Devenir Référent en Oncofertilité

Préservation de la fertilité masculine chez l'enfant, l'adolescent et l'adulte

Dr Emmanuelle Thibault

Praticien hospitalier

Service de Biologie de la Reproduction - CECOS

Hôpital Archet II, CHU Nice

Réseau Régional de Cancérologie OncoPACA-Corse

Je déclare n'avoir aucun conflit d' intérêt

Plan

Introduction

Contexte
Historique de la congélation masculine
Les CECOS

LA CONGELATION

- Indications
  - Principales indications
  - Problématiques particulières
  - Limites
- Autoconservation chez le patient pubère
  - Caractéristiques
  - Prélèvement
  - Problématique de l'adolescent
  - Les paramètres spermatiques avant congélation
  - La technique
  - Le stockage
  - Les effets de la congélation/décongélation
- Autoconservation chez l'enfant

LA DECONGELATION

- Utilisation des paillettes
  - Parcours du couple : place de la biologie
  - Consultation biologique en vue d'utilisation des gamètes cryopréservés
  - Choix de la technique
  - Décongélation des paillettes
  - L'insémination artificielle avec sperme de conjoint
  - La fécondation in vitro avec ou sans ICSI
  - Taux de succès

Conclusion

La préservation de fertilité : pour qui ?
La préservation de fertilité : les alternatives

Contexte

Loi relative à la Bioéthique du 7 juillet 2011

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

Arrêté du 3/8/2010 modifiant l'arrêté du 11/04/2008, relatif aux règles de bonnes pratiques cliniques et biologiques d'assistance médicale à la procréation, extrait de l'Article 1 - III-4.1. Information et consentement du patient –

" Toute personne devant subir un traitement présentant un risque d'altération de sa fertilité a accès aux informations concernant les possibilités de conservation de gamètes ou de tissu germinal. Lorsque la conservation est réalisée dans le contexte d'une pathologie mettant en jeu le pronostic vital, le patient reçoit une information spécifique et ciblée. Le patient, le titulaire de l'autorité parentale s'il s'agit d'un mineur ou le tuteur si la personne est placée sous tutelle donne par écrit son consentement".

- **Plan cancer 2009 – 2013**
- **Plan cancer 2014-2019**
- **Projet Régional de Santé 2012-2016 de l'ARS**

Historique de la congélation masculine

- 1776 Spallanzani : ralentissement des animalcules dans la neige
- 1866 Mantegazza : conservation du sperme à -17° C dans de la neige avec du sel
- 1946 : Jean Rostand : glycérol = cryoprotecteur
- 1949 : Polge : 1er banque de sperme bovin
- 1951 : naissance du 1er veau issu de sperme congelé
- 1eres banques de sperme humain :
  - 1963 : Sherman : US
  - 1973 : G. David : 1er CECOS en France

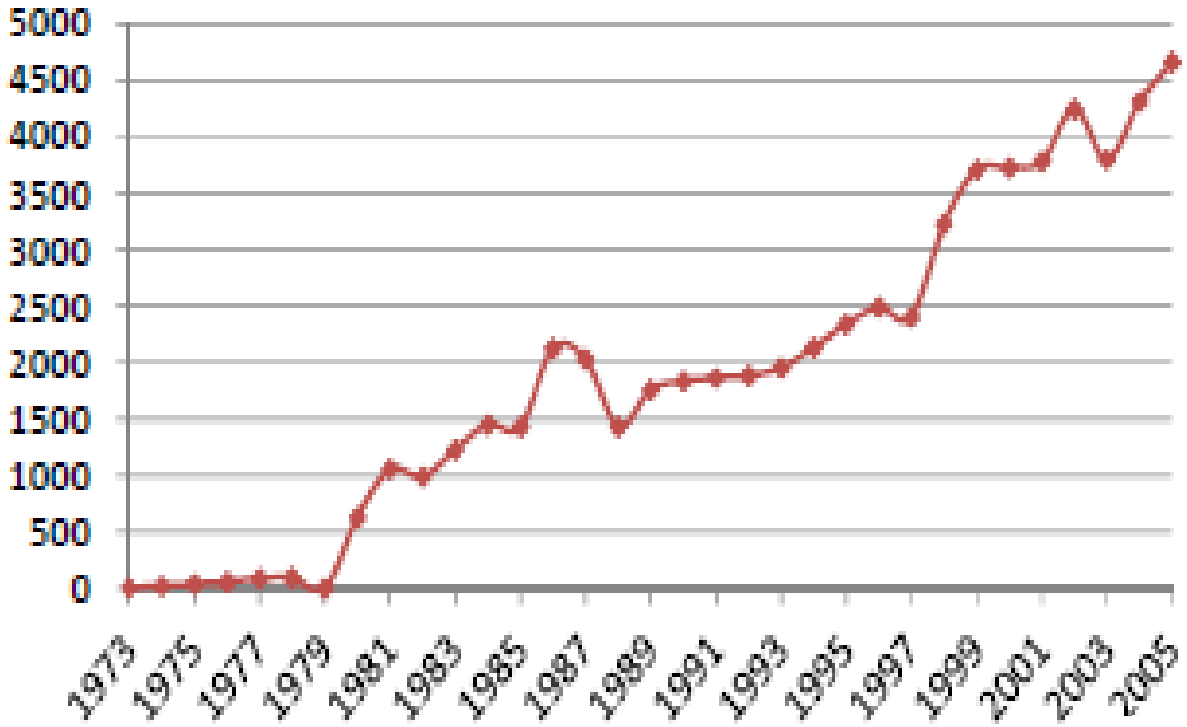
Qu’est-ce qu’un CECOS

Les CECOS (Centre de Conservation et d’Etude des Œufs et de Sperme humain), qui couvrent l’ensemble du territoire métropolitain (répartition régionale) ont pour mission la conservation des gamètes, embryons et du tissu germinal humains.

Ils gèrent également le Don de Gamètes et d’Embryons

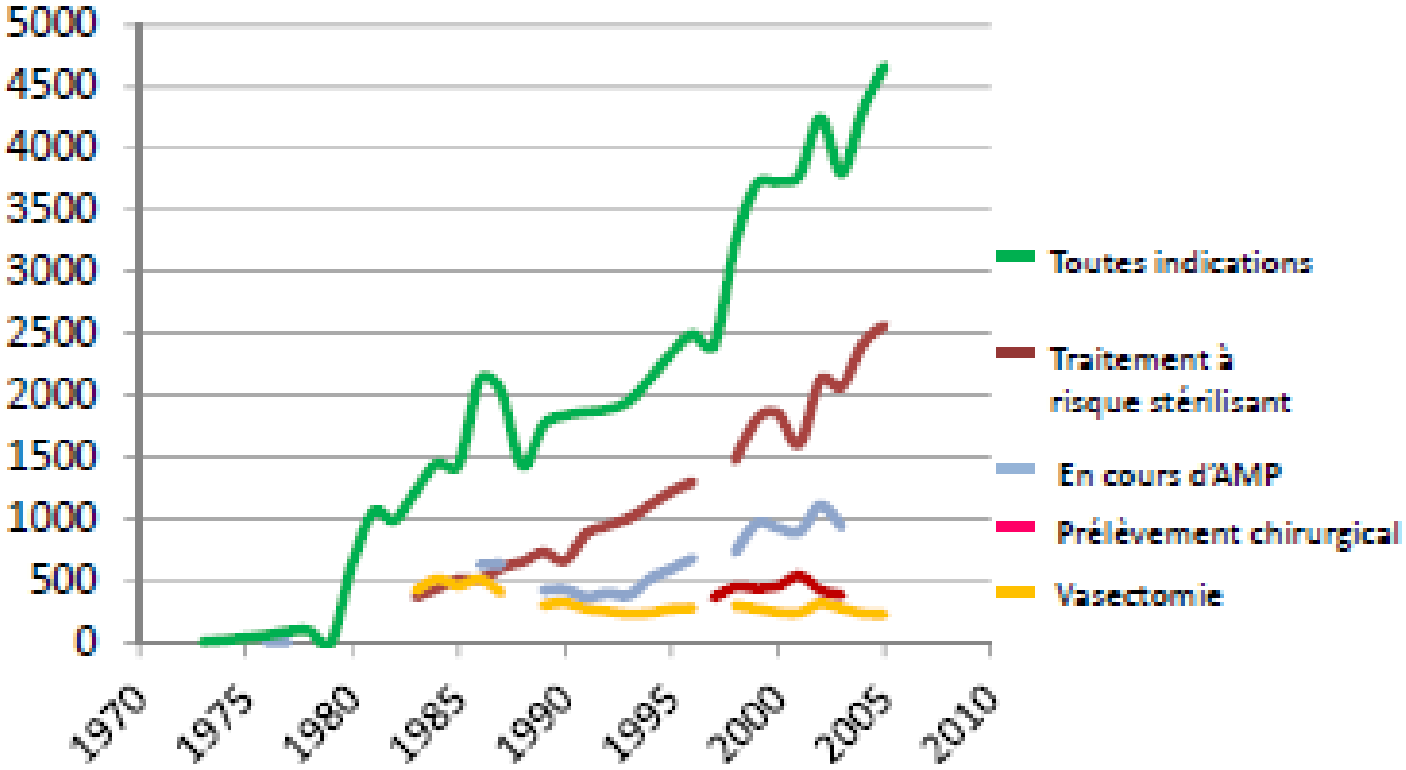
La conservation des gamètes et tissus germinaux est soumise à un agrément spécifique délivré par l’ARS dont dépend géographiquement le centre.

Patients ayant bénéficié d'une autoconservation de sperme
Toutes indications



CECOS

Evolution par type d'indication



CECOS

Indications

Rappel / Etat actuel des connaissances chez l'homme

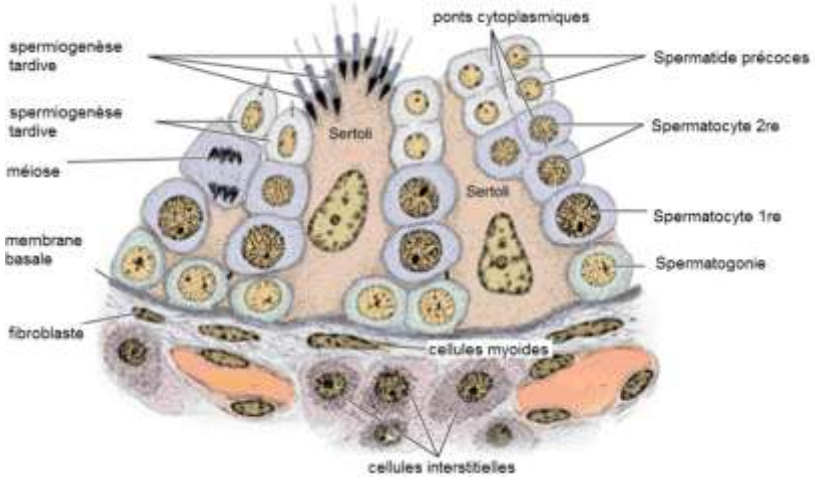
La spermatogenèse

• Les cellules germinales et leurs cellules nourricières (cellules de Sertoli) sont situées dans les tubes séminifères du testicule

• Les Cellules de Leydig à l'origine de la production de testostérone sont situées dans les espaces interstitiels

•Il faut 74 jours (# 3 mois) pour aller du stade de spermatogonie à celui de spermatozoïde.

• **Les spermatogonies B et les spermatocytes (cellules en division) sont les plus sensibles aux agents chimio- et radiothérapiques**



Référentiel AFSOS Cancer et Fertilité , version 07/13

Indications

Rappel /Mécanismes physiopathologiques de la gonadotoxicité chez l'homme

Chimiothérapie

Les **agents alkylants** parmi lesquels le cyclophosphamide, le chlorambucil, le busulfan, ainsi que la procarbazine, la nitrosourée, la moutarde azotée, et la moutarde l-phenylalanine sont les plus toxiques.

Les chimiothérapies **à base de platine** altèrent également la spermatogenèse, en particulier à forte dose.

Les traitements actuels sont souvent moins délétères que ceux délivrés dans les années 90.

Radiothérapie

Plus la cible de la radiothérapie est proche du testicule, plus le risque d'endommager les cellules germinales est grand.

Habituellement le testicule peut être protégé quand la radiothérapie est délivrée sur le pelvis.

Les traitements radiothérapiques au niveau du pelvis peuvent rendre la stérilité définitive si les testicules reçoivent une dose de 6 Gy.

L'irradiation cérébrale, fréquente dans le traitement des cancers de l'enfant, peut indirectement interférer avec la fertilité en endommageant l'hypothalamus ou l'hypophyse.

Meistrich ML, Vassilopoulou-Sellin R, Lipshultz LI. Gonadal dysfunction. In: Devita VT, Hellman S, Rosenberg SA (eds). Cancer: Principles and Practice of Oncology 5th ed. Philadelphia, PA. Lippincott-Raven; 1997; 2758-2773

D'une manière générale, l'impact des chimiothérapies est dose-dépendant, mais la récupération est variable d'un individu à l'autre.

Après une association de radiothérapie pelvienne et de chimiothérapie, le retour de la spermatogenèse dépend des effets cumulés des différents traitements employés.

Référentiel AFSOS Cancer et Fertilité , version 07/13

Indications

Principales indications

- Cancers
  - Cancers testiculaires (40-50%)
  - Hodgkin et LMNH (15-20%)
  - Autres hémopathies (15-20%)
  - Autres cancers (10%)

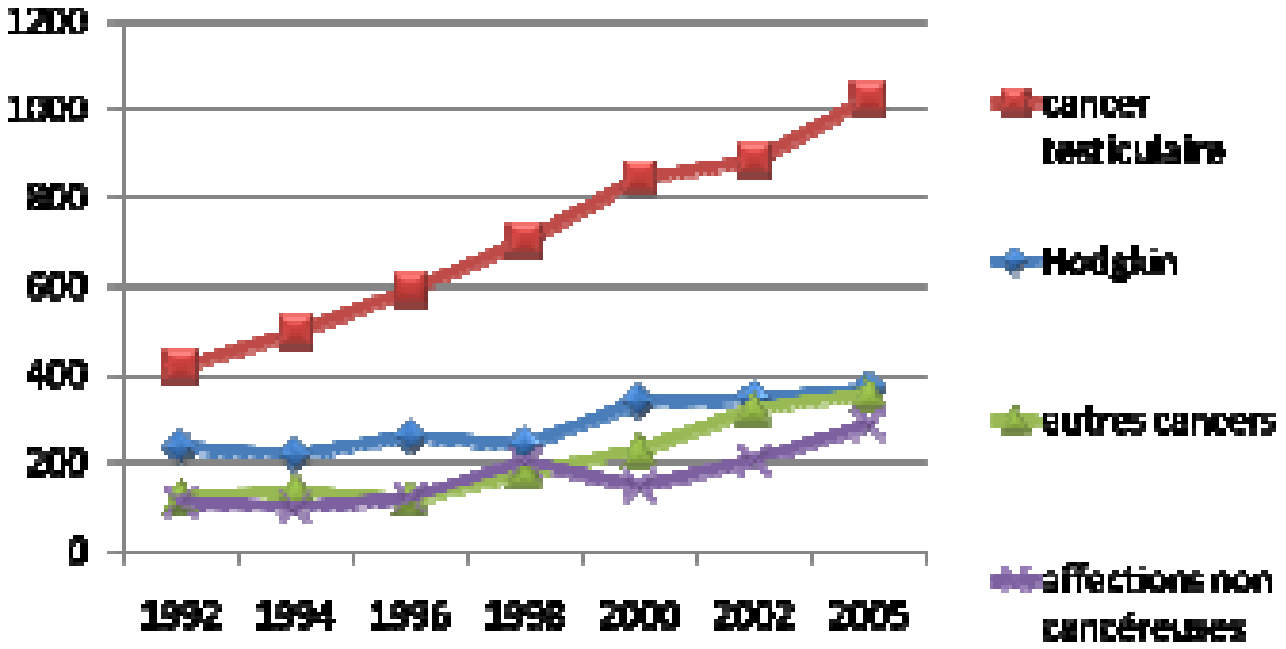
  } Intensification thérapeutique / irradiation corporelle totale

- Affections non cancéreuses
  - <10% avant 2000 -> 15% en 2007
  - Glomérulonéphrites
  - Polyarthrite rhumatoïde
  - Spondylarthrite ankylosante
  - Maladie de Behcet

CECOS

Indications

Evolution par type d'indication en cas de traitement stérilisant



CECOS

Problématiques particulières

- **Cancer du Testicule : premier cancer de l'homme jeune**
  - La tumeur du testicule survient souvent sur un terrain de dysgénésie gonadique Pour cette raison, les hommes chez lesquels survient une tumeur du testicule sont souvent hypofertiles au moment du diagnostic du cancer
  - De plus en plus de séminomes non métastatiques ont une surveillance ou 1 cycle de carboplatine, avec un risque sur la fertilité quasi-nul, mais près d'un tiers des hommes du groupe surveillance auront par la suite besoin d'un traitement supplémentaire à cause d'une récidive de la maladie (chimio. complémentaire).
  - La plupart des hommes présentant une tumeur germinale non séminomateuse reçoivent une chimiothérapie de type BEP
  - Bien que des modifications de la technique chirurgicale de curage lombo-aortique aient été décrits pour préserver les nerfs, les hommes traités par curage lombo-aortique ou chirurgie des masses résiduelles sont à risque de troubles de l'éjaculation

12 ans en moyenne après traitement, 80% des hommes traités pour un cancer du testicule sont parvenus à avoir un(des) enfant(s), mais cette proportion diminue avec le nombre de cycles de chimiothérapie

- **Proposition systématique de congélation de sperme**. Dans la mesure du possible les recueils se font avant orchidectomie mais sont possibles après orchidectomie

- **Lymphome de Hodgkin : 1ère hémopathie de l'homme jeune** Très bon pronostic Le plus souvent traitement par chimio ABVD avec un impact faible sur la fertilité.Mais, en fonction du stade, possibilité de traitement lourds par chimio + radio, ou greffe de moelle
- **Proposition systématique de congélation de sperme**

Limites aux indications

- **Urgence du traitement**

- **Pathologie , pronostic vital**
  - *Arrêté du 3/8/2010 relatif aux règles de bonnes pratiques cliniques et biologiques d'assistance médicale à la procréation, extrait de l'Article 1 - III-4.1. Information et consentement du patient*

  > INFORMATION SPECIFIQUE ET CIBLEE

- **Age :** pas de limite à l'AMP en théorie pour les hommes mais consensus intercentres fixé à 60 ans.
  - *Loi relative à la Bioéthique du 7 juillet 2011 : toute personne peut bénéficier d'une préservation*

  > INFORMATION SUR LES POSSIBILITÉS DE PRISE EN CHARGE APRÈS 60 ANS

- **Altération de l'état général** > échec de recueil (env. 8%)

  - Discuter la faisabilité d'un prélèvement épididymo-testiculaire après concertation pluri-disciplinaire (bio, uro, onco)

L'autoconservation de sperme / patient pubère

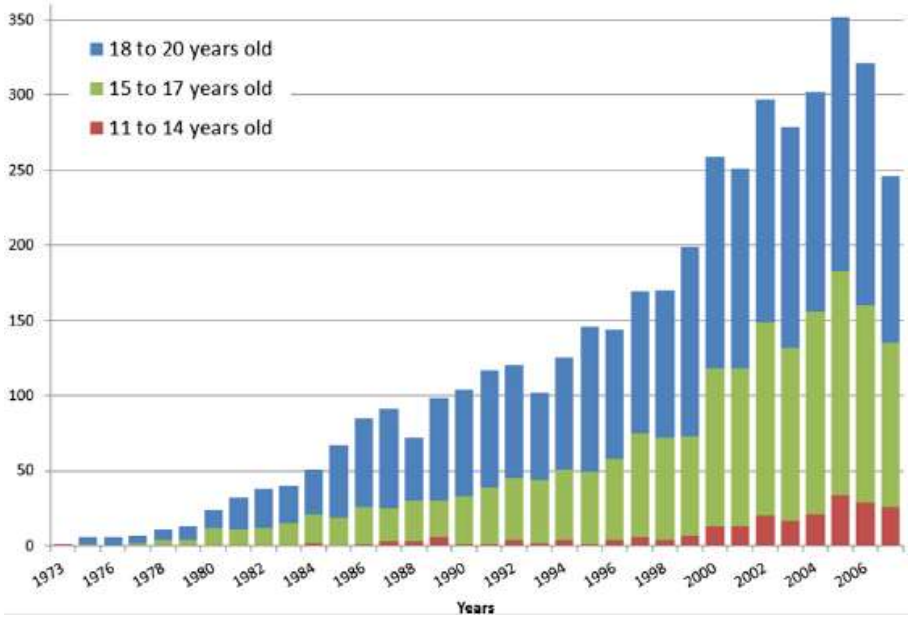
Aspects épidémiologiques

- 180 000 nouveaux cas de cancer chez l'homme par an en France.

En moyenne 2 000 autoconservations de sperme / an pour cancer

- La proportion d'adolescents et d'adultes jeunes qui conservent du sperme tend à s'améliorer, mais reste plus faible que chez l'adulte

Daudin et al - Sperm cryopreservation in adolescents and young adults with cancer: results of the French national sperm banking network (CECOS)



Caractéristiques

- Prélèvement facile

- Prise en charge rapide : dans la journée

- Congélation du sperme : technique de routine

- Réutilisation aisée dans une procédure de prise en charge en AMP

Le prélèvement

Le prélèvement par masturbation

- Pas de délai d'abstinence nécessaire

- Prise en charge rapide : dans la journée

- Au laboratoire impérativement (Identitovigilance)

De manière exceptionnelle, lorsque l'état général du patient ne lui permet pas de se déplacer au laboratoire, il est possible d'appliquer une procédure particulière autorisant le prélèvement en chambre après accord du biologiste.

- Prévoir plusieurs recueils (2 ou 3 si possible au moins)

Lorsque le traitement doit être débuté en urgence, essayer de programmer au moins un recueil

Le prélèvement

Le prélèvement chirurgical épididymo-testiculaire

- **Prélèvement épididymo-déférentiel** : le biologiste est présent au bloc opératoire pour un examen extemporané des prélèvements à l'aiguille
  - ➢ Obtention de spermatozoïdes mobiles et matures

- **Biopsie testiculaire** : prélèvement de pulpe testiculaire traités au laboratoire
  - ➢ Spermatozoïdes immobiles +/- matures

Dans tous les cas, les prélèvements sont acheminés au laboratoire où ils seront traités en vue d'extraction et congélation des spermatozoïdes

Mise en paillettes

Le prélèvement

Les autres types prélèvements

- Traitement de la dysfonction érectile : injections intra-caverneuses, inhibiteurs de la PDE5
- Vibromasseur
- Electro-éjaculation

Le prélèvement

Les documents indispensables

- La fiche de liaison

- Sérologies réglementaires (*Arrêté du 3/8/2010 relatif aux règles de bonnes pratiques cliniques et biologiques d'assistance médicale à la procréation) :*

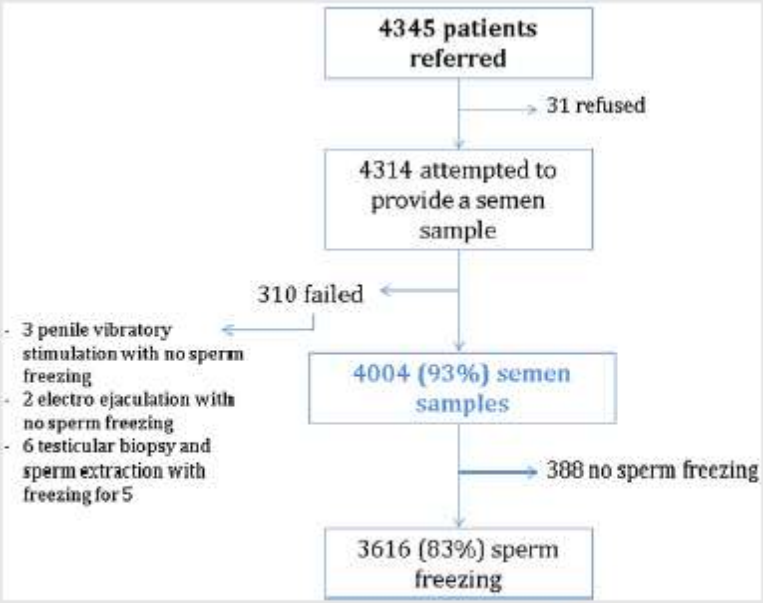
= HIV, Hépatite B, Hépatite C, Syphilis <u>datant de moins de 3 mois</u>

- Document officiel d'identité

- Adolescent pubère : autorisation parentale indispensable

Problématique de l'adolescent

- Puberté toute récente donc contexte sexologique particulier > importance de la consultation , hors présence parentale +++
- Possiblement envisageable à partir de 12 ans (Daudin et al. 2015) si patient pubère



Flowchart of patients' success in sperm sample production.

Daudin. Sperm banking in adolescent cancer. Fertil Steril 2015.

- **Echecs de recueils** : semblables à la population générale mais avec une diminution avec l'augmentation de l'âge (11-14 / 15-18 /18-20)

- **Echecs de congélation** : hypospermie, azoospermie, oligospermie majeure

- **Paramètres spermatiques** : se rapprochent de ceux des adultes au fur et à mesure de l'âge Tranche 11-14 : volume et mobilité significative-ment inf. aux tranches d'âge sup. - Concentration normale

Les paramètres spermatiques avant préservation

- Réalisation systématique d'un spermogramme pour évaluer la numération, la mobilité et le pourcentage de formes typiques du prélèvement

- Les paramètres spermatiques sont souvent altérés (contexte physio pathologique : fièvre au long cours, état inflammatoire, mécanismes paracrines dans le KT …)

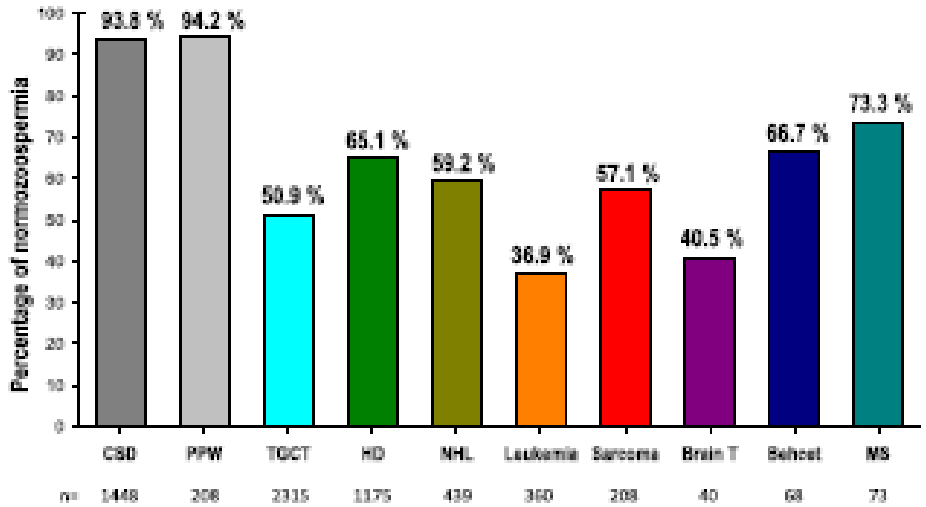


Fig. 1 Percentage of normozoospermic men in the various pathological conditions and the two groups of healthy fertile men (CSD and PPW)

CSD : Donneurs de sperme
PPW : Conjoints de femmes enceintes

TGCT	: K Testiculaire
HD	: Hodgkin
NHL	: Lymph. Non. HD
L	: Leucémies
S	: Sarcomes
Brain T	: K cerveau
Behcet	: Maladie de ..
MS	: Sclérose multiple

Auger et al. Basic and Clinical Andrology 2016

La technique

- Ajout d'un cryoprotecteur pour limiter la formation de cristaux de glace pendant l'étape de congélation : le Glycérol

- Identification spécifique des paillettes avec un jonc de couleur + un numéro de registre + la date du recueil

- Réalisation d'un test de décongélation pour évaluer la qualité du prélèvement afin de déterminer quelle technique d'AMP est envisageable

Mise en paillettes

La congélation proprement dite

La descente en température programmée

La technique manuelle

Stockage

- Azote liquide -196°
- Durée illimitée : La durée de conservation n'altère pas les caractéristiques du prélèvement
- Relance annuelle

- Contrôle des paramètres

spermatiques systématiquement

proposé à distance de la fin du traitement de radio/chimiothérapie

Les effets de la congélation- décongélation sur les spermatozoïdes

- Mobilité

Fréour et al. 2012

Table 1 Characteristics of patients and sperm analysis results according to type of cancer

	Lymphoma (n = 268)		Other haematological malignancies (n = 135)		Testicular tumour (n = 429)		Other solid cancers (n = 177)	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
Age (years)	27.4[c,d]	6.3	25.8[c,d]	7.4	29.3[a,b]	5.31	30.3[a,b]	8.6
Ejaculates frozen per patient	1.91	0.7	2.3	0.8	2.6	0.7	2.3	0.9
Volume (ml)	2.6	1.1	2.5	1.2	3.3[a,b,d]	1.45	2.8	1.4
pH	7.9	0.2	7.9	0.2	7.9	0.3	7.9	0.2
Sperm concentration (10^6/ml)	46[c]	37.8	64.4[c]	66.8	23.4[a,b,d]	21.16	45.4[c]	35.8
Total sperm numeration (10^6/ejaculate)	126.8[c]	115	134.6[c]	136.9	76.7[a,b,d]	72.9	121.7[c]	108
Before freezing								
Total motility (%)	55.2[b]	14.29	51.7[a,c,d]	16.9	56.4[b]	15.6	58.7[b]	13.9
Progressive motility (%)	33	13.8	31.9	14.7	33.4	14.6	35.1	14.7
Typical form (%)	42.8	16.1	43.9	18.7	44.1	16.3	40.7	14.9
After freezing–thawing								
Total motility (%)	31.7	14.8	29.4	14.3	31.7	13.5	33.7	13.2
Progressive (%)	15.5	9.9	12.8	8.8	14.1	8.8	15.6	9.1
Progressive motility decrease (%)	56.7[b,c]	22.8	63.6[a]	20.7	61.8[a]	19.9	57.6	19.8

ANOVA: [a] $p < 0.05$ when compared with lymphoma group, [b] $p < 0.05$ when compared with haematological malignancies group, [c] $p < 0.05$ when compared with testicular tumour group, [d] $p < 0.05$ when compared with other solid cancers group

- Altération de la membrane plasmique
- Altération de l'ADN

➢ *Taux de succès en IAC et en FIV moins bons*

➢ *Taux de succès en ICSI idem spermatozoïdes frais*

L'autoconservation de sperme / enfant

Cancer chez l'enfant : < 1 % de l'ensemble des cancers, 1500 nouveaux cas par an en France dont 50% avant l'âge de 6 ans

Avec un taux de survie à long terme de 78 % pour les cancers diagnostiqués pendant l'enfance ou d'adolescence, il y a environ 60 000 survivants des cancers de l'enfance en France

Le testicule prépubère n'est pas aussi bien protégé contre les chimiothérapies cytotoxiques ou la radiothérapie que cela a été initialement pensé.

Avant la puberté, des centres experts pratiquent la congélation de pulpe testiculaire

A European perspective on testicular tissue cryopreservation for fertility preservation in prepubertal and adolescent boys
Picton et al – Human Reprod. 2015 Nov;30(11

(PHRC). L'objectif de cette pratique est la congélation de cellules souches spermatogoniales dans l'espoir de pouvoir les transférer après guérison du cancer à l'âge adulte dans les testicules par une injection (auto-transplantation) ou réaliser une spermatogenèse in-vitro. Ces techniques sont encore expérimentales.

Aponte PM. World J Stem Cells. 2015 May 26;7(4):669-80

Utilisation des paillettes

- Si atteinte de la spermatogénèse aboutissant à une hypofertilité ou stérilité totale
- Si projet parental dans un délai court par rapport au risque mutagène

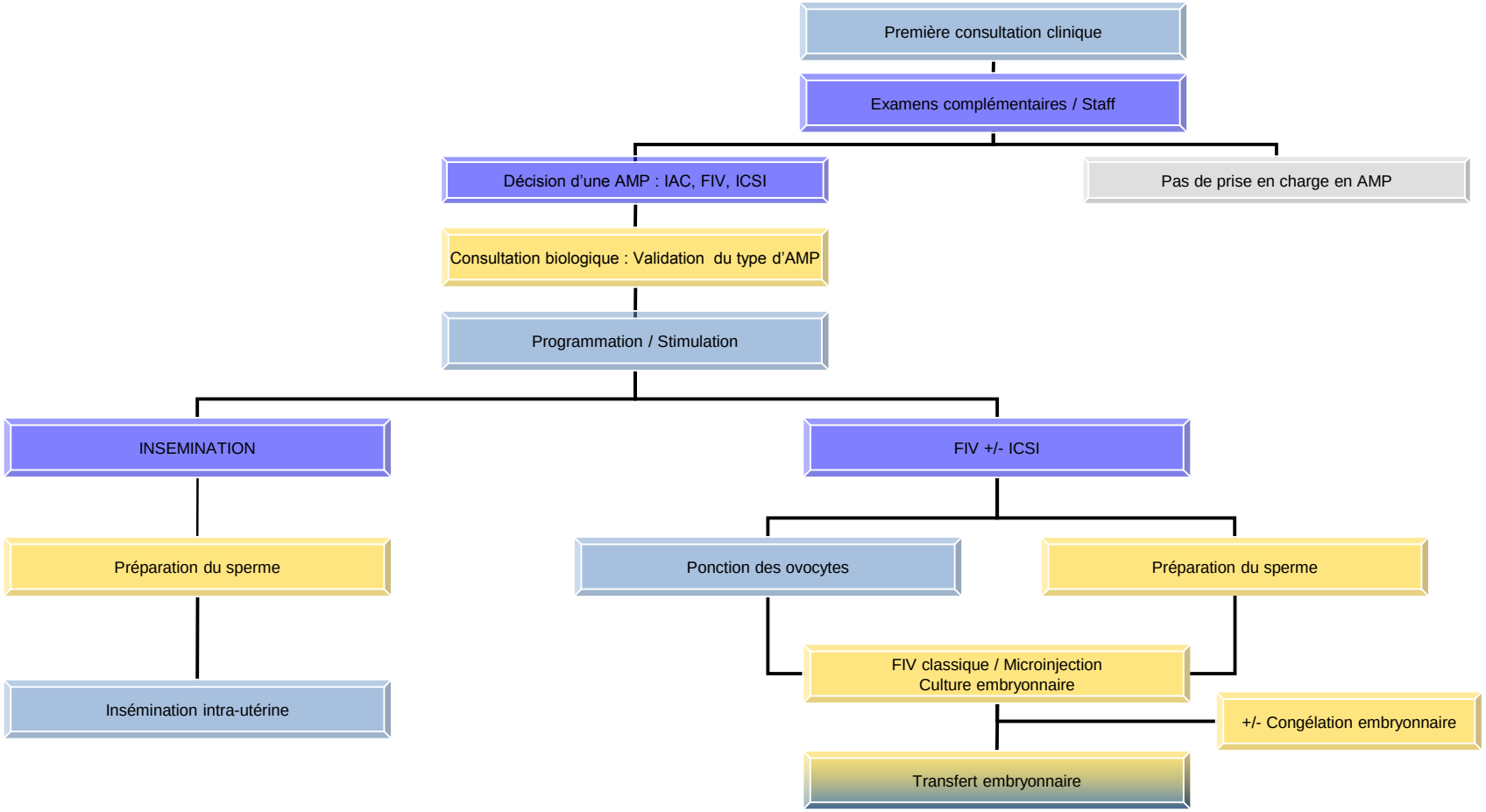
L'utilisation des paillettes nécessitera la mise en œuvre d'une Aide Médicale à la Procréation (AMP).

En moyenne, 13% des patients utilisent leurs paillettes après un traitement anticancéreux (données de la Fédération des CECOS)

-Soit pas de projet parental

-Soit restauration de la spermatogénèse (K testiculaire, LMH …)

Parcours du couple en AMP : *Place de la biologie*



Consultation biologique

- Information claire sur la réutilisation des paillettes
- Rassurer
- Répondre aux questions

- Type de technique
  - Principe
  - Contraintes
  - Taux de succès
  - Echecs
  - Alternatives
- Congélation embryonnaire
- Discussion avec le couple du nombre d'embryons à transférer

Choix de la technique

- **Importance du test de décongélation réalisé en amont**

➢ Choix de la technique en fonction également d'une possible indication féminine

  – Insémination : test de décongélation compatible + bilan féminin avec HSG normale
  – FIV : test de décongélation compatible + indication féminine (trompes, réserve ovarienne …)
  – FIV+ICSI : test de décongélation défavorable (moins de 500 000 spermatozoïdes mobiles disponibles)

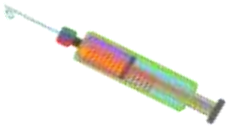
Décongélation de (des) paillettes

- A température ambiante ou à 37° C
- Lavage pour éliminer le Cryoprotecteur
- Récupération des spermatozoïdes concentrés dans 0,3 à 0,5 ml de milieu de culture

- Détermination du nombre de paillettes à décongeler :
  - Si IAC ou FIV : décongélation possible de plusieurs paillettes, pour obtenir une fraction suffisante
  - Si ICSI : une seule paillette suffit en général

Insémination Artificielle avec sperme de Conjoint IAC

- Jour de l'insémination : h+12 ou h+36 après stimulation ovarienne et déclenchement de l'ovulation chez la conjointe

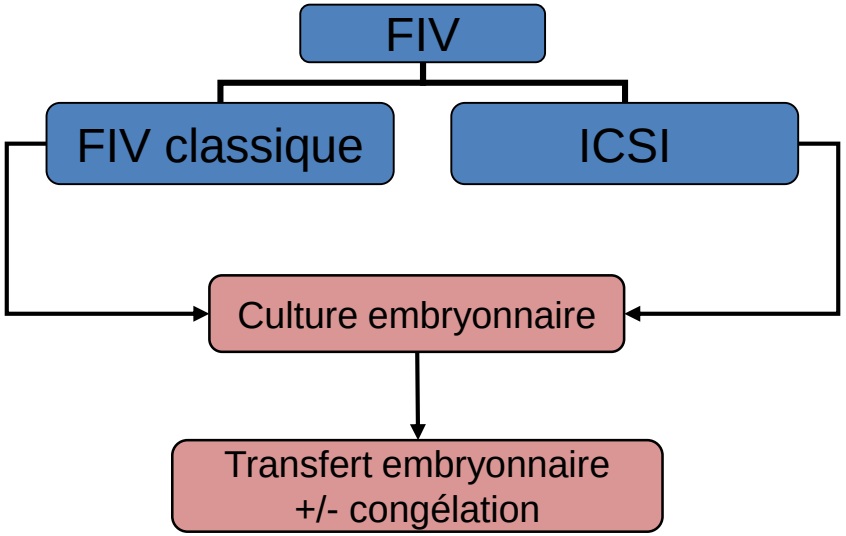


- Signature du consentement de décongélation pour le patient

- Préparation du sperme (env.1h)

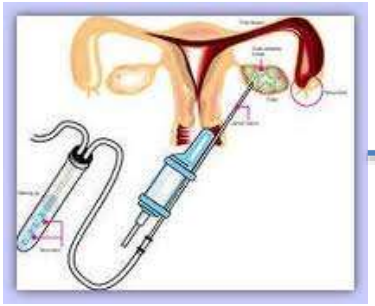
- Insémination

Fécondation in vitro avec ou sans ICSI



- Processus de fécondation réalisé en laboratoire
- Nécessite l'obtention des spermatozoïdes d'une part et des ovocytes d'autre part (stimulation et ponction)

Fécondation in vitro avec ou sans ICSI

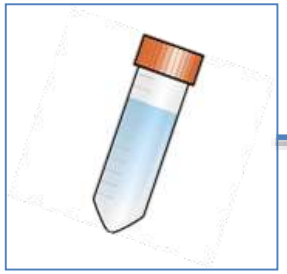


FIV
conventionnelle

Fécondation
in vitro

Culture embryonnaire
2 à 6 jours

Transfert
intra-utérin



ICSI

Taux de succès

Int J Clin Oncol (2012) 17:598–603

Table 2 Use rate and ART cycles outcome with frozen semen

	Patients using frozen sperm	Use rate (%)	IVF or IVF–ICSI cycles			IUI cycles		
			Patients	Cycles	Pregnancy rate per cycle (%)	Patients	Cycles	Pregnancy rate per cycle (%)
All	82	8.1	51	112	23.2	31	66	12.1 (7 singletons, 1 twin)
Lymphoma	11	4	8	22	27.3	3	10	0
Other haematological malignancies	30	21.1	18	40	30	12	32	18.8 (5 singletons, 1 twin pregnancy)
Testicular cancer	27	6.2	17	37	16.2	10	31	6.5 (2 singletons)
Other solid cancer	14	9.8	8	13	15.4	6	15	0

IVF in vitro fertilization, *ICSI* intracytoplasmic sperm injection, *IUI* intrauterine insemination

Fréour et al. 2012

Taux de succès

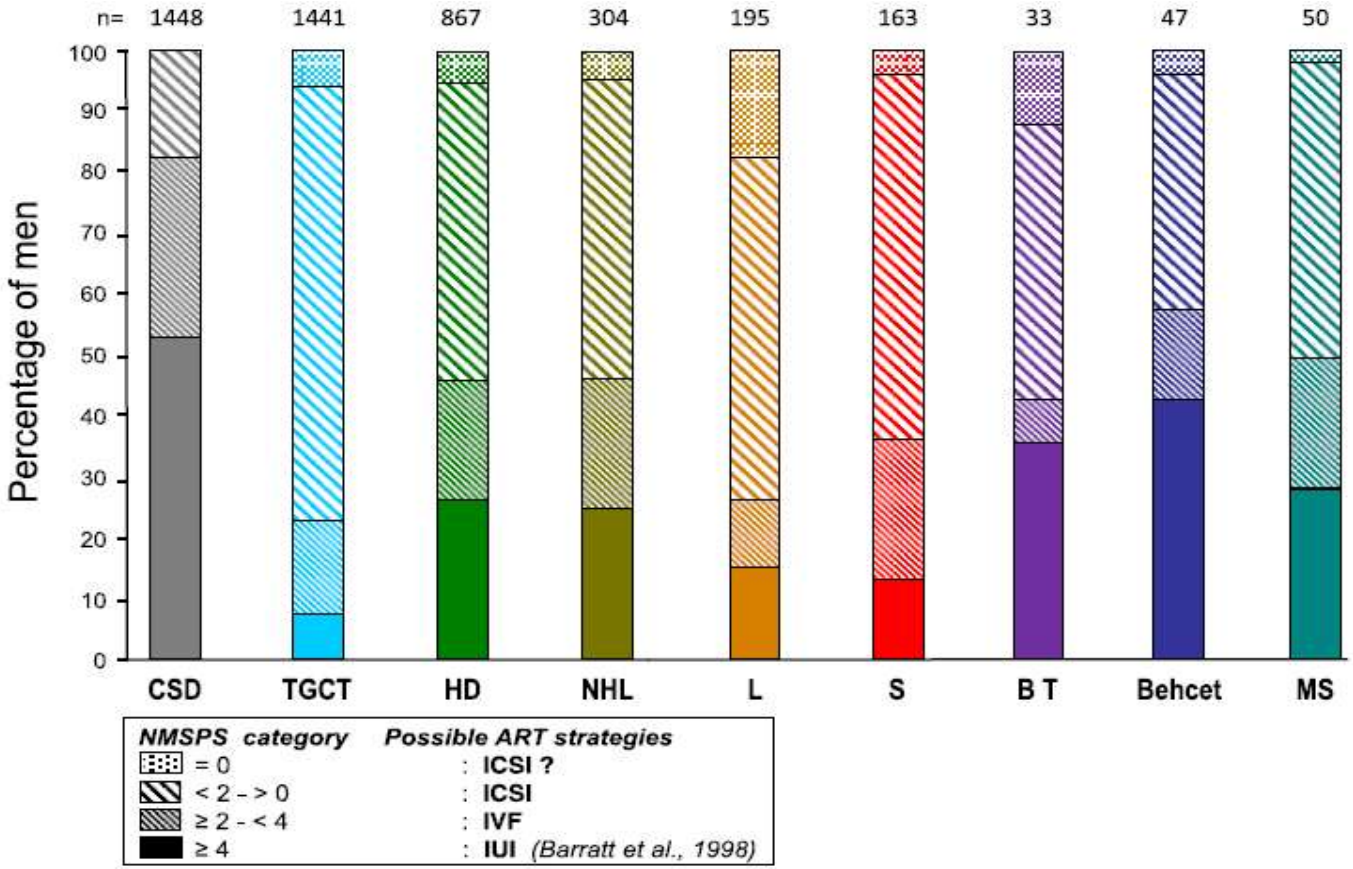


Fig. 4 Possible ART strategies according to the pathologies studied and the number of progressive motile sperm per straw (NMSPS; $\times 10^6$). It is assumed that there are a sufficient number of stored straws and the fertility check-up in the female partner is normal

Auger et al. Basic and Clinical Andrology 2016

CONCLUSION

La préservation de fertilité : pour qui

	Homme / Ado Pubère	Nourrissons / Enfants
Age	A partir de la puberté et limitée par l'âge lors de l'utilisation ultérieure des paillettes en AMP: (60 ans environ)	A partir de 2 ans
Limites	Limite selon état de santé : Masturbation Vibromasseur/ Electroéjaculation/ Prélèvement chirurgical	- Limites à discuter selon pronostic et état de santé : Ex: thrombopénie, AEG ... - Limites selon décision parentale
Traitement	Avant traitement potentiellement stérilisant et/ou mutagène	- Avant traitement ayant un risque > 90 % de stérilité -Après information et consentement parental

La préservation de fertilité : les alternatives

Refus ou impossibilité de préservation de la fertilité

Manque de temps par rapport à l'urgence du début du traitement anticancéreux

Projet parental après rémission ?

DON DE SPERME

Env. 1000 enfants / an (Données ABM)

ADOPTION

4310 adoptions en 2010 (3500 à l'étranger)

30 000 agréments valides en France en 2010

Agrément:

9 mois selon la loi

Durée de l'agrément: 5 ans (à confirmer tous les ans)

Délai moyen d'adoption :

1 à 3 ans (2 ans à l'étranger, 3 ans en France)

MERCI DE VOTRE ATTENTION

CHU de Nice

Assistance Publique
Hôpitaux de Marseille