

SOMMAIRE

INTRODUCTION	2
MATERIEL ET METHODES	4
<i>Design de l'étude</i>	4
<i>Parcours au sein de l'observatoire de la fertilité</i>	4
<i>Population étudiée</i>	5
<i>Recueil de données</i>	5
<i>Suivi longitudinal de la fonction ovarienne avant, pendant et après la chimiothérapie</i>	5
<i>Prélèvement et cryoconservation de tissu ovarien</i>	6
<i>Objectif principal</i>	7
<i>Objectifs secondaires</i>	7
<i>Méthodologie statistique</i>	8
RESULTATS	9
<i>Population étudiée</i>	9
<i>Fragments et densité folliculaire obtenus chez les patientes préservées</i>	10
<i>Caractéristiques des patientes préservées vs non-préservées</i>	11
<i>Évolution de la fonction menstruelle au cours du suivi</i>	12
<i>Évolution de l'AMH au cours du temps</i>	13
<i>Évolution comparative de l'AMH entre le groupe préservé et non préservé</i>	14
<i>Devenir concernant les grossesses</i>	16
DISCUSSION	17
CONCLUSION	21
BIBLIOGRAPHIE	22
LISTE DES ABREVIATIONS	27
ANNEXES	28

INTRODUCTION

Le cancer du sein, avec 2,3 millions de nouveaux cas dans le monde en 2018, dont 7 à 10% chez les femmes jeunes, se situe au premier rang des cancers chez la femme en âge de procréer [1][2]. Grâce aux progrès thérapeutiques, la survie à cinq ans après un cancer du sein dans cette population étant de 90%, la fertilité après le traitement apparaît comme un enjeu majeur dans leur plan personnalisé de soin (PPS) [3]. En effet les études VICAN 2 et VICAN 5 ont rapporté l'existence d'un projet parental chez 37,5% des femmes âgées de moins de 40 ans au moment du diagnostic, 24,1% et 56% auront respectivement un projet parental dans les deux et cinq ans suivant l'annonce du diagnostic [4] [5].

Les traitements reçus lors de la chimiothérapie, comprenant généralement des anthracyclines associées à du cyclophosphamide puis des taxanes, sont gonadotoxiques et entraînent une diminution importante du taux d'AMH [6]. L'AMH est secrétée par les cellules de la granulosa des follicules pré - antraux et antraux. Elle est considérée comme le marqueur de la réserve ovarienne en follicules primordiaux le plus spécifique, précis, reproductible et non invasif [7]. Son taux est fortement corrélé au compte des follicules [8][7]. De plus l'AMH a été identifiée comme un indicateur en temps réel de la déplétion et de la récupération folliculaire chez les femmes atteintes d'un cancer lors du traitement par chimiothérapie [7][9]. L'AMH sérique reste significativement diminuée dans les un à deux ans qui suivent la fin de la chimiothérapie, suggérant une altération sévère de la fonction ovarienne [10][11]. Cette altération de la fonction ovarienne peut être définitive dans 20% des cas [11].

La grossesse après un cancer du sein n'étant pas associée à une augmentation de rechute [12], les recommandations actuelles de l'ASCO (American Society of Clinical Oncology) en accord avec celles établies par l'ESHRE (European Society of Human Reproduction and Embryology) préconisent de proposer une consultation d'oncofertilité aux patientes, au cours de laquelle leur sont remises les informations concernant l'impact des traitements reçus sur la fertilité et les techniques existantes d'autoconservation de leur gamètes et/ou de leur tissu germinal [13][14]. En cas de cancer du sein dont le PPS prévoit une chimiothérapie adjuvante après une chirurgie complète, la stratégie de préservation de la fertilité (PF) consiste habituellement à proposer un ou plusieurs cycles de stimulation ovarienne en vue d'une cryopréservation ovocytaire ou embryonnaire lors de l'intervalle libre entre la chirurgie et le début de la chimiothérapie.

En cas de cancer du sein dont le PPS prévoit une chimiothérapie néo-adjuvante, c'est à dire avant la chirurgie, la stratégie de PF ne fait pas l'objet d'un consensus. Certaines équipes proposent une stimulation ovarienne bien que la tumeur soit encore en place car ils n'ont pas observé d'augmentation de la mortalité ou du risque de récidive à 5 ans [15]. Cependant, d'autres auteurs craignent les effets d'une hyper-oestrogénie induite par la stimulation sur une

tumeur hormono-dépendante encore en place. C'est pourquoi ils associent un traitement par anti-aromatase au protocole de stimulation dit antagoniste et démontrent l'absence d'impact sur le taux de survie sans rechute à 2 et 5 ans de l'utilisation de Letrozole et du Tamoxifène chez des femmes atteintes d'un cancer du sein. [16][15][17][18]. D'autres proposent à ces femmes une maturation in vitro (MIV) avant le début de la chimiothérapie, qui consiste à recueillir le complexe cumulo-ovocytaire immature de petits follicules antraux sans stimulation ovarienne suivie d'une MIV dans des conditions de culture spécifique, néanmoins cette technique reste très peu utilisée [19][20]. Bien qu'une première naissance ait été récemment rapportée dans le cadre d'une PF pour cancer du sein, la MIV est toujours considérée comme une technique expérimentale dans ce contexte par les sociétés savantes [14][19]. Certaines équipes associent dans cette indication une ovariectomie avec MIV ex vivo et cryoconservation de tissu ovarien (CTO) [21][22]. Ou bien, seule une CTO peut être également proposée à ces femmes pour préserver leur fertilité.

Actuellement en France, il n'y a pas non plus de consensus concernant la PF en cas de traitement néo-adjuvant du cancer du sein. Notre équipe propose à ces femmes l'équivalent d'une hémiovariectomie en réalisant de larges biopsies de cortex ovarien en vue d'une cryopréservation avant le début de la chimiothérapie. La CTO est une technique de PF reconnue comme pouvant être une alternative à l'autoconservation ovocytaire tout en restant une technique dite expérimentale [13]. Les taux de naissance après autogreffe de tissu ovarien sont entre 20 et 40 % et sembleraient comparables aux taux de naissance après vitrification ovocytaire dans le cadre du cancer, sous réserve d'un très faible taux de réutilisation et de très faible nombre d'études publiées [23][24]. La CTO présente l'avantage dans un contexte de cancer du sein en situation néo-adjuvante de ne pas nécessiter de stimulation ovarienne et d'être réalisable quelle que soit la période du cycle menstruel. De plus, la CTO permet une prise en charge rapide sans devoir différer l'initiation de la chimiothérapie néo-adjuvante. Aucune étude à ce jour ne décrit l'impact sur la réserve ovarienne à court, moyen et long terme d'une hémiovariectomie par de larges biopsies corticales. De même, les études de cohorte de long terme sont encore trop peu nombreuses pour définir la meilleure stratégie de PF chez les femmes traitées pour un cancer du sein.

L'objectif de notre étude a donc été d'évaluer la balance bénéfices – risques de la PF par CTO chez des femmes jeunes traitées par chimiothérapie néo-adjuvante pour un cancer du sein non métastatique. Tout d'abord en évaluant les capacités de récupération spontanée de la fonction ovarienne après la réalisation de larges biopsies ovarielles et la chimiothérapie, en comparant l'évolution du taux d'AMH dans le groupe préservé par CTO à celui du groupe non préservé aux différents temps du suivi. Enfin, d'évaluer les possibilités de restauration de la fertilité en cas de nécessité de réutilisation de tissu ovarien à travers le nombre de fragments obtenus et la densité folliculaire.

MATERIEL ET METHODES

Design de l'étude

Nous avons mené une étude rétrospective de cohorte à partir de données collectées prospectivement dans l'observatoire de la fertilité du Centre Hospitalier Régional Universitaire (CHRU) de Lille, au sein du service de Médecine de la Reproduction et de la Préservation de la Fertilité. La période d'inclusion s'est étendue de janvier 2015 à février 2021. Chaque femme incluse dans cette étude a signé un consentement écrit et éclairé autorisant d'une part l'exploitation de ses données cliniques, biologiques et échographiques dans le cadre de projets de recherche et, d'autre part, leur accord ou leur refus concernant la proposition de prélèvement ovarien en vue d'une cryoconservation avant chimiothérapie néo-adjuvante pour cancer du sein (DC-2008-642 and CNIL DEC2015-112).

Cette étude s'inscrit dans le projet « Elle va guérir puis voudra un enfant » soutenu par la division oncologique de l'ARS Hauts-de-France et l'association Onco Hauts-de-France.

Parcours au sein de l'observatoire de la fertilité

Chaque femme a été adressée par son oncologue dans le service de préservation de la fertilité du CHRU de Lille. Elles ont été reçues en consultation d'onco-fertilité et ont bénéficié d'informations concernant la toxicité de la chimiothérapie sur la réserve ovarienne, le risque d'altération de la fertilité et d'insuffisance ovarienne prématurée à long terme. Depuis 2015, il est proposé aux femmes de 35 ans et moins l'équivalent d'une hémi-ovariectomie par de larges biopsies corticales pour CTO avant le début de la chimiothérapie néo-adjuvante, avec informations sur la technique chirurgicale ainsi que sur les risques de complications per - et post-opératoire. La possibilité de greffe ovarienne ultérieure pour restaurer la fertilité était expliquée, sous réserve d'une analyse anatomo-pathologique, immunologique et génétique compatible et favorable à la greffe (absence de cellule tumorale, ou mutation ou métastase).

Les femmes étaient incluses dans l'observatoire quelle que soit leur décision concernant le prélèvement ovarien. Une information concernant les consultations de suivi, les prélèvements biologiques, et la surveillance échographique après traitement leur a été délivrée. Leur consentement a été recueilli.

Population étudiée

Les critères d'inclusion pour le prélèvement ovarien en vue de CTO étaient :

- Age ≤ 35 ans
- AMH ≥ 8 pmol/l
- Cancer du sein non-métastatique avec indication de chimiothérapie néo-adjuvante
- TEP-TDM négatif

Chaque femme préservée était ensuite appariée sur l'âge (± 3 ans ; 1/1) à une femme de l'observatoire en situation néo-adjuvante, et n'ayant pas accepté ou bénéficié de PF par CTO.

Recueil de données

Les données relatives aux femmes ont été recueillies à partir de l'observatoire de la fertilité : l'âge, l'IMC, l'existence d'un tabagisme ou non, la parité, la régularité des cycles initiaux, une contraception hormonale au moment du diagnostic, le protocole de chimiothérapie prévu, le statut hormonal de la tumeur, l'existence d'une mutation BRCA.

Suivi longitudinal de la fonction ovarienne avant, pendant et après la chimiothérapie

Chaque femme, préservée ou non bénéficiait du protocole de suivi de l'observatoire de la fertilité dont les modalités sont illustrées dans la figure 1. Un suivi en consultation à différents temps était alors organisé au cours duquel des prélèvements biologiques et une échographie pelvienne étaient réalisés : Avant la première cure de chimiothérapie, avant la quatrième cure de chimiothérapie, après la dernière cure de chimiothérapie puis à trois mois, six mois, et douze mois post chimiothérapie (figure 1).

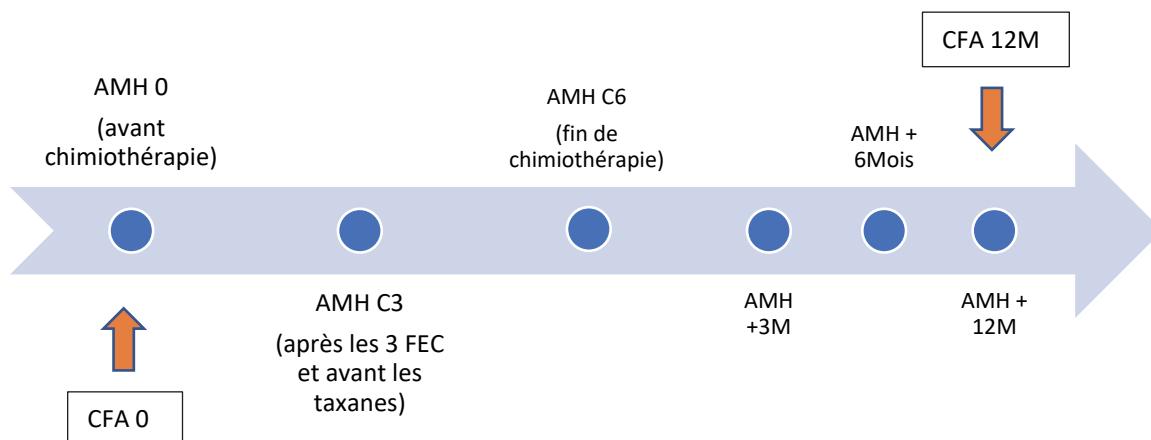


Figure 1. Les différents temps du suivi des femmes

Lors de la première consultation un bilan de réserve ovarienne était réalisé comprenant l'AMH, la FSH, chez des femmes ayant interrompu leur contraception orale avant la chimiothérapie, et le compte de follicules antraux (CFA).

Puis l'AMH était dosée lors de chaque consultation aux différents temps du suivi par le dosage automatisé Access Dxi (B13127, Beckman Coulter®). Il est important de préciser que l'AMH initiale dans le groupe préservé était dosée avant le prélèvement de tissu ovarien.

Un suivi échographique par compte folliculaire était réalisé à douze mois après la fin de la chimiothérapie avec un appareil d'échographie Voluson E8 Expert (General Electric Systems, VELIZY, France) à l'aide d'une sonde intra-vaginale de 5 à 9 MHz. Chaque follicule de diamètre compris entre 2 et 9 mm a été pris en compte.

Lors de chaque consultation, la présence ou l'absence de cycles menstruels étaient évaluée.

Prélèvement et cryoconservation de tissu ovarien

L'intervention chirurgicale se déroulait au bloc opératoire, en ambulatoire, et consistait à prélever de larges biopsies de cortex ovarien par abord coelioscopique sous anesthésie générale [25].

Une fois prélevé au bloc opératoire, les fragments de tissu ovarien était mis dans un tube stérile contenant un milieu de culture Leibowitz et étaient transportés rapidement jusqu'au laboratoire dans la glace pour maintenir une température à 4°C afin de limiter l'ischémie. La médulla ovarienne était retirée afin de ne conserver que le cortex le plus fin possible. Le cortex était ensuite découpé sous forme de fragments (carrés ou rectangulaires) de 0.5 à 1 cm de côté, et 1 mm d'épaisseur. Chaque fragment était congelé selon un protocole de congélation lente. La température descendait progressivement jusqu'à - 150 degrés puis immersion dans l'azote liquide et stockage en container cryogénique [23][26].

Toutes les lames n'avaient été lues que par un seul opérateur. Un fragment était envoyé en analyse anatomo-pathologique afin d'établir la densité folliculaire et vérifier l'absence de cellule tumorale.

Objectif principal

L'objectif principal de notre étude était d'étudier et de comparer l'évolution longitudinale des taux sériques d'AMH entre le groupe préservé et non préservé, avant pendant et jusqu'à 12 mois après la fin de la chimiothérapie (figure 1) :

- Avant le début de la chimiothérapie (temps AMH0)
- Après la 3^{ème} cure de chimiothérapie (temps C3)
- Après la dernière cure de chimiothérapie (temps C6)
- À 3 mois post chimiothérapie (temps 3M)
- À 6 mois post chimiothérapie (temps 6M)
- À 12 mois après la fin de la chimiothérapie (temps 12M).

Objectifs secondaires

- Analyser l'existence d'une corrélation entre les caractéristiques clinico-biologiques des femmes (âge, IMC, AMH 0, CFA 0) et le nombre de fragments obtenus après le prélèvement ovarien et la densité folliculaire.
- La récupération des cycles spontanée chez les femmes ayant bénéficié ou non d'une hémiovaricectomie avant chimiothérapie.

Méthodologie statistique

Les variables quantitatives ont été exprimées en termes de moyenne \pm déviation standard (DS), ou de médiane et d'intervalle interquartile [IQR]. La distribution a été vérifiée graphiquement et par le test de Shapiro-Wilk. Les variables catégorielles ont été exprimées par la fréquence et le pourcentage.

Les caractéristiques de base ont été comparées entre les femmes préservées et les femmes non préservées par un test du Chi-deux (ou par un test exact de Fisher) pour les variables catégorielles ; par un test t de Student ou un test U de Mann-Whitney pour les variables quantitatives, en fonction de leur distribution.

L'évolution du taux d'AMH a été comparée (après une transformation en log des valeurs d'AMH) entre les femmes préservées et non préservées par un modèle linéaire mixte (modèle à covariance pattern non structuré) pour tenir compte de la corrélation entre les mesures répétées d'une même femme. Le temps, le groupe et l'interaction temps*groupe ont été considérés comme des effets fixes. En cas d'interaction significative, des comparaisons post hoc intra groupe (entre la fin de la chimiothérapie et chaque mesure post chimiothérapie) et inter groupe (delta entre la fin de la chimiothérapie et chaque mesure post chimiothérapie) ont été réalisées. Pour circonscrire le problème des valeurs manquantes dans le suivi une analyse par imputation multiple a été réalisée. Les données manquantes ont été imputées sous l'hypothèse « missing at random » en utilisant la méthode des équations chaînées avec $m=20$ imputations. Les variables quantitatives ont été imputées par la méthode « predictive mean matching method » et les variables qualitatives par des modèles de régression logistique (binomial, ordinaire ou multinomial selon le nombre et ordre des modalités). La procédure d'imputation a été réalisée en utilisant les caractéristiques de baseline et les outcomes. Les estimations obtenues dans chaque jeu de données imputé ont été combinés à l'aide des règles de Rubin.

Les liens entre l'AMH de base et le nombre de fragments congelés et la densité folliculaire ont été étudiés par un coefficient de corrélation de Spearman.

Le niveau de significativité a été fixé à 5%. Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel SAS (SAS Institute version 9.4).

RESULTATS

Population étudiée

Le diagramme de flux est présenté dans la figure 2 ci-dessous.

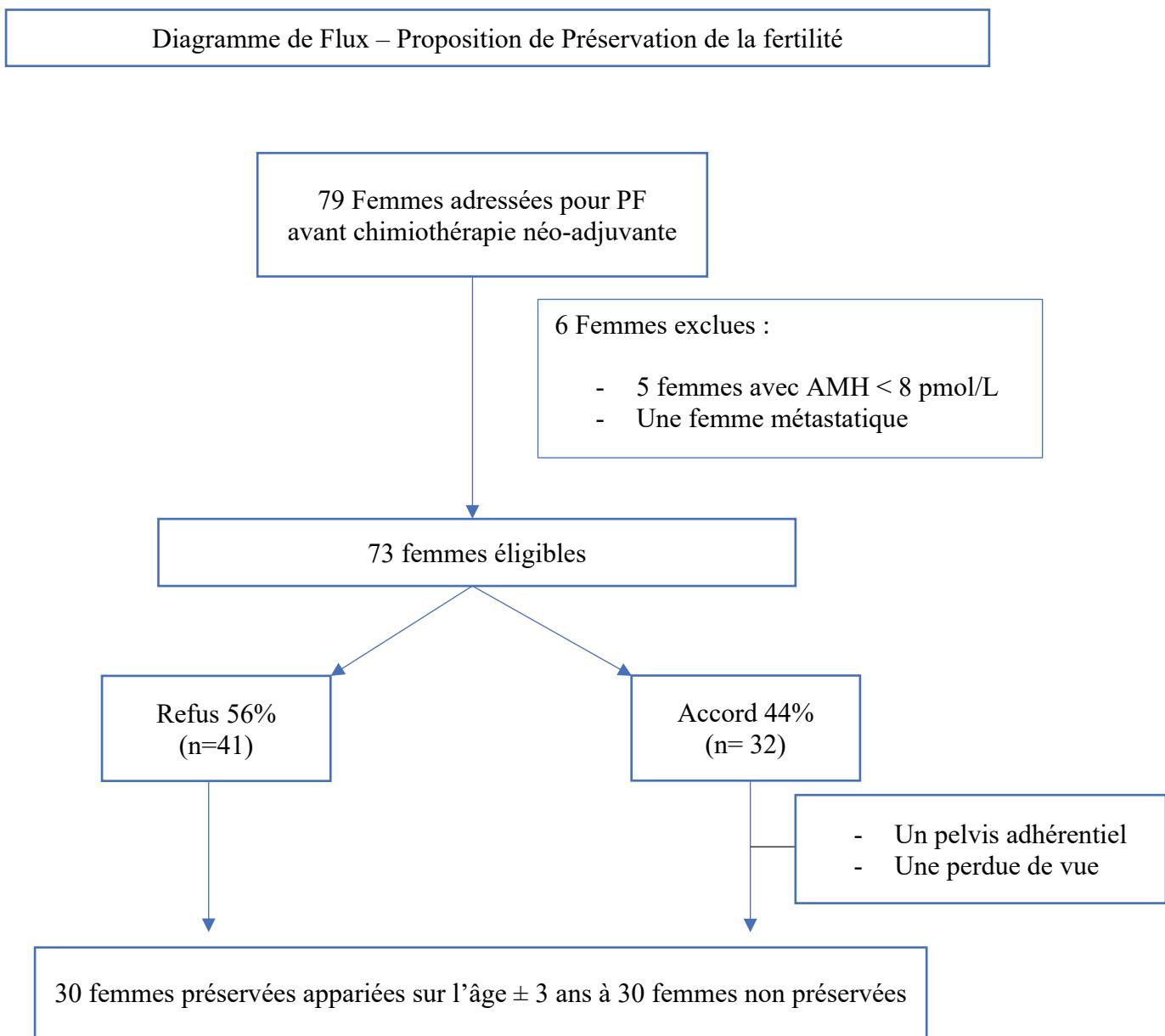


Figure 2. Diagramme de flux

Au total 79 femmes ont été adressées pour PF avant chimiothérapie néo-adjuvante pour cancer du sein non métastatique. Six femmes ont été exclues car elles présentaient une insuffisance ovarienne prématuée ou une réserve ovarienne très altérée (≤ 8 pmol/l).

Une hémiovaricectomie par de larges biopsies de cortex ovarien pour cryoconservation a été proposée à 73 femmes : 32 femmes (44%) ont souhaité bénéficier d'une CTO, mais une seule n'a pu être réalisée à cause d'un pelvis trop adhérentiel. Quarante et une femmes ont refusé (56%), soit parce qu'elles n'avaient plus de projet parental, soit par refus du geste chirurgical jugé trop lourd ou trop invasif.

Une femme dans le groupe préservé a été perdue de vue et a donc été exclue des analyses statistiques.

Au total 30 femmes ayant bénéficié d'une PF par CTO et 30 femmes non préservées ont été incluses dans l'étude et appariées sur l'âge à plus ou moins 3 ans.

Concernant le protocole de chimiothérapie néo adjuvante, 90% (n=53) des femmes ont bénéficié d'une chimiothérapie par 3FEC100/3 Taxotère d'une durée de 18 semaines et 10% d'une chimiothérapie par 3FEC100/4Taxotère durant 21 semaines (n=6).

Fragments et densité folliculaire obtenus chez les femmes préservées

n = 30	Moyenne ± Ecart type	Médiane (Min - Max)
Age (ans)	29,6 ± 4	31 (23 – 35)
AMH T0 (pmol/l)	26 ± 20	23 (8,4 – 102)
CFA T0	23 ± 15	21 (3 – 65)
Nombre de fragments	13 ± 5	12 (4 – 27)
Densité folliculaire (follicules/mm ²)	2,1 ± 2	1,5 (0,1 – 3,7)

Tableau 1. Moyenne, écart type et médiane de l'âge, de l'AMH à T0, du CFA à T0, des fragments et de la densité folliculaire. Paramètres utilisés pour l'étude de corrélation.

Le nombre moyen de fragments était de 13 (± 5) et la densité folliculaire de $2,5 \pm 2$ follicules/mm². Concernant le nombre de fragments aucune corrélation n'a été retrouvée avec l'AMH de base, l'IMC et le CFA initial. Une tendance existait concernant l'âge mais était non significative ($p = 0,06$)

Une faible corrélation existait entre l'âge, l'AMH et le CFA initiaux et la densité folliculaire mais non significative (avec respectivement $p = 0,1$, $p = 0,3$ et $p = 0,3$). Aucune corrélation n'a été retrouvée avec l'IMC.

Caractéristiques des femmes préservées vs non-préservées :

	Préservées n= 30	Non préservées n= 30	p
Age (ans)	31 ± 3, 9 [27-32]	31,5 ± 3,2 [28-34]	0,1069
IMC (kg/m ²)	25 ± 5,3 [22- 28]	23,9 ± 8,7 [21-28]	0,7717
Tabac	4 (17%)	5 (25%)	0,7109
AMH 0 (pmol/l)	22,7 ± 23 [14-38]	22,8± 21 [12-30]	0,6065
FSH 0 (UI/l)	3,55 ±3 [2,7- 5]	4,30 ± 1,8 [3-5]	0,3925
CFA 0	23 ± 15 [14-29]	25 ± 12 [15-32]	0,6046
Cycles réguliers	19 (70%)	23 (76%)	0,5899
COP	19 (70,4%)	16 (53,3%)	0,1871
Parité antérieure	16 (53%)	9 (30%)	
RH positif	13 (54%)	11 (38%)	0,2372

Tableau 2. Tableau descriptif de la population étudiée.

Age, IMC, AMH 0, FSH 0 exprimés en médiane ± Ecart type [1^{er} quartile – 3^{ème} quartile]

CFA 0 exprimé en moyenne ± Ecart type [1^{er} quartile – 3^{ème} quartile]

Le tableau 2 résume les caractéristiques clinico-biologiques des femmes.

Les deux groupes étaient comparables concernant l'âge, l'IMC, le tabac, l'AMH à T0, FSH à T0, le CFA à T0, le statut hormonal de la tumeur, la régularité des cycles initiaux avant chimiothérapie, la prise d'une contraception hormonale dans les trois mois précédent le bilan de réserve ovarienne.

La parité était plus élevée dans le groupe non préservé, 53% des femmes (n=16) avaient déjà un enfant contre 30% dans le groupe préservé (n= 9).

La mutation BRCA 1 a été retrouvée chez neuf femmes dont deux préservées et sept non préservées. La mutation BRCA 2 a été identifiée pour deux femmes dans le groupe non préservé mais n'était présente chez aucune des femmes dans le groupe préservé. Elles n'ont pas toutes souhaité le dépistage génétique, et certains résultats étaient toujours en cours lors de notre étude concernant la recherche de ces mutations, c'est pourquoi l'incidence de femmes mutées dans nos groupes n'a pu être déterminée.

Évolution de la fonction menstruelle au cours du suivi :

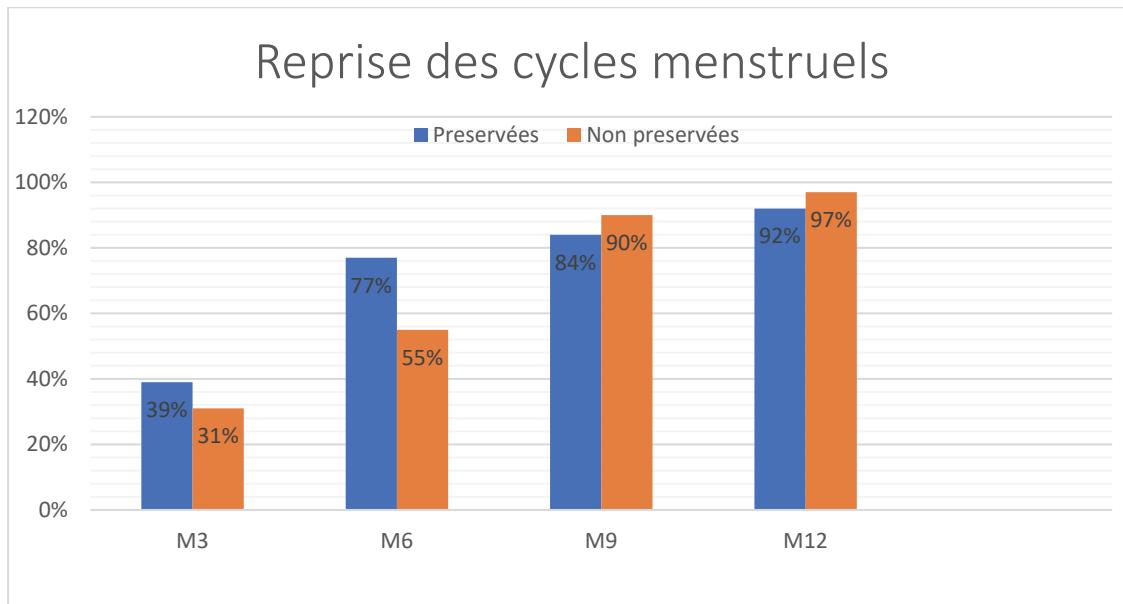
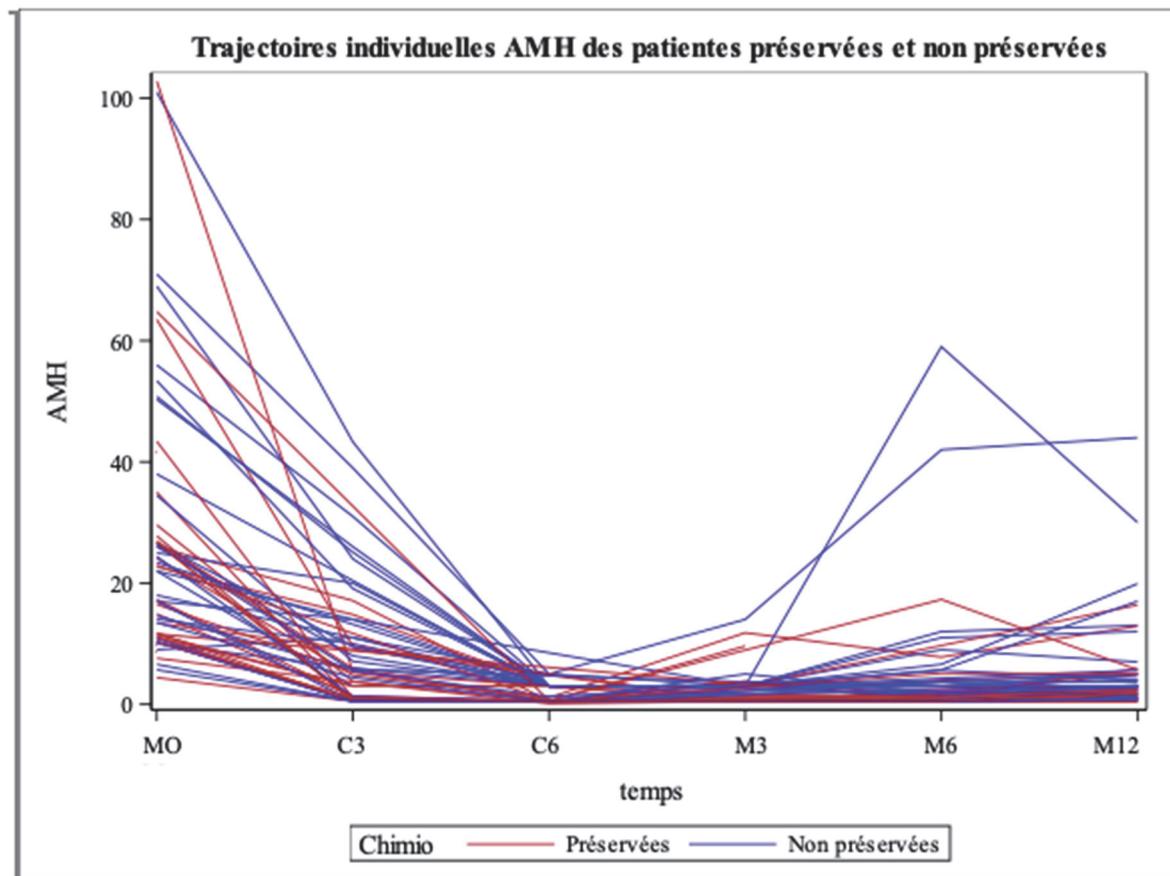


Figure 3. Évaluation de la fonction menstruelle aux différents temps du suivi.

A six mois post chimiothérapie, plus de la moitié des femmes dans le groupe préservé et non préservé avait retrouvé un cycle menstruel (77% dans le groupe préservé et 55% dans le groupe non préservé).

A douze mois, 8% des femmes dans le groupe préservé contre 3% des femmes dans le groupe non préservé étaient en aménorrhée (différence non significative avec $p = 0,3$).

Évolution de l'AMH au cours du temps :



Évolution comparative de l'AMH entre le groupe préservé et non préservé :

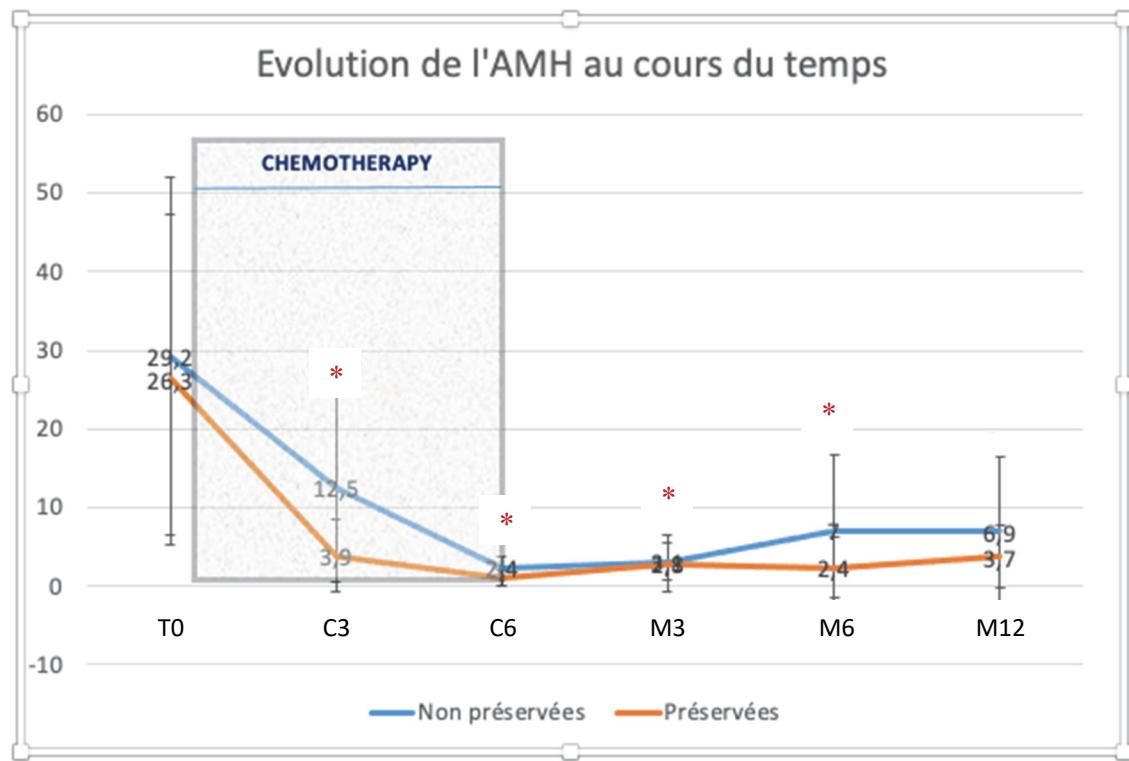


Figure 5. Évolution comparative des valeurs d'AMH au cours du temps dans le groupe préservé et non préservé.

* significatif (selon le modèle covariance pattern non structuré)

Dans chacun des groupes, préservé ou non préservé, on a observé une chute drastique de l'AMH entre le temps avant la chimiothérapie (T0) et le temps à la fin de la chimiothérapie (temps C6) (-2,5 log d'AMH (IC95%, -2,8 à -2,2) pour les femmes non préservées, et -3,4 log d'AMH (IC95%, -3,8 à -3,1) pour les femmes préservées). Cette chute était significativement plus importante chez les femmes préservées que chez les femmes non préservées ($p<0,001$).

On a ensuite observé pour les deux groupes une ré-ascension partielle et lente de la fin de la chimiothérapie jusqu'à un an après la fin de celle-ci. En effet, à 12 mois post chimiothérapie, les femmes n'avaient pas retrouvé leur taux d'AMH initial, il persistait une différence significative entre le temps T0 et le temps M12 : -1,8 log d'AMH (IC95%, -2,1 à -1,4) chez les femmes non préservées, et -2,2 log d'AMH (IC95%, -2,6 à -1,8) chez les femmes préservées (comparaison des pentes entre les 2 groupes : $p=0,12$).

Néanmoins, les femmes non préservées atteignaient des valeurs d'AMH significativement plus élevées que celles observées à la fin de la chimiothérapie au bout de six mois post chimiothérapie (+0,7 log d'AMH (IC95%, +0,3 à +1,0) et cela perdurait à douze mois post chimiothérapie (+0,7 log d'AMH (IC95%, +0,4 à +1,1). Tandis que les femmes préservées, récupéraient dès 3 mois post chimiothérapie des valeurs d'AMH significativement plus élevées que celles observées en fin de chimiothérapie (+0,8 log d'AMH (IC95%, +0,3 à +1,2) à 3 mois, +0,8 log d'AMH (IC95%, +0,4 à +1,3) à 6 mois, +1,3 log d'AMH (IC95%, +0,8 à +1,7) à 12 mois). Cependant les pentes de récupération à partir de la fin de la chimiothérapie n'étaient pas significativement différentes entre les 2 groupes (p=0,11 à 3 mois, p=0,66 à 6 mois, p=0,067 à 12 mois).

Nous avons donc distingué deux phases : une phase de déplétion du temps T0 jusqu'au temps C6, puis une phase de récupération du temps C6 au temps M12, illustrées par la figure 5.

Les valeurs d'AMH n'étaient significativement pas différentes entre les deux groupes ni initialement (p=0,58), ni à 12 mois post chimiothérapie (p=0,061). Mais elles étaient significativement plus basses dans le groupe préservé durant la chimiothérapie (C2 et C6) et à 3 mois et 6 mois post chimiothérapie (Tableau 3).

	Groupe Préservé	Groupe non préservé	<i>p</i>
AMH 0	22,8 [11,5 – 29,6] 3,0 ± 0,7	22,7 [13,5 – 38,0] 3,1 ± 0,7	0,58
AMH C2	2,2 [0,6 – 5,3] 0,7 ± 1,2	9,5 [3,0 – 20,0] 1,8 ± 1,5	0,0017
AMH C6	0,5 [0,5 – 0,6] -0,4 ± 0,8	3,0 [0,6 – 3,0] 0,6 ± 0,9	<0,001
AMH M3	1,0 [0,5 – 3,8] 0,3 ± 1,2	3,0 [3,0 – 3,0] 0,9 ± 0,7	0,0125
AMH M6	0,8 [0,5 – 2,0] 0,2 ± 1,1	3,0 [3,0 – 5,6] 1,3 ± 1,0	0,0014
AMH M12	2,3 [1,1 – 5,0] 0,8 ± 1,0	3,0 [2,3 – 5,6] 1,4 ± 1,0	0,0606

Tableau 3. Comparaison des valeurs de l'AMH entre le groupe préservé et non préservé au temps T0, C2, C6, M3, M6 et M12.

Les valeurs d'AMH sont exprimées en termes de Médiane [1^{er} Quartile – 3^{ème} Quartile]. Elles sont également exprimées en termes de moyenne ± écart-type après une transformation en log (log d'AMH).

Devenir concernant les grossesses :

Sept femmes dans le groupe non préservé ont obtenu des grossesses spontanées, dont six naissances vivantes. Une femme a présenté une fausse couche spontanée précoce.

Trois femmes dans le groupe préservé ont également obtenu des grossesses spontanées dont quatre naissances vivantes (une femme ayant eu deux grossesses spontanées).

A ce jour nous ne pouvons préciser le nombre de femmes ayant un projet de grossesse. Le suivi à long terme de ces femmes sur cette thématique fait l'objet d'une prochaine étude KSF2.

Aucune indication médicale a nécessité la greffe de tissu ovarien chez les femmes préservées.

DISCUSSION

Cette étude confirme dans la population totale, préservée et non préservée, que l'AMH est un marqueur en temps réel de la déplétion et de la récupération ovarienne [9] et que la perte folliculaire induite par le protocole FEC-Taxanes est profonde, les valeurs d'AMH douze mois après la fin de la chimiothérapie restant significativement plus basses que les valeurs initiales avant la chimiothérapie, signant une phase de récupération très partielle. De plus, 68% de femmes gardent une courbe plate lors de la phase dite de récupération avec des valeurs d'AMH restant indétectables ou ultra basses.

Ces résultats confirment ceux d'autres études menées sur l'impact négatif de la chimiothérapie sur la réserve ovarienne et notamment les valeurs d'AMH dans le cancer du sein et le lymphome notamment [9] [11] [27]. Ces phases de déplétion et de récupération folliculaires s'observent dans de nombreuses études menées sur des femmes présentant des cancer du sein ou des lymphomes traitées par chimiothérapie [9] [27][28][29]. Nous avons pu montrer une phase de déplétion folliculaire plus marquée avec des valeurs d'AMH significativement plus basses à chacun des temps de suivi pendant la chimiothérapie chez les femmes ayant bénéficié de larges biopsies ovarianes. Bien que les valeurs d'AMH initiales entre le groupe préservé et non préservé n'étaient pas différentes, il faut préciser que l'AMH n'a pas été mesurée après le geste chirurgical introduisant possiblement un biais dans l'interprétation de la courbe de déplétion. Il n'est en effet pas exclu que la biopsie de cortex ovarien ait eu un impact négatif immédiat sur le taux d'AMH comme décrit lors de la réalisation de kystectomies ovarianes [30].

Concernant la phase de récupération, nous avons montré une récupération partielle mais significative avec une AMH à douze mois après la fin de la chimiothérapie qui n'était plus significativement différente entre les deux groupes. La perte folliculaire durant la chimiothérapie ne semble donc pas être plus importante dans le groupe préservé mais ce résultat doit être confirmé sur des échantillons plus large et une durée de suivi plus grande. A notre connaissance il n'existe pas d'études dans la littérature portant sur l'évolution longitudinale de l'AMH pendant et après chimiothérapie chez les femmes ayant bénéficié d'ovariectomie pour CTO.

Concernant la reprise des cycles menstruels, notre étude n'a pas montré de différence entre les deux groupes, avec une récupération des cycles entre six et douze mois, malgré des valeurs d'AMH basses voire indétectables, pour la quasi-totalité des femmes, résultat comparable concernant ce délai avec les données de la littérature [31][32]. De plus il a été largement démontré qu'une récupération de la fonction menstruelle est possible avec une valeur basse d'AMH, qui n'est donc pas prédictive du délai de grossesse dans la population générale [33][34]. Dans notre étude, sept femmes ont obtenu une grossesse spontanée avec une AMH à douze mois post chimiothérapie inférieure à 3 pmol/l, dont deux dans le groupe préservé et cinq

dans le groupe non préservé. Des valeurs d'AMH basse n'empêche pas une fertilité spontanée mais entraîne une réduction de la fenêtre de conception, puisqu'un taux d'AMH bas serait prédicteur de la survenue d'une ménopause plus jeune [35][36]. Cette avancée de l'âge de la ménopause serait d'autant plus pénalisante pour les femmes présentant des récepteurs hormonaux et devant bénéficier d'une hormonothérapie durant plusieurs années.

Concernant le groupe préservé, le poids, l'âge et la réserve ovarienne initiale n'influençaient pas significativement le nombre de fragments ovariens et la densité folliculaire rapportés par les examens histologiques. Néanmoins, l'on notait une tendance concernant l'âge sur le nombre de fragments, ainsi qu'une tendance de l'âge et de la réserve ovarienne initiale sur la densité folliculaire. Schmidt et al. rapportaient une corrélation significative de l'âge sur la densité folliculaire qui évoluaient de façon inverse [37]. Mais ces résultats restent difficilement interprétables en raison du caractère aléatoire du fragment envoyé à l'analyse anatomo-pathologique qui peut ne pas être représentatif de la réelle densité folliculaire du cortex prélevé. L'épaisseur de la biopsie était identique à celle recommandée dans la littérature afin de prélever un nombre suffisant de follicules primordiaux [23][38], la densité folliculaire retrouvée dans notre étude ($2,5 \pm 2$ follicules/mm²) était comparable aux résultats d'autres auteurs [39][40], et le nombre de fragments obtenus (13 ± 5) suffisant pour envisager une greffe ultérieure dans le but d'une récupération de la fonction ovarienne et l'obtention d'une grossesse future [23][41]. En effet le groupe DATOR retrouvaient un taux de grossesse de 44% (11 femmes sur 25) après la greffe d'en moyenne 12 fragments ovariens de 0,5 cm² chez des femmes ayant bénéficié d'une PF par CTO essentiellement dans un contexte de cancer [23]. Concernant la densité folliculaire Poirot et al. retrouvaient un délai de récupération de la fonction ovarienne plus court lorsque la densité folliculaire était supérieure à 0,3 follicules/mm² (4,4 mois contre 6 mois si densité folliculaire inférieure à 0,3 follicules/mm² avec $p = 0,03$) chez des femmes ayant bénéficié d'une PF par CTO avant chimiothérapie.

Dans cette même étude la greffe de plus de 16 fragments étaient associée à une récupération ovarienne plus rapide (4,4 mois contre 5,9 mois si moins de 16 fragments greffés) [40].

Cependant il a été démontré que la densité folliculaire au sein d'un même ovaire peut varier considérablement d'un fragment à un autre et son analyse sur un seul fragment n'est pas représentative de la quantité folliculaire réelle de l'ovaire prélevé [37].

L'acceptabilité de la cœlioscopie en vue de biopsies ovarien pour CTO nous est apparue moins importante que la proposition de vitrification ovocytaire (VO) dans les situations où cette technique s'avérait être possible (situation adjuvante). En effet dans une récente étude menée dans le centre auprès de 84 femmes jeunes présentant un cancer du sein en situation adjuvante, 70% acceptaient la VO comparativement à 44 % pour le prélèvement ovarien [29]. Les refus

étaient motivés par l'existence d'une parité antérieure, ou la lourdeur du geste chirurgical par cœlioscopie [42].

La technique de CTO est toujours considérée comme expérimentale à ce jour, dues aux faibles données dans la littérature concernant l'efficacité sur le taux de naissances vivantes obtenues et le risque de réintroduction de la maladie lors de la greffe. Des cas de récidive de cancer du sein après transplantation de tissu ovarien sont rapportés dans la littérature mais à ce jour aucune preuve ne suggère que la greffe de tissu ovarien serait responsable de ces récidives, à la différence de celles observées chez des femmes présentant des leucémies lymphoblastiques [13][43][44]. Les techniques de vitrification embryonnaire et ovocytaire ne sont plus considérées comme expérimentales depuis 2012 pour la PF dans un contexte de cancer du sein [6][13] [45]. Un nombre minimal de 8 à 10 ovocytes serait nécessaires afin d'obtenir un taux de naissances vivantes entre 32 et 43% qui est considéré comme un taux de réussite raisonnable [24]. Concernant la cryoconservation d'embryon, technique la plus souvent utilisée chez les femmes en couple [46], entre 9 et 13 ovocytes matures seraient nécessaires à l'obtention d'un embryon de bonne qualité éligible au transfert, estimation variable selon l'âge de la femme [47]. Avec un taux de réutilisation des ovocytes ou des embryons congelés de 6 à 25% selon les auteurs, on retrouve dans la littérature un taux de grossesses cliniques et de naissances vivantes par transfert de respectivement 65% et 45% [31][48].

Dans les études, ces techniques de PF n'entraînaient pas de modification de la survie à 5 ans de ces femmes et le nombre de malformations congénitales retrouvées chez les enfants nés d'une VO était comparable à celui retrouvé chez les enfants issus de grossesses spontanées [49][50]. Mais ces techniques ne sont pas toujours réalisables notamment lorsqu'une chimiothérapie doit être débutée très rapidement. Il s'agit d'une des indications de la CTO [51]. Bien qu'encore considérée actuellement comme expérimentale, une récente étude dirigée par Diaz-Garcia en 2018 menée sur 1824 femmes dont 1024 VO et 800 CTO dans le cadre de la PF pour cancer, majoritairement des cancers du sein, a comparé les taux de naissances vivantes obtenues par ces deux techniques. Il n'existe pas de différence significative entre ces deux techniques. Quarante-quatre femmes dans un délai de 5,5 ans après la congélation du tissu ovarien ont demandé à réutiliser leur prélèvement afin d'obtenir une grossesse, avec un délai moyen de reprise de la fonction ovarienne de 94,3 jours post greffe. Sept grossesses spontanées et huit obtenues par Fécondation In Vitro ont été observées soit 46,7% de conception naturelle, mais aucune grossesse au-delà de 36 ans [52]. En effet, aucune grossesse n'ayant été obtenue au-delà de 36 ans dans la littérature, les recommandations actuelles préconisent de ne pas proposer cette technique de PF aux femmes âgées de plus de 36 ans [14] [43].

Concernant la greffe, la durée du greffon retrouvée dans la littérature varie d'un à dix ans et la récupération d'une fonction ovarienne est obtenue entre deux et huit mois suivant la greffe,

selon les auteurs [43] [53]. La première naissance après greffe de tissu ovarien a été obtenue en 2004 [54]. Une récente revue de la littérature rapporte cent trente – une grossesses dans le monde chez quatre-vingt-quinze femmes, dont quatre-vingt- sept naissances vivantes (quatre-vingt-une grossesses simples et six grossesses gémellaires). 51% des grossesses ont été obtenues spontanément. La transplantation de tissu ovarien a été réalisée dans vingt-un pays différents avec un total de trois-cent soixante procédures de transplantation signalées chez trois cent dix-huit femmes (trente-neuf femmes ont bénéficié de deux transplantations et trois femmes de trois transplantations) dont deux cent trente avaient bénéficié d'une PF par CTO pour cancer. La grande majorité des naissances vivantes ont été obtenues après une greffe orthotopique ou combiné hétérotopique / orthotopique.[43].

L'état de santé et les données périnatales des enfants nés après greffe de tissu ovarien étaient similaires à ceux d'enfants nés de grossesses normales [55]. A ces grossesse peuvent être également ajoutées celle rapportées par l'étude DATOR publiée en 2019 qui observe un taux de grossesses de 44% (11/25) dont 10 naissances vivantes [23].

Concernant les femmes présentant une mutation BRCA 1 ou 2 les recommandations actuelles préconisent en première intention de réaliser une PF par VO, mais la CTO peut également être proposée en seconde intention [51]. On rapporte une naissance vivante obtenue après transplantation de tissu ovarien chez une femme porteuse d'une mutation BRCA 2. La position hétérotopique semble être préférable pour la surveillance même si le taux de succès est inférieur à celui obtenu en position orthotopique [55] [56].

Notre étude présente des limites par son faible effectif et sa faible durée de suivi en post chimiothérapie, mais il s'agit d'une étude préliminaire qui nécessite la poursuite du suivi des femmes actuellement intégrées dans l'observatoire de la fertilité ainsi que l'inclusion de nouvelles femmes.

Concernant les forces de notre étude, il s'agit de la première étude à notre connaissance qui rapporte un suivi très fin de l'AMH et des cycles menstruels pendant et après la chimiothérapie chez des femmes ayant bénéficié d'une PF par CTO, et comparé à un groupe témoin, non préservé, apparié sur l'âge avec les mêmes caractéristiques cliniques et oncologiques et ayant bénéficié du même protocole de chimiothérapie.

Notre étude nous permet de démontrer l'absence d'impact négatif de cette technique de PF sur la réserve ovarienne car les femmes préservées récupèrent une valeur d'AMH douze mois après la fin de la chimiothérapie plus élevée que celle en fin de chimiothérapie, et non significativement différente de celles des femmes non préservées à ce même temps. Mais il s'agit de résultats préliminaires, un suivi plus long dans le temps s'avère nécessaire pour confirmer ces premières données.

CONCLUSION

Ces résultats préliminaires semblent montrer que l'hémi-cortectomie par de larges biopsies ovariennes en vue d'une PF n'est pas délétère sur la récupération des cycles menstruels et sur les valeurs d'AMH douze mois après la fin de la chimiothérapie. Le nombre de fragments est compatible avec les chances de restauration de la fonction ovarienne mais également de grossesse ultérieure si la greffe s'avère nécessaire et possible. La CTO ne retarde pas la chimiothérapie, ne nécessite pas de stimulation ovarienne et permet une restauration de la fonction endocrinienne par rapport à la VO, mais reste expérimentale et possible uniquement dans des centres spécialisés en onco-fertilité. Il est nécessaire de poursuivre le suivi à plus long terme et d'inclure davantage de femmes afin de pouvoir déterminer quelle est la meilleure stratégie à leur proposer dans le cadre de la préservation de la fertilité.

BIBLIOGRAPHIE

1. McCray DKS, Simpson AB, Flyckt R, Liu Y, O'Rourke C, Crowe JP, et al. Fertility in Women of Reproductive Age After Breast Cancer Treatment: Practice Patterns and Outcomes. *Ann Surg Oncol.* 2016 Oct;23(10):3175–81.
2. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians.* 2018 Nov;68(6):394–424.
3. Lanta Q, Arveux P, Asselain B. [Epidemiology and socio-cultural specificities of young women with breast cancer]. *Bulletin Du Cancer.* 2019 Dec;106(12S1):S4–9.
4. Jegaden M, Bouhnik A-D, Préau M, Bendiane M-K, Peretti-Watel P, Mancini J, et al. Fertility status perception, fertility preservation and desire to have children in cancer survivors: French VICAN survey. *Future Sci OA.* 2018 Oct;4(10). DOI: 10.4155/fsoa-2018-0018
5. Bouhnik A-D, Bendiane M-K, Cortaredona S, Sagaon Teyssier L, Rey D, Berenger C, et al. The labour market, psychosocial outcomes and health conditions in cancer survivors: protocol for a nationwide longitudinal survey 2 and 5 years after cancer diagnosis (the VICAN survey). *BMJ Open.* 2015 Mar;5(3). DOI: 10.1136/bmjopen-2014-005971
6. Loren AW, Mangu PB, Beck LN, Brennan L, Magdalinski AJ, Partridge AH, et al. Fertility Preservation for Patients With Cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline Update. *J Clin Oncol.* 2013 Jul;31(19):2500–10.
7. Dewailly D, Andersen CY, Balen A, Broekmans F, Dilaver N, Fanchin R, et al. The physiology and clinical utility of anti-Müllerian hormone in women. *Human Reproduction Update.* 2014 May;20(3):370–85.
8. Kelsey TW, Anderson RA, Wright P, Nelson SM, Wallace WHB. Data-driven assessment of the human ovarian reserve. *Molecular Human Reproduction.* 2012 Feb;18(2):79–87.
9. 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.* 2014 Mar;12:26.
10. Dezellus A, Barriere P, Campone M, Lemanski C, Vanlemmehens L, Mignot L, et al. Prospective evaluation of serum anti-Müllerian hormone dynamics in 250 women of reproductive age treated with chemotherapy for breast cancer. *European Journal of Cancer.* 2017 Jul;79:72–80.
11. Anderson RA, Mansi J, Coleman RE, Adamson DJA, Leonard RCF. The utility of anti-Müllerian hormone in the diagnosis and prediction of loss of ovarian function following chemotherapy for early breast cancer. *European Journal of Cancer.* 2017 Dec;87:58–64.
12. Azim HA, Santoro L, Pavlidis N, Gelber S, Kroman N, Azim H, et al. Safety of pregnancy following breast cancer diagnosis: A meta-analysis of 14 studies. *European Journal of Cancer.* 2011 Jan;47(1):74–83.

13. Oktay K, Harvey BE, Partridge AH, Quinn GP, Reinecke J, Taylor HS, et al. Fertility Preservation in Patients With Cancer: ASCO Clinical Practice Guideline Update. *J Clin Oncol.* 2018;36(19):1994–2001.
14. Anderson RA, Amant F, Braat D, D’Angelo A, Chuva de Sousa Lopes SM, Demeestere I, et al. ESHRE guideline: female fertility preservation†. *Hum Reprod Open.* 2020 Nov;2020(4). DOI: 10.1093/hropen/hoaa052
15. Oktay K, Hourvitz A, Sahin G, Oktem O, Safro B, Cil A, et al. Letrozole reduces estrogen and gonadotropin exposure in women with breast cancer undergoing ovarian stimulation before chemotherapy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006 Oct;91(10):3885–90.
16. D’Hondt C, Vanhoeij M, Van Moer E, Segers I, Fontaine C, Tournaye H, et al. Fertility preservation does not delay the initiation of chemotherapy in breast cancer patients treated with adjuvant or neo-adjuvant chemotherapy. *Breast Cancer Res Treat.* 2020 Nov;184(2):433–44.
17. Kim J, Turan V, Oktay K. Long-Term Safety of Letrozole and Gonadotropin Stimulation for Fertility Preservation in Women With Breast Cancer. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016;101(4):1364–71.
18. Cavagna F, Pontes A, Cavagna M, Dzik A, Donadio NF, Portela R, et al. A specific controlled ovarian stimulation (COS) protocol for fertility preservation in women with breast cancer undergoing neoadjuvant chemotherapy. *Contemp Oncol (Pozn).* 2017;21(4):290–4.
19. Grynberg M, Bras AML, Hesters L, Gallot V, Frydman N. First birth achieved after fertility preservation using vitrification of in vitro matured oocytes in a woman with breast cancer. *Annals of Oncology.* 2020 Apr;31(4):541–2.
20. Creux H, Monnier P, Son W-Y, Buckett W. Thirteen years’ experience in fertility preservation for cancer patients after in vitro fertilization and in vitro maturation treatments. *J Assist Reprod Genet.* 2018 Apr;35(4):583–92.
21. Sermondade N, Grynberg M, Comtet M, Valdelievre C, Sifer C, Sonigo C. Double-in vitro maturation increases the number of vitrified oocytes available for fertility preservation when ovarian stimulation is unfeasible. *Sci Rep.* 2020 Oct;10. DOI: 10.1038/s41598-020-75699-x
22. Huang JYJ, Tulandi T, Holzer H, Tan SL, Chian R-C. Combining ovarian tissue cryobanking with retrieval of immature oocytes followed by in vitro maturation and vitrification: an additional strategy of fertility preservation. *Fertility and Sterility.* 2008 Mar;89(3):567–72.
23. Pretalli J-B, Frontczak Franck S, Pazart L, Roux C, Amiot C. Development of Ovarian Tissue Autograft to Restore Ovarian Function: Protocol for a French Multicenter Cohort Study. *JMIR Res Protoc.* 2019 Sep;8(9). DOI: 10.2196/12944

24. Cobo A, García-Velasco J, Domingo J, Pellicer A, Remohí J. Elective and Onco-fertility preservation: factors related to IVF outcomes. *Hum Reprod.* 2018 Dec;33(12):2222–31.
25. Pouypoudat L, Vinatier D, Keller L, Decanter C, Leroy-Martin B, Piver P, et al. Autotransplantation de tissu ovarien cryoconservé : première expérience au CHU de Lille. *Gynécologie Obstétrique Fertilité & Sénologie.* 2019 Sep;47(9):704–5.
26. Aubard Y, Poirot C, Piver P. La congélation du tissu ovarien. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité.* 2002 May;30(5):358–66.
27. Decanter C, Morschhauser F, Pigny P, Lefebvre C, Gallo C, Dewailly D. Anti-Müllerian hormone follow-up in young women treated by chemotherapy for lymphoma: preliminary results. *Reproductive BioMedicine Online.* 2010 Feb;20(2):280–5.
28. Anderson RA, Themmen APN, -Qahtani AA, Groome NP, Cameron DA. The effects of chemotherapy and long-term gonadotrophin suppression on the ovarian reserve in premenopausal women with breast cancer. *Human Reproduction.* 2006 Oct;21(10):2583–92.
29. Mailliez A, Pigny P, Bogart E, Keller L, D'orazio E, Vanseymortier M, Le deley MC, Decanter C, Is the ovarian recovery after chemotherapy in young early breast cancer (EBC) patients influenced by controlled ovarian hyperstimulation for fertility preservation or tumor characteristics. Results of a prospective study in 131 patients. *European Journal of Cancer -Submitted*
30. Alammari R, Lightfoot M, Hur H-C. Impact of Cystectomy on Ovarian Reserve: Review of the Literature. *Journal of Minimally Invasive Gynecology.* 2017 Feb;24(2):247–57.
31. Vriens IJH, ter Welle-Butalid EM, de Boer M, de Die-Smulders CEM, Derhaag JG, Geurts SME, et al. Preserving fertility in young women undergoing chemotherapy for early breast cancer; the Maastricht experience. *Breast Cancer Res Treat.* 2020;181(1):77–86.
32. Jacobson MH, Mertens AC, Spencer JB, Manatunga AK, Howards PP. Menses resumption after cancer treatment-induced amenorrhea occurs early or not at all. *Fertil Steril.* 2016 Mar;105(3):765-772.e4.
33. Hagen CP, Vestergaard S, Juul A, Skakkebæk NE, Andersson A-M, Main KM, et al. Low concentration of circulating antimüllerian hormone is not predictive of reduced fecundability in young healthy women: a prospective cohort study. *Fertility and Sterility.* 2012 Dec;98(6):1602-1608.e2.
34. Steiner AZ, Pritchard D, Stanczyk FZ, Kesner JS, Meadows JW, Herring AH, et al. Association Between Biomarkers of Ovarian Reserve and Infertility Among Older Reproductive Age Women. *JAMA.* 2017 Oct;318(14):1367–76.
35. Depmann M, Eijkemans MJC, Broer SL, Tehrani FR, Solaymani-Dodaran M, Azizi F, et al. Does AMH Relate to Timing of Menopause? Results of an Individual Patient Data Meta-Analysis. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* 2018 Oct;103(10):3593–600.

36. Finkelstein JS, Lee H, Karlamangla A, Neer RM, Sluss PM, Burnett-Bowie S-AM, et al. Antimüllerian Hormone and Impending Menopause in Late Reproductive Age: The Study of Women's Health Across the Nation. *J Clin Endocrinol Metab*. 2020 Jan;105(4):e1862–71.
37. Schmidt KLT, Byskov AG, Nyboe Andersen A, Müller J, Yding Andersen C. Density and distribution of primordial follicles in single pieces of cortex from 21 patients and in individual pieces of cortex from three entire human ovaries. *Human Reproduction*. 2003 Jun;18(6):1158–64.
38. Donnez J, Dolmans M-M, Pellicer A, Diaz-Garcia C, Serrano MS, Schmidt KT, et al. Restoration of ovarian activity and pregnancy after transplantation of cryopreserved ovarian tissue: a review of 60 cases of reimplantation. *Fertility and Sterility*. 2013 May;99(6):1503–13.
39. Oktem O, Alper E, Balaban B, Palaoglu E, Peker K, Karakaya C, et al. Vitrified human ovaries have fewer primordial follicles and produce less antimüllerian hormone than slow-frozen ovaries. *Fertility and Sterility*. 2011 Jun;95(8):2661–2664.e1.
40. Poirot C, Fortin A, Lacorte JM, Akakpo JP, Genestie C, Vernant JP, et al. Impact of cancer chemotherapy before ovarian cortex cryopreservation on ovarian tissue transplantation. *Human Reproduction*. 2019 Jun;34(6):1083–94.
41. Andersen CY, Rosendahl M, Byskov AG, Loft A, Ottosen C, Dueholm M, et al. Two successful pregnancies following autotransplantation of frozen/thawed ovarian tissue. *Human Reproduction*. 2008 Oct;23(10):2266–72.
42. Chapron C, Pierre F, Querleu D, Dubuisson JB. Complications de la cœlioscopie en gynécologie. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*. 2001 Sep;29(9):605–12.
43. Gellert SE, Pors SE, Kristensen SG, Bay-Bjørn AM, Ernst E, Yding Andersen C. Transplantation of frozen-thawed ovarian tissue: an update on worldwide activity published in peer-reviewed papers and on the Danish cohort. *J Assist Reprod Genet*. 2018 Apr;35(4):561–70.
44. Dolmans M-M, Marinescu C, Saussoy P, Van Langendonck A, Amorim C, Donnez J. Reimplantation of cryopreserved ovarian tissue from patients with acute lymphoblastic leukemia is potentially unsafe. *Blood*. 2010 Oct;116(16):2908–14.
45. Sciorio R, Anderson RA. Fertility preservation and preimplantation genetic assessment for women with breast cancer. *Cryobiology*. 2020 Feb;92:1–8.
46. Kim J, Oktay K, Gracia C, Lee S, Morse C, Mersereau JE. Which Patients Pursue Fertility Preservation Treatments? A Multi-Center Analysis of the Predictors of Fertility Preservation in Women with Breast Cancer. *Fertil Steril*. 2012 Mar;97(3):671–6.
47. Esteves SC, Carvalho JF, Bento FC, Santos J. A Novel Predictive Model to Estimate the Number of Mature Oocytes Required for Obtaining at Least One Euploid Blastocyst for Transfer in Couples Undergoing in vitro Fertilization/Intracytoplasmic Sperm Injection: The ART Calculator. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019 Feb;10. DOI: 10.3389/fendo.2019.00099

48. Oktay K, Turan V, Bedoschi G, Pacheco FS, Moy F. Fertility Preservation Success Subsequent to Concurrent Aromatase Inhibitor Treatment and Ovarian Stimulation in Women With Breast Cancer. *J Clin Oncol*. 2015 Aug;33(22):2424–9.
49. Cobo A, Serra V, Garrido N, Olmo I, Pellicer A, Remohí J. Obstetric and perinatal outcome of babies born from vitrified oocytes. *Fertility and Sterility*. 2014 Oct;102(4):1006–1015.e4.
50. Muñoz E, Domingo J, De Castro G, Lorenzo I, García-Velasco JA, Bellver J, et al. Ovarian stimulation for oocyte vitrification does not modify disease-free survival and overall survival rates in patients with early breast cancer. *Reproductive BioMedicine Online*. 2019 Nov;39(5):860–7.
51. Schüring AN, Fehm T, Behringer K, Goeckenjan M, Wimberger P, Henes M, et al. Practical recommendations for fertility preservation in women by the FertiPROTEKT network. Part I: Indications for fertility preservation. *Arch Gynecol Obstet*. 2018 Jan;297(1):241–55.
52. Diaz-Garcia C, Domingo J, Garcia-Velasco JA, Herraiz S, Mirabet V, Iniesta I, et al. Oocyte vitrification versus ovarian cortex transplantation in fertility preservation for adult women undergoing gonadotoxic treatments: a prospective cohort study. *Fertility and Sterility*. 2018 Mar;109(3):478–485.e2.
53. Donnez J, Martinez-Madrid B, Jadoul P, Van Langendonck A, Dembylle D, Dolmans M-M. Ovarian tissue cryopreservation and transplantation: a review. *Human Reproduction Update*. 2006 Sep;12(5):519–35.
54. Donnez J, Dolmans M, Dembylle D, Jadoul P, Pirard C, Squifflet J, et al. Livebirth after orthotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. *The Lancet*. 2004 Oct;364(9443):1405–10.
55. Jensen AK, Macklon KT, Fedder J, Ernst E, Humaidan P, Andersen CY. 86 successful births and 9 ongoing pregnancies worldwide in women transplanted with frozen-thawed ovarian tissue: focus on birth and perinatal outcome in 40 of these children. *J Assist Reprod Genet*. 2017 Mar;34(3):325–36.
56. Grynberg M, Raad J, Comtet M, Vinolas C, Cédrin-Durnerin I, Sonigo C. Fertility preservation in *BRCA* -mutated women: when and how? *Future Oncology*. 2018 Feb;14(5):483–90.

LISTE DES ABREVIATIONS

AMH :	Anti - Mullerian Hormone
ARS :	Agence Régionale de Santé
BRCA :	BReast CAncer : gène du cancer (1 et 2)
CHU :	Centre Hospitalier Universitaire
FEC :	Fluorouracile – Epirubicine – Cyclophosphamide
FSH :	Follicle Stimulating Hormone
IMC :	Indice de Masse Corporelle
TEP-TDM :	Tomographie par Emission de Positons - Tomodensitométrie

ANNEXES

CANCER & PRÉSÉRATION DE LA FERTILITÉ



"Elle va guérir puis voudra un enfant"

POUR PLUS D'INFORMATION FLASHEZ CE CODE

Parlez-en à votre médecin

CHU LILLE AMP AMP Jeanne de Flandre CHU AMIENS CECOS Oscar Lambret ONCO ars

Préservation Fertilité de la femme



- Avant tout traitement gonadotoxique
- Age ≤ 39 ans
- Célibataire ou en couple
- Quel que soit le nombre d'enfants

Techniques envisageables :

- Conservation d'ovocytes
- Conservation du cortex ovarien

La consultation est réalisée par un médecin de la reproduction.

Vous n'avez rien à prescrire
Tous les examens sont réalisés sur place le jour de la consultation

CHU – Hôpital Jeanne de Flandre
Service d'assistance médicale à la procréation et de préservation de la fertilité

RENDEZ-VOUS FIXÉ DANS LES 24H-48H
03.20.44.68.97
03.20.44.66.43
Du lundi au vendredi de 9h00 à 17h00
emmanuelle.dorazio@chru-lille.fr

CHU LILLE AMP Jeanne de Flandre CECOS Oscar Lambret ONCO ars

Le Service d'assistance médicale à la procréation et de préservation de la fertilité de l'Hôpital Jeanne de Flandre (HJF) dépend de la Direction de la Recherche Clinique et de l'Innovation (DRCI) de l'Institut Pasteur de Lille (IPL) et de l'Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM). Il est dirigé par le Dr Jean-Pierre Mutter (HJF) et le Dr Jean-Pierre Gougeon (IPL). Il est labellisé par l'ARS Hauts-de-France.

Vous allez recevoir un traitement pouvant impacter votre fertilité. Selon la nature des traitements proposés (chimiothérapie, radiothérapie ou chirurgie) le risque sera plus ou moins élevé.

Votre oncologue a évalué ce risque et vous en a fait part. Ce document vient compléter les informations que l'on vous a déjà données.

AVANT LA MISE EN ROUTE DE VOTRE TRAITEMENT

Les techniques de préservation

1 La congélation d'ovocytes

Une stimulation ovarienne d'environ 12 jours est nécessaire afin de recueillir un nombre satisfaisant d'ovocytes. Un suivi par échographie sera réalisé pendant le traitement. Les ovocytes seront recueillis par voie transvaginale sous anesthésie. Ils seront ensuite congelés et stockés à votre nom au laboratoire de biologie de la reproduction.

Où ?

Ces deux techniques sont réalisées au service d'assistance médicale à la procréation et de préservation de la fertilité à l'Hôpital Jeanne de Flandre à Lille.

Si vous êtes mineure, il vous sera demandé d'être accompagnée par votre représentant légal.

Ces prélèvements sont pris en charge par la sécurité sociale sans avance de frais.

2 La congélation de tissu ovarien

Cette technique ne nécessite pas de stimulation préalable. Le prélèvement de tissu ovarien se fait par coelioscopie sous anesthésie générale. Il est ensuite stocké à votre nom au laboratoire de biologie de la reproduction.

PENDANT et APRÈS VOTRE TRAITEMENT

Chez l'enfant et l'adolescente

Une surveillance de la puberté et de la fonction ovarienne sera proposée.



Chez la femme

1 Pendant toute la durée du traitement et au-delà si nécessaire, une **contraception adaptée** est conseillée.

2 L'équipe médicale proposera **un suivi** de votre fonction ovarienne (prise de sang, échographie).

3 Le traitement peut parfois influencer **votre sexualité**. Si vous rencontrez des difficultés, n'hésitez pas à en parler à votre oncologue ou un autre professionnel de santé qui pourra vous renseigner.

4 Si vous ne parvenez pas à concevoir un enfant naturellement, vous pourrez demander **la réutilisation des ovocytes congelés ou de votre tissu ovarien**, en concertation avec votre oncologue référent et l'équipe de médecine de la reproduction. Les modalités pratiques vous seront expliquées.

5 Chaque année, le laboratoire de biologie de la reproduction vous demandera par courrier si vous souhaitez poursuivre **la conservation de vos ovocytes ou de votre tissu ovarien** (n'oubliez pas de les prévenir en cas de changement d'adresse).

SERMENT D'HIPPOCRATE

Au moment d'être admise à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité.

Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.

J'informerais les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences.

Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences.

Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admise dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçue à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les moeurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonorée et méprisée si j'y manque.

Introduction : La préservation de la fertilité (PF) constitue en enjeu majeur dans le plan personnalisé de soin chez les femmes jeunes atteintes d'un cancer du sein. Plus de la moitié d'entre elles auront un désir de grossesse dans les cinq ans suivant le diagnostic. Or les traitements reçus durant la chimiothérapie sont gonadotoxiques et entraînent une diminution importante du stock folliculaire ovarien. Plusieurs techniques de PF sont à ce jour disponibles. S'il est maintenant bien établi que la stimulation ovarienne en vue d'une cryopréservation ovocytaire est à proposer en première intention aux femmes en situation adjuvante, après chirurgie complète de la tumeur, le choix reste délicat pour les femmes en situation néo-adjuvante. Le Centre Hospitalier Régional Universitaire de Lille propose à ces femmes une cryoconservation de tissu ovarien (CTO) dans ce contexte. L'objectif de notre étude était donc d'évaluer l'impact de larges biopsies ovaries pour CTO sur la récupération de la fonction ovarienne dans la première année suivant la fin de la chimiothérapie.

Matériel et Méthodes : Il s'agit d'une étude pilote prospective observationnelle visant à proposer systématiquement la PF par CTO aux femmes avec un cancer du sein non métastatique éligibles pour une chimiothérapie néo-adjuvante (groupe préservé). Ces femmes sont ensuite appariées sur l'âge à des femmes avec un cancer du sein de l'observatoire de la fertilité du CHU de Lille n'ayant pas bénéficié de PF avant leur chimiothérapie. Les critères d'inclusion étaient : un cancer du sein non métastatique avec indication de chimiothérapie néo-adjuvante, un âge inférieur ou égal à 35 ans, une AMH supérieure à 8 pmol/l, et un TEP-TDM négatif. La fonction menstruelle et l'AMH étaient évaluées avant les traitements (AMH0), pendant la chimiothérapie (C3, i-e après les 3 FEC ; C6, i-e, à la fin de la chimiothérapie), puis à trois, six et douze mois post chimiothérapie (M3, M6, M12) afin d'évaluer son évolution dans chaque groupe et d'effectuer une analyse comparative.

Résultats : 30 femmes préservées et 30 femmes non préservées ont été incluses dans l'étude. Les femmes des deux groupes n'étaient significativement pas différentes. A douze mois, la quasi-totalité des femmes avait retrouvé une fonction menstruelle normale sans différence entre les deux groupes malgré des valeurs d'AMH significativement plus basses qu'avant les traitements. L'AMH de 68% des femmes est restée indétectable ou ultrabasse. Une chute rapide et significative du taux sérique d'AMH était relevée dans les deux groupes pendant la chimiothérapie suivie d'une ré-ascension lente et partielle après la fin des traitements dans les deux groupes. L'AMH au temps M3 et M6 était significativement plus basse dans le groupe préservé, mais devenait comparable à l'AMH du groupe non préservé au temps M12. Le nombre moyen de fragments obtenus était de 13 ± 5 . La densité folliculaire moyenne était de 2 follicules/mm². Aucune corrélation significative n'a été établie concernant l'âge, l'IMC, l'AMH initiale, le CFA initial avec le nombre de fragments et la densité folliculaire.

Conclusion : Notre étude semble montrer que la PF par CTO chez les femmes présentant un cancer du sein en situation néo-adjuvante n'est pas délétère sur la récupération des cycles menstruels et sur les valeurs d'AMH douze mois après la fin de la chimiothérapie. Le nombre de fragments prélevés est compatible avec les chances de restauration de la fonction ovarienne mais également de grossesse ultérieure si la greffe s'avère nécessaire et possible. Cette technique bien qu'expérimentale présente l'avantage par rapport à la vitrification ovocytaire de ne pas retarder la chimiothérapie, de permettre une récupération de la fonction endocrinienne et ne requiert pas de stimulation hormonale. Mais il s'agit de résultats préliminaires, un suivi plus long dans le temps s'avère nécessaire pour confirmer ces premières données.

Mots-clés : Cancer du sein / AMH / Chimiothérapie / Cryoconservation de tissu ovarien / Préservation de la fertilité.