congélation pourraient provoquer une réaction corticale prématurée responsable d'un durcissement de la zone pellucide. Cette réaction peut expliquer les faibles taux de fécondation observés.

3.4. Les résultats de la congélation d'ovocytes matures

a. Taux de survie ovocytaire

Il est nécessaire d'adapter les protocoles de congélation existants aux particularités de la cellule ovocytaire pour la déshydrater de façon optimale avant la congélation et éviter la formation de cristaux de glace sources de lésions et mort cellulaire.

Si Chen en 1986 a obtenu une bonne survie ovocytaire à la congélation (76%) (35), ces successeurs ont obtenu des résultats inférieurs. Aujourd'hui, ce taux varie de 25 à 95% (79).

En congélation lente, la modification de la concentration en cryoprotecteur permet d'améliorer les résultats avec notamment l'augmentation de la concentration de sucrose de 0,1 à 0,3 M qui fait passer la survie de 40 à 80% (14, 26).

L'augmentation du temps d'exposition à 15 minutes aux cryoprotecteurs semble lui aussi avoir une action bénéfique sur la survie mais d'autres études sont nécessaires pour en évaluer la toxicité (26).

La survie ovocytaire pourrait être améliorée par la présence du *cumulus* (54 vs 27%), celui-ci exercerait un effet protecteur vis-à-vis des changements de pression osmotique et des distorsions que subit la cellule lors de la congélation.

Mais c'est avec la vitrification et ses techniques dérivées que la survie ovocytaire a pu atteindre les 90%. Ces techniques semblent les plus adaptées à la cellule ovocytaire et à sa congélation (14, 47).

b. Taux de fertilisation

Dans l'espèce humaine et dans la plupart des cas, l'insémination se fait après 1 à 3 heures d'incubation à 37°, temps nécessaire à la reconstruction fusoriale.

Entre 1986 et 1994, ce taux était au maximum de 50%, Chen obtenant encore une fois un bon résultat avec 71% (35).

La série obtenue par Porcu en 2000 (338 ovocytes, congélation lente, ICSI après 3 heures d'incubation) confirme ces valeurs avec des taux de fertilisation de 59% (14). Selon des études allant de 1992 à 2002, ce taux varie de 13,5 à 71%.

Un des facteurs pouvant expliquer les faibles taux de fécondation est le durcissement de la zone pellucide. L'apparition et le développement de la technique d'ICSI ont permis d'éviter cet obstacle et d'améliorer les taux de fécondation des ovocytes cryoconservés. En 1995, une équipe obtient 43% d'ovocytes fécondés par ICSI contre 2,7% par fécondation classique (35).

Le développement embryonnaire est lui aussi amélioré, puisque 43% des embryons obtenus par ICSI atteignent le stade blastocyste contre 11% en FIV classique (35).

c. Naissances

Les premières naissances issues d'ovocytes congelés en métaphase II ont eu lieu dans l'espèce murine en 1977 (35, 71).

C'est en 1986, que Chen *et al* obtiennent les deux premières naissances issues de la congélation d'ovocytes humains. La méthode par congélation lente et décongélation rapide utilisait du DMSO comme cryoprotecteur (35, 44, 48). Ce succès s'est répété en 1987 lorsque Van Uem obtient la troisième naissance (26, 35).

Les années qui suivirent, n'ont connu que de rares succès suite aux faibles taux de survie, de fertilisation et de développement (14). C'est avec le développement de l'ICSI et de la vitrification que cette technique va connaître plus de réussite (44, 79) :

- 1997 : première naissance issue d'un ovocyte congelé et d'une ICSI
- 1999 : première naissance issue d'un ovocyte vitrifié.

3.5. Conclusion

La congélation ovocytaire pourrait s'adresser aux femmes qui ont le temps et la possibilité de réaliser une stimulation ovarienne mais qui n'ont pas accès à la conservation embryonnaire. Cependant, les faibles résultats obtenus limitent considérablement l'emploi de celle-ci.

Malgré l'amélioration des techniques et des protocoles, la congélation d'ovocytes matures ne serait à l'origine que d'une centaine de naissances en une vingtaine d'années. L'analyse de nombreuses études montre un taux de naissance par ovocyte cryoconservé allant de 1,52% (congélation lente) à 1,7% (vitrification) (79, 80). Certaines équipes arrivent aujourd'hui à obtenir 6 naissances pour 100 ovocytes cryoconservés en congélation lente.

Ces maigres chances de conception ont fait mettre en place la congélation d'un autre stade ovocytaire visant à contourner la sensibilité de l'ovocyte mature au froid.

4. La cryoconservation d'ovocytes immatures (prophase I)

4.1. Propriétés de l'ovocyte immature

L'ovocyte immature au stade de vésicule germinale, est bloqué en prophase de la première méiose jusqu'à l'ovulation. A ce stade (46, 78, 85):

- Le fuseau n'est pas formé,
- Les chromosomes non condensés sont regroupés à l'intérieur de la membrane nucléaire,
- Les cellules de la *corona radiata* forment un *cumulus* compact,
- Les granules corticaux sont inaptes à l'exocytose.

Cette vésicule germinative est en théorie moins sensible aux effets d'une congélation. Ces caractéristiques permettent d'éviter les effets néfastes du froid sur le fuseau, les non-disjonctions chromosomes-tubuline et les risques d'aneuploïdie.

4.2. Indication (55)

La congélation d'ovocytes immatures se présente comme une alternative à la congélation du gamète femelle. Les essais ont été réalisés à partir des protocoles de congélation de l'ovocyte mature selon des méthodes de congélation lente ou de vitrification.

Selon les équipes, les ovocytes peuvent provenir de patientes ayant été stimulées ou non. A noter qu'en l'absence de stimulation ovarienne, le prélèvement peut se faire rapidement pour commencer le traitement le plus tôt possible.

4.3. Résultats

La cryoconservation d'ovocytes immatures a d'abord été possible chez le rat et la souris (85). Espèce chez laquelle on a montré que la congélation n'entraînait pas de dommage au niveau du fuseau (84).

La première naissance humaine issue d'un ovocyte immature congelé au stade de vésicule germinale a été obtenue par Tucker en 98. Les ovocytes avaient été obtenus après stimulation ovarienne (22, 86).

a. La survie ovocytaire

Dans l'espèce humaine, c'est Mandelbaum qui affiche les premiers résultats (78, 85) :

En utilisant le DMSO comme cryoprotecteur, le taux de survie ovocytaire se monte à 37% (10/27 ovocytes). Deux de ces ovocytes placés en culture *in vitro* atteignent le stade mature de la métaphase II (20%).

Les possibilités de survie sont confirmées par d'autres équipes. Les techniques de congélation lente dans du propanediol et du sucrose offrent des taux de survie allant de 15,6 à 55,1 pour des ovocytes issus de patientes non stimulées. Ce taux augmente légèrement si il y a eu stimulation : 58,5% (78, 85).

b. La maturation ovocytaire

Lors des précédentes études, les possibilités de développement *in vitro* de ces ovocytes ont aussi été étudiées.

Les taux de maturation vont de 27,3% (68) à 59,3%. Selon les techniques, les équipes trouvent des résultats significativement différents ou non des groupes de contrôle (non congelés) (78, 85).

Il a également été démontré que le propanediol n'avait pas d'action négative sur la maturation ovocytaire, mais qu'il était à l'origine de sa légère diminution : 76,8 vs 67,1% (78).

L'importance du taux de maturation pourrait varier en fonction de la réalisation ou non d'une stimulation avant le recueil ovocytaire. En effet, des taux plus importants sont obtenus lorsque les ovocytes sont recueillis après une stimulation de la patiente (83% vs 27%) (84,85).

La stimulation permettrait l'accès à de larges cohortes d'ovocytes recrutés possédant de meilleures capacités de développement. Sans stimulation, le prélèvement peut contenir un grand nombre d'ovocytes non recrutés voire en atresie (84). Ce qui confirme que le fait d'ajouter des gonadotrophines dans le milieu de culture permet d'obtenir de meilleurs taux de maturation (78) (et de fertilisation).

c. La fertilisation et le développement embryonnaire (78, 84, 88)

L'insémination avec ou sans ICSI d'ovocytes ayant survécu à la congélation et menés jusqu'en métaphase II, montre que de tels ovocytes conservent leurs capacités à être fécondés et à se développer:

- Taux de fertilisation : 42,9 à 57,7%
- Taux de clivage : 3,8 à 16,7%

Ces taux sont significativement inférieurs au groupe contrôle (ovocytes non traités, non congelés). Les faibles taux de clivage montrent une limite de leur capacité à se développer.

De plus il a été proposé qu'une stimulation, si elle permettait une plus grande capacité de maturation, influencerait sur la qualité ovocytaire et que les taux de fertilisation et le développement embryonnaire dépendrait du type de stimulation.

d. Avec la vitrification

La congélation par vitrification à l'aide d'une solution d'éthylène glycol et de sucrose a été réalisée par Wu *et al.* Les résultats sont les suivants (88) :

- Taux de survie : 59%
- Taux de maturation : 64%
- Taux de fertilisation : 70%
- Taux de clivage : 71%

Les taux de fertilisation et de développement embryonnaire sont plus importants que ceux issus d'une congélation lente. La vitesse de refroidissement en limitant les conséquences néfastes d'une congélation lente permettrait d'obtenir ces meilleurs résultats.

A noter que ces résultats sont également supérieurs à ceux obtenus par congélation lente d'ovocytes stimulés. D'autres études sont donc nécessaires afin d'évaluer le réel intérêt d'une stimulation.

4.4. Conclusion

Les résultats des différents essais montrent que l'ovocyte immature est capable de survivre à la congélation tout en conservant ses capacités à être fécondé et à assurer le développement embryonnaire. La technique de vitrification semble être à l'origine de meilleurs résultats que la congélation lente. Cependant peu de naissances sont recensées hormis celle obtenue par Tucker en 1998.

Dans l'avenir, le développement de cette technique pourrait permettre d'améliorer les résultats généraux de la congélation ovocytaire. D'autre part, elle pourrait permettre aux femmes célibataires ne pouvant subir une stimulation de maintenir leurs chances de conception après leur traitement anti-cancéreux.

5. La Cryoconservation de cortex ovarien

La possibilité de congeler le tissu ovarien a été envisagée dès les années 1950. Les greffes de tissu ovarien congelé réalisées chez la souris, la brebis, la rate et la femme ont montré une reprise de la maturation folliculaire, d'une sécrétion hormonale ainsi qu'une restauration de la fonction cyclique ovarienne (1, 80). En 1960, Parrott obtient la première naissance issue d'une autogreffe après congélation d'un quart d'ovaire murin dans 15% de glycérol (1). Celle-ci sera suivie dans les années 90, de plusieurs naissances obtenues chez d'autres espèces (1).

5.1. Indication

Les résultats obtenus chez l'animal ont ouvert de nouvelles perspectives quant aux possibilités de préserver la fertilité des femmes à risques.

La cryoconservation de tissu ovarien peut être proposée dans le cadre de pathologies malignes ou non nécessitant l'utilisation de traitements stérilisants (35) et notamment à la population féminine ne pouvant bénéficier d'une congélation ovocytaire (les femmes célibataires en France, les jeunes femmes et les enfants) ou d'une stimulation ovarienne (temps, contre-indication).

Elle peut également être utilisée chez les femmes connues comme ayant un risque de ménopause précoce : syndrome de Turner, cas familial de ménopause précoce (1).

5.2. Avantages de la conservation de tissu ovarien

a. Propriétés du tissu ovarien

La zone corticale de l'ovaire contient une grande partie de follicules immatures dont environ 90% de follicules primordiaux ; stade résistant à la congélation-décongélation de part sa taille, sa structure (absence de zone pellucide, de granules corticaux, de fuseau, peu de cellules formant la corona) et son faible métabolisme (1, 18,35).

b. Facilité du prélèvement

Le prélèvement de tissu ovarien se fait par l'ablation d'un ovaire lors d'une coelioscopie sans avoir recours à un protocole de stimulation. La congélation de cortex ovarien ne représente alors pas un obstacle à la mise en place de thérapeutiques urgentes et peut être proposée aux femmes chez qui la stimulation représente une contre-indication par rapport à leur pathologie (1, 35).

Pratiqué à tout moment du cycle ovarien, le recueil peut même se faire avant la puberté. Cette technique permet ainsi d'élargir les possibilités de préservation de la fertilité aux fillettes pré-pubères (35, 53) et représente la seule option pour celles-ci.

5.3. Les différentes étapes d'une congélation de tissu ovarien (70)

a. Aspect légal et réglementaire (CSP, 70)

La conservation de tissu ovarien entre dans le cadre de la loi de bioéthique du 6 août 2004 :

« Art. L. 2141-11. - En vue de la réalisation ultérieure d'une assistance médicale à la procréation, toute personne peut bénéficier du recueil et de la conservation de ses gamètes ou de tissu germinale, avec son consentement et, le cas échéant, celui de l'un des titulaires de l'autorité parentale, ou du tuteur lorsque l'intéressé mineur ou majeur fait l'objet d'une mesure de tutelle, lorsqu'une prise en charge médicale est susceptible d'altérer sa fertilité, ou lorsque sa fertilité risque d'être prématurément altérée. »

En France, la cryoconservation de tissu ovarien a fait l'objet d'une étude multicentrique dont l'investigateur est le Professeur Aubard, praticien hospitalier au Centre Hospitalier Universitaire (C.H.U) de Limoges après avoir reçu l'accord du Comité Consultatif de Protection des Personnes dans la Recherche Biomédicale (C.C.P.P.R.B).

Cette loi a fait l'objet d'un décret (22 décembre 2006) permettant à cette technique d'être utilisée aujourd'hui hors protocole : « Art. R. 2142-1. – Les activités cliniques et biologiques

d'assistance médicale à la procréation mentionnées à l'article L. 2142-1-1 comprennent ...la conservation à usage autologue des gamètes et tissus germinaux en application de l'article L. 2141-11. »

La question de la conservation est étudiée pour chaque cas par une équipe pluridisciplinaire encadrant la patiente et composée de l'oncologue, du biologiste de la reproduction et du gynécologue ou du chirurgien pédiatre.

Après information sur l'étude, les risques et les résultats, la patiente ou ses parents ou son représentant légal signent un formulaire de consentement en trois exemplaires.

b. Le prélèvement (70, 81, 100)

Le prélèvement du tissu ovarien se fait sous anesthésie générale (43) lors d'une coelioscopie rarement lors d'une laparotomie. Il peut concerner une partie de l'ovaire ou le plus souvent l'ovaire entier.

L'avis de l'anatomo-pathologiste est nécessaire pour délimiter le prélèvement en cas de tumeur ovarienne.

Après résection, l'ovaire est acheminé le plus rapidement possible vers le laboratoire dans un milieu de culture approprié (milieu de Leibovitz).

c. La préparation du tissu ovarien (70)

Sous hotte à flux laminaire, l'ovaire est disséqué afin de séparer la zone corticale et la zone médullaire. La zone corticale contenant les follicules primordiaux est ensuite fragmentée en échantillon de deux tailles différentes. Chaque fragment est ensuite placé dans des cryotubes identifiés contenant le milieu de congélation.

Des fragments de la zone corticale et de la zone médullaire doivent être transmis (dans une solution de formol à 10%) au laboratoire d'anatomo-cytopathologie pour identifier la présence d'éventuelles cellules néoplasiques et pour évaluer la population de follicules primordiaux.

d. La congélation

La congélation du tissu ovarien s'appuie sur les procédés de la conservation embryonnaire. Ce sont les méthodes de congélation lente, utilisant le protocole de Gosden (congélation lente avec du DMSO) (31), qui sont le plus souvent utilisées, mais quelques équipes ont utilisé la vitrification (1).

e. La décongélation

La décongélation des tubes contenant le tissu ovarien se fera par des procédés rapides consistant à plonger les tubes dans un bain-marie à 37° puis à faire des lavages successifs de concentration décroissante pour éliminer les cryoprotecteurs (70).

5.4. Survie folliculaire (1)

La période « d'ischémie chaude » représentant le temps entre le prélèvement et la congélation ne doit pas excéder 30 minutes afin de réduire au maximum les altérations tissulaires se produisant pendant cette période.

La survie des follicules à la congélation varie en fonction du cryoprotecteur utilisé.

Chez la souris, ce chiffre peut varier de 24 à 94% (DMSO, éthylène glycol, propanediol) et est faible avec le glycérol (4 à 28%). Dans l'espèce humaine, le propanediol, l'éthylène glycol et le DMSO offrent respectivement des taux de survie de 44, 74 et 84%. Avec le glycérol, les résultats sont inférieurs (10%).

De même qu'en congélation ovocytaire, la concentration en sucrose améliorerait la survie folliculaire.

5.5. Les différentes modalités d'utilisation du tissu ovarien

a. Introduction

Pour obtenir au moins un ovocyte apte à la fécondation, il est essentiel que les follicules primordiaux présents dans le tissu ovarien décongelé terminent leur maturation (100). Pour cela, les différentes équipes ont mis en place deux types de techniques permettant cette maturation folliculaire (1) : La greffe (autogreffe ou xélogreffe) du tissu ou des follicules isolés de celui-ci et la culture (maturation) de follicules *in vitro*.

b. Les greffes

Il existe différents types de greffes. Dans une autogreffe, le donneur et le receveur sont un seul et même individu à la différence d'une allogreffe où le receveur est un autre individu de la même espèce et d'une xélogreffe où le receveur appartient à une autre espèce.

1. Les Autogreffes de tissu ovarien

Dans la littérature, on distingue deux types d'autogreffes en fonction du site receveur : Les greffes orthotopiques et les greffes hétérotopiques. La taille des fragments et le site idéal de la transplantation ne font pas l'objet aujourd'hui d'un consensus. Ces deux facteurs pourraient influencer la qualité et le résultat de la greffe (21).

1.1. Les greffes orthotopiques

Le fragment de tissu ovarien retrouve sa place originelle (100) et sera fixé :

- Soit au niveau d'un repli péritonéal près du ligament infundibulopelvien (53, 79) pour bénéficier d'une bonne vascularisation,
- Soit sur l'ovaire encore présent (53, 79).



Figure 21 : Fragments de cortex ovarien greffés sur l'ovaire résiduel (22)

Cette greffe se fait par coelioscopie sous anesthésie générale (79). C'est la seule option pour laquelle on peut espérer aboutir à une fertilité naturelle sans avoir recours à une stimulation (100).

1.2. Les greffes hétérotopiques (79)

Ces greffes peuvent se faire sur n'importe quel autre site suffisamment vascularisé : le tissu sous cutané ou les espaces sous le péritoine. Cette intervention ne nécessite pas de chirurgie ou d'anesthésie générale.

Le recours à une FIV étant nécessaire l'avant-bras est un site idéal pour le monitoring des follicules et la facilité de prélèvement des follicules.

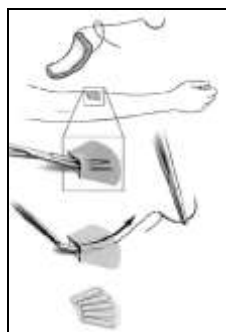


Figure 22 : Schématisation d'une greffe hétérotopique au niveau de l'avant-bras (79)

1.3. Les résultats

Bien que la première naissance animale ait été obtenue chez la souris en 1960, les premières greffes dans l'espèce humaine n'ont été réalisées qu'au début du 21^{ème} siècle.

1.3.1. Le délai et la durée de fonctionnement du greffon

Le suivi d'autotransplantation de cortex ovarien montre par les taux hormonaux et le suivi échographique, une reprise de l'activité du greffon en 4 à 5 mois en moyenne (8 semaines – 8 mois). La durée d'activité du greffon pourrait aller de 1 mois à 3 ans. Des greffes ultérieures pourraient ainsi prolonger l'activité hormonale (22).

1.3.2. Les naissances

En 2000, Oktay réalise la première greffe hétérotopique au niveau de l'avant-bras (43) et en 2004, il obtient (pour une patiente en rémission d'un cancer du sein (80), le premier embryon à 4 cellules issus d'une greffe sous-cutanée de tissu ovarien congelé (79).

-La première naissance (80, 81, 98)

En juillet 2004, Donnez et son équipe obtiennent la première naissance issue d'une autogreffe de tissu ovarien.

La patiente de 25 ans, atteinte d'un lymphome Hodgkinien, a bénéficié d'une cryoconservation ovarienne avant son traitement. La patiente a présenté ensuite au moins un cycle ovulatoire spontané et a été placée sous traitement hormonal de substitution trois mois après la fin du traitement.

Après la thérapie, le tissu ovarien a été greffé orthotopiquement. Après 6 mois, la patiente présentait des cycles spontanés et a pu concevoir 8 mois après la greffe. La grossesse a conduit à la naissance d'une petite fille.

Cependant un doute subsistait quant à l'origine de l'ovocyte fécondé. Provenait-il du greffon ou de l'ovaire restant ? De plus, le traitement est connu pour avoir un risque de POF de 61% (76), ce qui n'exclut pas que l'ovocyte provienne de l'ovaire résiduel.

Donnez et son équipe confirment, par le monitoring hormonal et échographique du cycle menant à la grossesse, que l'ovocyte provient du greffon.

-La deuxième naissance (60)

En 2005, Meirow et son équipe obtiennent la deuxième naissance.

La patiente de 28 ans, atteinte d'un lymphome non-Hodgkinien a reçu plusieurs cycles de chimiothérapie. Après ce traitement, la patiente présentait des cycles réguliers et a été placée sous contraceptif pendant un mois.

Six mois après la fin du traitement, une rechute fait mettre en place une seconde ligne de traitement avant une greffe de moelle osseuse. Juste avant, les deux tiers de son ovaire droit sont congelés.

Après 2 ans pendant lesquels la patiente présentait une ménopause, celle-ci a bénéficié de la greffe de tissu ovarien sur l'ovaire résiduel (fragments placés après incision de l'albuginée de l'ovaire gauche et fragments injectés dans le reste de l'ovaire droit).

Les dosages hormonaux ont montré que la patiente avait retrouvé sa fonction ovarienne au bout de 6 mois et des cycles spontanés en 8 mois. Une fécondation *in vitro* réalisée 9 mois après la greffe a permis d'obtenir un embryon à 4 cellules. Transféré 2 jours après la fécondation, celui-ci a conduit à la naissance d'une fille (81) au bout de 38,5 semaines de gestation.

-La troisième naissance (19)

La patiente de Demeestere et son équipe a subi à l'âge de 24 ans une chimiothérapie de conditionnement avant une greffe de moelle osseuse. L'ovariectomie a été réalisée après un cycle de chimiothérapie. Après 4 années de ménopause, une première greffe combinée orthohétérotopique avait conduit à l'obtention d'une grossesse spontanée. Cependant, celle-ci s'est interrompue au bout de 7 semaines suite à une aneuploïdie. La seconde greffe orthotopique a pu conduire à une grossesse spontanée (3 mois après) et à la naissance de la troisième fille au bout de 41 semaines.

Pour l'instant, les greffes hétérotopiques n'ont pas été à l'origine de naissance. La naissance obtenue par Oktay en 2005 (66) chez une patiente ayant bénéficié de ce type de greffe provenait en réalité de l'ovaire restant (22).

Cependant, des grossesses biochimiques ont pu être obtenues par Andersen et son équipe. La patiente âgée de 28 ans avait bénéficié d'une congélation ovarienne avant son traitement par chimiothérapie et radiothérapie. Après 2 ans, le tissu a été greffé en trois sites (2 orthotopiques et 1 hétérotopique). Après 15 mois et une stimulation hormonale, un ovocyte mature a été recueilli au niveau du greffon subpéritonéal. Fécondé par ICSI, celui-ci a été transféré dans l'utérus de la patiente. Le taux d'hCG montrait un résultat positif mais la grossesse n'a pas évolué. Le deuxième essai a mené au même résultat. Les auteurs évoquent une production hormonale insuffisante par le corps jaune pour permettre l'implantation de l'embryon et le maintien d'une grossesse (72).

1.3.3. Résultats de greffe de tissu ovarien immature (96)

La greffe orthotopique d'ovaire immature (frais ou congelé) a été réalisée chez des souris impubères et des souris adultes. Les résultats montrent qu'un tissu ovarien immature est capable d'induire à un âge normal, une puberté spontanée chez les souris impubères au moment de la greffe et de restaurer rapidement une fonction ovarienne chez les individus adultes. Des grossesses ont également été obtenues dans les différents groupes. L'absence de grossesse après 35 semaines fait conclure à un épuisement du greffon.

La greffe de tissu ovarien pourrait alors trouver une nouvelle indication. La possibilité d'induire une puberté par le biais d'une greffe pourrait éviter l'utilisation d'une substitution

hormonale. Mais la durée de fonctionnement du greffon serait alors un facteur important dans le risque de survenue de POF et d'infertilité.

1.4. Risques d'une autogreffe

1.4.1. Ischémie (1, 43, 65)

La diminution de la population ovocytaire pourrait aller jusqu'à 65% pendant la période de revascularisation du greffon. Cette perte serait due à des peroxydations lipidiques au niveau des membranes cellulaires et contribuerait à une disparition rapide des populations folliculaires du greffon.

1.4.2. Transmission de la pathologie

Le risque le plus inquiétant d'une greffe de tissu ovarien est la réintroduction de la pathologie initiale.

La possibilité de transmission d'un lymphome a été montrée en 1996. Les souris saines ayant reçu une greffe de tissu ovarien provenant d'une souris atteinte ont rapidement développé un lymphome (1, 35). Kim montre également que le tissu humain peut être vecteur d'un lymphome après greffe à des souris SCID (severe combined immunodeficiency disease) : 1 sur 5 (53).

Ce risque de transmission est d'autant plus important quand il existe déjà un risque de métastase ovarienne (leucémie, cancer du sein ou de l'ovaire).

Tableau 15 : Risque métastatique en fonction de la pathologie (102).

Risque faible	Risque modéré	Risque élevé
Lymphome de Hodgkin ou non Tumeur de Wilms Sarcome d'Ewing Cancer du sein stade I–III Rhabdomyosarcome non génital Cancer du épidermoïde col	Cancer du sein stade IV Cancer du colon Cancer du glandulaire col	Leucémie Neuroblastome Lymphome de Burkitt

1.5. Conclusion

Les résultats obtenus après autogreffe de tissu ovarien cryoconservé ont montré qu'il était possible de restaurer la fonction hormonale et la fertilité des patientes ayant subi un traitement castrateur. Mais le risque de réintroduire la maladie lors de la greffe limiterait l'emploi de cette technique aux pathologies non cancéreuses ou sans localisation ovarienne.

L'analyse du tissu ovarien avant la congélation est une étape importante mais ne garantit pas l'innocuité du greffon. C'est pourquoi d'autres stratégies d'utilisation du tissu comme la

xénogreffe, la greffe de follicules primordiaux se développent pour limiter voire supprimer ces risques et étendre les indications des greffes ovariennes.

2. La Xénogreffe (1, 79)

Les premières xénogreffes de tissu ovarien avaient pour but d'évaluer les propriétés de celui-ci après la congélation-décongélation : la survie folliculaire, capacité à initier et à poursuivre la maturation et ont notamment été pour première la fois mises en œuvre par Gosden en 1994 (greffes de tissu ovarien de mouton et de chat à des souris SCID).

Les receveurs sont le plus souvent des souris SCID ne pouvant développer une réaction greffon vs hôte grâce à une mutation génétique. La greffe est faite dans le muscle, ou en sous-cutané ou sous la capsule rénale.

2.1. Résultats (5, 79)

Les études réalisées par Candy en 1995 sur la greffe de tissu ovarien de marmouset à des souris montrent une croissance folliculaire jusqu'au stade antral. En 2002, la greffe de tissu ovarien de souris à une rate a permis d'obtenir un ovocyte mature. Après recueil et fertilisation d'ovocytes, des souriceaux ont pu être obtenus (22).

Diverses équipes ont obtenu des résultats satisfaisants concernant la xénogreffe de tissu ovarien humain cryoconservé à des souris SCID secondairement stimulées (FSH).

En 1998, Oktay obtient la production d'oestradiol, le développement utérin et folliculaire jusqu'au stade antral. Plus tard, Gook obtient le stade d'ovocyte en métaphase II. Les capacités ovulatoires du greffon sont mises en évidence par la formation d'un corps jaune fonctionnel (22, 79). Une stimulation par la FSH des souris receveuses serait nécessaire pour conduire au développement folliculaire car la production endogène de gonadotrophines est insuffisante. La structure des follicules primordiaux humains ne semble pas affectée par la congélation et la xénogreffe (63).

2.2. Avantages d'une xénogreffe (65)

Cette technique représente une option intéressante d'utilisation du tissu ovarien en évitant les risques d'une autogreffe de tissu ovarien (réintroduction de cellules néoplasiques) puisque seuls des embryons issus du recueil et de la fécondation des ovocytes du xénogreffon seraient transférés aux patientes. Ainsi, elle pourrait être indiquée en cas de tumeur ovarienne ou lorsqu'il existe un risque de métastase ovarienne.

2.3. Inconvénients d'une xénogreffe (79)

Au-delà du bénéfice que cette technique peut apporter aux patientes, elles posent certains problèmes éthiques :

- L'utilisation de nombreux animaux pour obtenir un nombre suffisant d'ovocytes puisque les pièces de tissu greffé sont de petite taille.
- Le risque de transmission d'une pathologie animale d'origine virale ou autre à l'espèce humaine.

- Le risque de modifications épigénétiques des gamètes humains maturés chez une autre espèce.

2.4. Conclusion

Les résultats obtenus chez la souris montrent que la xénogreffe est techniquement réalisable. Cependant les problèmes éthiques que soulève l'utilisation d'une autre espèce pour obtenir un gamète humain pourraient empêcher le développement de celle-ci.

3. La greffe de follicules primordiaux

Les premières greffes de follicules primordiaux ont été réalisées chez la souris en 1993 par Gosden. Isolés du tissu environnant par dissection puis action enzymatique, ces follicules ont été cryoconservés (congélation lente/DMSO), décongelés et greffés dans la bourse ovarienne chez des individus préalablement ovariectomisés. Cette équipe obtient : une survie folliculaire à la décongélation de 80%, une rapide reprise de l'activité oestrogénique des greffons et des naissances de souriceaux (11).

3.1. Avantages (21, 22)

Les follicules primordiaux isolés par leur membrane basale ne sont pas vascularisés. La greffe de ce type de cellules éviterait ainsi :

- La perte massive des populations cellulaires par ischémie,
- La transmission de cellules néoplasiques.

3.2. Inconvénient (20, 22)

L'isolement des follicules primordiaux humains du tissu s'avère plus délicat que chez l'animal.

Celui-ci peut se faire par :

-une action mécanique (dissection). La taille des follicules, l'état fibreux et la densité du stroma ovarien humain rendent ce type d'isolement difficile et moins efficace.

-une action enzymatique par différentes collagénases (seule ou en association). Mais leur origine bactérienne (*Clostridium histolyticum*) et la présence d'endotoxines pourraient compromettre les résultats de la greffe et limitent leur utilisation.

3.3. Résultats

Aujourd'hui le développement d'enzymes purifiés permet d'obtenir des follicules isolés humains de bonne qualité (intégrité et survie) et de rendre possible l'application de ce type de greffe à l'espèce humaine.

Même si à présent aucune greffe de follicules humains n'a eu lieu dans l'espèce humaine, les résultats des xéno greffes sont prometteurs. Ceux-ci montrent la capacité des follicules primordiaux humains isolés, et greffés (inclus dans des caillots de fibrine) à des souris à survivre et à se développer. Quatre mois après la xéno greffe de follicules primordiaux humains, des follicules antraux ont pu être obtenus (21).

3.4. Conclusion

La greffe de follicules primordiaux évite les risques liés à une autogreffe et les problèmes éthiques d'une xéno greffe. En théorie, elle représenterait un moyen de restaurer une activité ovarienne hormonale et d'obtenir des grossesses spontanées. Ces avantages feraient de la greffe de follicules primordiaux une technique de choix. Cependant la sécurité réelle de ce type de greffe reste à être démontrée.

c. La culture de follicules *in vitro*

1. Principe (30)

La maturation folliculaire *in vitro* consiste à mener des ovocytes immatures au terme de leur développement en dehors des conditions physiologiques naturelles. Les ovocytes matures obtenus au stade de la métaphase II pourront être fécondés *in vitro* et les embryons obtenus, transférés dans un utérus apte à la nidation.

La culture *in vitro* du tissu ovarien congelé-décongelé permettrait de s'affranchir des risques liés aux greffes et de la perte folliculaire due à l'ischémie lors de la revascularisation du greffon.

2. Résultats chez l'animal

En 1990, Carroll isole des follicules primaires de souris. Cultivés *in vitro*, à l'état frais ou après leur décongélation, ces follicules ont pu terminer leur maturation. La fertilisation de quelques uns des ovocytes obtenus et le transfert des embryons ont conduit à la naissance de souriceaux (9). Un an plus tard, cette même équipe obtient une croissance folliculaire et l'acquisition des compétences méiotiques à partir de follicules primaires inclus dans une matrice de collagène (10).

Cortvrint en 1996 réalise la culture de follicules pré-antraux de souris pré-pubères. Il obtient malgré la perte de structure des follicules, un développement folliculaire et une production hormonale. Après 16 jours de culture, la survie folliculaire est de 80%. Le taux d'ovocytes matures est 41% (après ajout d'hCG dans le milieu au 14^{ième} jour), la moitié a atteint le stade de blastocyste après fertilisation (1).

En parallèle, O'Brien obtient la naissance d'un seul souriceau issu de la fécondation d'un ovocyte mûré *in vitro*. Plus récemment en 2003, en modifiant les conditions de culture des

complexes cumulo-ovocytaire (follicules secondaires) isolés enzymatiquement, O'Brien optimise les taux d'ovocytes matures, de fertilisation et de naissances (64).

3. Résultats chez l'humain

Zhang, en 1995, cultive des fragments de tissu ovarien fœtal et montre : une croissance folliculaire, la formation d'une zone pellucide puis l'extrusion du premier globule polaire. Les mêmes résultats sont obtenus sur tissus congelés (35).

En 1997, Hovatta (39, 41) montre que la culture de tissu ovarien humain (frais ou congelé) est possible. Après 21 jours de culture, la proportion des différents stades ovocytaires montre qu'il y a eu maturation. Les follicules primordiaux peuvent évoluer *in vitro* en follicules primaires, secondaires et occasionnellement jusqu'au stade antral. De plus, la survie folliculaire est plus importante dans les cultures réalisées avec des matrices extra-cellulaires.

Les études mettent en évidence l'importance des interactions entre le stroma ovarien et les cellules folliculaires dans la réussite de la culture (39). Les cultures de follicules primordiaux et primaires isolés enzymatiquement ne sont possibles que quelques jours (40). Pour une même durée de culture, la proportion de corps atériques est également plus importante dans les cultures de follicules partiellement isolés que dans des cultures de follicules non-isolés.

4. Conclusion

La maturation *in vitro* des follicules humains est plus complexe que chez d'autres espèces. La durée de la folliculogénèse et la taille du follicule sont deux paramètres qui rendent les cultures plus difficiles.

La folliculogénèse comprend de nombreuses inconnues comme le rôle du stroma ovarien et des cellules folliculaires. Une des importantes clés de ce phénomène serait la communication entre l'ovocyte et les cellules de la granulosa dans l'obtention d'ovocyte de bonne qualité apte à être fertilisé (82). Cette relation inter-cellulaire pourrait se faire par l'intermédiaire de projections transzonales ou de médiateurs paracrines. L'application clinique de la maturation *in vitro* des follicules ovariens dépendra des avancées sur la connaissance des facteurs supportant la maturation ovocytaire et des éventuels effets d'une congélation (22).

d. Conclusion

Dans le monde, on estime qu'environ 1000 femmes ont pu bénéficier d'une cryoconservation de tissu ovarien. Différentes techniques se sont développées pour envisager l'utilisation du tissu au moment du désir de grossesse. La seule technique aujourd'hui utilisée en clinique est l'autogreffe de tissu ovarien (>25 cas). Les résultats offerts sont faibles puisque seules trois naissances ont été obtenues mais ils sont porteurs d'espoir (19). Dans tous les cas, le tissu ovarien congelé puis greffé provenait d'un ovaire mature. A l'heure actuelle, aucun tissu humain impubère n'a fait l'objet d'une greffe chez la femme. Mais les résultats obtenus dans l'espèce murine montrent que la greffe de tissu prélevé avant la puberté permet d'induire une puberté et de restaurer la fertilité. Les autres modalités de maturation du tissu ovarien (greffe de follicules, xéno greffe, culture *in vitro*) sont encore expérimentales mais leur

développement est important pour supprimer le risque de réintroduction de la maladie existant lors d'une autogreffe de tissu.

6. Les nouveaux challenges de la cryoconservation : La cryoconservation d'ovaire entier (22)

Les transplantations d'ovaire à l'état frais ont été réalisées avec succès chez de nombreuses espèces dont l'espèce humaine (Leporrier 1987). Plus récemment des essais de transplantation d'ovaire congelé ont été mis en œuvre.

6.1. Intérêt

Il a été montré que l'ischémie après greffe de tissu ovarien est responsable d'une importante atteinte des populations folliculaires (65%) (1). Le rétablissement d'une vascularisation immédiate lors de la greffe limiterait considérablement ces pertes et augmenterait ainsi la durée de vie du greffon.

6.2. Difficultés

Chez les petites espèces, la structure poreuse des ovaires facilite l'entrée des cryoprotecteurs et la cryoconservation. En revanche, chez de plus grands mammifères, la conservation de l'ovaire entier pose plus de problèmes. La taille de l'ovaire et la densité du stroma ne permettent pas une bonne diffusion des cryoprotecteurs et un refroidissement homogène. En conséquence, une perte folliculaire et des atteintes vasculaires ont pu être observées.

L'adaptation des protocoles de congélation a permis de contourner ces difficultés. La pénétration des solutions cryoprotectrices peut se faire par perfusion dans les artères ovariennes ou agitation à vitesse constante. Des milieux héparinés limitent les thromboses.

6.3. Résultats

Les résultats chez les espèces de petites tailles sont encourageants. Chez la rate, 4/7 transplants ont permis de restaurer une fonction ovarienne et une naissance a été obtenue. Chez la lapine, 87% des greffons étaient fonctionnels au bout de 7 mois.

Chez la brebis, la transplantation d'un ovaire congelé a permis d'obtenir des ovocytes et un développement embryonnaire. En 2006, Imhof obtient une naissance.

Dans l'espèce humaine, la survie des follicules primordiaux à la congélation est de 75-78%. L'histologie des différentes structures ovariennes est normale. La vitrification a également permis d'obtenir ces résultats.

6.4. Conclusion

La greffe d'ovaire entier et de ses pédicules vasculaires semble être une bonne alternative à la greffe de tissu ovarien pour éviter l'ischémie. Chez l'animal, des naissances ont ainsi pu être obtenues. Le développement des protocoles de congélation et des techniques de chirurgie est nécessaire pour pouvoir dans l'avenir proposer ce type de greffe. Cependant, cette technique n'exclut pas certains risques et devra se limiter aux affections exemptes de localisation ovarienne.

E. La transplantation de l'utérus

1. Introduction

La qualité utérine est un paramètre indispensable à l'obtention et au maintien d'une grossesse que les traitements anti-cancéreux peuvent détériorer notamment par fibrose. La transplantation d'un utérus sain pourrait être une solution pour les femmes ayant développé une atteinte utérine suite à ces traitements ou ayant subi une hystérectomie. Cette solution pourrait aussi être offerte à des patientes dont l'infertilité serait causée par une malformation congénitale ou des complications obstétricales.

2. Résultats

Les premières transplantations utérines datent des années 70 avec notamment des autotransplantations chez la brebis, la chienne et les primates.

Chez certaines espèces comme chez la truie, après autotransplantation, l'utérus a été fonctionnel pendant plusieurs mois mais aucune gestation n'a été obtenue. En revanche, chez la brebis l'autotransplantation a été à l'origine de naissances (8).

Les premières naissances issues d'un utérus transplanté à un autre individu ont été obtenues chez la souris. Une transplantation syngénique (entre des individus génétiquement proches) suivi du transfert de blastocystes a permis d'obtenir des taux de gestation semblables aux groupes contrôles (individus avant transplantation et individus non-transplantés). Tous les souriceaux nés des souris transplantées étaient normaux et fertiles (25).

Pour l'instant, aucune transplantation allogénique d'utérus n'a permis d'obtenir des naissances mais les modèles animaux sont nécessaires pour évaluer la faisabilité d'une allotransplantation d'utérus humain (technique chirurgicale, prévention du rejet, fonctionnalité et préparation de l'utérus) et améliorer les résultats de Fageeh.

En effet, à l'heure actuelle, un seul essai de transplantation d'utérus humain a été pratiqué. L'utérus provenant d'une femme de 46 ans a été transplanté chez une femme de 26 ans placée ensuite sous traitement immunosuppresseur (Cyclosporine, Azathioprine, Prednisolone). Le transplant a été fonctionnel (prolifération endométriale et menstruation) mais des thromboses vasculaires se sont développées nécessitant une hystérectomie trois mois après l'intervention (27).

3. Conclusion

Pour certaines patientes, la transplantation utérine serait la seule solution pour préserver leur fertilité. Les résultats obtenus chez les animaux sont encore peu nombreux, mais cette technique soulève déjà beaucoup de questions tant au niveau du donneur (vivant ou non, de la famille ou pas, droits sur l'utérus ou les embryons), du receveur (évaluer le bénéfice risque) et des éventuels enfants (développement fœtal, prématurité...). Le cadre éthique et légal d'une transplantation d'utérus reste alors entièrement à définir.

CONCLUSION

La radiothérapie et la chimiothérapie ont des effets néfastes sur les organes de la reproduction tant au niveau de l'ovaire que de l'utérus altérant ainsi la qualité de vie et la fertilité des patientes.

L'action gonadotoxique pourrait être limitée par l'adaptation des protocoles (doses, utilisation limitée d'agents alkylants) mais cela ne permet pas forcément de maintenir l'effet thérapeutique souhaité.

La protection de la fonction ovarienne peut-être assurée soit par le déplacement des ovaires hors du champ d'irradiation ou par l'utilisation de moyens chimiques et médicamenteux comme les analogues de la GnRH. Cependant l'efficacité réelle de ces derniers reste à déterminer.

Pour favoriser leurs chances de procréation, les patientes peuvent avoir recours aux techniques de congélation dans la mesure où cette prise en charge ne retarde pas l'instauration du traitement.

La congélation embryonnaire offre les meilleurs résultats mais ne s'adresse pas à toutes les catégories de patientes. La congélation ovocytaire quant à elle ne conduit qu'à très peu de naissances et n'est pas autorisée dans tous les pays. La conservation de tissu ovarien est possible sans délai chez les patientes y compris les fillettes.

L'utilisation du tissu après greffe a d'ores et déjà conduit à quelques naissances mais le risque de réintroduire la pathologie initiale par le biais de cette greffe est réel et nécessite le développement d'autres méthodes de maturation du tissu. Parmi ceux-la, la greffe de follicules primordiaux ou la culture *in vitro* qui permettraient également d'éviter les conséquences de l'ischémie. En revanche la xéno greffe pose des problèmes éthiques.

La fibrose utérine est un mauvais pronostic dans l'obtention et le maintien d'une grossesse que les anti-oxydants pourraient améliorer. Cependant en cas d'altérations trop importantes ou d'absence d'utérus, peu de solutions s'offrent aux patientes. Dans certains pays, le recours à une mère porteuse est légal mais en France, la seule solution serait la transplantation d'utérus. Pour cela, des progrès techniques et chirurgicaux doivent être réalisés ainsi qu'une législation mise en place.

Pour toutes les femmes ayant été traitées dans leur enfance ou non pour un cancer sans bénéficier d'une cryoconservation ou d'un autre type de prévention, le don d'ovocytes ou l'adoption sont possibles pour répondre à leur besoin de devenir mère.

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Structure ovarienne	16
Figure 2 : Variations des sécrétions hormonales ovariennes en fonction du cycle.....	17
Figure 3 : Aspect de la muqueuse utérine durant les différentes phases du cycle	21
Figure 4 : Vue postérieure de l'appareil génital interne.....	23
Figure 5 : Vue schématique de l'appareil génital féminin	23
Figure 6 : Schématisation de la maturation folliculaire	27
Figure 7 : Variations des sécrétions de gonadotrophines en fonction du cycle ovarien	28
Figure 8 : Schéma de la régulation neuro-hormonale	29
Figure 9 : Migration des spermatozoïdes dans le tractus génital féminin	33
Figure 10 : Migration et développement du zygote	35
Figure 11 : Action des radiations ionisantes sur les populations cellulaires.....	43
Figure 12 : Incidence de développement d'AOF en fonction de la dose reçue par les ovaires selon l'âge au moment du diagnostic	48
Figure 13 : Relation entre le volume utérin après trois mois d'hormonothérapie et l'âge au moment de l'irradiation	52
Figure 14 : (A) Vaisseaux d'ovaire non exposé à la chimiothérapie (x 400) ; (B) Changement de structure des vaisseaux ovariens après exposition à une chimiothérapie (x 200)	62
Figure 15 : Développement d'une vascularisation anarchique après exposition ovarienne à une chimiothérapie (x 400)	62
Figure 16 : Zone d'atrophie ovarienne après exposition à une chimiothérapie	63
Figure 17 : Prélèvement ovarien concomitant à une chirurgie suivi de la transplantation au niveau de l'avant-bras	73
Figure 18 : Dissection péritonéale suivie de la fixation des ovaires derrière l'utérus.....	74
Figure 19 : Transposition des ovaires dans la gouttière pariéto-colique.....	75
Figure 20 : Synthèse des facteurs impliqués dans l'apoptose à partir de lipides membranaires	82
Figure 21 : Fragments de cortex ovarien greffés sur l'ovaire résiduel.....	105
Figure 22 : Schématisation d'une greffe hétérotopique au niveau de l'avant-bras	105

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Effets secondaires aigus suite à l'irradiation de différents systèmes	44
Tableau 2 : Effets secondaires chroniques suite à l'irradiation de différents systèmes	45
Tableau 3 : Classification des agents intercalants	55
Tableau 4 : Classification des agents scindants	55
Tableau 5 : Classification des inhibiteurs de Topoisomérases.....	57
Tableau 6 : Classification des poisons du fuseau.....	57
Tableau 7 : Exemple de toxicité particulière par molécule ou par classe	60
Tableau 8 : Indications des GnRH-a par molécule	80
Tableau 9 : Taux de survie embryonnaire en fonction du stade choisi pour la congélation ...	93
Tableau 10 : Comparaison des résultats des transferts d'embryons frais et d'embryons congelés selon l'étude FIVNAT 2006.....	93
Tableau 11 : Résultats des TEC en fonction de l'âge au moment de la ponction.....	94
Tableau 12 : Résultats des TEC en fonction du nombre d'embryons transférés	94
Tableau 13 : Résultats des TEC en fonction de la technique de fécondation	94
Tableau 14 : Résultats des TEC en fonction du nombre de tentatives	95
Tableau 15 : Risque métastatique en fonction de la pathologie	108

ANNEXES

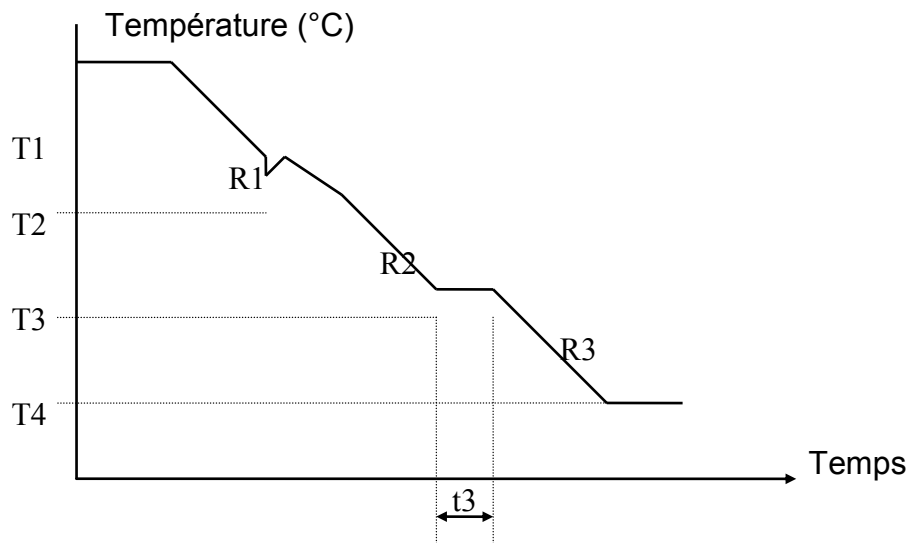
Annexe 1 : Classification des agents électrophiles (23)

1. Les alkylants bifonctionnels	
Les moutardes à l'azote	Chlorméthine =Caryolysine® Cyclophosphamide = Endoxan ® Isofosfamide = Holoxan ® Melphalan = Alkéran ® Chlorambucil = Chloraminophène® Estramustine = Estracyt® Pipobroman = Vercyte®
Les éthylènes imines	Thiotépa = Thiotépa®
Les alkylsulfonates	Busulfan : Myléran®, Misulban®

2. Les nitroso-urées	3. Les dérivés du platine	4. La mitomycine C	5. Les triazènes
Carmustine = Bicnu® Fotémustine = Muphoran® Streptozocine = Zanozar® Lomustine = Belustine®	Cisplatine = Cislatine® = Cisplatyl® Carboplatine = Paraplatine® Oxaliplatine = Eloxatine®	Amétycine®	Procarbazine = Natulan® Dacarbazine = Déticène® Temozolomide = Temodal®

Annexe 2 : Les programmes de congélation utilisés au CHU de Nantes

Les paramètres nécessaires pour constituer un programme de congélation sont les suivants :



T1 (°C) : température de régulation de la chambre de congélation avant d'y introduire les produits à congeler. Toujours positive, cette température doit être proche de la température de la suspension cellulaire préparée et mélangée au cryoprotecteur.

R1 (°C/mn) : pente de refroidissement de T1 à T2 (produit en phase liquide).

T2 (°C) : température de congélation, caractéristique physique du produit congelé (produit en phase solide)

Tf (°C) : température de fin de cristallisation, caractéristique physique du produit.

R2 (°C/mn) : pente de refroidissement de la fin du plateau de congélation T3.

T3 (°C) : température de changement de pente.

t3 (sec) : temps pendant lequel il est possible de stabiliser T3.

R3 (°C/mn) : pente de refroidissement de T3 à T4.

T4 (°C) : température finale en fin de cycle de congélation avant le stockage en azote liquide.

Tx (°C) : à T2, c'est-à-dire lors de la transformation de l'état liquide à solide, la chaleur latente de fusion produite doit être compensée par une libération de frigories dans l'enceinte. Cette quantité de frigorie se mesure à la température atteinte dans la chambre.

Cette valeur Tx est introduite sur l'écran et ne sera pas mémorisée sur le programme choisi.

Lors du lancement du programme, l'appareil indique également 3 températures :

Tm (°C) : température du produit.

Tc (°C) : température dans la chambre de congélation.

Tt (°C) : température théorique calculée par rapport aux données introduites pour le cycle de congélation.

Pour chaque programme, les paramètres enregistrés sont :

	T1	R1	T2	Tf	R2	T3	t3	R3	T4	Durée théorique du cycle
1 Embryons	+ 20	2	- 7	- 7	0,3	- 35	0	35	- 150	110 min
3 Tissu ovarien	+ 4	2	- 9	- 9	0,3	- 40	0	10	- 140	119 min

Annexe 3 : Formulaires de consentement pour le prélèvement de tissu ovarien chez des patientes soumises à un traitement castrateur

3a : Formulaire de consentement d'une patiente majeure

Je soussignée, Madame, Mademoiselle (1)

accepte que mon tissu ovarien soit prélevé et congelé de manière à m'être ultérieurement restitué quand je le souhaiterai à ma demande dans le cadre d'un futur projet parental. J'ai bien compris que la réalisation de cette greffe ou l'éventuel recours à la maturation in vitro ne se fera qu'avec l'accord des médecins oncologues, gynécologues et biologistes de la reproduction.

J'ai bien compris l'information orale qui m'a été donnée par le Docteur _____, concernant le déroulement de cette procédure et notamment, les bénéfices attendus, les risques et désagréments inhérents à cette technique.

Je suis libre d'accepter ou de refuser de réaliser cette conservation, sans que cela nuise à la qualité des soins qui me sont prodigués.

Je suis libre de demander à tout moment la destruction du tissu ovarien cryopréservé.

J'accepte que des informations me concernant soient collectées et que ces dernières fassent l'objet d'un traitement informatisé. Ces données demeureront strictement confidentielles et j'autorise leur consultation par des personnes collaborant à la prise en charge, éventuellement par un représentant des autorités de santé, toutes ces personnes étant astreintes au secret professionnel.

Je bénéficie en outre, d'un droit d'accès et de rectification, aux informations me concernant (article 40 de la loi « informatique et liberté », celui-ci s'exerçant à tout moment, par l'intermédiaire d'un médecin de mon choix.

Dans l'hypothèse où je n'aurais plus besoin mon tissu ovarien ou en cas de décès :

je souhaite que mon tissu ovarien soit détruit (2)

j'autorise que ce tissu soit utilisé à des fins de recherche biologique (sans que des embryons puissent être générés à partir de ce tissu) (2)

Fait à Nantes, le _____

La patiente

Madame, Mademoiselle,

Nom : _____

Prénom : _____

Signature obligatoire :

Le médecin de la reproduction

Docteur, Professeur, (1)

Nom : _____

Prénom : _____

Signature obligatoire :

(1) rayer la mention utile

(2) cocher la case correspondante

3b : Formulaire de consentement d'une patiente mineure

Nous soussignons, Monsieur _____
et Madame, Mademoiselle (1) _____

Père, Mère, tuteurs (1), titulaires de l'autorité parentale auprès de :

Mademoiselle _____

acceptons que le tissu ovarien de notre fille soit prélevé et congelé de manière à lui être ultérieurement restitué quand elle le souhaitera à sa demande dans le cadre d'un futur projet parental. Nous avons bien compris que la réalisation de cette greffe ou l'éventuel recours à la maturation in vitro ne se fera qu'avec l'accord des médecins oncologues, gynécologues et biologistes de la reproduction.

Nous avons bien compris l'information orale qui nous a été donnée par le Docteur _____, concernant le déroulement de cette procédure et notamment, les bénéfices attendus, les risques et désagréments inhérents à cette technique.

Nous et notre enfant, sommes libres d'accepter ou de refuser de réaliser cette conservation, sans que cela nuise à la qualité des soins qui lui sont prodigués.

Nous et notre enfant, sommes libres de demander à tout moment la destruction du tissu ovarien cryopréservé.

Nous acceptons que des informations concernant notre enfant soient collectées et que ces dernières fassent l'objet d'un traitement informatisé. Ces données demeureront strictement confidentielles et nous n'autorisons leur consultation que par des personnes collaborant à la prise en charge, éventuellement par un représentant des autorités de santé, toutes ces personnes étant astreintes au secret professionnel.

Nous bénéficions en outre, d'un droit d'accès et de rectification, aux informations concernant notre fille (article 40 de la loi « informatique et liberté », celui-ci s'exerçant à tout moment, par l'intermédiaire d'un médecin de notre choix.

Dans l'hypothèse où notre enfant n'aurait plus besoin de son tissu ovarien ou en cas de décès :

je souhaite que son tissu ovarien soit détruit (2)

j'autorise que ce tissu soit utilisé à des fins de recherche biologique (sans que des embryons puissent être générés à partir de ce tissu) (2)

Fait à Nantes, le _____

Le Père ou le Tuteur, titulaire de l'autorité parentale

Père, Tuteur de l'enfant (1)

Nom : _____

Prénom : _____

Signature obligatoire :

La patiente mineure

Mademoiselle,

Nom : _____

Prénom : _____

Signature obligatoire :

La Mère de la patiente, titulaire de l'autorité parentale

Madame, Mademoiselle, (1)

Nom : _____

Prénom : _____

Signature obligatoire :

Le médecin de la reproduction

Docteur, Professeur, (1)

Nom : _____

Prénom : _____

Signature obligatoire :

(3) rayer la mention utile

(4) cocher la case correspondante

Annexe 4 : Procédure de préparation du tissu ovarien

OBJECTIFS

Ce mode opératoire décrit la marche à suivre afin de préparer le tissu ovarien pour la congélation.

DOMAINE D'APPLICATION

Ce mode opératoire s'applique au secteur spermologie du laboratoire et s'adresse aux techniciens.

PREPARATION DU TISSU OVARIEN

La durée totale de l'ischémie chaude ne doit pas dépasser 30 minutes.

- Apporter au bloc opératoire 1 flacon stérile de 20 ml de milieu de Leibovitz filtré et les laisser à température ambiante.
- Au moment du prélèvement, placer l'ovaire dans du Leibovitz pour le transporter vers le laboratoire où il sera préparé.

Sous hotte et dans des conditions d'asepsie chirurgicale :

préparer un champ stérile
un plateau stérile cartonné
2 paires de ciseaux: petit ciseau et grand courbe
1 pince à épiler
des grandes compresses
des boîtes de pétri stériles
un scalpel

- Poser l'ovaire sur des compresses et le couper en deux dans le sens transversal. Replacer une moitié dans le flacon de Leibovitz
- A l'aide d'une pince fine stérile et d'un scalpel, séparer le cortex, (blanchâtre, « dure » à la dissection) de la médullaire (partie rougeâtre facilement dilacérable) et affiner au maximum la corticale (membrane fine < 1 mm).
- Couper le cortex en petits fragments de 1 cm² (au total 7 à 8 fragments) et mettre chaque fragment dans un tube préalablement identifié contenant la solution finale (autant de tubes que de fragments). Ces fragments constitueront le stock de tissu ovarien congelé pour une autogreffe.
- Faire également une douzaine de tubes contenant des fragments de 1 mm² en vue d'une réutilisation par maturation *in vitro*.
- Placer les tubes au réfrigérateur à + 4°C pendant 20 minutes et agiter de temps en temps.
- Garder pour le laboratoire d'anatomo-cytopathologie, 1 fragment de cortex et 1 fragment de médullaire qui seront placés dans des flacons de formol à 10% pour observer la qualité du prélèvement. (fiche de demande d'examen)
- Les tubes sont ensuite congelés selon le programme ovaire le plus souvent dans le Planer permettant un seeding individuel des tubes. Ne pas oublier de modifier la position du congélateur (vertical pour tubes) (cf MO-MNT-010)

- Le seeding se fait en plongeant rapidement un par un les portoirs à cryotubes dans l'azote liquide.
- A la fin du programme de congélation (-140°C), les tubes sont plongés dans l'azote liquide et placés dans la cuve OVAIRES en notant l'emplacement.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 Amorim C.A., Gonçalves P.B.D, Figueiredo J.R.
Cryopreservation of oocytes from pre-antral follicles
Human Reproduction Update, 2003, 9 (2) :119-129
- 2 Averette HE., Boike GM., Jarrell MA.
Effects of cancer chemotherapy on gonadal function and reproductive capacity
A cancer journal for clinicians, 1990, 40 (4) : 199-209
- 3 Behringer K., Breuer K., Reineke T., May M., Nogova L., Klimm B., Schmitz T., Wildt L., Diehl V., Engert A.
Secondary Amenorrhea After Hodgkin's Lymphoma Is Influenced by Age at Treatment, Stage of Disease, Chemotherapy Regimen, and the Use of Oral Contraceptives During Therapy: A Report From the German Hodgkin's Lymphoma Study Group
Journal of clinical oncology, 2005, 23 (30) : 7555-7564
- 4 Bisharah M., Tulandi T.
Laparoscopic preservation of ovarian function: an underused procedure
Am J Obstet Gynecol. 2003, 188 (2): 367-370
- 5 Blumenfeld Z., Dann E., Avivi I., Epelbaum R. Rowe J.M.
Fertility after treatment for Hodgkin's disease
Annals of oncology 2002, 13 (S1) : 138-147
- 6 Blumenfeld Z., Eckman A.
Preservation of Fertility and Ovarian Function and Minimization of Chemotherapy-Induced Gonadotoxicity in Young Women by GnRH-a
Journal of the National Cancer Institute Monographs, 2005, 34 : 40-43
- 7 Boldt J., Cline D., McLaughlin D.
Human oocyte cryopreservation as an adjunct to IVF-embryo transfer cycles
Human reproduction, 2003, 18 (6) : 1250-1255
- 8 Brännström M.
Uterine transplantation: a future possibility to treat women with uterus factor infertility?
Minerva Med 2007.,98 (3) : 211-216
- 9 Carroll J, Whittingham DG, Wood MJ, Telfer E, Gosden RG
Extra-ovarian production of mature viable mouse oocytes from frozen primary follicles.
J Reprod Fertil.1990, 90 (1) : 321-327
- 10 Carroll J, Whittingham DG, Wood MJ
Growth in vitro and acquisition of meiotic competence after the cryopreservation of isolated mouse primary ovarian follicles.
Reprod Fertil Dev 1991.,3 (5) : 593-539

- 11 Carroll J., Gosden RG
Transplantation of frozen—thawed mouse primordial follicles
Human Reproduction 1993, 8 (8) : 1163-1167
- 12 Chapman RM, Sutcliffe SB.
Protection of Ovarian Function by Oral Contraceptives in Women Receiving
Chemotherapy for Hodgkin's Disease
Blood, 1981, 58, (4)
- 13 Chemaitilly W., Mertens AC., Mitby P., Whitton J., Stovall M., Yasui Yu., Robison
L., Sklar C.
Acute Ovarian Failure in the Childhood Cancer Survivor Study
The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism ,2006 , 91 (5) : 1723–1728
- 14 Chen S.U., Lien Y.R., Chao K.H., Ho H.N., Yang Y.S., Lee T.Y
Effects of cryopreservation on meiotic spindles of oocytes and its dynamics after
thawing : clinical implications in oocyte freezing-a review article
Molecular and Cellular Endocrinology, 2003, 202, Issues (1-2) : 101-107
- 15 Classe JM, Mahe M, Moreau P, Rapp MJ, Maisonneuve H, Lemevel A, Bourdin S,
Harousseau JL, Cuilliere JC
Ovarian transposition by laparoscopy before radiotherapy in the treatment of
Hodgkin's disease
Cancer. 1998, 1; 83 (7) :1420-1424
- 16 Critchley H., Hamish W., Wallace B.
Impact of Cancer Treatment on Uterine Function
Journal of the National Cancer Institute Monographs, 2005, (34) : 64-68
- 17 Czyba J.C, Montella A.
Biologie de la reproduction humaine
Edition Sauramps médical 1993 : 122-225
- 18 Davis V.
Female Gamete Preservation
Cancer 2006, 107 (7) : 1690-1694
- 19 Demeestere I., Simon P., Emiliani S., Delbaere A., Englert Y.
Fertility Preservation: Successful Transplantation of Cryopreserved Ovarian Tissue in
a Young Patient Previously Treated for Hodgkin's Disease
Oncologist 2007, 12, 1437-1442
- 20 Dolmans MM., Michaux N., Camboni A., Martinez-Madrid B., Van Langendonck A.,
Nottola SA., Donnez J.
Evaluation of Liberase, a purified enzyme blend, for the isolation of human primordial
and primary ovarian follicles
Human Reproduction, 2006, 21 (2) : 413–420

- 21 Dolmans MM., Donnez J.
Cryopréservation du tissu ovarien chez des patientes devant bénéficier d'une chimiothérapie
2007, 126 (9) : S106-S112
- 22 Donnez J., Martinez-Madrid B., Jadoul P., Langendonck A., Demylle D. Dolmans M.M.
Ovarian tissue cryopreservation and transplantation : a review
Human Reproduction Update, 2006, 12(5) : 519–535
- 23 Dorosz 2004
Edition Maloine, 24^{ième} édition
- 24 Dossier FIVNAT
Edition 2006
- 25 El-Akouri RR., Kurlberg G., Braënnstroëm M.
Successful uterine transplantation in the mouse: pregnancy and post-natal development of offspring
Human Reproduction, 2003, 18 (10) : 2018-2023
- 26 Fabbri R., Porcu E., Marsella T., Rocchetta G., Venturoli S., Flamigni C.
Human oocyte cryopreservation : new perspectives regarding oocyte survival
Human reproduction, 2001, 16 (3) : 411-416
- 27 Fageeh W, Raffa H, Jabbad H, Marzouki A
Transplantation of the human uterus.
Int J Gynaecol Obstet. , 2002, 76 (3) : 245-251
- 28 Faller A., Schünke M., Sprumont P.
Le corps humain
Edition De Boeck 2006 5^{ième} édition
- 29 Familiari G, Caggiati A, Nottola SA, Ermini M, Di Benedetto MR, Motta PM.
Ultrastructure of human ovarian primordial follicles after combination chemotherapy for Hodgkin's disease
Human Reproduction, 1993, 8(12) :2080-2087
- 30 Frydman René
La MIV ou maturation in vitro des follicules
Extrait de L'Express du 26/06/2003: Gynécologie; Les nouvelles voies de la FIV
- 31 Gosden R.G., Baird D.T., Wade J.C., Webb R.
Restoration of fertility to oophorectomized sheep by ovarian autografts stored at -196°C
Human Reproduction, 1994, 9 (4) : 597-603

- 32 Green D.
Fertility and Pregnancy Outcome after Treatment for Cancer in Childhood or Adolescence
The Oncologist, 1997, 2(3), 171–179
- 33 Grimaud N., Robert S.
Module oncologie, 4^{ième} Année de Pharmacie, 2003-2004
- 34 Guignot F.
Cryoconservation des embryons des espèces domestiques
INRA, Prod. Anim., 2005, 18 (1), 27-35
- 35 Hamamah S.
Médecine et biologie de la reproduction
Edition Masson, 2001
- 36 Hamish W., Wallace B., Thomson A., Saran F., Kelsey T. W.
Predicting age of ovarian failure after radiation to a field that includes the ovaries.
Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys., 2005, 62 (3) : 738–744
- 37 Hancke K., Strauch O., Kissel C., Göbel H., Schäfer W., Denschlag D.
Sphingosine 1-phosphate protects ovaries from chemotherapy-induced damage in vivo
Fertility and Sterility, 2007, 87 (1) : 172-177
- 38 Hilders C., Baranski A., Peters L., Ramkhelawan A., Trimpos JB.
Successful Human Ovarian Autotransplantation to the Upper Arm
Cancer, 2004, 101, (12) : 2771-2778
- 39 Hovatta O., Silye R., Abir R., Krausz T., Winston R.
Extracellular matrix improves survival of both stored and fresh human primordial and primary ovarian follicles in long-term culture
Human Reproduction, 1997, 12 (5) :1032–1036
- 40 Hovatta O, Wright C, Krausz T, Hardy K, Winston R.
Human primordial, primary and secondary ovarian follicles in long-term culture : effect of partial isolation
Human reproduction, 1999, 14 (10) : 2519-2524
- 41 Hovatta O.
Cryopreservation and culture of human ovarian cortical tissue containing early follicles.
Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2004, 113 (Suppl 1) : S50-S54,
- 42 Humeau C.
L'essentiel sur la biologie de la reproduction et le développement embryonnaire
Edition Sauramps médical 1992 : 43-93

- 43 J.Lee S., Schover L.R., Partridge A.H, Patrizio P., Wallace WH, Hagerty K, Beck LN., V. L.Brennan, Oktay K.
American Society of Clinical Oncology Recommendations on Fertility Preservation in Cancer Patients
Journal of Clinical Oncology, 2006, 24(8) : 2917-2931
- 44 Katayama K., Stehlik J., Kuwayama M., Kato O., Stehlik Ed.
High survival rate of vitrified human oocytes results in clinical pregnancy
Fertility and Sterility, 2003, 80(1) : 223-224
- 45 Knobf M.Tish
The Influence of Endocrine Effects of Adjuvant Therapy on Quality of Life Outcomes in Younger Breast Cancer Survivors
The Oncologist, 2006, 11(2) : 96-110
- 46 Kuleshova L., Lopata A.
Vitrification can be more favorable than slow cooling
Fertility and Sterility, 2002, 78 (3) : 449-454
- 47 Kuwayama M, Vajta G, Kato O, Leibo SP.
Highly efficient vitrification method for cryopreservation of human oocytes.
Reprod Biomed Online. 2005, 11(3) : 300-308,
- 48 Lansac J., Guérif F., Barrière P., Barthélémy C., Bouchot O.
AMP : l'assistance médicale à la procréation en pratique
Edition Masson, 2005
- 49 Le Bouëdec G., Rabishong B., Canis M. , Achard JL. , Pomel Ch., Dauplat J.
Transposition ovarienne par coelioscopie avant curiethérapie dans les cancers du col utérin de la femme jeune
Journal de gynécologie obstétrique et de biologie de la reproduction 2000, 29 : 564-570 ,
Edition Masson, 2000
- 50 Leporrier M.
New technique to protect ovarian function before irradiation. heterotopic ovarian transplantation.
Cancer, 1987, 60 : 2201-2204
- 51 Letterie G.
Anovulation in the prevention of cytotoxic-induced follicular attrition and ovarian failure
Human Reproduction, 2004, 19 (4) : 831-837
- 52 Letur-Könirsch H., Lefaix J.L., Delanian S.
Utérus après irradiation
Gynécologie obstétrique & fertilité, 2005, 33 (9) : 605-609

- 53 Maltaris T., Koelbl H., Seufert R., Kiesewetter F., Beckmann M, Mueller A., Dittrich R.
Gonadal damage and options for fertility preservation in female and male cancer survivors
Asian J Androl, 2006, 8 (5) : 515-533
- 54 Matzuk MM, Burns KH, Viveiros MM, Eppig JJ.
Intercellular communication in the mammalian ovary: oocytes carry the conversation.
Science. 2002, 21; 296(5576): 2178-80
- 55 Mazon J.J, Locoche T., Maugis A.
Techniques d'irradiation des cancers
Edition Vigot 1992
- 56 Meirow D., Lewis H., Nugent D., Epstein M.
Subclinical depletion of primordial follicular reserve in mice treated with cyclophosphamide : clinical importance and proposed accurate investigative tool
Human Reproduction, 1999, 14 (7) :1903-1907
- 57 Meirow D., Nugent D.
The effects of radiotherapy and chemotherapy on female reproduction
Human reproduction update, 2001, 7(6) : 535-543
- 58 Meirow D., Epstein M., Lewis H., Nugent D., Gosden RG.
Administration of Cyclophosphamide at different stages of follicular maturation in mice : effects on reproductive performance and fetal malformations
Human Reproduction, 2001, 16 (4) : 632-637
- 59 Meirow D., Dor J., Kaufman B., Shrim A., Rabinovici J., Schiff E., Raanani H., Levron J., Fridman E.
Cortical fibrosis and blood-vessels damage in human ovaries exposed to chemotherapy. Potential mechanisms of ovarian injuries.
Human Reproduction, 2007, 22 (6) : 1626-1633
- 60 Meirow D., Levron J., Eldar-Geva T., Hardan I., Fridman E., Yemini Z., Dor J.
Monitoring the ovaries after autotransplantation of cryopreserved ovarian tissue: endocrine studies, in vitro fertilization cycles, and live birth
Fertility and Sterility, 2007, 87 (2) : 7-15
- 61 Montz F.J., Wolff A., Gambone J.
Gonadal Protection and Fecundity Rates in Cyclophosphamide-treated Rats
Cancer Research 1991, 51 : 2124-2126.
- 62 Morice P., Thiam-Ba R., Castaigne D., Haie-Meder C., Gerbaulet A., Pautier P., Duvillard P., Michel G.
Fertility results after ovarian transposition for pelvic malignancies treated by external irradiation or brachytherapy
Human Reproduction, 1998, 13(3) : 660–663

- 63 Nottola SA, Camboni A, Van Langendonck A, Demylle D, Macchiarelli G, Dolmans MM, Martinez-Madrid B, Correr S, Donnez J
Cryopreservation and xenotransplantation of human ovarian tissue: an ultrastructural study.
Fertil Steril. 2007
- 64 O'Brien MJ., Pendola JK., Eppig JJ.
A Revised Protocol for In Vitro Development of Mouse Oocytes from Primordial Follicles Dramatically Improves Their Developmental Competence
Biology of reproduction, 2003, 68 : 1682–1686
- 65 Oktay K., Sonmezer M.
Ovarian tissue banking for cancer patients
Fertility preservation, not just ovarian cryopreservation
Human Reproduction, 2004, 19(3) : 477- 480
- 66 Oktay K.
Spontaneous conceptions and live birth after heterotopic ovarian transplantation : is there a germline stem cell connection ?
Human reproduction, 2004, 21(6) : 1345-1348
- 67 Oktay K., Sonmezer M., Oktem O., Fox K., Emons G., Bang H.
Absence of Conclusive Evidence for the Safety and Efficacy of Gonadotropin-Releasing Hormone Analogue Treatment in Protecting Against Chemotherapy-Induced Gonadal Injury
The Oncologist, 2007, 12 :1055–1066
- 68 Olivier. C
UVO 42 connaître pour expliquer : Grossesse et toxique 4^{ième} année de Pharmacie, 2003-2004
- 69 Pouget JP, Mather Stephen.J
General aspects of the cellular response to low- and high-LET radiation
Eur J Nucl Med 2001, 28 : 541-561
- 70 Procédure et mode opératoire du centre AMP, CHU Nantes, 2006
Conservation de tissu ovarien
- 71 Quintans CJ., Donaldson MJ., Bertolino M.V, Pasqualini R.S
Birth of two babies using oocytes that were cryopreserved in a choline-based freezing medium
Human reproduction 2002, 17(12) : 3149-3152
- 72 Rosendahl M., Loft A., Byskov A.G., Ziebe S., Schmidt K.T.L., Nyboe Andersen A., Ottosen C., Yding Andersen C..
Biochemical pregnancy after fertilization of an oocyte aspirated from a heterotopic autotransplant of cryopreserved ovarian tissue : Case Report
Human Reproduction, 2006, 21(8) : 2006–2009

- 73 Schwartz C.L.
Long-Term Survivors of Childhood Cancer: The Late Effects of Therapy
The Oncologist, 1999, 4(1) : 45-54
- 74 Scott SM, Schlaff W
Laparoscopic medial oophoropexy prior to radiation therapy in an adolescent with Hodgkin's disease
J Pediatr Adolesc Gynecol 2005., 18 (5) :355-357
- 75 Sella T., Mironov S., Hricak H.
Imaging of Transposed Ovaries in Patients with Cervical Carcinoma
American Roentgen Ray Society, 2005, 184 :1602-1610
- 76 Simon B., Joi Lee S., Partridge A., Runowicz C.
Preserving Fertility After Cancer
CA Cancer J Clin 2005, 55, 211-228
- 77 Sklar C.
Maintenance of Ovarian Function and Risk of Premature Menopause Related to Cancer Treatment
Journal of the National Cancer Institute Monographs, 2005, (34) : 25-27
- 78 Son WY, Park SE, Lee KA, Lee WS, Ko JJ, Yoon TK, Cha KY
Effects of 1,2-propanediol and freezing-thawing on the in vitro developmental capacity of human immature oocytes
Fertility and Sterility, 1996, 66 (6) : 995-999
- 79 Sonmezer M., Oktay K.
Fertility preservation in female patients
Human Reproduction Update, 2004, 10 (3) : 251-266
- 80 Sonmezer M., Oktay K.
Fertility Preservation in Young Women Undergoing Breast Cancer Therapy
The Oncologist, 2006, 11(5) : 422-434
- 81 Stern CJ., Toledo MG., Gook DA., Seymour JF.
Fertility preservation in female oncology patients
Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology, 2006, 46 (1) : 15
- 82 Takai Y., Matikainen T., Jurisicova A., Kim M. R., Trbovich A. M., Fujita E., Nakagawa T., Lemmers B., Flavell R. A., Hakem R., Momoi T., Yuan J., Tilly J. L., Perez G. I.
Caspase-12 compensates for lack of caspase-2 and caspase-3 in female germ cells
Apoptosis 2007, 12 : 791-800
- 83 Thyss A., Pivot X.
Traitements médicaux des cancers
Editions Masson, 1998

- 84 Toth TL, Baka SG, Veeck LL, Jones HW, Muasher S, Lanzendorf SE
Fertilization and in vitro development of cryopreserved human prophase I oocytes
Fertility and Sterility, 1994, 61(5) : 891-894
- 85 Toth TL, Lanzendorf SE, Sandow BA, Veeck LL, Hassen WA, Hansen K, Hodgen
GD
Cryopreservation of human prophase I oocytes collected from unstimulated follicles
Fertility and Sterility, 1994, 61(6) : 1077-1082
- 86 Tucker MJ, Wright G, Morton PC, Massey JB
Birth after cryopreservation of immature oocytes with subsequent in vitro maturation
Fertility and Sterility, 1998, 70 (3) : 578-579
- 87 Wallace WHB., Thomson A.B., Kelsey T.W.
The radiosensitivity of the human oocyte
Human Reproduction, 2003, 18 (1) : 117-121
- 88 Wu J., Zhang L., Wang X.
In vitro maturation, fertilization and embryo development after ultrarapid freezing of
immature human oocytes
Reproduction, 2001, 121 (3) : 389-393,
- 89 Zuckerman Z., Blumenfeld Z., Ben Arush M.,
Spontaneous pregnancy and normal delivery after repeated autologous bone marrow
transplantation and GnRH agonist treatment
Human Reproduction 2007, 22 (8) : 2346

Références électroniques

- 90 www.educ.necker.fr/cours/cancerologie/radiotherapie.pdf
- 91 www.fivfrance.com
- 92 www.fmrc.fr
- 93 www.invs.sante.fr
- 94 www.oncoprof.net
- 95 www.orphanet/data/patho/Pro/fr/InsuffisanceOvariennePrematuree-FRfrPro2307v01.pdf
- 96 www.plosone.org
- 97 www.procreanet.com
- 98 www.thelancet.com

- 99 www.siral.univ-lyon1.fr/polycops/
- 100 <http://perso.orange.fr/college-gyneco.cvl/index.htm>
- 101 <http://webpublic.acdijon.fr/pedago/svt/>
- 102 <http://w3med.univ-lille2.fr/pedagogie/contenu/discipl/gyneco-medic>

Nom-Prénoms : Antunès Carine Guylène Marthe

Titre de la thèse : **La toxicité de la radiothérapie et de la chimiothérapie sur l'appareil reproducteur féminin et les méthodes de préservation de la fertilité chez la femme et la fillette.**

Résumé de la thèse :

Le nombre de nouveaux cas de cancers augmente chaque année et cela n'épargne pas les enfants. Les thérapeutiques anti-cancéreuses comme la radiothérapie et la chimiothérapie ont des effets secondaires sur tous les systèmes de l'organisme y compris les organes de la reproduction. Cette action gonadotoxique, potentialisée par leur association, conduit les patientes à un risque important d'infertilité et de ménopause précoce. Des traitements permettraient d'améliorer la fonction utérine mais aucun ne permet de maintenir ou de restaurer la fertilité des femmes ayant subi ce type de traitement. Ainsi il est important de prendre en charge la patiente le plus tôt possible après l'annonce du diagnostic, en vue de lui proposer la meilleure solution pour préserver sa fertilité future sans compromettre son pronostic vital. Parmi l'ensemble des options, la cryoconservation embryonnaire est une technique de choix pour les patientes qui peuvent en bénéficier. Pour les autres patientes y compris les fillettes, la cryoconservation de tissu ovarien est la seule alternative. Le développement des protocoles de maturation du tissu ovarien feront de celle-ci une technique d'avenir permettant à de nombreuses « femmes survivantes » d'être mère.

MOTS CLÉS :

GONADOTOXICITÉ
PROTECTION
TRANSPLANTATION
OOPHOROPEXIE
CRYOCONSERVATION

JURY

PRÉSIDENT : M. Alain Pineau, Professeur de Toxicologie
Faculté de Pharmacie de Nantes
ASSESEURS : Mme Sophie Mirallié, Praticien Hospitalier, Service de Biologie du
Développement et de la Reproduction, CHU de Nantes
Mme Nicole Grimaud, Maître de Conférence de Pharmacologie
Faculté de Pharmacie de Nantes

Adresse de l'auteur : ANTUNES Carine
47, Rue Jules Verne
44470 CARQUEFOU