

UNIVERSITE DE NANTES

FACULTE DE MEDECINE

Année 2014

N° 157

THESE

pour le

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE

DES de Gynécologie Obstétrique

Présentée et soutenue publiquement le 4 Juin 2014

par

Aurore Gueniffey

Née le 5 septembre 1983 à Grasse (06)

Cryopréservation ovarienne pour préservation de la fertilité féminine au CHU
de Nantes depuis 1995. Quel devenir pour ces patientes en 2014 ?

Président du jury: Monsieur le Professeur Paul Barrière

Directeur de thèse : Docteur Thomas Fréour

Membres du jury : Monsieur le Professeur Jean Marc Classe
Madame le Docteur Sophie Mirallié
Monsieur le Docteur Stéphane Ploteau

REMERCIEMENTS

Je remercie,

Monsieur le Pr Paul Barrière pour ce sujet de thèse qui m'a passionné. *Je suis très honorée que vous ayez accepté de présider ce jury. Je vous remercie de m'avoir appris le goût de l'écoute du patient et de la médecine de la reproduction. J'ai beaucoup appris à votre contact.* Monsieur le Pr Jean-Marc Classe qui me fait l'honneur de sa présence aujourd'hui. *Je vous remercie d'avoir démystifié la chirurgie oncologique pour moi et de m'avoir appris à garder mon calme en cas d'hémorragie...* Le Dr Thomas Fréour pour sa patience et sa gentillesse. *Je te remercie d'avoir accepté d'encadrer ce projet et d'avoir réussi à me donner un peu confiance en moi. C'est un réel plaisir de travailler avec toi.* Le Dr Sophie Mirallié d'avoir accepté de faire partie de ce jury. *J'ai beaucoup appris à ton contact dans le service de Biologie de la Reproduction et je suis admirative de ton implication et de ton empathie envers tous ces patients.* Le Dr Ploteau Stéphane pour sa présence aujourd'hui. *Je te remercie pour ta gentillesse et ta bonne humeur de tous les jours. Je te remercie pour ton investissement dans notre formation à tous les internes.* Le Pr Lopes Patrice, pour votre bienveillance envers nous tous et le savoir que vous m'avez transmis en chirurgie et en gynécologie. Le Pr Philippe Henri-Jean, pour votre savoir et vos conseils judicieux tout au long de mon internat. Les médecins du service de Biologie de la Reproduction, le Dr Agnès Colombel, *pour tes connaissances en AMP et en endocrinologie,* le Dr Leperlier Florence, *je suivrai tes conseils à la lettre!*, le Dr Julien Bancquart, pour ta disponibilité, *tu m'as appris beaucoup de choses,* le Dr Splinguart Carole, pour ta gentillesse, le Dr Miguel Jean, pour votre sagesse. Le reste du service de Biologie de la Reproduction, les sages femmes (Sylvie, Agnès, Florence et Virginie) pour tous vos conseils, votre aide et votre expérience, les secrétaires (Sonia et Aurélie), *vous êtes les secrétaires les plus efficaces du CHU* (ma date de thèse !), les techniciens du 5^{ème} et de la spermologie. Le Dr Levailant Claudine pour m'avoir transmis son goût de l'obstétrique et de l'échographie fœtale. *Je vous remercie de m'avoir transmis votre rigueur dans le travail.* Le Dr Winer Norbert, pour m'avoir montré la complexité de l'obstétrique et m'avoir fait faire mes premiers forceps. Le Dr Michy Thierry, pour ma première coelioscopie et ma première césarienne. *A très bientôt !* Les gynécologues du CHU de Nantes, le Dr Julie Esbelin, pour ta pédagogie, le Dr Edouard Vaucel, le Dr Réjane Bouquin, le Dr Yolande Caroit, le Dr Eric Darnis pour tout ce que vous m'avez appris. Le Dr Pasco Michel, pour votre gentillesse et votre savoir. *Merci pour votre disponibilité et tout « les trucs et astuces » de l'échographie.*

REMERCIEMENTS	1
TABLEAUX	4
FIGURES	4
I. INTRODUCTION	5
II. GENERALITES	6
A. LA CRYOPRESERVATION OVARIENNE	6
1. <i>Historique</i>	6
2. <i>Réglementation française</i>	6
3. <i>La cryopréservation : aspects techniques</i>	7
4. <i>L'autogreffe ovarienne</i>	7
a) <i>La greffe orthotopique</i>	7
b) <i>La greffe hétérotopique</i>	8
5. <i>La folliculogénèse et maturation in vitro</i>	9
B. LES AUTRES CHOIX POSSIBLES POUR LA PRESERVATION DE LA FERTILITE	10
1. <i>La congélation embryonnaire</i>	10
2. <i>La congélation d'ovocyte mature</i>	10
3. <i>La transposition ovarienne</i>	11
4. <i>Les agoniste de la GNRH</i>	11
C. LES INDICATIONS	12
1. <i>Les cancers</i>	12
a) <i>Les chimiothérapies</i>	12
b) <i>La radiothérapie</i>	12
2. <i>Les hémopathies non malignes</i>	13
3. <i>Les maladies génétiques</i>	14
4. <i>Les maladies auto-immunes</i>	14
5. <i>L'endométriose</i>	14
III. MATERIELS ET METHODES	15
A. LA CRYOPRESERVATION OVARIENNE	15
1. <i>Consultation</i>	15
2. <i>Chirurgie</i>	15
3. <i>Transport/Préparation/Congélation/Stockage</i>	16
B. LES PATIENTES	16
C. RECUEIL DES DONNEES	16
D. LES OBJECTIFS	17
IV. RESULTATS	18
A. LES PATIENTES	18
1. <i>Les données démographiques</i>	18
2. <i>Devenir</i>	18
3. <i>Les indications</i>	19
4. <i>Le prélèvement chirurgical</i>	20

B.	LES TRAITEMENTS.....	20
1.	<i>Chimiothérapie</i>	21
2.	<i>Allogreffe/Autogreffe de cellules souches hématopoïétiques</i>	23
3.	<i>Radiothérapie</i>	23
C.	BIOLOGIE	24
1.	<i>Bilan hormonal préopératoire</i>	24
2.	<i>Anatomopathologie</i>	25
D.	APRES LA MALADIE	25
1.	<i>Fonction ovarienne</i>	25
2.	<i>Suivie des patientes</i>	26
V.	DISCUSSION	29
A.	CHIMIOTHÉRAPIE	29
B.	TECHNIQUE CHIRURGICALE.....	31
C.	LES LIMITES DE LA CRYOPRESERVATION OVARIENNE.....	31
1.	<i>Le risque de réintroduction de cellules malignes</i>	31
2.	<i>Aspect éthique</i>	33
D.	SUIVI DES PATIENTES.....	34
1.	<i>Evaluation de la fonction ovarienne</i>	34
2.	<i>Fertilité après</i>	35
3.	<i>Suivi</i>	36
VI.	CONCLUSION	37
VII.	BIBLIOGRAPHIE.....	38

Tableaux

TABLEAU 1 : AVANTAGES ET INCONVENIENT DE LA GREFFE ORTHOTOPIQUE OU HETEROTOPIQUE D'APRES (24).....	8
TABLEAU 2 : CLASSEMENT DES CHIMIOETHERAPIES EN FONCTION DU RISQUE GONADOTOXIQUE.	12
TABLEAU 3 : RISQUE D'ALTERATION DE LA FERTILITE EN FONCTION DES TRAITEMENTS ET CANCERS D'APRES (28,40).....	13
TABLEAU 4 : PATIENTES DECEDEES EN FONCTION DES CANCERS.....	18
TABLEAU 5 : REPARTITION DU CHOIX DE MOMENT DE LA CRYOPRESERVATION EN FONCTION DES INDICATIONS.....	21
TABLEAU 6 : LES DIFFERENTES CHIMIOETHERAPIES EN FONCTION DES INDICATIONS.....	22
TABLEAU 7 : LES DIFFERENTS TYPES DE RADIOETHERAPIES GONADOTOXIQUES.....	24
TABLEAU 8 : LES RESULTATS ANATOMOPATHOLOGIQUES EN FONCTION DU MOMENT DE LA CRYOPRESERVATION.....	25
TABLEAU 8 : RECUPERATION DE LA FONCTION OVARIENNE EN FONCTION DES TRAITEMENTS GONADOTOXIQUES.....	26
TABLEAU 9 : REPRIS DES CYCLES APRES CANCER DU SEIN EN FONCTION DE L'AGE.....	30
TABLEAU 10 : RISQUE DE TRANSMISSION DE LA MALADIE RESIDUELLE EN FONCTION DES INDICATIONS D'APRES (54).....	32

Figures

FIGURE 1 : ETAPE DE FOLLICULOGENESE IN VITRO POUR PRESERVATION DE LA FERTILITE. (29)	9
FIGURE 2 : REPARTITION DES PATIENTES EN FONCTION DES TRANCHES D'AGE AU PRELEVEMENT ET EN 2014	18
FIGURE 3 : LES DIFFERENTES INDICATIONS DE CRYOPRESERVATION OVARIENNE	20
FIGURE 4 : LES INDICATIONS D'ALLO/AUTOGREFE.....	23
FLOW CHART 1 : ANALYSE DE LA RECUPERATION DE LA FONCTION OVARIENNE	26
FLOW CHART 2 : DEVENIR EN 2014 DES PATIENTES CRYOPRESERVEES.....	27

I. Introduction

Les traitements actuels permettent la survie de la majorité des enfants et jeunes adultes atteints de cancer. Les avancées thérapeutiques augmentent d'années en années le taux de survie de ces patients, pour atteindre près de 80% chez les moins de 15 ans (1) et de 60 à 80% chez les moins de 40 ans (2). La plupart de ces patientes n'ont pas encore réalisé leur projet parental quand survient la maladie. Les traitements anticancéreux entraînent très souvent une infertilité voire une ménopause précoce. L'insuffisance ovarienne prématurée ou ménopause précoce est définie par une perte de fonction ovarienne (arrêt des menstruations) avant l'âge de la ménopause. L'insuffisance ovarienne aigue survient pendant ou peu de temps après les traitements. Elle peut être permanente ou transitoire.

Il a été prouvé que ces patientes avaient plus de risques d'infertilité que la population générale (3). Dans ce contexte, la préservation de la fertilité devient donc capitale pour cette population. Elle peut être basée sur différentes stratégies : congélation d'ovaires, d'ovocytes, d'embryon

La cryopréservation ovarienne a pour but de prélever tout ou une partie du tissu ovarien, de conserver ce tissu par congélation. L'objectif final de cette pratique est d'utiliser ce tissu ovarien pour l'obtention d'ovocytes matures, soit en le restituant sous forme de greffe à la patiente quand elle désirera une grossesse, soit par maturation folliculaire in vitro.

Cette étude rétrospective de cohorte a pour objectif de décrire l'ensemble des patientes ayant bénéficié d'une préservation de la fertilité au CHU de Nantes pour cryopréservation de cortex ovarien et leur devenir en 2014. Ce protocole entre dans le cadre d'une étude clinico-biologique, avec bénéfice direct pour la patiente. Cette étude propose aux patientes qui vont recevoir un traitement gonadotoxique de préserver leur fertilité en congelant une partie de leur tissu ovarien. Les patientes doivent être âgées de moins de 35ans, avoir un désir de préserver leur fertilité, l'indication doit être reconnue par les médecins oncologues, gynécologues et biologistes, et elles ne doivent pas présenter de contre-indication à l'anesthésie générale, à la coelioscopie ou à la laparotomie.

II. Généralités

A. La cryopréservation ovarienne

Actuellement la cryopréservation ovarienne est la seule technique possible pour les patientes pré pubères. Lorsque la maladie nécessite la mise en place des traitements gonadotoxiques sans délai ou que la stimulation ovarienne est contre indiquée, c'est aussi la seule possibilité de préservation de la fertilité.

1. Historique

La cryopréservation ovarienne est une technique récente de préservation de la fertilité. La recherche sur la congélation ovarienne remonte aux années 1950. Les premiers greffons ovariens actifs après décongélation et greffe ont été démontrés en 1953 chez la rate (4). L'application humaine de cette technique remonte à 1998 avec la congélation puis la greffe fonctionnelle de fragments d'ovaire humain à une souris (5).

Oktay a décrit la première technique de greffe orthotopique humaine d'ovaire cryoprélevée en 2000(6) avec reprise d'une sécrétion hormonale et de cycles. Le même auteur a obtenu les premiers embryons après greffe hétérotopique en fécondation in vitro (7).

Donnez a publié la première naissance après greffe ovarienne orthotopique chez une patiente de 25 ans, cryoprélevée avant une chimiothérapie pour un lymphome de Hodgkin. La grossesse est survenue spontanément à 9 mois de la greffe après restauration de la fonction ovarienne (8).

Actuellement on dénombre 28 naissances vivantes après transplantation de tissu ovarien (9,10).

2. Réglementation française

La première loi française légiférant l'aide médicale à la procréation est la loi de Bioéthique du 29 juillet 1994 (n°94-653). Elle définit l'assistance médicale à la procréation comme « les pratiques cliniques et biologiques permettant la conception *in vitro*, le transfert d'embryons et l'insémination artificielle ainsi que de toute technique d'effet équivalent permettant la procréation en dehors du processus naturel ». Cette loi réserve ces pratiques aux couples homme/femme, vivants, en âge de procréer, mariés ou pouvant justifier de deux ans de vie commune. (11)

En 1999, l'arrêté du 12 janvier 1999 (article 2.6) indique que « les prélèvements de fragments d'ovaire en vue de conservation pour une éventuelle assistance médicale à la procréation ultérieure restent du domaine de la recherche, et doivent entrer dans le cadre d'un protocole de recherche et faire l'objet d'une demande à CCPPRB. » (12)

La révision de la loi du 6 août 2004 mentionne « qu'en vue de la réalisation ultérieure d'une assistance médicale à la procréation, tout personne peut bénéficier du recueil et de la conservation de tissu germinale, avec son consentement et le cas échéant, celui d'un titulaire de l'autorité parentale et du tuteur, lorsque l'intéressé mineur ou majeur fait l'objet d'une mise sous tutelle, lorsque qu'une prise en charge médicale est susceptible d'altérer sa fertilité ou lorsque sa fertilité risque d'être prématurément altérée. » (13)

La révision de la loi de Bioéthique du 7 juillet 2011, supprime la notion de deux ans de vie commune pour se limiter au couple et autorise l'utilisation du processus de vitrification pour la congélation des gamètes et des embryons. (14)

3. La cryopréservation : aspects techniques

Plusieurs techniques de prélèvement ovarien sont décrites dans la littérature. La coelioscopie est la technique chirurgicale réalisée actuellement en routine sauf contre-indication et indication de laparotomie pour résection tumorale.

La quantité de cortex ovarien à prélever reste variable en fonction des équipes. On retrouve dans la littérature le prélèvement de biopsie ovarienne (15), d'ovariectomie partielle (6,15–18), ou d'ovaire entier (15,19). L'ovaire est par la suite préparé pour être congelé en fragments de 1 mm d'épaisseur et de 0.5 à 1 cm² de surface ou en fragments plus petits de 1 mm.

La plupart des centres utilise un procédé de congélation lente. Récemment différentes publications ont montré une meilleure survie ovocytaire et une meilleure préservation des cellules stromales après vitrification (20). Mais cela reste à confirmer sur de plus grandes séries.

Le prélèvement d'un ovaire entier avec son pédicule vasculaire est décrit comme un moyen de lutter contre la perte folliculaire due à l'ischémie. Cela nécessite par contre un geste chirurgical plus lourd avec dissection des pédicules vasculaires (21). La greffe de l'ovaire entier nécessite des techniques de microchirurgie pour l'anastomose vasculaire et n'a pas encore été tentée avec un ovaire congelé. Les recherches sont encore en cours pour la validation de cette technique (22).

4. L'autogreffe ovarienne

La greffe de fragments ovariens dévascularisés est la forme la plus utilisée. Le tissu ovarien a le potentiel de développer une néo vascularisation si on le réimplante dans un lieu propice. Cette technique permet de réaliser de plusieurs greffes successives pour contrer le phénomène d'épuisement des greffons. Cependant le délai de néovascularisation du tissu engendre une ischémie aboutissant à la perte de 50% du pool folliculaire (23).

Pour lutter contre ce phénomène d'ischémie plusieurs solutions ont été proposées. Callejo a décrit par exemple la préparation des fragments ovariens dans un gel de plasma riche en plaquette et en facteurs de croissance (23).

La greffe peut être réalisée en position orthotopique, c'est à dire au niveau de la cavité pelvienne. Ou en position hétérotopique, dans le tissu sous-cutané de l'avant-bras, de l'abdomen, le muscle grand droit ou du sein (24). Les deux techniques ont leurs avantages et leurs inconvénients

a) La greffe orthotopique

Donnez décrit deux techniques principales de greffe orthotopique (9). La première consiste à regreffer les fragments tissulaires sur l'ovaire restant. Premièrement on réalise une décortication de cet ovaire ou des incisions transversales du cortex pour accéder à la médulla. Les fragments ovariens sont fixés grâce à une suture fine au propylène 8.0 ou à de la colle biologique. Cette intervention est

réalisée par laparotomie ou laparoscopie, avec l'assistance de technique de microchirurgie si besoin (9,25).

La deuxième technique est principalement réalisée quand il ne reste pas d'ovaire. Cette technique a d'abord été décrite en deux temps(8) puis récemment en une seule intervention. Une fenêtre péritonéale est réalisée dans le ligament large près de l'artère utérine ascendante puis 7-8 fragments ovariens sont placés au contact de cette zone vasculaire. La fenêtre est refermée avec de la colle biologique (Interceed) (26) ou une suture (25).

Vingt-huit naissances vivantes ont été obtenues grâce à cette technique, après FIV ICSI ou de manière spontanée.

L'intérêt de cette technique est la restauration de la fertilité avec possibilité de grossesse spontanée. La cavité pelvienne reproduit les conditions locales de développement des follicules. Elle nécessite par contre une procédure lourde et invasive, et peut être difficile si la présence d'adhérence limite l'accès à la fossette ovarienne.

b) La greffe hétérotopique

Plusieurs sites ont été testés pour la greffe hétérotopique, principalement le tissu sous cutané de l'avant-bras et de l'abdomen.

La procédure est réalisée sous anesthésie locale. Après dissection aux ciseaux d'une fenêtre sous cutanée, 5 à 15 strips de cortex ovarien sont replacé et suturé dans cet espace (7,27).

La facilité de cette procédure de transplantation en fait tout son intérêt. La technique est peu invasive et sans anesthésie générale. Elle peut être répétée dans le temps après la perte d'activité du greffon et elle permet un accès facile au monitoring et à la récupération des ovocytes. La possibilité de la restauration de l'activité endocrine de l'ovaire a été démontrée (7,9,24,27)

Cependant le problème principal à ce jour est l'absence de restauration de la fertilité. Le site hétérotopique ne permet pas la survenue de grossesse spontanée, et nécessite le recours aux techniques de fécondation in vitro. Aucune naissance vivante n'a été rapportée à ce jour. Seule une grossesse biochimique a été décrite. La qualité ovocytaire semble souffrir de l'environnement non similaire pour la croissance folliculaire (9,24).

	Avantages	Inconvénients
Grefe orthotopique	<ul style="list-style-type: none"> Conception naturelle Restauration de la fertilité Environnement favorable pour le développement folliculaire 	<ul style="list-style-type: none"> Limitation du nombre de fragments greffé Non conseillé si antécédent de radiothérapie pelvienne Procédure de greffe invasive
Grefe hétérotopique	<ul style="list-style-type: none"> Pas de limitation du nombre de fragments Procédure de transplantation facile Accès facile pour le monitoring folliculaire et le prélèvement ovocytaire 	<ul style="list-style-type: none"> Procédure FIV ICSI obligatoire Absence de restauration de la fertilité Effet de l'environnement local sur les ovocytes non connu

Tableau 1 : Avantages et inconvénient de la greffe orthotopique ou hétérotopique d'après (24)

5. La folliculogénèse et maturation in vitro

La culture du tissu ovarien cryopréservé avec la maturation in vitro est une stratégie alternative à la greffe ovarienne. Cette stratégie a pour but d'obtenir des ovocytes matures en métaphase II, prêts à la réalisation d'ICSI. Cela permet de s'affranchir du risque théorique de réintroduction de cellule maligne de l'autogreffe et du problème de la survie limitée des greffons ovariens transplantés.

Le déroulement de cette technique se fait en trois étapes.

L'étape 1 est une culture accéléré (en 6-10 jours) du follicule primordial au follicule pré-antral. La deuxième étape consiste à isoler les follicules pré-antraux du tissu ovarien puis à réaliser la folliculogénèse in vitro jusqu'au stade de follicule pré ovulatoire. De nouveaux modèles de structure 3D en alginate d'hydrogel semblent apporter de nouvelles avancées pour cette étape. La troisième étape est la maturation ovocytaire in vitro, c'est à dire l'obtention d'un ovocyte mature en métaphase II prêt à être fécondé (28,29).

Ces techniques sont encore en cours d'élaboration et appartiennent à la recherche fondamentale. Seule la maturation in vitro à partir d'ovocytes immatures prélevés sur des follicules antraux non ovulatoires ont abouti à des naissances vivantes (30,31).

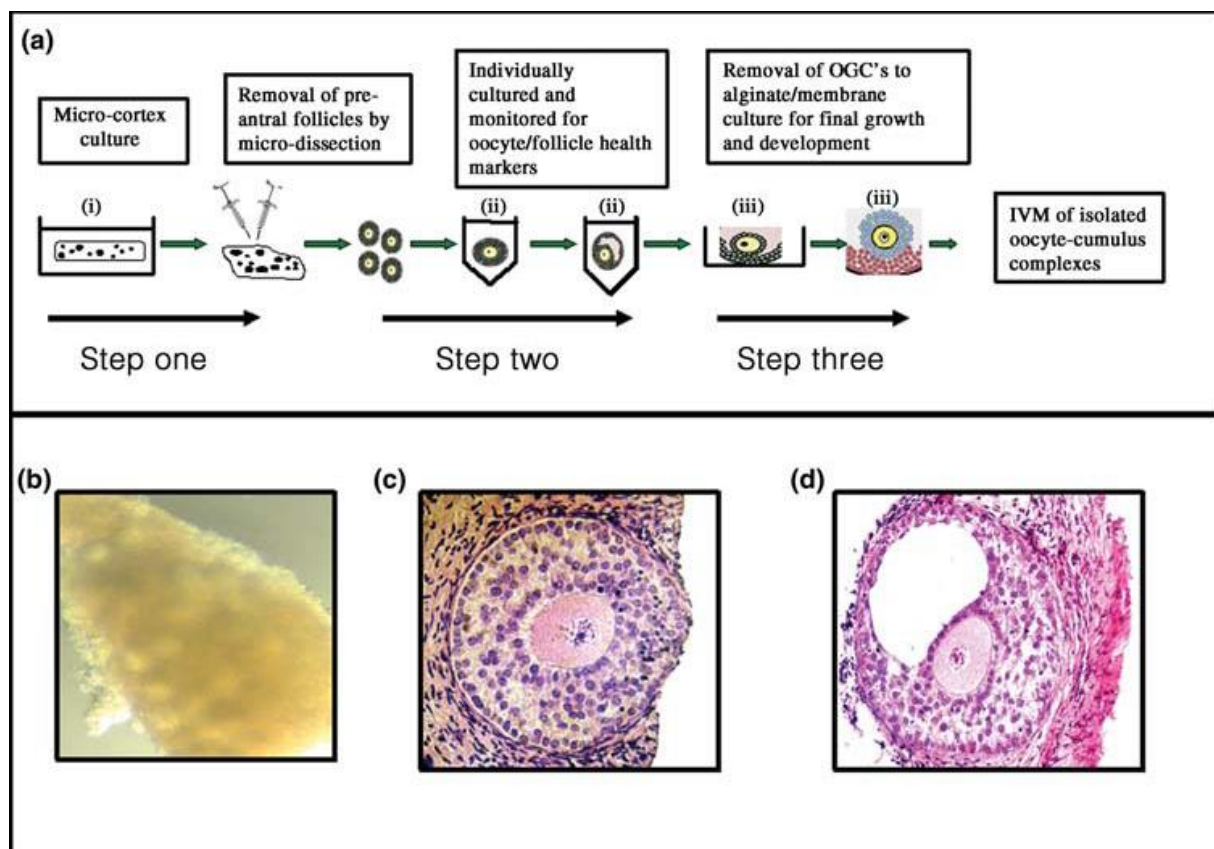


Figure 1 : Etape de folliculogénèse in vitro pour préservation de la fertilité. (29)

B. Les autres choix possibles pour la préservation de la fertilité

1. La congélation embryonnaire

La congélation embryonnaire a longtemps été la seule option possible de préservation de la fertilité. Elle est réservée aux patientes pubères. En France, le don de sperme n'est pas autorisé pour les patientes seules dans cette indication. Cela n'est donc possible que pour les patientes répondant aux conditions d'accès à l'AMP, c'est à dire en couple.

La congélation embryonnaire pour la préservation de fertilité nécessite un délai de quelques semaines avant le début de la chimiothérapie afin de procéder à la stimulation ovarienne. La stimulation doit être réalisée avant la chimiothérapie à cause de la tératogénicité, de l'augmentation d'anomalie morphologique et génétique des ovocytes. Cette stratégie ne peut donc être utilisée quand la chimiothérapie doit être commencée en urgence (17).

La conception d'embryon congelé est une méthode sûre et efficace en terme de grossesse. On retrouve un taux de grossesse de 20 % par embryon transféré et 15% de naissance vivante dans ce contexte (32).

Les protocoles antagonistes sont généralement préférés, car la durée de stimulation est moins longue, le taux d'estrogène plus bas. Le risque d'hyperstimulation est moindre et l'utilisation d'un déclenchement par agoniste de la GnRH en permet un meilleur contrôle. De plus, l'urgence relative de la chimiothérapie nécessite parfois un début de stimulation en phase lutéale, et l'utilisation des antagonistes est nécessaire dans ce contexte (33).

Certaines études retrouvent une réponse ovarienne plus faible avec une augmentation du nombre de mauvaises répondeuses, un nombre d'ovocyte par ponction moindre chez les patientes atteintes de cancer que dans la population infertile en bonne santé (17).

Pour les patientes atteintes d'un cancer du sein, le choix de la stimulation est différent. Les estrogènes sont impliqués dans la physiopathologie du cancer du sein, et l'augmentation du taux d'estrogène sanguin lors de la stimulation n'est pas acceptable au regard du risque carcinologique. L'adjonction d'anti œstrogène comme le Letrozole (inhibiteur de l'aromatase) ou le Tamoxifène (anti estrogène non stéroïdien) a démontré son efficacité en stimulation plurifolliculaire. Le nombre d'ovocyte récolté est satisfaisant et la survie des patientes à court et long terme n'est pas compromise (17,34). Ces prises en charge font encore partie de protocoles de recherche en France, et ne font pas consensus.

2. La congélation d'ovocyte mature

La congélation d'ovocyte mature correspond à la congélation d'ovocyte en métaphase de deuxième méiose. L'ovocyte étant une cellule très sensible aux procédures de congélation, cette technique n'est devenue efficace que depuis l'avènement de la vitrification.

La vitrification ovocytaire est autorisée en France depuis la révision de la loi de Bioéthique 7 juillet 2011. La stimulation ovarienne répond aux mêmes critères que développés ci-dessus pour l'obtention d'embryons.

L'intérêt de cette technique est qu'elle est accessible aux patientes ne répondant pas aux conditions réglementaires d'accès à l'AMP par exemple les femmes célibataires.

La vitrification ovocytaire est utilisée depuis plus longtemps à l'étranger. Plusieurs analyses ont été publiées ne retrouvant pas d'augmentation d'anomalie congénitale ni d'avortements spontanés en comparaison aux grossesses spontanées. Le taux de naissance par ovocyte congelé est de 2 à 6% (17,28).

Cette technique n'est possible que chez les patientes pubères. La congélation d'ovocyte immature est abordée dans le chapitre maturation in vitro.

3. La transposition ovarienne

La transposition ovarienne est la première technique historiquement décrite de protection ovarienne chez l'enfant. Le principe est de déplacer chirurgicalement les ovaires hors du champ d'irradiation pour limiter les effets d'une radiothérapie abdominale ou pelvienne.

Les principales indications de radiothérapies pelviennes et abdominales sont les cancers du col de l'utérus et du rectum chez l'adulte. Chez l'enfant cette radiothérapie est aussi retrouvée dans le rhabdomyosarcome pelvien, le sarcome osseux du bassin, la maladie de Hodgkin avec atteinte abdominopelvienne et le neuroblastome (35).

En cas d'irradiation médiane les ovaires sont déplacés latéralement dans les gouttières pariéto-coliques. Pour une tumeur latérale, l'ovaire homolatéral est déplacé du côté opposé à la tumeur. Dans le cas d'irradiation des chaînes ganglionnaires ilio-obturatrices, les ovaires sont placés en position médiane sous l'utérus ou au niveau des crêtes iliaques (35).

Cette intervention est réalisée par cœlioscopie, laparotomie ou chirurgie robot assistée. Des clips sont placés à proximité des ovaires afin de permettre au radiothérapeute de calculer au mieux leurs champs d'irradiation (18,35).

Le taux de succès de cette technique est difficile à rapporter car ces radiothérapies sont souvent associées à des chimiothérapies gonadotoxiques. On retrouve un taux de protection de 60 à 88 % en fonction des études (35). L'intérêt de cette stratégie reste controversé.

4. Les agonistes de la GNRH

L'effet protecteur de la prise d'agoniste de la GNRH est également controversé dans la littérature.

Song retrouve lors d'une étude randomisée un effet protecteur de l'acétate de leuprolide sur la survenue de ménopause précoce chez les patientes traitées pour un cancer du sein (36). Mais les données analysées (reprise des cycles, taux de FSH et d'œstradiol) et la population de patientes (de 18 à 45 ans) ne sont pas appropriées pour définir une action sur la préservation fertilité. Turner retrouve les mêmes problèmes dans son analyse de la littérature, ne lui permettant pas de conclure sur l'effet bénéfique et protecteur de cette thérapeutique (37).

C. Les indications

1. Les cancers

a) Les chimiothérapies

La chimiothérapie provoque une atrophie ovarienne avec fibrose et une diminution de la réserve folliculaire par apoptose. (38,39). L'effet dépend de la molécule, de la dose et de la durée du traitement.

La plupart des agents cytotoxiques induisent une aménorrhée pendant la durée du traitement et les quelques mois qui suivent. Il a été prouvé que la chimiothérapie avait une action néfaste sur le stroma ovarien et la production d'œstrogène et que ces agents détruisent les follicules en croissance. (39)

L'insuffisance ovarienne définitive est causée par la destruction des follicules primordiaux. Ces derniers sont particulièrement sensibles aux agents alkylants et une insuffisance ovarienne est donc fréquente après une chimiothérapie comportant des alkylants. (3,34,40).

Les effets des chimiothérapies sur la fonction ovarienne sont dépendants du type d'agents utilisés, de la dose et de l'âge des patientes. En effet le stock ovarien de follicules primordiaux diminue avec l'âge de manière spontanée. Les femmes plus âgées ont un risque plus important de défaillance ovarienne pour les mêmes traitements à la même dose(39,40).

Les agents peuvent être classés en fonction de leurs risques potentiels de gonadotoxicité. Cependant, les chimiothérapies étant souvent combinées, il est difficile de connaître l'implication réelle de chaque drogue.

Haut risque	Moyen risque	Bas risque
Cyclophosphamide	Cisplatine	Bleomycine
Ifosfamide	Carboplatine	Actinomycine D
Mephalan	Adriamycine	Vincristine
Busulphan		Methotrexate
Procarbazine		5-Fluorouracil
Chlorambucil		
Agents nitrosourées		

Tableau 2 : Classement des chimiothérapies en fonction du risque gonadotoxique.

Toutes ces chimiothérapies sont aussi connues pour induire des anomalies chromosomiques et géniques sur les ovocytes. Le risque tératogène est présent pendant les traitements et juste après. Une contraception de 6 à 12 mois est en règle générale conseillée pour éviter le risque de malformation fœtale et d'avortement spontané (34,41). Ce délai est le plus souvent rallongé afin de diminuer le risque de récurrence de la maladie pendant la grossesse, de 12 mois au minimum.

b) La radiothérapie

L'irradiation pelvienne, abdominale, de l'axe médullaire et l'irradiation corporelle totale exposent au risque d'insuffisance ovarienne prématurée. Le degré d'atteinte ovarienne est dépendant du volume traité, de la dose totale d'irradiation, du fractionnement de cette dose et de l'âge du patient. (42–45)

A partir de 2 Gray d'irradiation ovarienne, Wallace a montré une perte de 50% du pool folliculaire(43). Une dose stérilisante peut être calculée en fonction de l'âge, c'est à dire 20.3 Gy à la naissance, 16.5 Gy à 20 ans et 14.3 Gy à 30 ans (42).

L'irradiation cérébrale peut entraîner une interruption de l'axe hypothalamo hypophysaire et perturber la sécrétion de gonadotrophines (34).

Lors des traitements anticancéreux, il n'est pas rare de combiner chimiothérapie et radiothérapie. La combinaison de la radiothérapie abdomino-pelvienne et de l'action d'agents alkylants augmente fortement le risque d'insuffisance ovarienne aigue et de ménopause précoce chez ces jeunes femmes. L'âge et la dose du traitement augmentent ce risque. (46)

Dans le tableau ci-dessous nous avons tenté de classer les différents traitements et maladies en fonction du risque d'insuffisance ovarienne.

Haut risque	Moyen Risque	Bas risque
Irradiation corporelle totale	Leucémie myéloïde aigue	Leucémie lymphoïde aigue
Radiothérapie pelvienne	Hépatoblastome	Tumeur de Wilms
Autogreffe ou allogreffe	Ostéosarcome	Sarcome stade I
Maladie de Hodgkin traitée par alkylant	Sarcome d'Ewing non métastatique	Tumeurs germinales sans radiothérapie
Sarcome Stade IV métastatique	Sarcome type II et III	Rétinoblastome
Sarcome d'Ewing métastatique	Neuroblastome	Tumeurs cérébrales, irradiation ≤24 Gy
Chimiothérapie cancer du sein après 40 ans	Lymphome non Hodgkinien et de Hodgkin	Chimiothérapie cancer du sein avant 30 ans
	Tumeur cérébrale avec irradiation médullaire et ≥24 Gy	
	Chimiothérapie cancer du sein avant 40 ans	

Tableau 3 : Risque d'altération de la fertilité en fonction des traitements et cancers d'après (28,40)

2. Les hémopathies non malignes

Certaines hémopathies non malignes, dans leur forme sévère, nécessitent la réalisation d'une allogreffe de moelle osseuse ou d'une autogreffe de cellules souches périphériques. Un conditionnement par chimiothérapie alkylante à haute dose et/ou irradiation corporelle totale est nécessaire pour la réalisation de ces greffes. Nous avons déjà décrit ci-dessus le fort potentiel gonadotoxique de ces traitements. Les principales indications sont la drépanocytose sévère, l'alpha ou béta-thalassémie, l'aplasie médullaire idiopathique (47).

3. Les maladies génétiques

Le syndrome de Turner est dû à une anomalie chromosomique présentant un caryotype (45 X0). Ces patientes présentent une insuffisance ovarienne prématurée. Une puberté spontanée survient chez 15 à 30 % d'entre elles mais seulement 2 à 5 % auront la possibilité de réaliser une grossesse. Les patientes avec le phénotype le moins prononcé sont souvent atteintes de mosaïcisme génétique et des follicules sont retrouvés à la biopsie ovarienne (48). On peut donc envisager une restauration transitoire de la sécrétion hormonale et une fertilité par prélèvement ovarien dans l'enfance puis greffe. Même si plusieurs grossesses ont été décrites chez ces patientes après don d'ovocyte, elles nécessitent un suivi obstétrical et cardiologique particulier. Le problème de transmission de l'anomalie chromosomique se pose en cas d'utilisation du tissu ovarien (49). La cryopréservation ovarienne en France n'est donc pas proposée de manière systématique chez les patientes atteintes de syndrome de Turner.

4. Les maladies auto-immunes

Les maladies auto-immunes peuvent parfois nécessiter la mise en place de traitements gonadotoxiques comme le cyclophosphamide. On retrouve dans ces indications le lupus érythémateux systémique, la glomérulonéphrite, la polyarthrite rhumatoïde, la maladie de Wegener, la périartérite noueuse, la maladie de Behcet (47).

5. L'endométriose

Les patientes porteuses d'une endométriose sévère ont une fertilité diminuée. La réalisation d'une chirurgie lourde et de kystectomies parfois multiples entraînent une diminution de la fertilité. Une cryopréservation ovarienne peut éventuellement être évoquée mais cette pratique reste cependant anecdotique (50).

III. Matériels et méthodes

A. La cryopréservation ovarienne

Les différentes modalités pratiques de la cryopréservation ovarienne dans notre structure et le parcours effectué par ces patientes vont être détaillées dans le chapitre suivant.

1. Consultation

Chaque patiente a bénéficié d'une consultation avec un des médecins du centre de Biologie de la Reproduction avant de réaliser le prélèvement ovarien. Lors de cette consultation, la patiente obtient une information complète sur les objectifs, la technique et les résultats espérés de la cryopréservation ainsi que les limites de cette procédure. Les patientes non majeures et les enfants sont reçus avec leurs parents. Chaque patiente (ou son tuteur légal) reçoit un document informatif récapitulant les différentes informations reçues lors de cette consultation et signe un consentement pour la procédure. Une consultation avec le chirurgien gynécologue ou pédiatrique et l'anesthésiste sont aussi réalisées pour expliquer l'intervention et ses risques.

Les résultats des sérologies réglementaires HIV, hépatites B et C, syphilis sont consignés dans le dossier.

2. Chirurgie

La chirurgie est réalisée le plus souvent par voie coelioscopique. Pour certaines indications, le prélèvement ovarien est réalisé par laparotomie dans le même temps que l'ablation tumorale (neuroblastome, néphroblastome, cancer de l'ovaire, du col). Pour les patientes adultes, la procédure est réalisée par un chirurgien gynécologue, pour les enfants et les adolescentes qui sont prises en charge en pédiatrie, par un chirurgien pédiatrique.

L'intervention est réalisée sous anesthésie générale. L'insufflation est réalisée à l'aiguille de Véres en sous ombilical, avec 3.5 litres de gaz CO₂. Un trocart optique de 10 mm est mis en place au niveau sous ombilical et trois trocarts de 5 mm sont mis en place au niveau des fosses iliaques et en suspubien. Un examen rapide de l'ensemble de l'abdomen est réalisé de manière systématique. Le choix de l'ovaire à prélever est décidé en fonction de son accessibilité et de sa morphologie. Préférentiellement on choisira l'ovaire non porteur de follicule dominant ou de corps jaune. La dissection du cortex ovarien est plus facile en l'absence de ces derniers. L'ovaire est maintenu par l'aide et on prélève préférentiellement la face postérieure de l'ovaire à l'aide des ciseaux et d'une pince bipolaire. Cette technique permet de diminuer le risque d'adhérence. On réalise des bandelettes de cortex ovarien d'environ 1 cm sur 0.5 cm. Les prélèvements sont extériorisés directement par l'orifice de trocart de 5 mm et remis immédiatement au biologiste présent en salle d'opération. Le complément d'hémostase est réalisé à la pince bipolaire.

3. Transport/Préparation/Congélation/Stockage

Le biologiste récupère directement les bandelettes de cortex ovarien au bloc opératoire. Les prélèvements sont placés dans un flacon stérile contenant une solution de type Leibovitz, placé dans la glace, pour être ramené au laboratoire le plus vite possible afin de limiter l'ischémie.

La préparation de l'ovaire est réalisée par le biologiste de la reproduction dans des conditions d'asepsie chirurgicale. Le cortex est séparé de la médullaire ovarienne pour réaliser des fragments de cortex de 1 cm² et de 1 mm d'épaisseur. Ces fragments serviront en cas d'autogreffe. D'autres fragments de 1 mm² sont réalisés en prévision d'une éventuelle maturation in vitro.

Les fragments sont congelés dans une solution préparée à partir de milieu Leibovitz, de sérum décomplémenté de la patiente et de cryoprotecteurs (sucrose 0.1M et de DMSO 10%). Ces tubes sont placés à +4°C pendant 20 min. Ils sont ensuite congelés selon un protocole de congélation lente. Les cryotubes sont ensuite conservés dans une cuve d'azote liquide, spécialement dédié à la congélation ovarienne.

La durée totale de l'ischémie ne doit théoriquement pas dépasser trente minutes.

Un fragment de cortex et un fragment de médullaire ovarienne sont envoyés en anatomocytologie pour analyse.

B. Les patientes

Notre revue d'activité porte sur les patientes ayant bénéficié d'une cryopréservation ovarienne au CHU de Nantes entre Juillet 1994 et Juillet 2013. Au cours de ces dix-neuf années, 210 patientes ont été prises en charge. Ces patientes ont bénéficié d'une préservation de fertilité dans le cadre de pathologies malignes ou non, nécessitant des traitements potentiellement gonadotoxiques. Leur prise en charge médicale était réalisée au CHU de Nantes ou dans d'autres structures de la région Ouest.

La situation de chaque patiente est rigoureusement étudiée et l'indication de cryopréservation est décidée de manière pluridisciplinaire (médecin oncologue, biologiste de la reproduction et gynécologue). Les patientes doivent exprimer leur désir de préserver leur fertilité, avoir compris et accepté la procédure.

Les différents paramètres démographiques, les indications, les traitements gonadotoxiques, le devenir des patientes seront détaillés dans le chapitre résultat.

C. Recueil des données

L'identité des patientes, leur date de naissance, la date de cryopréservation, les indications sont consignées dans un registre dans le service de biologie de la reproduction du CHU de Nantes.

Le reste des informations a été collecté de manière rétrospective, par consultation des dossiers informatiques et papiers. Pour les patientes non suivies au CHU de Nantes, un rappel des structures les prenant en charge pour leur pathologie a permis de compléter les dossiers, notamment sur leur

devenir et les traitements effectués. L'envoi de ces informations a été réalisé par fax, courrier ou email, ainsi que par consultation directe des dossiers.

Concernant leur statut de fonctionnement ovarien et leur projet de grossesse, un rappel téléphonique des patientes a permis la collecte de ces données. Seules les patientes majeures et en rémission ont été recontactées.

Nous avons analysé le retour des cycles après la fin des traitements pour tenter d'évaluer la fonction ovarienne de ces patientes. Nous avons sélectionné les patientes âgées de plus de 10 ans avant le début des traitements. Nous avons récupéré les données sur la reprise des cycles dans le dossier médical ou lors du rappel téléphonique.

Pour l'analyse du devenir des patientes, nous avons sélectionné les patientes âgées de plus de 18 ans en 2013/2014. En effet, il paraît difficile d'interroger des patientes mineures (obligation de l'accord des parents ou du tuteur légal) sur leur éventuel désir de grossesse.

Différentes questions étaient posées lors de notre entretien téléphonique. Tout d'abord, nous nous assurons de l'arrêt des traitements de la patiente. Par la suite nous les avons interrogées sur la reprise éventuelle des cycles et le délai après la fin des traitements. Nous avons recueilli les différentes grossesses survenues après la fin des traitements, de manière spontanée ou après aide médicale à la procréation. Nous les avons ensuite questionnées sur un éventuel désir de grossesse dans les deux ans à venir ou plus tard. Comme ce choix est influencé par la présence d'un partenaire fixe nous leur avons demandé si elles étaient en couple.

D. Les objectifs

L'objectif de ce travail est d'évaluer les pratiques du service de Biologie de la reproduction de Nantes pour la cryopréservation ovarienne et le devenir des patientes, afin d'améliorer notre prise en charge dans le domaine de la préservation de la fertilité féminine.

Le rappel des patientes va aussi nous permettre d'évaluer les effets des chimiothérapies sur la fonction ovarienne, afin de mieux cibler nos indications. Cela va aussi nous apporter une vision de la demande de prise en charge en fertilité de ces patientes dans les années à venir.

IV. Résultats

A. Les patientes

1. Les données démographiques

L'âge moyen au moment de la cryopréservation est de 18.8 +/- 9.5 ans (0.7 ; 36.8). Aujourd'hui, l'âge moyen des patientes est de 22.8 +/- 9 ans (2 ; 42).

Dans l'histogramme et le tableau ci-dessous, la répartition des patientes par classe d'âge est présentée. On observe une plus forte proportion de patiente de moins de 18 ans au moment du geste.

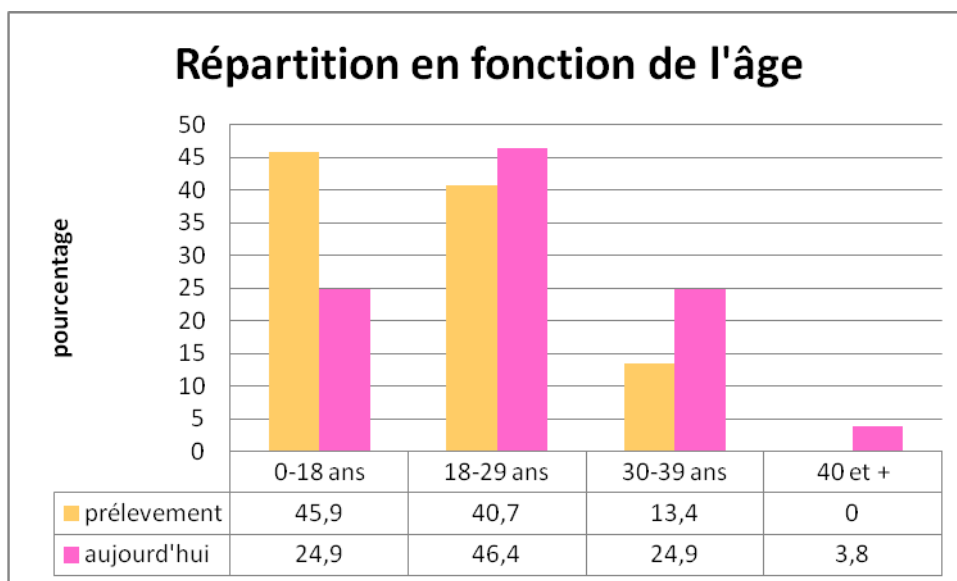


Figure 2 : Répartition des patientes en fonction des tranches d'âge au prélèvement et en 2014

Parmi les 210 patientes, 190 (90.4%) étaient nullipares au moment du prélèvement ovarien. Pour les vingt autres patientes, 17 avaient déjà un enfant et 3 patientes avaient deux enfants avant la maladie.

2. Devenir

Sur les 210 patientes ayant bénéficié d'une préservation de la fertilité, 155 patientes sont en rémission actuellement (73.3%).

30 patientes sont malheureusement décédées (14.3%) des suites de leur maladie, tableau 4.

Leucémie aigüe	Lymphome	Tumeurs osseuses	Sein	Glioblastome	rhabdomyosarcome	Myelodysplasie
17	4	4	2	1	1	1

Tableau 4 : Patientes décédées en fonction des cancers

24 patientes sont encore sous traitement. Parmi celle-ci, 9 patientes poursuivent un traitement de chimiothérapie pour une rechute de leur maladie ou sont considérées en soins palliatifs par les oncologues.

3. Les indications

Les principales indications de préservation de fertilité sont oncologiques. Les cancers hématologiques représentent 57% (n= 120) de nos indications, avec les lymphomes hodgkiniens et non hodgkiniens, les leucémies aiguës et chroniques, les myélomes. La maladie de Hodgkin représente 72% (n= 48) des lymphomes. Pour les leucémies on retrouve 64.7% (n=33) de leucémie aiguë lymphoblastique, 27.5% (n=14) de leucémie aiguë myéloblastique et 7.8% (n=4) de leucémie myélomonocytaire chronique. Les myélomes représentent deux cas.

Les cancers gynécologiques sont la deuxième indication principale avec 19%. Les cancers du sein représentent 12.5% du total. Les tumeurs ovariennes à un stade précoce ou borderline 3.8% (adénocarcinome ovarien stade précoce, tératome ovarien, tumeur sertolienne, carcinome à cellule claire). On retrouve 1.4% de cancer du col, deux cas de cancer épidermoïde stade Ib et IIb, et un adénocarcinome à cellules claires stade IIb.

Ensuite les tumeurs d'origine osseuse représentent 9% des indications avec 57.9% de sarcome d'Ewing, 36.8% d'ostéosarcome et 5.8% de chondrosarcome (un cas de chondrosarcome du maxillaire supérieur).

Les tumeurs infantiles (5.7%) regroupent les néphroblastomes (83.3%) et les neuroblastomes (16.7%).

Parmi les autres indications de pathologie malignes (3.8%, n=8) on observe des tumeurs du système nerveux central (un glioblastome, un chondrocarcinome mésoenchymateux cérébrale et un médulloblastome), des tumeurs ORL (un rhabdomyosarcome du cavum et un carcinome indifférencié du cavum), un adénocarcinome du rectum et un adénocarcinome pulmonaire.

Enfin, parmi les autres pathologies non malignes, les indications hématologiques sont les plus présentes (n=8, 57.2%) avec 4 cas d'aplasie médullaire idiopathique, un cas d'alpha thalassémie, une drépanocytose sévère, une myelodysplasie, et une neutropénie congénitale sévère. Certaines maladies auto-immunitaires nécessitent aussi des traitements gonadotoxiques, une sclérose en plaque, une rétinopathie, et une maladie de Chediak ont été incluses. On retrouve enfin un cas d'endométriose sévère nécessitant des kystectomies multiples et deux cas de syndrome de Turner.

L'ensemble de ces données est représenté dans la figure 3.

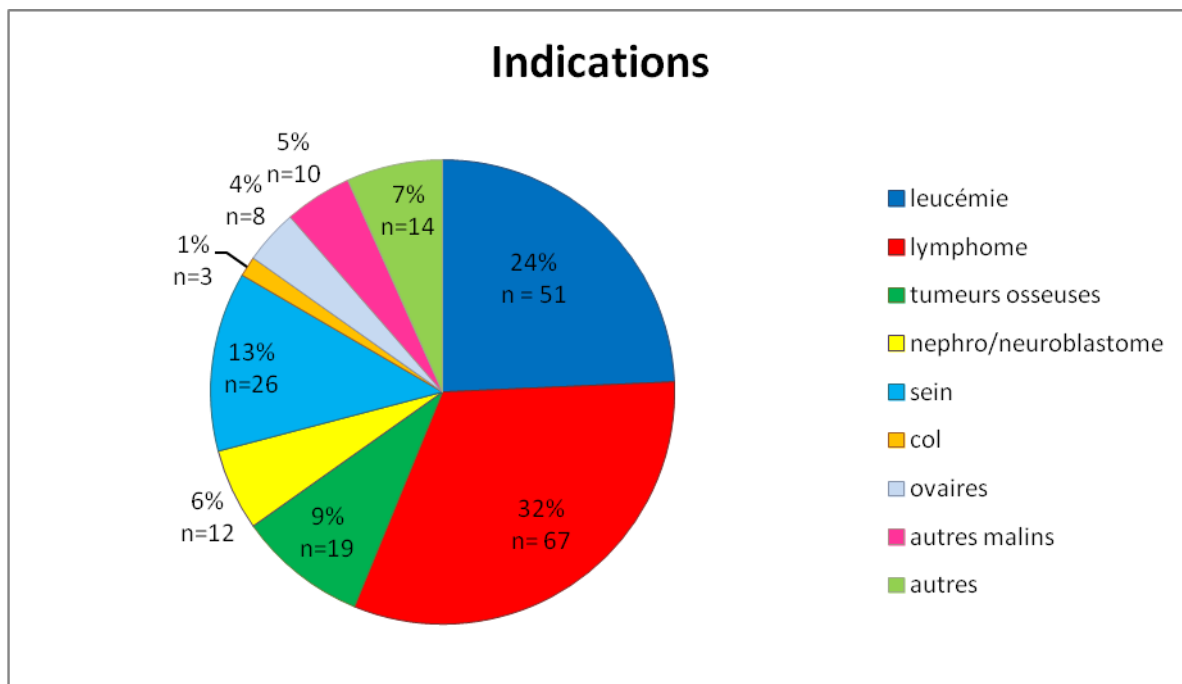


Figure 3 : Les différentes indications de cryopréservation ovarienne

4. Le prélèvement chirurgical

Il a été effectué chez 109 des patientes un prélèvement d'ovaire entier. Au début de notre recueil, une annexectomie unilatérale était réalisée de manière systématique. Avec l'évolution des pratiques, des prélèvements de bandelettes de cortex ovarien sont réalisés chez les patientes pubères, l'ablation de l'ovaire entier n'étant plus réalisée que chez les enfants du fait de la petite taille de l'ovaire.

B. Les traitements

La prise en charge des patientes comporte différents types de traitement en fonction de leur maladie, potentiellement gonadotoxique. Nous allons décrire les différentes chimiothérapies et radiothérapie en fonction des indications.

Cinq de nos patientes n'ont pas eu de traitement gonadotoxique. L'indication de préservation de fertilité dans ces cas est la maladie elle-même.

Le premier cas est une patiente atteinte d'un adénocarcinome ovarien de stade Ia. Elle a bénéficié d'une annexectomie bilatérale avec congélation de l'ovaire présumé sain. La réunion de comité pluridisciplinaire de cancérologie a retenu une attitude de surveillance sans traitement complémentaire.

Pour le deuxième cas, la préservation de fertilité a été réalisée dans un contexte de syndrome de Turner, pourvoyeur d'insuffisance ovarienne prématurée.

La troisième patiente a été opérée d'une endométriose sévère stade 4, avec la réalisation d'une annexectomie unilatérale et congélation de cet ovaire. La quatrième était opérée de kyste ovarien récidivant (tératome mature sans signe de malignité).

La cinquième congélation ovarienne a été effectuée chez une patiente porteuse d'un cancer du sein. Par la suite, la réunion de comité pluridisciplinaire de cancérologie a décidé de ne pas réaliser de chimiothérapie.

1. Chimiothérapie

Nous avons étudié le détail des protocoles de chimiothérapies qu'ont subies les patientes. Le récapitulatif des doses totales n'a pu être calculé de manière rétrospective. Nous n'avons pas pu récupérer le détail des chimiothérapies pour quatre patientes.

Nous avons évalué le moment de la cryopréservation en fonction de la chimiothérapie.

Pour 94 patientes (47.3%) la congélation d'ovaires a été réalisée avant tout traitement potentiellement gonadotoxique. Pour 109 patientes (53.7%) la congélation a été réalisée après le début de la chimiothérapie. Pour 78 de ces patientes, le prélèvement a été fait avant l'intensification de la chimiothérapie pour allogreffe ou autogreffe de cellule souches périphériques.

La répartition de ces patientes selon le moment de la préservation au cours de leur prise en charge est présentée dans le tableau 5.

	Avant chimiothérapie	Après début de traitement	Avant intensification thérapeutique
Leucémie	5 9,80%	8 15,70%	38 74,50%
Lymphome	34 50,70%	10 14,90%	23 34,40%
Tumeurs osseuses	11 57,90%	2 10,50%	6 31,60%
Neuroblastome/ néphroblastome	0 0%	3 25%	9 75%
Sein	24 96%	1 4%	0 0%
Col/ovaire	5 71,40%	2 28,60%	0 0%
Autres malins	6 60%	2 20%	2 20%
Autres	9 75%	2 16,70%	1 8,30%
Total	94 46,30%	30 14,80%	79 38,90%

Tableau 5 : Répartition du choix de moment de la cryopréservation en fonction des indications

Les différentes chimiothérapies en fonction des indications sont répertoriées dans le tableau ci-dessous.

	Protocole de Chimiothérapie	Allo/autogreffe	% d'allo/autogreffe
Lymphome de Hodgkin	ABVD	BEAM	18/48 (37,5%)
	BEACOPP		
	VABEM		
	MINE		
	OPPA		
	PDG		
	OEPA		
Lymphome non hodgkinien	COOPRALL	BEAM	14/18 (72,2%)
	RCHOP	6 IRCT	
	RDHAC	Fludarabine Endoxan	
	COP		
	COPADEM		
	RVAC		
Leucémie	FRALLE	Busulfan Endoxan	49/51 (96,1%)
	EORTC	Fludarabine Endoxan	
	COOPRALL	IRCT 26	
	ESPHALL	Thiotepa	
	GRALL		
	ELAM		
Tumeur os	VIDE VAI VAC	Busulfan Mephalan	8/19 36,8%
	Holoxan	Thiotepa	
	API AI		
Neuro/néphroblastome	Carboplatine	Busulfan Mephalan	9/11 81,8%
	IVADO		
	CAV		
	TVD		
Sein	FEC 100		
	TAXOTERE		
	Herceptine		
	Hormonothérapie		
Col	Platine		
Ovaires	Platine		
	Ifosfamide		
	Taxol Carboplatine		
Autres malins	Platine	Mephalan	4/10 40%
	Ifosfamide	Thiotepa	
	Avastin	IRCT 1	
Autres	Cyclophosphamide	Busulphan Endoxan	10/14 71,4%
	Endoxan	Mephalan	
	Methotrexate		

Tableau 6 : les différentes chimiothérapies en fonction des indications

2. Allogreffe/Autogreffe de cellules souches hématopoïétiques

Le conditionnement pour l'allogreffe et pour l'autogreffe de cellules souches périphériques est fortement délétère pour la fonction ovarienne. Nous avons recensé les différents cas ayant nécessité ce traitement. Sur notre recueil, 112 patientes (53.3%) ont bénéficié de ce traitement. Les différentes indications nécessitant ce traitement sont retranscrites dans le diagramme ci-dessous.

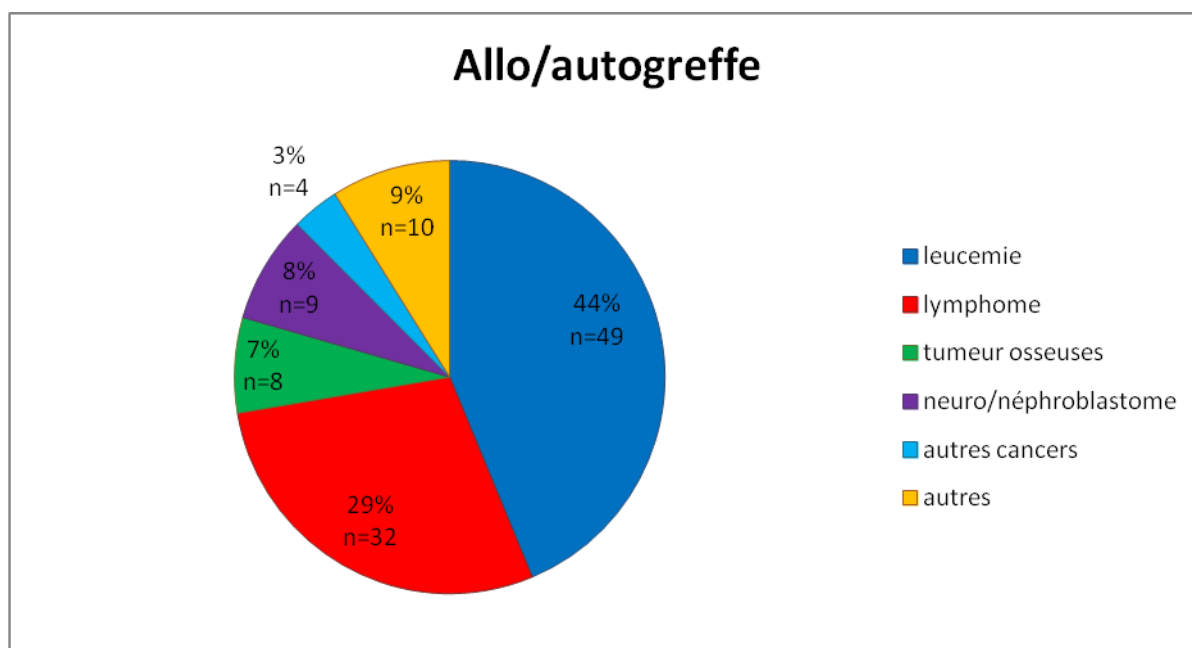


Figure 4 : Les indications d'allo/autogreffe

3. Radiothérapie

La radiothérapie peut avoir une action stérilisante en fonction de sa localisation. Nous avons décidé de regrouper les informations concernant la radiothérapie pelvienne, la curiethérapie, la radiothérapie abdominale, et les irradiations corporelles totales. L'irradiation cérébrale ou de l'axe méningé est utilisée en prévention ou traitement des rechutes méningées de certaines maladies hématologiques. Elle peut avoir une action sur la fertilité future de ces patientes, en détériorant les fonctions hypophysaires.

La radiothérapie pelvienne et la curiethérapie sont principalement utilisées dans les cancers du col de l'utérus (n=3), les sarcomes d'Ewing (n=7) de localisation proche du pelvis (sacrum, tête fémorale, bassin), rhabdomyosarcome abdominopelvien (n=1), un neuroblastome métastatique au niveau pelvien (n=1), cancer du rectum (n=1), une maladie de Hodgkin avec atteinte des chaînes ganglionnaires pelviennes. Au total 13 patientes ont bénéficié d'une radiothérapie pelvienne +/- curiethérapie.

Les principales indications d'une radiothérapie abdominale sont les maladies de Hodgkin avec atteinte sous diaphragmatique (n=5), les neuroblastomes surrenaliens (n=4), les néphroblastomes pour réduction tumorale avant exérèse (N=2), un sarcome d'Ewing métastatique au niveau lombaire (n=1). Au total 12 patientes ont bénéficié d'une radiothérapie abdominale.

L'irradiation corporelle totale peut faire partie du conditionnement avant allogreffe ou autogreffe de cellule souche périphérique, elle est fortement associée à une insuffisance ovarienne. La principale indication est pour les leucémies (n=26), lymphomes (n=9), et un myélome (n=1). Au total 36 patientes ont eu une irradiation corporelle totale.

L'irradiation méningée a été réalisée pour 7 cas de leucémie, 2 cas de lymphome, 1 cas de cancer du sein avec métastase cérébrale, 3 cas de tumeurs du système nerveux central et un cas de tumeur ORL.

Le tableau ci-dessus récapitule les différents types de radiothérapie et leur dose en Gray

Radiothérapie	Pelvis	Abdominale	Cérébrale	IRCT
n=	13	12	14	36
Dose moyenne	40 Gy	24 Gy	26 Gy	10 Gy
Dose maximale	76 Gy	54 Gy	60 Gy	18 Gy
Dose minimale	15 Gy	15 Gy	6 Gy	2 Gy

Tableau 7 : Les différents types de radiothérapies gonadotoxiques

C. Biologie

1. Bilan hormonal préopératoire

Un bilan hormonal de réserve ovarienne est actuellement réalisé de manière systématique en préopératoire au même titre que les sérologies virales. Le marqueur le plus approprié est l'hormone antimüllérienne (AMH).

Au début de la cryopréservation ovarienne, l'AMH n'était pas encore connue comme marqueur biologique de la réserve ovarienne. La FSH était alors utilisée, cela est le cas pour 16 patientes. Le bilan de réserve ovarienne n'a pas été retrouvé pour 89 patientes (42.4%)

La cryopréservation était souvent réalisée alors que les patientes avaient déjà reçu plusieurs lignes de chimiothérapie. Le bilan de réserve étant effectué à ce moment-là, était logiquement perturbé. C'est le cas pour 55 des patientes qui ont bénéficié d'un bilan de réserve ovarien avant leur préservation.

L'AMH a été prélevée chez 105 patientes (50%). 37 de ces patientes présentent une valeur d'AMH inférieure à 1 µg/l, le dosage a été effectué pour toutes après le début de la chimiothérapie sauf pour un cas de syndrome de Turner (AMH =0.8). Pour les 68 autres patientes on retrouve une AMH à 5.07 +/- 3.45 µg/l (1.1 ; 19.3). Pour ces patientes le dosage a été fait avant tout traitement gonadotoxique.

Les 16 patientes restantes ont eu un dosage de la FSH, peu contributif car nous n'avons aucune donnée sur la période du cycle où cela a été réalisé, l'existence d'une contraception hormonale, ou chez des enfants pré pubères.

2. Anatomopathologie

Une analyse anatomopathologique a été exécutée sur la totalité des prélèvements, sur un fragment de cortex et de médullaire ovarienne. Pour 6 cas le compte rendu d'analyse n'a pas été retrouvé dans le dossier informatique ou papier.

Cet examen a pour but de rechercher des signes d'invasion métastatique de maladie. Il a été trouvé sur 3 échantillons un infiltrat tumoral. Les maladies en cause sont une leucémie aigüe myéloïde, un cancer du sein, un neuroblastome.

Une évaluation globale et sommaire de la présence de follicules primordiaux a été effectuée dans le même temps. Un classement en quatre groupes est possible après lecture des comptes rendus, détaillé dans le tableau ci-dessous.

	Absence de follicules	Rare	Présence	Nombreux	Infiltrat tumoral	Absence de CR
N=	17	71	50	63	3	6
%=	8.1%	33.8%	23.8%	30%	1.6%	2.7%
Avant traitement	5 20%	46 65.6%	27 53%	18 28.5%	/	/
Après traitement	12 80%	25 34.4%	23 47%	45 71.5%	/	/
Age moyen	18.6 +/- 11.2	22 +/- 8.1	21.8 +/- 8.2	12.8 +/- 8	/	/
AMH	3.46 +/- 3.34	3.8 +/- 3.4	3.18 +/- 2.91	2.95 +/- 4.47	/	/

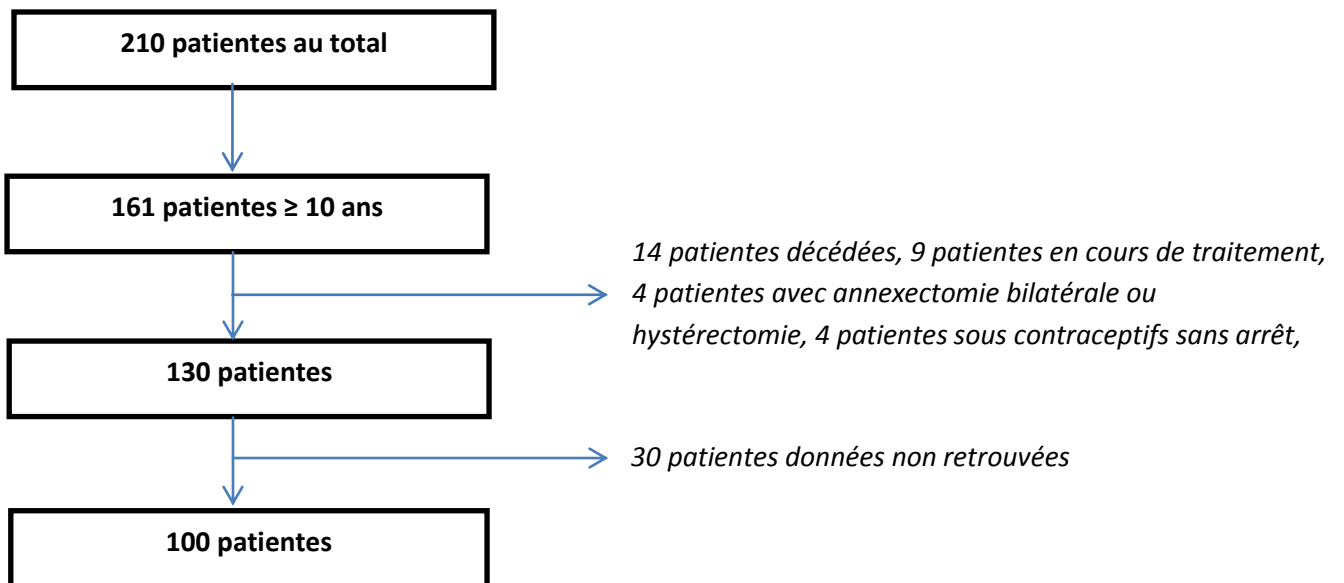
Tableau 8 : Les résultats anatomopathologiques en fonction du moment de la cryopréservation

D. Après la maladie

1. Fonction ovarienne

Pour étudier la reprise de la fonction ovarienne après les traitements, nous avons délibérément choisi de sélectionner les patientes de plus de dix ans au moment de la cryopréservation afin d'étudier les patientes ayant déjà commencé leur puberté au moment du prélèvement.

Les patientes décédées, en cours de traitement, ayant subi une annexectomie bilatérale ou une hystérectomie n'ont pas été rappelées. Pour certaines patientes décédées, les données concernant la reprise des cycles ont été récupérées dans les dossiers médicaux avant leur rechute et leur décès. Quatre patientes n'ont jamais stoppé leur contraception après la fin des traitements, les données ne sont donc pas exploitables.



Flow chart 1 : Analyse de la récupération de la fonction ovarienne

Dans notre analyse, 20 patientes ont repris leur cycle à 3 mois, 14 à 6 mois, 8 à un an et 16 à plus de un an. 43 patientes ont présenté une aménorrhée définitive. Au total 57 patientes ont retrouvé des cycles à la fin de la chimiothérapie.

L'âge moyen des patientes au moment du prélèvement est de 25.2 +/- 7 ans pour les patientes ayant repris des cycles, et de 20 +/- 6 ans pour les patientes définitivement en aménorrhée.

La patiente ayant subi une radiothérapie pelvienne sans aménorrhée, était atteinte d'un lymphome de Hodgkin, ayant été traité par une chimiothérapie par ABVD. Ces cycles ont repris plus de un an après l'arrêt de tout traitement, et elle présente une spanioménorrhée avec des cycles très anarchiques.

	Reprise des cycles	Aménorrhée
N=	57	43
Age	25.2 +/- 7ans	20 +/- 6 ans
Allo/autogreffe	17.8 % n=10	72% n=31
Alkylant	76.8 % n= 44	93% n=40
Radiothérapie pelvienne	1	7
Irradiation corporelle totale	0	34.8% n=15

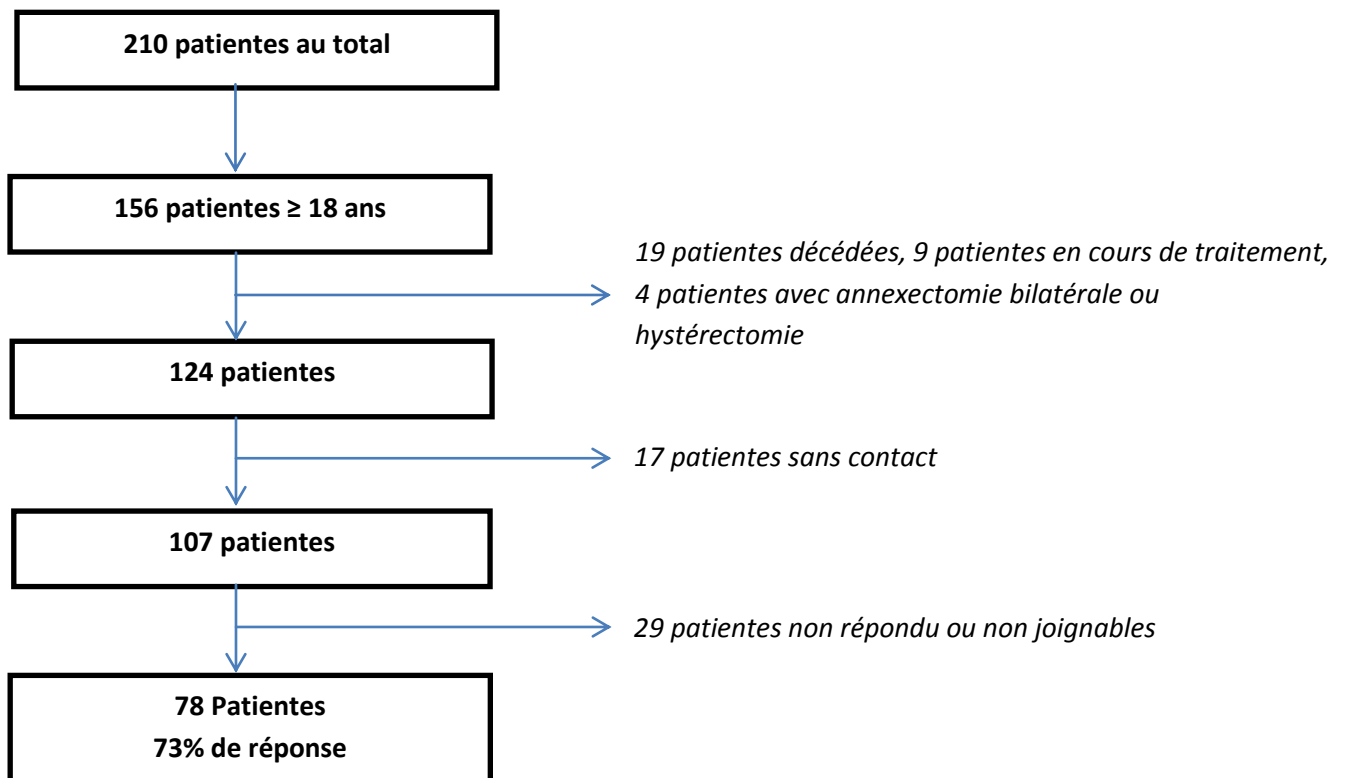
Tableau 8 : Récupération de la fonction ovarienne en fonction des traitements gonadotoxiques

2. Suivi des patientes

Pour le recueil du devenir des patientes, nous avons sélectionné les patientes âgées de plus de 18 ans en 2014. En effet, notre but étant de connaître les grossesses survenues après la fin des traitements et l'éventuel désir de grossesse de nos patientes, il est logique de ne rappeler que les patientes majeures au moment de notre étude.

Les patientes décédées ou encore en cours de traitement n'ont pas été rappelés, ainsi que les patientes ayant subi une annexectomie bilatérale, une hystérectomie ou les deux. Sur ces 124 patientes sélectionnées, nous n'avons pas pu récupérer le contact téléphonique de 17 patientes. Sur

les 107 patientes restantes, 29 patientes n'ont pas été joignables malgré la répétition des tentatives. Une seule patiente a refusé oralement de répondre à nos questions. Le taux de recueil des réponses est donc de 72%.



Flow chart 2 : Devenir en 2014 des patientes cryopréservées.

Sur ces 78 patientes, nous avons retrouvé neuf grossesses spontanées (chez 9 patientes) après la fin des traitements. Une patiente a réalisé une interruption volontaire de grossesse, pour cause personnelle. Sur ces neuf patientes, cinq ont été atteintes d'une maladie de Hodgkin, deux d'un cancer du sein, une d'un ostéosarcome, et la dernière d'un lymphome non hodgkinien.

Une patiente a eu recours au don d'ovocyte pour fonder sa famille, car elle présente une ménopause précoce depuis la fin des traitements. Une patiente a réalisé une gestation pour autrui aux Etats unis, car étant atteinte d'un cancer du rectum en soins palliatif, son état de santé ne lui permet pas d'être enceinte. Deux patientes sont en cours de démarche pour une procédure d'adoption. La première ne présente pas d'insuffisance ovarienne prématurée mais une maladie oculaire qui contre indique la grossesse. La deuxième présente une ménopause précoce mais ne souhaite pas bénéficier d'une greffe ovarienne ni avoir recours au don d'ovocyte.

Parmi les 78 patientes, 22 (28.5%) envisagent une grossesse dans les deux ans à venir. Trois patientes s'exposent déjà à la grossesse et sont en cours de bilan en AMP. Sur ces 22 patientes, cinq présentent une aménorrhée.

56 (71.7%) patientes ne souhaitent pas de grossesse dans les deux ans. 46 patientes envisagent une grossesse plus tardivement. Parmi les raisons évoquées, 25 de ces patientes sont célibataires, les 21 autres sont en couple mais sont encore étudiantes, n'ont pas d'emploi fixe ou viennent d'avoir une grossesse. Quatre de ces patientes sont en attente pour la réalisation d'une stimulation ovarienne pour vitrification ovocytaire.

Dix de ces patientes répondent ne plus envisager de grossesse, sept d'entre elle ont déjà un enfant, une est en cours d'adoption. Les deux dernières ont plus de 40ans et n'ont pas eu d'enfants. Six de ces patientes, ont évoqué au cours de notre entretien un don de leurs fragments ovariens à la recherche.

V. Discussion

Nous allons rediscuter ici des différences relevées dans nos résultats sur la prise en charge des patientes en ce qui concerne les différentes indications, le timing de la préservation et la technique chirurgicale en comparaison avec la littérature. Par la suite nous réfléchirons sur les limites de la cryopréservation. Pour finir, nous reviendrons sur l'analyse des résultats du suivi des patientes par rapport aux différents articles écrits dans ces dernières années.

A. Chimiothérapie

Oktay et al ont étudié à l'aide de marqueurs directs les effets de la chimiothérapie sur la réserve ovarienne. Ils ont observé la densité de follicule primordial de prélèvements ovariens de patientes ayant subi différents types de chimiothérapie. Ils ont prouvé une diminution significativement plus importante de la réserve ovarienne après chimiothérapie par agents alkylants (39). Lunsford retrouve un risque de réserve ovarienne diminuée ($AMH \leq 1 \mu\text{g/l}$) quatre fois plus important si la chimiothérapie comporte des alkylants et douze fois plus important pour une dose de cyclophosphamide $\geq 7.5\text{mg/m}^2$ (51). Les taux d'AMH à distance de la maladie sont significativement inférieurs aux taux d'AMH préthérapeutiques chez les patientes traitées avec des alkylants. Et les patientes non traitées avec des alkylants récupèrent plus vite des taux d'AMH comparables à leur taux préthérapeutique (52).

Dans notre analyse, 93% des patientes présentant une aménorrhée ont été traitées avec des alkylants. Mais 73% des patientes ayant repris des cycles ont aussi reçu des alkylants. La plupart de nos patientes ont reçu une chimiothérapie comportant des alkylants, à des doses variables. L'effet dose du traitement gonadotoxique ainsi que l'âge de la patiente au moment des traitements joue un rôle important pour l'atteinte ovarienne. Au total, dans notre recueil, 189 (90%) patientes ont reçu une chimiothérapie considérée comme à haut risque d'insuffisance ovarienne prématurée. Il serait intéressant de collecter les différentes doses en mg/kg ou mg/m^2 de traitements alkylants, de manière prospective, afin d'améliorer l'exhaustivité de notre étude et d'assurer un meilleur suivi de nos patientes et leur assurer un meilleur conseil. Cela nous permettrait une analyse plus fine des effets néfastes des chimiothérapies sur la fonction ovarienne.

Le protocole ABVD constitue un des traitements les plus fréquents du lymphome de Hodgkin. Ce protocole de chimiothérapie est moins associé à une diminution de la fertilité(39,53). 13 patientes ont reçu une chimiothérapie considérée comme à moyen risque, et ces patientes ont toutes été traitées pour un lymphome avec 4 à 6 cures de protocoles ABVD. 49.3% de nos patientes ont bénéficié d'une cryopréservation ovarienne après le début des chimiothérapies, en rapport ou non avec une intensification par greffe de moelle osseuse. Effectivement le protocole ABVD est à faible risque d'insuffisance ovarienne mais on ne peut pas présager de la réponse de la maladie aux traitements. Certaines patientes vont nécessiter une intensification de la chimiothérapie (18). La cryopréservation retardée dans cette indication est à discuter car les premières cures de chimiothérapie peuvent avoir une action néfaste sur la réserve ovarienne. La question se pose d'une meilleure information des oncologues pour une cryopréservation avant la mise en place de tout traitement oncologique.

A contrario, 38.9% des patientes ont bénéficié de leur cryopréservation après le début de la chimiothérapie et avant intensification thérapeutique par allogreffe ou autogreffe. Dans le cas particulier des leucémies, 75% des patientes ont eu recours à la cryopréservation avant l'intensification thérapeutique et donc après la chimiothérapie d'induction, dans notre étude. Chung et al soutiennent que les premières lignes de chimiothérapie pour leucémie aiguë myéloblastique et lymphoblastique sont peu stérilisantes et qu'elles permettaient de supprimer les cellules cancéreuses leucémiques, limitant leur présence dans le tissu ovarien congelé (17,53,54). Dans cette indication il semble licite de proposer une préservation après les premières lignes de traitements afin de diminuer le risque de transmission de cellules cancéreuses (54).

L'allogreffe ou l'autogreffe sont conditionnées par de fortes doses de chimiothérapie de type alkylant et/ou par une irradiation corporelle totale. Le risque d'insuffisance ovarienne est quasi-total (de 70-100%) (17), ce risque ne variant pas entre une autogreffe de cellules souches périphériques et une allogreffe avec donneur (17,53). L'utilisation de protocole combinant des fortes doses de chimiothérapie alkylante type busulphan/mephalan semble moins toxique que le recours à l'irradiation corporelle totale (53,55). Dans notre recueil, la majorité des patientes (53.3%) ont reçu une autogreffe ou une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques. 72.2% des patientes présentant une aménorrhée a bénéficié de ce traitement et 75,6% des patientes ayant eu une allo/autogreffe présentent une aménorrhée dans notre étude. Les marqueurs de la réserve ovarienne (FSH, AMH, CFA, inhibine B) sont significativement diminués chez les patientes ayant reçu une greffe de moelle osseuse (55).

Les référentiels de chimiothérapie en France pour le cancer du sein comportent soit trois cures de FEC (5-fluorouracile, épirubicine et cyclophosphamide) associées à trois cures de docetaxel , soit quatre cycles d'AC (adriamycine et cyclophosphamide) associées au placlitaxel ou six cures de docetaxel/cyclophosphamide/adriamycine (56). La quasi-totalité de nos patientes ont été traitées avec le premier protocole. Von Wolf retrouve un risque de 80% d'aménorrhée pour les patientes de plus de 40 ans, un risque médian (20-80%) pour les patientes âgées de 30-39ans, et un risque faible ($\leq 20\%$) pour les patientes ayant moins de 30 ans (57).

Dans notre étude, nous avons récupéré les suivis de 18 patientes ayant eu un cancer du sein. L'âge moyen de notre population est de 31 ans +/-2.5 (27.3 ; 36.3 ans) Trois présentent une aménorrhée définitive, la majorité a retrouvé des cycles, et deux ont présenté une grossesse spontanée.

	Age \leq 30 ans	Age \geq 30 ans
N =	6	12
Cycle	83.3 % (5)	91.6 % (11)
Aménorrhée	16.6% (1)	8.3% (1)

Tableau 9 : Reprise des cycles après cancer du sein en fonction de l'âge

L'analyse histologique pour calcul de la densité folliculaire est peu fiable en raison de la répartition inégale sur l'ovaire des follicules primordiaux et de l'hétérogénéité des prélèvements (58). Nous retrouvons tout de même une augmentation du pourcentage de prélèvements avec absence de follicules primordiaux chez les patientes ayant déjà reçu de la chimiothérapie.

B. Technique chirurgicale

La laparoscopie est une technique sûre et fiable pour le prélèvement ovarien. Les incisions sont plus petites, l'anesthésie nécessaire est plus légère et l'hospitalisation de plus courte durée qu'avec la laparotomie. Cette technique ne retarde pas la mise en place des traitements oncologiques (15,16,19). Une laparotomie est parfois réalisée chez les enfants en fonction de l'expérience du chirurgien pédiatrique (59).

Certains auteurs recommandent la mise en place d'un trocart de 10 mm et l'utilisation d'un endobag pour l'extraction du prélèvement pour préserver au maximum les follicules ainsi que l'utilisation de ciseaux froids pour la dissection corticale (15,19,60).

Le prélèvement ovarien partiel semble réalisable même chez les patientes pré pubères (16,60).

Lima prélève les 2/3 de chaque ovaire afin d'obtenir un échantillon folliculaire plus important et pour ne pas choisir à l'aveugle un ovaire contenant moins de follicules. Il recommande aussi l'utilisation du laser argon pour réaliser la coagulation finale afin de préserver l'ovaire restant et de limiter l'utilisation de l'énergie bipolaire plus délétère (16).

Dans la littérature plusieurs techniques semblent choisir l'ovaire à prélever en fonction de l'absence de follicule en croissance ou de corps jaune (15,19).

Certains centres préfèrent l'ablation d'un ovaire entier sauf si une annexectomie a déjà été réalisé(19,59).

Pour notre pratique il serait peut être judicieux d'étendre la technique des fragments de cortex ovariens aux patientes prises en charge par les chirurgiens pédiatriques, si cela est possible dans les conditions opératoires, et de recommander l'utilisation d'un trocart de 10 mm avec insertion d'un endobag pour la meilleure préservation des prélèvements.

Dans notre expérience, nous n'avons eu qu'une seule complication grave, une plaie de l'artère iliaque externe a compliqué l'insertion de l'aiguille de Véres, causant une hémorragie grave nécessitant des transfusions multiples, une hospitalisation en réanimation et une mise en place d'un stent par les radiologues interventionnels.

C. Les limites de la cryopréservation ovarienne

1. Le risque de réintroduction de cellules malignes

La cryopréservation ovarienne chez des patientes atteintes de cancer soulève un problème majeur : quel est le risque de réintroduire des cellules malignes en cas d'autogreffe ovarienne ?

Dans notre étude, la recherche de cellules malignes se limite à une analyse histologique. Trois patientes ont présenté des métastases ovariennes sur leur prélèvement. La première, âgée de 7 mois, était atteinte d'une leucémie aigüe myéloïde, et est décédée. La deuxième, âgée de 27 ans, présentait un cancer du sein avec métastase cérébrale, est actuellement en soins palliatif. La troisième, âgée de 14 ans, était atteinte d'un neuroblastome surrénalien stade IV, et est également en soins palliatifs.

L'ampleur du risque de réintroduction de cellules malignes dépend du type et du stade du cancer, de la quantité de cellules transférées et du moment de prélèvement en rapport avec les traitements oncologiques(61).

Rosendhal estime que le risque de retransmettre la maladie est fort pour les leucémies, modéré pour les tumeurs gastro-intestinales et faible pour les lymphomes, les cancer du sein, les cancer gynécologiques et les sarcomes (62).

Dolmans développe ce concept de risque, retranscrit dans le tableau ci-dessous (54).

Haut risque	Moyen risque	Bas risque
Leucémie	Cancer du sein stade IV	Cancer du sein type canalaire infiltrant
Neuroblastome	Cancer du sein type lobulaire	Cancer épidermoïde du col
Lymphome de Burkitt	Cancer colorectal	Lymphome de Hodgkin
	Adénocarcinome cervical	Ostéosarcome
	Sarcome d'Ewing	Rhabdomyosarcome non génital
		Tumeur de Wilms

Tableau 10 : Risque de transmission de la maladie résiduelle en fonction des indications d'après (54)

Différentes analyses sont possibles pour évaluer la présence de cellules malignes dans le tissu cryopréservé. L'imagerie préopératoire par échographie endovaginale ou IRM permet le dépistage des métastase ovariennes avant la cryopréservation (62).L'analyse histologique au microscope et l'immunohistochimie, permet de dépister des cellules cancéreuses dans la limite du tissu analysé. Une autre méthode est la recherche par PCR d'ADN ou d'ARN spécifique de la maladie résiduelle. Cette technique est disponible que pour certains types de cancer comme les leucémies et les sarcomes d'Ewing(54,61,62)

A ce jour l'autogreffe ovarienne a été réalisée et publiée dans le cadre des cancers du sein, de lymphomes de Hodgkin et non hodgkiniens, de cancer de col de l'utérus, cancer de l'anus et de sarcome d'Ewing. Aucun cas de récurrence tumorale à proximité du greffon n'a été décrit. (61).

Rosendhal conseille d'évaluer au cas par cas le risque de réintroduction de la maladie, et de procéder à un bilan complet prégreffe en utilisant toute les techniques disponibles pour évaluer le risque. Le gold standard est pour cet auteur l'absence de réintroduction de la maladie après xénotransplantation après 20 semaines (62).

Les auteurs s'accordent pour proscrire l'autogreffe ovarienne en cas de leucémie. Les leucémies restent pourtant les maladies le plus souvent traitées par autogreffe et/ou allogreffe, donc le plus à risque de présenter une insuffisance ovarienne définitive. Cependant, les progrès de la recherche, avec la maturation in vitro, de la transplantation de follicules dans des matrices d'ovaires artificiels (63) semblent ouvrir un champ de perspective pour la fertilité de ces patientes en supprimant le risque de réintroduction de cellules malignes.

Une autre approche est possible. L'apport de la biologie moléculaire a permis de détecter de manière plus sensible la présence de maladie résiduelle dans le cortex ovarien. L'utilisation de la PCR ou de la RT-PCR permet de rechercher l'ADN ou l'ARN spécifique des cellules cancéreuses. Par exemple, le

chromosome Philadelphia, spécifique de certaines leucémies myéloïdes chroniques, et résultant d'une translocation réciproque t(9 ;22), peut être recherché.

Dolmans suggère l'utilisation de la biologie moléculaire pour la recherche de la maladie résiduelle dans les ovaires (54). La réalisation de la PCR au moment du diagnostic de la maladie sur le sang, la moelle osseuse et les ovaires ont confirmé la présence de cellules malignes dans le cortex de plus de 50% des patientes(54). L'interprétation des résultats de la PCR sur le cortex ovarien n'est pas encore claire. Les études ne sont réalisées que sur de petits groupes de patientes. Il semble que les résultats positifs soient moins nombreux chez les patientes en rémission clinique au moment de la cryopréservation (54,62,64). Il est difficile d'évaluer le potentiel de malignité de ces prélèvements ovariens. Pour progresser dans cette investigation il est possible de réaliser une xénotransplantation à la souris puis la réalisation d'une PCR sur les greffons de souris est réalisable. Greve et al ne retrouvent pas de PCR positive chez la souris quand la préservation a été réalisée en rémission clinique malgré une PCR positive avant la xenogreffe chez 4 patientes sur 7 (2 en phase active de la maladie et 2 en phase de rémission clinique) (64). Ces résultats sont tout de même à interpréter de manière prudente, le risque de trouver des cellules malignes viables ne pouvant être totalement exclu (54,62,64).

Au vu de ces résultats, la question se pose du moment de la cryopréservation pour le cas particulier des leucémies. En partant de ces dernières hypothèses, il semble licite de proposer une cryopréservation après la chimiothérapie d'induction quand la patiente est en rémission clinique malgré l'altération de la réserve ovarienne de ce début de traitement.

2. Aspect éthique

Les jeunes patientes atteintes d'un cancer ou d'une maladie nécessitant un traitement susceptible d'altérer leur fonction ovarienne ont le droit à une préservation de la fertilité. Selon l'article L. 2141-11 de la loi de bioéthique n°2011-814, « 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 tissu germinale avec son consentement et, le cas échéant, celui de l'un des titulaires de l'autorité parentale, ou du tuteur lorsque l'intéressée est 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 » (14)

De même le Collège national des gynécologues obstétriciens français (CNGOF) recommande lors des RPC de 2010 « ... les patientes atteintes de cancer doivent être informées des possibilités pour préserver leur fertilité et la reproduction avant tout traitement potentiellement stérilisant. La prise en charge est spécialisée et multidisciplinaire (oncologue, onco-pédiatre, chirurgien, médecin et spécialiste d'AMP, psychologue). Il est recommandé d'adresser chaque patiente à un centre référent qui évaluera au mieux les différentes possibilités de préservation de la fertilité masculine et féminine. »

La cryopréservation est l'unique option pour la préservation de la fertilité des patientes pré pubères ou si la prise en charge oncologique est urgente. Cette technique est sûre, fiable en terme de risque chirurgical et offre un espoir de conception en cas de ménopause précoce (18). Dans notre étude, une complication grave est survenue au décours d'un prélèvement ovarien. Mais cette complication

chirurgicale fait partie des complications possibles de la technique laparoscopique et ne peut être imputable au prélèvement ovarien lui-même.

Il est important d'offrir une information la plus claire possible à ces patientes sur le choix de technique de préservation de la fertilité. L'évaluation précise du risque potentiel de gonadotoxicité des traitements anticancéreux est difficile. Ce risque peut être sous-évalué car on ne peut prédire l'évolution de la maladie (40,58).

De même, la technique de prélèvement ovarien est une technique ayant fait ces preuves. Mais la technique de transplantation ovarienne fait encore partie de protocoles de recherche en France. Il est important d'informer les patientes du résultat incertain en termes de grossesse de ce protocole qui s'effectue dans le cadre de la recherche.

De même, est-il licite de proposer la cryopréservation de tissu ovarien chez des patientes qui ne pourront pas bénéficier de la greffe ovarienne ? La recherche progresse pour permettre à ces patientes de pouvoir disposer de leurs ovocytes en vue d'une future grossesse, notamment dans le cadre de la maturation in vitro et de la greffe intra péritonéal de follicule immature dans des matrices artificielles (63).

Dans ce contexte, il est important de leur fournir toute les options envisageables en terme de préservation de fertilité et de grossesse pour leur permettre de faire un choix personnel et adapté à leur conception.

D. Suivi des patientes

1. Evaluation de la fonction ovarienne

L'évaluation de la réserve ovarienne est nécessaire avant toute cryopréservation ovarienne. Un bilan hormonal (AMH, FSH, œstradiol selon le cycle de la patiente) et un compte des follicules antraux (chez les patientes non vierges) est réalisé avant la cryopréservation dans la majorité des centres (9,15,58,59).

La reprise des cycles après la fin des traitements est un mauvais indicateur de la fertilité des patients après cancer (3,52,55). En effet même si les cycles reprennent après la fin des traitements cela ne signifie pas que la réserve ovarienne a été suffisamment préservée pour permettre l'obtention d'une grossesse (3). De même on peut observer une reprise des cycles malgré une AMH retrouvée à des taux indétectable (52)

Le compte des follicules antraux et la mesure de l'AMH sont les meilleurs marqueurs pour évaluer la fertilité avant et après chimiothérapie (65). L'AMH pré thérapeutique et l'âge sont considérés comme les meilleurs marqueurs prédictifs d'aménorrhée post chimiothérapie chez les patientes atteintes de cancer du sein (66). De même, une AMH pré thérapeutique normale (≥ 2 ng/ml) est un bon marqueur prédictif d'une restauration des taux d'AMH après la fin des traitements gonadotoxiques indépendamment de l'âge (52).

Lunsford a prouvé que la FSH seule n'était pas un marqueur fiable de la réserve ovarienne après chimiothérapie. Elle retrouve une AMH diminué chez 48 % des jeunes patientes ayant une FSH

normale (51). De plus la FSH n'est pas utilisable chez les patientes prépubères. L'AMH est utilisable chez les patients pré pubères avant le début du traitement et la cryopreservation pour évaluer la réserve ovarienne. (40)

La cinétique de l'AMH chez les patientes traitées par chimiothérapies a été étudiée dans de nombreuses études (52). Une baisse de l'AMH jusqu'à des taux indétectables est observé de 15 jours à 3 mois après le début des traitements gonadotoxiques (52). La récupération des taux d'AMH semblables au taux d'AMH prétraitement est observée de 6 mois à un an après la fin des traitements gonadotoxiques et de manière préférentielle chez les patientes non traitées avec des alkylants (52).

Certains auteurs retrouvent des taux d'AMH prétraitement plus faibles que ceux d'un groupe contrôle pour les patientes atteintes d'une maladie hématologique, ces maladies semblant affecter la réserve ovarienne avant même les traitements gonadotoxiques (52).

La mesure de l'AMH avant cryopréservation n'a commencé à être utilisée dans notre service qu'à partir de 2004. Cela explique le faible pourcentage de patientes ayant eu un bilan de la réserve ovarienne complet. Cependant, toutes n'ont pas eu depuis 2004 d'évaluation de la réserve ovarienne avant leur cryopréservation. On observe tout de même une nette amélioration des pratiques depuis ces dernières années. Le problème se pose souvent quand le geste n'est pas réalisé dans notre structure et/ou dans l'urgence.

L'échographie avec compte des follicules antraux (CFA) n'est pas réalisée de manière systématique dans notre centre avant le prélèvement. En effet, de manière pratique, les patientes sont adressées en urgence pour leur cryopréservation, et ne sont pas toujours au troisième jour de leur cycle. De plus le CFA nécessite la réalisation d'une échographie endovaginale qui peut paraître invasif et non réalisable chez les patientes pré pubères ou vierges.

La reprise des cycles a été utilisée dans notre travail pour analyser le fonctionnement ovarien après la rémission. Notre approche rétrospective a pour conséquence une certaine marge d'erreur pour estimer le délai de reprise des règles. Les données ont été collectées par relecture des consultations des oncologues ou des gynécologues, ou par questionnement directe des patientes.

De plus une reprise des règles ne reflète pas précisément la réserve ovarienne résiduelle et encore moins les chances de grossesse (3,52,55). Il aurait été plus approprié de pouvoir évaluer la réserve ovarienne par la mesure de l'AMH même si l'AMH n'est pas un bon marqueur prédictif de grossesse dans cette indication (52). Des bilans hormonaux avec mesure de la FSH et de l'œstradiol ont été réalisés chez certaines patientes mais sans indication du moment de cycle, et sous prise de contraceptif oraux. Ces données sont disparates et non fiables donc non exploitables pour notre étude.

2. Fertilité après

Schmidt et al ont étudié la fertilité après cryopréservation ovarienne (67). Elle s'est basée sur le retour des cycles et les grossesses survenues après les traitements. Ils retrouvent 87% d'insuffisance ovarienne dans le groupe leucémie, 9% pour les cancers du sein, 18% pour les lymphomes. 72 % des patientes souhaitant être enceinte ont obtenu une grossesse, au total 32% des patientes ont été enceintes. On ne retrouve pas d'augmentation de prématurité ni de petits poids de naissance(67).

L'étude américaine Childhood Cancer Survivor Study cohort a étudié la fertilité des filles et jeunes femmes ayant été traitées pour un cancer avant 21 ans. Elle retrouve un risque accru d'infertilité chez cette population, en dehors des patientes présentant une aménorrhée. De plus ce risque augmente avec les chimiothérapies alkylantes et la radiothérapie pelvienne (3,46).

L'utérus est aussi touché en cas d'irradiation pelvienne. La fonction utérine est atteinte des 14 Gy. L'irradiation utérine dans l'enfance et l'adolescence diminue le volume utérin et l'épaisseur endométriale. On retrouve aussi une altération la vascularisation utérine. Cette atteinte est irréversible. Une augmentation des fausses couches précoces et tardives, des accouchements prématurés et de petits poids de naissance a été décrite (3,34,46). La fragilisation du muscle utérin par la radiothérapie augmente le risque de rupture utérine et nécessite une surveillance accrue pendant le travail (35).

Il n'a pas été retrouvé d'augmentation de malformation ou d'anomalie génétique chez les enfants des patientes traitées pour un cancer dans l'enfance et l'adolescence, quel que soit le traitement. (46)

Dans notre étude nous n'avons recueilli qu'un faible nombre de grossesses. Elle se sont toutes passées sans complications particulières materno-foetales. Notre faible nombre est expliqué par l'âge moyen de notre population qui est de 22.8 +/- 9 ans (2 ; 42 ans). Parmi les patientes que nous avons pu recontacter, 87% envisage une grossesse à l'avenir. Cela nous permettra d'avoir un meilleur retour sur la fertilité de ces patientes après cancer et sur les issues obstétricales.

3. Suivi

L'accueil téléphonique de la plupart des patientes a été positif. Une seule patiente a refusé de répondre à mes questions. Ces entretiens téléphoniques m'ont permis de recueillir des informations importantes sur le devenir de ces patientes mais aussi de répondre à leurs questions. La plupart n'ont pas été revues par un spécialiste de la fertilité, voire par un gynécologue. Beaucoup, notamment les plus jeunes, ont exprimé une réelle angoisse vis à vis de leur fertilité future, voire une certaine détresse. La plupart des patientes n'avait un souvenir que très partiel de la consultation réalisée avant la cryopréservation et des informations qui leur avaient été données. Et cela malgré la remise de documents récapitulant ces informations. Cette procédure se fait dans le contexte particulier d'une maladie grave et la plupart étaient des patientes jeunes.

J'ai tenté de répondre au mieux à leur question mais un entretien téléphonique n'est pas le moyen le plus adapté pour reformuler toute ces informations, ni pour donner un conseil orienté. Les patientes le désirant ont été dirigées vers une consultation avec un des médecins de notre centre, afin de refaire le bilan de leur situation et leur remettre toutes les informations sur un éventuel projet parental.

Il serait adapté d'organiser dans le futur, une consultation à distance de leur maladie, pour refaire une évaluation de leur statut ovarien. Cela permettrait d'organiser au mieux la stratégie de prise en charge lors de leur désir de grossesse et de prévenir les angoisses liées à leur fertilité. Cette consultation pourrait être organisée, au même titre que leur consultation de suivi avec leur oncologue après leur rémission.

VI. Conclusion

La préservation de la fertilité est un enjeu primordial chez les jeunes patients devant subir un traitement gonadotoxique, d'autant plus que la survie après cancer augmente avec l'amélioration des traitements anticancéreux.

Chacun de ces patients a le droit de se voir proposer une préservation de sa fertilité. Il est important que tous ces patients aient une information claire et adaptée pour choisir au mieux la stratégie qui lui convient.

La cryopréservation ovarienne fait partie des options possibles de préservation de la fertilité féminine. Il convient d'orienter au mieux les patientes vers les différents choix de préservation possibles en fonction de leur âge, de leur maladie, de leur statut social.

Même si la cryopréservation ovarienne se développe, de nombreux progrès restent encore à faire pour permettre à cette pratique d'être utilisée de manière efficace en routine. Elle reste néanmoins la seule option possible de préservation de fertilité dans certains cas.

De nombreuses voies sont encore à explorer pour l'obtention de grossesse après cryopréservation. La recherche fondamentale dans ce domaine est vaste et portera notamment sur l'étude de la maturation ovocytaire in vitro, la congélation et l'autogreffe d'ovaire entier, l'amélioration de la survie des greffons, l'étude de la présence de la maladie résiduelle dans le tissu ovarien.

La prise en charge des patientes atteintes de cancer reste encore à mieux définir. Le moment de la cryopréservation en fonction des traitements et de la maladie reste encore flou, et doit être adapté en fonction des cas. Excepté dans les cas de leucémies, il semble important qu'elle soit réalisée avant tout traitement gonadotoxique. Le dialogue entre oncologue, gynécologue et médecin de la reproduction doit être amélioré et formalisé pour une prise en charge optimale des patientes.

La création d'une base de données informatique spécifique à la cryopréservation ovarienne recueillant les différentes informations concernant les patientes, leur maladie, leurs traitements détaillés, leur devenir, comme utilisée dans d'autres centres européens, serait un outil très précieux pour une meilleure prise en charge de ces patientes. De plus cela permettrait une analyse plus fine de cette population et des répercussions de la chimiothérapie.

Le suivi des patientes au long cours après l'arrêt des traitements semble justifié par ce travail. En effet les patientes recontactées ont exprimé pour la plupart une demande d'informations complémentaires. Cette consultation pourrait être réalisée par les médecins de la reproduction, qui sont les plus à même de répondre à leurs questions.

VII. Bibliographie

1. Gatta G, Botta L, Rossi S, Aareleid T, Bielska-Lasota M, Clavel J, et al. Childhood cancer survival in Europe 1999–2007: results of EUROCORE-5—a population-based study. *Lancet Oncol.* janv 2014;15(1):35-47.
2. De Angelis R, Sant M, Coleman MP, Francisci S, Baili P, Pierannunzio D, et al. Cancer survival in Europe 1999–2007 by country and age: results of EUROCORE-5—a population-based study. *Lancet Oncol.* janv 2014;15(1):23-34.
3. Barton SE, Najita JS, Ginsburg ES, Leisenring WM, Stovall M, Weathers RE, et al. Infertility, infertility treatment, and achievement of pregnancy in female survivors of childhood cancer: a report from the Childhood Cancer Survivor Study cohort. *Lancet Oncol.* août 2013;14(9):873-881.
4. Parkes AS, Smith AU. Regeneration of rat ovarian tissue grafted after exposure to low temperatures. *Proc R Soc Lond Ser B Contain Pap Biol Character R Soc G B.* 15 janv 1953;140(901):455-470.
5. Oktay K, Newton H, Aubard Y, Salha O, Gosden RG. Cryopreservation of immature human oocytes and ovarian tissue: an emerging technology? *Fertil Steril.* janv 1998;69(1):1-7.
6. Oktay K, Aydin BA, Karlikaya G. A technique for laparoscopic transplantation of frozen-banked ovarian tissue. *Fertil Steril.* juin 2001;75(6):1212-1216.
7. Oktay K, Buyuk E, Veeck L, Zaninovic N, Xu K, Takeuchi T, et al. Embryo development after heterotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. *Lancet.* 13 mars 2004;363(9412):837-840.
8. Donnez J, Dolmans MM, Demylle D, Jadoul P, Pirard C, Squifflet J, et al. Livebirth after orthotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. *Lancet.* 16 oct 2004;364(9443):1405-1410.
9. Donnez J, Dolmans M-M, Pellicer A, Diaz-Garcia C, Sanchez Serrano M, Schmidt KT, et al. Restoration of ovarian activity and pregnancy after transplantation of cryopreserved ovarian tissue: a review of 60 cases of reimplantation. *Fertil Steril.* mai 2013;99(6):1503-1513.
10. Stern CJ, Gook D, Hale LG, Agresta F, Oldham J, Rozen G, et al. First reported clinical pregnancy following heterotopic grafting of cryopreserved ovarian tissue in a woman after a bilateral oophorectomy. *Hum Reprod Oxf Engl.* nov 2013;28(11):2996-2999.
11. LOI no 94-653 du 29 juillet 1994 relative au respect du corps humain. 94-653 juill 29, 1994.
12. Arrêté du 12 janvier 1999 fixant les normes de classement des offices de tourisme.
13. LOI n° 2004-800 du 6 août 2004 relative à la bioéthique. 2004-800 août 6, 2004.
14. LOI n° 2011-814 du 7 juillet 2011 relative à la bioéthique. 2011-814 juill 7, 2011.
15. Meirou D, Baum M, Yaron R, Levron J, Hardan I, Schiff E, et al. Ovarian tissue cryopreservation in hematologic malignancy: ten years' experience. *Leuk Lymphoma.* août 2007;48(8):1569-1576.

16. Lima M, Gargano T, Fabbri R, Maffi M, Destro F. Ovarian Tissue Collection for Cryopreservation in Pediatric Age: Laparoscopic Technical Tips. *J Pediatr Adolesc Gynecol.* avr 2014;27(2):95-97.
17. Chung K, Donnez J, Ginsburg E, Meirrow D. Emergency IVF versus ovarian tissue cryopreservation: decision making in fertility preservation for female cancer patients. *Fertil Steril.* mai 2013;99(6):1534-1542.
18. Jadoul P, Dolmans M-M, Donnez J. Fertility preservation in girls during childhood: is it feasible, efficient and safe and to whom should it be proposed? *Hum Reprod Update.* déc 2010;16(6):617-630.
19. Oktay K, Oktem O. Ovarian cryopreservation and transplantation for fertility preservation for medical indications: report of an ongoing experience. *Fertil Steril.* févr 2010;93(3):762-768.
20. Mirallié S, Fréour T, Barrière P. La congélation ovarienne : quel avenir ? *Gynécologie Obstétrique Fertil.* nov 2012;40(11):684-686.
21. Jadoul P, Donnez J, Dolmans M-M, Squifflet J, Lengele B, Martinez-Madrid B. Laparoscopic ovariectomy for whole human ovary cryopreservation: technical aspects. *Fertil Steril.* avr 2007;87(4):971-975.
22. Milenkovic M, Gharemani M, Bergh A, Wallin A, Mölne J, Fazlagic E, et al. The human postmenopausal ovary as a tool for evaluation of cryopreservation protocols towards whole ovary cryopreservation. *J Assist Reprod Genet.* mai 2011;28(5):453-460.
23. Callejo J, Salvador C, González-Nuñez S, Almeida L, Rodriguez L, Marqués L, et al. Live birth in a woman without ovaries after autograft of frozen-thawed ovarian tissue combined with growth factors. *J Ovarian Res.* 2013;6(1):33.
24. Demeestere I, Simon P, Emiliani S, Delbaere A, Englert Y. Orthotopic and heterotopic ovarian tissue transplantation. *Hum Reprod Update.* déc 2009;15(6):649-665.
25. Andersen CY, Rosendahl M, Byskov AG, Loft A, Ottosen C, Dueholm M, et al. Two successful pregnancies following autotransplantation of frozen/thawed ovarian tissue. *Hum Reprod Oxf Engl.* oct 2008;23(10):2266-2272.
26. Donnez J, Jadoul P, Pirard C, Hutchings G, Demylle D, Squifflet J, et al. Live birth after transplantation of frozen-thawed ovarian tissue after bilateral oophorectomy for benign disease. *Fertil Steril.* sept 2012;98(3):720-725.
27. Oktay K, Buyuk E, Rosenwaks Z, Rucinski J. A technique for transplantation of ovarian cortical strips to the forearm. *Fertil Steril.* juill 2003;80(1):193-198.
28. Salama M, Winkler K, Murach KF, Seeber B, Ziehr SC, Wildt L. Female fertility loss and preservation: threats and opportunities. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol ESMO.* mars 2013;24(3):598-608.
29. Smitz J, Dolmans MM, Donnez J, Fortune JE, Hovatta O, Jewgenow K, et al. Current achievements and future research directions in ovarian tissue culture, in vitro follicle development and transplantation: implications for fertility preservation. *Hum Reprod Update.* août 2010;16(4):395-414.
30. Grynberg M, Hesters L, Bénard J, Trèves R, Fanchin R, Frydman R, et al. Préservation de la fertilité féminine : place de la maturation ovocytaire in vitro. *J Gynécologie Obstétrique Biol Reprod.*

avr 2011;40(2):103-108.

31. Prasath EB, Chan MLH, Wong WHW, Lim CJW, Tharmalingam MD, Hendricks M, et al. First pregnancy and live birth resulting from cryopreserved embryos obtained from in vitro matured oocytes after oophorectomy in an ovarian cancer patient. *Hum Reprod Oxf Engl.* févr 2014;29(2):276-278.
32. Lawrenz B, Jauckus J, Kupka M, Strowitzki T, von Wolff M. Efficacy and safety of ovarian stimulation before chemotherapy in 205 cases. *Fertil Steril.* déc 2010;94(7):2871-2873.
33. Nayak SR, Wakim AN. Random-start gonadotropin-releasing hormone (GnRH) antagonist-treated cycles with GnRH agonist trigger for fertility preservation. *Fertil Steril.* juill 2011;96(1):e51-54.
34. Rodriguez-Wallberg KA, Oktay K. Fertility preservation during cancer treatment: clinical guidelines. *Cancer Manag Res.* 2014;6:105-117.
35. Irtan S, Orbach D, Helfre S, Sarnacki S. Ovarian transposition in prepubescent and adolescent girls with cancer. *Lancet Oncol.* déc 2013;14(13):e601-608.
36. Song G, Gao H, Yuan Z. Effect of leuprolide acetate on ovarian function after cyclophosphamide-doxorubicin-based chemotherapy in premenopausal patients with breast cancer: results from a phase II randomized trial. *Med Oncol Northwood Lond Engl.* 2013;30(3):667.
37. Turner NH, Partridge A, Sanna G, Leo AD, Biganzoli L. Utility of gonadotropin-releasing hormone agonists for fertility preservation in young breast cancer patients: the benefit remains uncertain. *Ann Oncol.* 9 janv 2013;24(9):2224-2235.
38. Gauthier T, Piver P, Durand L-M, Donadel L, Pech J-C, Roux C, et al. [Chemotherapy and women fertility preservation]. *Presse Médicale Paris Fr* 1983. août 2010;39(7-8):786-793.
39. Oktem O, Oktay K. Quantitative assessment of the impact of chemotherapy on ovarian follicle reserve and stromal function. *Cancer.* 15 nov 2007;110(10):2222-2229.
40. Wallace WHB, Anderson RA, Irvine DS. Fertility preservation for young patients with cancer: who is at risk and what can be offered? *Lancet Oncol.* avr 2005;6(4):209-218.
41. Meiorow 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. *Hum Reprod Oxf Engl.* avr 2001;16(4):632-637.
42. Wallace WHB, Thomson AB, Saran F, Kelsey TW. Predicting age of ovarian failure after radiation to a field that includes the ovaries. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1 juill 2005;62(3):738-744.
43. Wallace WHB, Thomson AB, Kelsey TW. The radiosensitivity of the human oocyte. *Hum Reprod Oxf Engl.* janv 2003;18(1):117-121.
44. Stroud JS, Mutch D, Rader J, Powell M, Thaker PH, Grigsby PW. Effects of cancer treatment on ovarian function. *Fertil Steril.* août 2009;92(2):417-427.
45. Meiorow D, Biederman H, Anderson RA, Wallace WHB. Toxicity of chemotherapy and radiation on female reproduction. *Clin Obstet Gynecol.* déc 2010;53(4):727-739.
46. Green DM, Sklar CA, Boice JD Jr, Mulvihill JJ, Whitton JA, Stovall M, et al. Ovarian failure and reproductive outcomes after childhood cancer treatment: results from the Childhood Cancer

Survivor Study. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 10 mai 2009;27(14):2374-2381.

47. Ott J, Nouri K, Stögbauer L, Fischer EM, Lipovac M, Promberger R, et al. Ovarian tissue cryopreservation for non-malignant indications. *Arch Gynecol Obstet*. avr 2010;281(4):735-739.

48. Borgström B, Birgit B, Hreinsson J, Julius H, Rasmussen C, Carsten R, et al. Fertility preservation in girls with turner syndrome: prognostic signs of the presence of ovarian follicles. *J Clin Endocrinol Metab*. janv 2009;94(1):74-80.

49. Chakhtoura Z, Touraine P. Fertilité chez les femmes ayant un syndrome de Turner. *Presse Médicale*. nov 2013;42(11):1508-1512.

50. Bedoschi G, Turan V, Oktay K. Fertility preservation options in women with endometriosis. *Minerva Ginecol*. avr 2013;65(2):99-103.

51. Lunsford AJ, Whelan K, McCormick K, McLaren JF. Antimüllerian hormone as a measure of reproductive function in female childhood cancer survivors. *Fertil Steril*. janv 2014;101(1):227-231.

52. Peigné M, Decanter C. Serum AMH level as a marker of acute and long-term effects of chemotherapy on the ovarian follicular content: a systematic review. *Reprod Biol Endocrinol RBE*. 2014;12:26.

53. Jadoul P, Kim SS, ISFP Practice Committee. Fertility considerations in young women with hematological malignancies. *J Assist Reprod Genet*. juin 2012;29(6):479-487.

54. Dolmans M-M, Luyckx V, Donnez J, Andersen CY, Greve T. Risk of transferring malignant cells with transplanted frozen-thawed ovarian tissue. *Fertil Steril*. mai 2013;99(6):1514-1522.

55. Gracia CR, Sammel MD, Freeman E, Prewitt M, Carlson C, Ray A, et al. Impact of cancer therapies on ovarian reserve. *Fertil Steril*. janv 2012;97(1):134-140.e1.

56. Référentiels de bonnes pratiques [Internet]. [cité 13 avr 2014]. Disponible sur: <http://www.onco-paysdelaloire.asso.fr/pro/page25631.asp>

57. Von Wolff M, Montag M, Dittrich R, Denschlag D, Nawroth F, Lawrenz B. Fertility preservation in women--a practical guide to preservation techniques and therapeutic strategies in breast cancer, Hodgkin's lymphoma and borderline ovarian tumours by the fertility preservation network FertiPROTEKT. *Arch Gynecol Obstet*. août 2011;284(2):427-435.

58. Dolmans M-M, Jadoul P, Gilliaux S, Amorim CA, Luyckx V, Squifflet J, et al. A review of 15 years of ovarian tissue bank activities. *J Assist Reprod Genet*. mars 2013;30(3):305-314.

59. Rosendahl M, Schmidt KT, Ernst E, Rasmussen PE, Loft A, Byskov AG, et al. Cryopreservation of ovarian tissue for a decade in Denmark: a view of the technique. *Reprod Biomed Online*. févr 2011;22(2):162-171.

60. Mayerhofer K, Ott J, Nouri K, Stögbauer L, Fischer E-M, Lipovac M, et al. Laparoscopic ovarian tissue harvesting for cryopreservation: an effective and safe procedure for fertility preservation. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. sept 2010;152(1):68-72.

61. Bastings L, Beerendonk CCM, Westphal JR, Massuger LFAG, Kaal SEJ, van Leeuwen FE, et al. Autotransplantation of cryopreserved ovarian tissue in cancer survivors and the risk of reintroducing malignancy: a systematic review. *Hum Reprod Update*. oct 2013;19(5):483-506.

62. Rosendahl M, Greve T, Andersen CY. The safety of transplanting cryopreserved ovarian tissue in cancer patients: a review of the literature. *J Assist Reprod Genet*. janv 2013;30(1):11-24.

63. Vanacker J, Luyckx V, Dolmans M-M, Des Rieux A, Jaeger J, Van Langendonck A, et al. Transplantation of an alginate-matrigel matrix containing isolated ovarian cells: first step in developing a biodegradable scaffold to transplant isolated preantral follicles and ovarian cells. *Biomaterials*. sept 2012;33(26):6079-6085.
64. Greve T, Clasen-Linde E, Andersen MT, Andersen MK, Sørensen SD, Rosendahl M, et al. Cryopreserved ovarian cortex from patients with leukemia in complete remission contains no apparent viable malignant cells. *Blood*. 22 nov 2012;120(22):4311-4316.
65. Oktay K, Oktem O, Reh A, Vahdat L. Measuring the impact of chemotherapy on fertility in women with breast cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 20 août 2006;24(24):4044-4046.
66. Anderson RA, Rosendahl M, Kelsey TW, Cameron DA. Pretreatment anti-Müllerian hormone predicts for loss of ovarian function after chemotherapy for early breast cancer. *Eur J Cancer Oxf Engl* 1990. nov 2013;49(16):3404-3411.
67. Schmidt KT, Nyboe Andersen A, Greve T, Ernst E, Loft A, Yding Andersen C. Fertility in cancer patients after cryopreservation of one ovary. *Reprod Biomed Online*. mars 2013;26(3):272- 279.

NOM : GUENIFFEY

PRENOM : AURORE

Titre de Thèse :

Cryopréservation ovarienne pour préservation de la fertilité féminine au CHU de Nantes depuis 1995. Quel devenir pour ces patientes en 2014 ?

RESUME

Une information sur la préservation de la fertilité doit être donnée avant tout traitement gonadotoxique en France. La cryopréservation ovarienne est une des techniques disponibles pour les patientes. A ce jour l'autogreffe ovarienne a permis la naissance de 28 enfants vivants dans le monde.

L'objectif de ce travail est de reprendre les dossiers des 210 patientes ayant bénéficié d'une cryopréservation ovarienne de 1995 à 2013 au CHU de Nantes. Nous avons étudié les différentes indications, les traitements et le devenir de ces patientes en 2014. Nous avons également analysé la reprise du fonctionnement ovarien après les traitements gonadotoxiques, et l'éventuel désir de grossesse de ces patientes.

73.3% des patientes sont actuellement en rémission, 14.3% sont malheureusement décédées. Les cancers hématologiques sont l'indication principale avec 56%. 90% des patientes de notre recueil ont reçu une chimiothérapie considérée comme à haut risque et 53.3% ont reçu une greffe de moelle osseuse. Aucune de nos patientes n'a bénéficié à ce jour d'autogreffe ovarienne. 9 grossesses sont survenues après la fin des traitements gonadotoxiques.

En conclusion, la cryopréservation ovarienne est une démarche d'avenir pouvant permettre un espoir de grossesse pour les patientes présentant une défaillance ovarienne après chimiothérapie. Elle nécessite une entente étroite entre oncologue, gynécologue et médecins de la reproduction. Idéalement, une consultation de suivi à long terme devrait être organisée pour revoir ces patientes après la fin de leurs traitements et leur apporter une information adaptée à leur situation ovarienne.

MOTS-CLES

Préservation de la fertilité féminine.

Cryopréservation ovarienne.

Fertilité féminine après cancer.

Autogreffe de tissu ovarien.

Traitement gonadotoxique.