

Impact de la chimiothérapie sur les différentes catégories de spermatogonies au sein du tissu testiculaire (pré)pubère humain

Frédérique Bateux – U1239 NorDic – Equipe PSG

Epidémiologie des cancers de l'enfant et de l'adolescent

≈ 2300 cas diagnostiqués par an

Principaux cancers diagnostiqués

- 1) Leucémies (26%)
- 2) Tumeurs du système nerveux (25%)
- 3) Lymphomes (15%)

4^{ème} cause de décès

Survie post cancer en hausse → À 5 ans, entre 71 et 87% en fonction du type



Mais Séquelles des traitements au long terme sur la vie et la fertilité ?

SÉMINAIRE RECHERCHE EN PRÉSERVATION DE LA FERTILITÉ
CHEZ LES PATIENTS ATTEINTS D'UN CANCER

Préservation et restauration de la fertilité

Patients pré pubères et péri pubères :

- Conservation du tissu testiculaire
- Congélation lente contrôlée

Techniques de restauration envisagées :

- Spermatogenèse *in vivo*
 - transplantation de CSS
 - Autogreffe de tissu testiculaire
- Spermatogenèse *in vitro*
 - culture 2D ou 3D de CSS
 - Organoïde testiculaire
 - **Culture organotypique de tissu testiculaire**



Limitation : pool suffisant de SPERMATOGONIES

→ Nécessité d'étudier cette population

Effet de la chimiothérapie sur les spermatogonies humaines

Diminution du nombre de spermatogonies

Agents alkylants

Vincristine Vs sans vincristine

Feraille et al., 2023

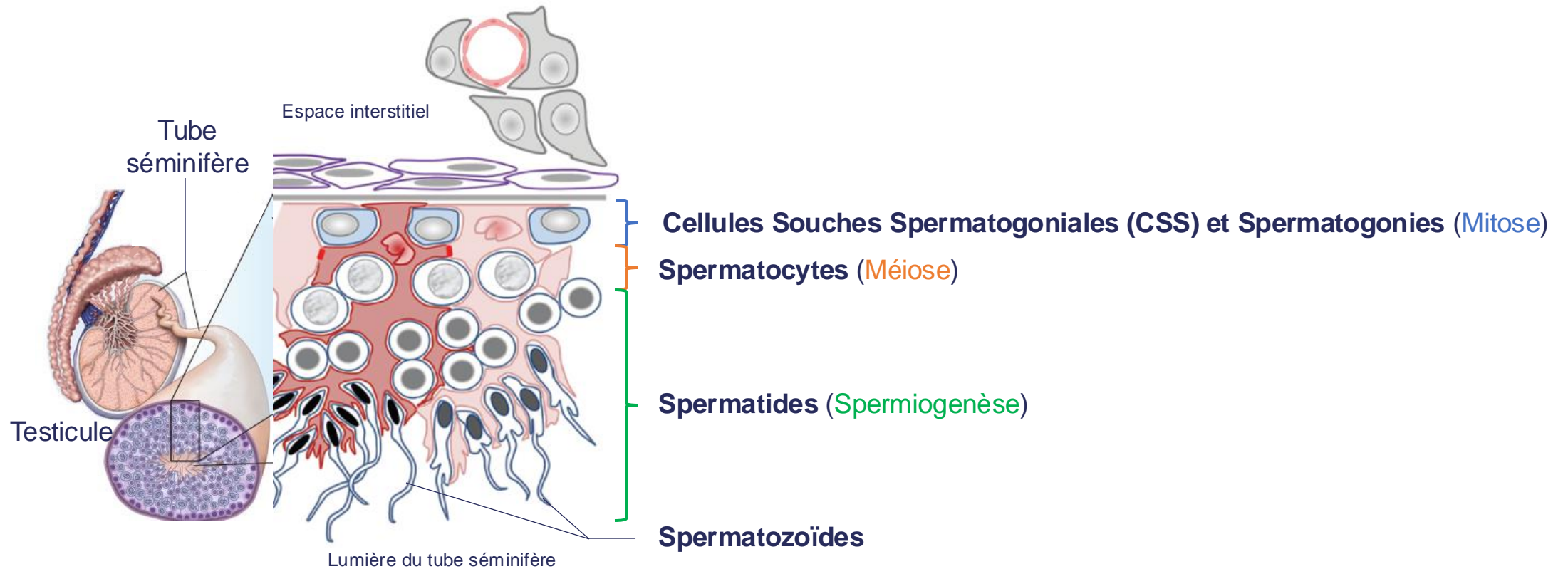
Diminution du nombre de spermatogonies

Masliukaite 2016
Poganitsch-Korhonen 2017
Stukenborg 2018
Valli-Pulaski 2019

Enfants
Adolescents

Problématique : Quels sont les effets sur les différentes populations de spermatogonies (A et B) ?

La spermatogenèse

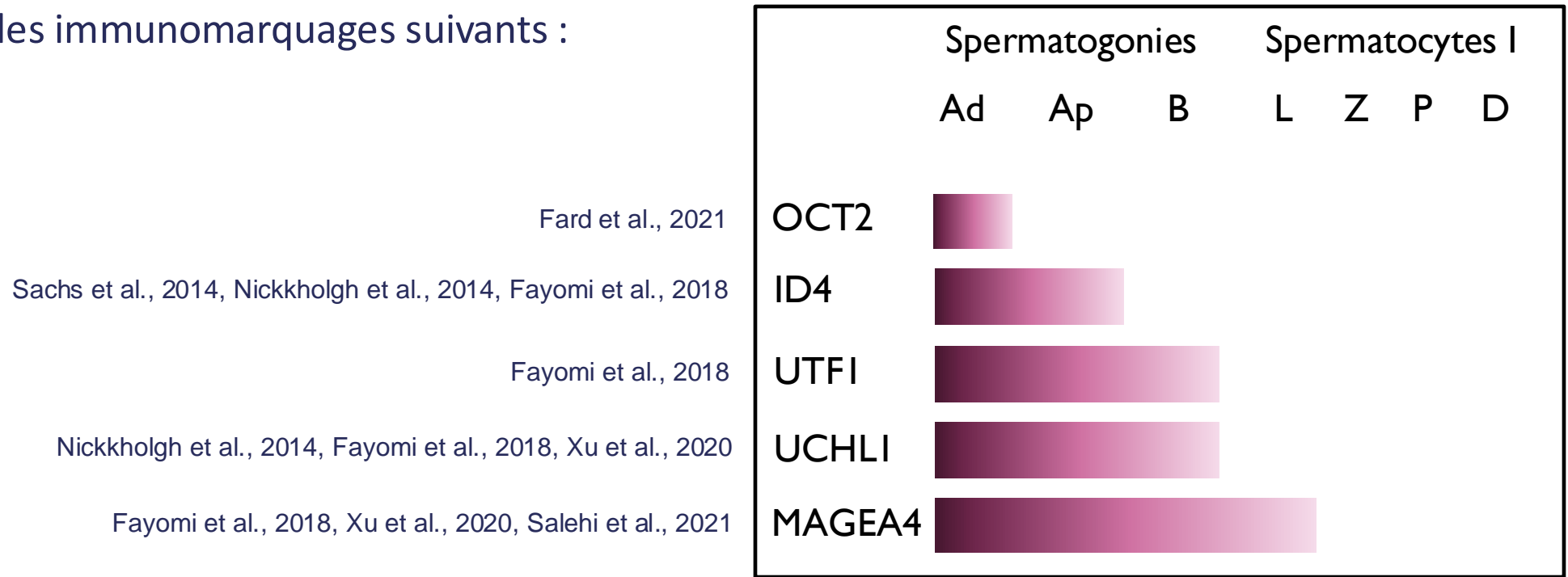


Méthodologie

TFI ou **Tubular Fertility Index** = pourcentage de tubes contenant des spermatogonies identifiables

S/T = pourcentage moyen de spermatogonies identifiables par tube

Identification via les immunomarquages suivants :



Population de l'étude

Types de cancers	n (%)	Diagnostic simplifié	n (%)	Age (années) moyenne ± SD [min- max]	CED (mg/m ²) moyenne ± SD [min- max]	DCA (mg/m ²) moyenne ± SD [min- max]
Leucémie aigue lymphoblastique	17 (35)	Leucémie aigue	24 (49)	8 ± 5	3035.0 ± 3947.0	205.0 ± 97.9
Leucémie aigue myéloblastique	7 (14)			[1 - 16]	[0.0 – 18356.0]	[0.0 – 415.1]
Neuroblastome	8 (16)	Neuroblastome	8 (16)	2 ± 1	5112.0 ± 2338.0	118.1 ± 99.6
				[1 - 4]	[1756.0 – 9361.0]	[0.0 – 301.7]
Médulloblastome	9 (18)	Médulloblastome	9 (18)	7 ± 4	357.3 ± 1072.0	0.0
				[2 - 15]	[0.0 – 3215.0]	
Sarcome d'Ewing	3 (6)	Sarcome	3 (6)	12 ± 3	20918.0 ± 1122.0	329.2 ± 19.8
				[9 - 14]	[19707.0 – 21923.0]	[313.2 – 351.3]
Lymphome de Hodgkin	2 (4)	Lymphome	2 (4)	12 ± 1	5884.0 ± 3210.0	150.4 ± 22.5
				[11 - 12]	[3614.0 – 8154.0]	[134.5 – 166.3]
Tumeur rhabdoïde	1 (2)	Autres	3 (6)	4 ± 3	6925.0 ± 6477.0	132.2 ± 153.3
Tumeur neuro-ectodermique primitive	1 (2)			[2 - 7]	[0.0 – 12834.0]	[0.0 – 300.3]
Néphroblastome	1 (2)					
P [Kruskal-Wallis]				0.0038	0.0004	<0.0001

49 patients pré ou péri pubères

Age → 1-16 ans

CED → 0 – 21 923,0 mg/m²

DCA → 0 – 415,1 mg/m²

Type de cancers → hétérogènes

CED = dose cumulative d'équivalent de cyclophosphamide
DCA = Dose cumulée d'antracycline

Traitements de chimiothérapie reçus

Classes des agents de chimiothérapie	Noms générique	n [%]	Dose cumulée [mg/m ²]		
			Moyenne ± SD [min - max]		
Agent alkylants	Inclus dans la CED	Cyclophosphamide	29 (59)	4024 ± 2948 [87.1 – 13123]	
		Ifosfamide	12 (24)	21986 ± 26330 [1943 – 86578]	
		Procarbazine	1 (2)	2140	
		Lomustine	1 (2)	201	
		Melphalan	1 (2)	84.65	
	Non inclus dans la CED	CED	44 (90)	4032 ± 5312 [0.0 – 21923]	
		Carboplatine	19 (39)	1688 ± 615.1 [791.4 – 3220]	
		Cisplatine	9 (18)	263.1 ± 78.14 [147.7 – 378.5]	
		Dacarbazine	1 (2)	4039	
		Temozolomide	2 (4)	3008 ± 2835 [1003 – 5013]	
Agents intercalants	Inhibiteurs de la Topoisomérase I	Irinotecan	2 (4)	895.8 ± 699.4 [401.2 – 1390]	
		Topotecan	5 (10)	25.85 ± 28.58 [9.27 – 76.81]	
		Doxorubicine	24 (49)	145.9 ± 90.94 [53.63 – 351.3]	
		Dauorubicine	20 (41)	213.9 ± 106.2 [42.60 – 498.3]	
		CDA	44 (90)	150.3 ± 122.4 [0.0 – 415.1]	
	Inhibiteurs de la Topoisomérase II	Anthracyclines	Etoposide	44 (90)	1194 ± 718 [303.7 – 3082]
			Mitoxantrone	11 (22)	30.76 ± 21.41 [5.21 – 63.28]
		Autres	Dactinomycine	5 (10)	6.918 ± 3.852 [1.5 – 11.1]
			Amsacrine	6 (12)	249 ± 92.19 [66.18 – 306.4]
			Vincristine	32 (65)	19.02 ± 16.80 [5.72 – 93.57]
Poison du fuseau	Vinblastine	2 (4)	22.79 ± 0.3111 [22.57 – 23.01]		
	Vindesine	12 (24)	8.94 ± 3.242 [4.46 – 15.84]		
	Antimetabolites	Methotrexate	21 (43)	12617 ± 13232 [9.45 – 49981]	
		Cytarabine	23 (47)	22273 ± 17599 [1432 – 67198]	
Bleomycin		1 (2)	40.39		
Mercaptopurine		10 (20)	14053 ± 16456 [1365 – 51067]		
Nelarabine		4 (8)	6525 ± 156.9 [6401 – 6730]		
Thioguanine		8 (16)	2369 ± 1483 [355.5 – 4973]		
Gemcitabine		1 (2)	1079		
Fludarabine		4 (8)	308.2 ± 14.65 [287.5 – 322.0]		
Inhibiteurs de la synthèse protéique		L-Asparaginase [U/m ²]	20 (41)	84478 ± 65009 [5263 – 263149]	
Inhibiteurs de protéines kinases		Imatimib	2 (4)	86121 ± 106954 [10493 – 161749]	
Autres	Acide rétinoïque	1 (2)	4644		
	Aldesleukin	2 (4)	56.59 ± 51.85 [19.92 – 93.25]		

Chimiothérapie hétérogènes :

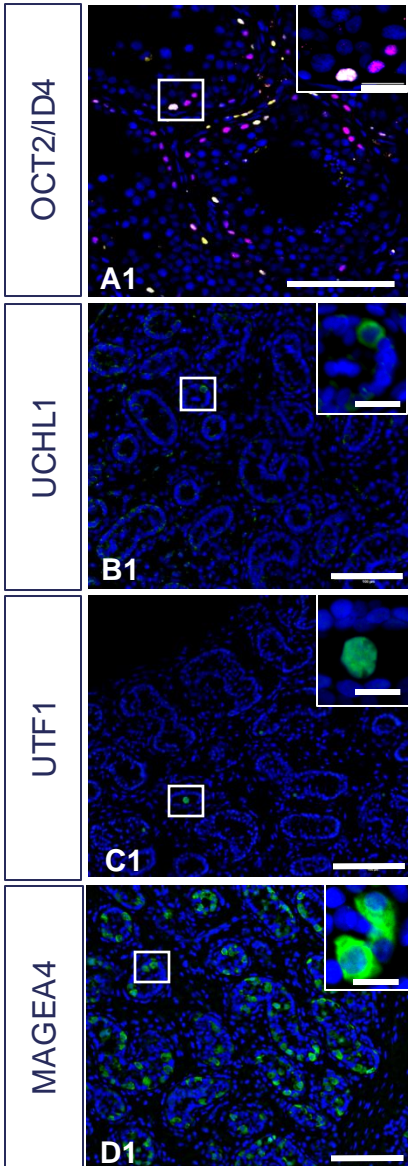
- Molécules reçues
- Classes d'agents thérapeutiques
- Dose

Des spermatogonies aux spermatoocytes

Aucune corrélation retrouvée entre les différents marqueurs et l'âge ou la durée de la chimiothérapie

Diminution du TFI et/ ou S/T avec l'**augmentation** :

- 1) De la **CED** (**OCT2, ID4, UCHLI, UTFI**)
- 2) De la **DCA** (**MAGEA4, ID4, OCT2, UCHLI**)
- 3) Délai entre la dernière **chimiothérapie** et le **prélèvement** (**MAGEA4**)
- 4) Du **nombre de molécules** reçues appartenant aux :
 - Agents alkylants (**OCT2, ID4, UCHLI, UTFI**)
 - Poison du fuseau (**MAGEA4**)
 - Antimétabolites (**MAGEA4**)
- 5) De la **dose cumulée** :
 - Doxorubicine, cyclophosphamide, ifosfamide et vincristine (**MAGEA4, UCHLI, UTFI, OCT2, ID4**)
 - Dactinomycine (**ID4**)



TFI, ST, TFI et ST

Apoptose et dommages à l'ADN

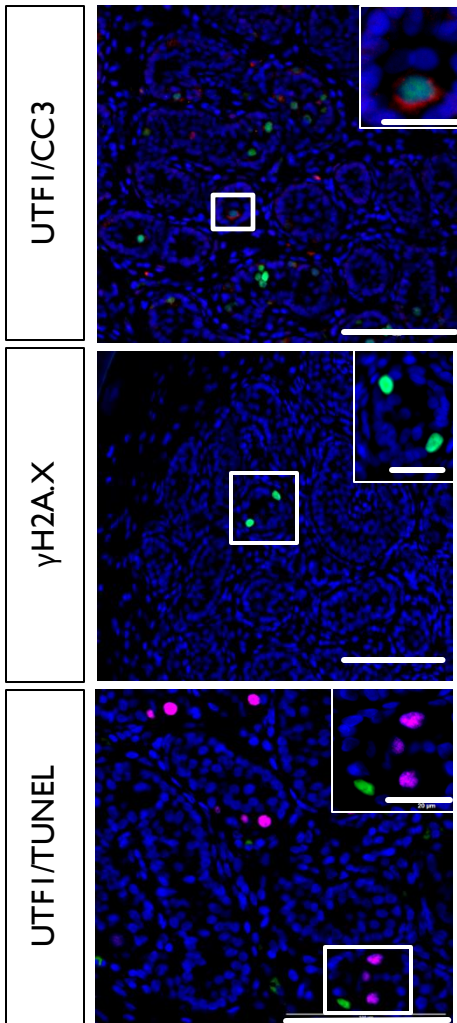
Aucune corrélation retrouvée entre les différents marqueurs et l'âge ou la durée de la chimiothérapie

Diminution du pourcentage de tubes avec cellules CC3+ et γ H2A.X+, du TFI et/ ou S/T avec l'**augmentation** :

- 1) De la **CED** (CC3, **UTFI/CC3**)
- 2) De la **DCA** (γ H2A.X)
- 3) De la **dose cumulée** :
 - Doxorubicine, cyclophosphamide, ifosfamide, vincristine (CC3, **UTFI/CC3**)
 - Topotecan (**UTFI/CC3**)
 - Daunorubicine, vindesine, methotrexate, cytarabine, mercaptopurine, L-asparaginase (γ H2A.X)
 - Lomustine, cisplatine (**UTFI/TUNEL**)
- 4) Du **nombre de molécules** reçues appartenant aux :
 - Poison du fuseau (CC3, **UTFI/CC3**)
 - Inhibiteur de la synthèse protéique (γ H2A.X)
 - Antimétabolites (γ H2A.X)

Augmentation des cellules marquées avec l'**augmentation** :

- 1) De la **dose cumulée** : Mitoxantrone (CC3, **UTFI/CC3**)



Les traitements de chimiothérapie ont un impact négatif sur les pools de spermatogonies A et B **TFI, ST, TFI et ST**

Analyse multivariée de données massives

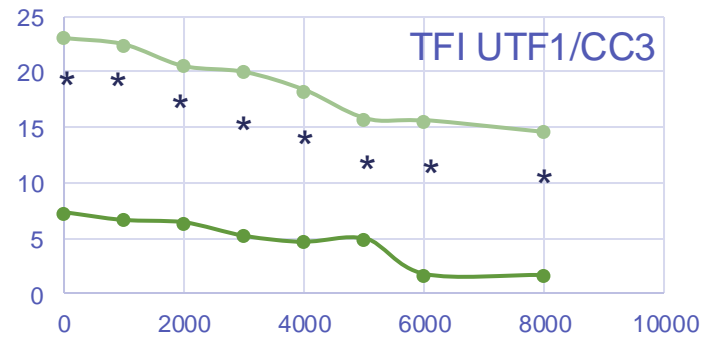
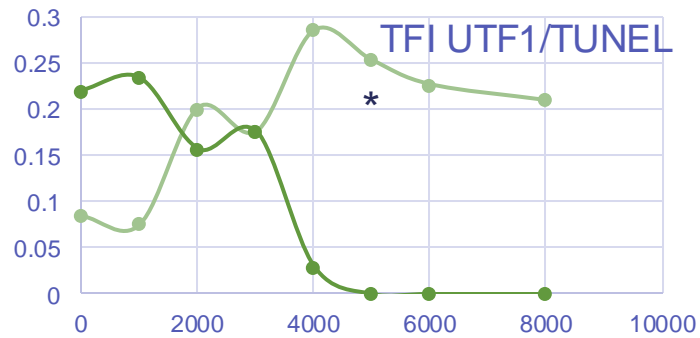
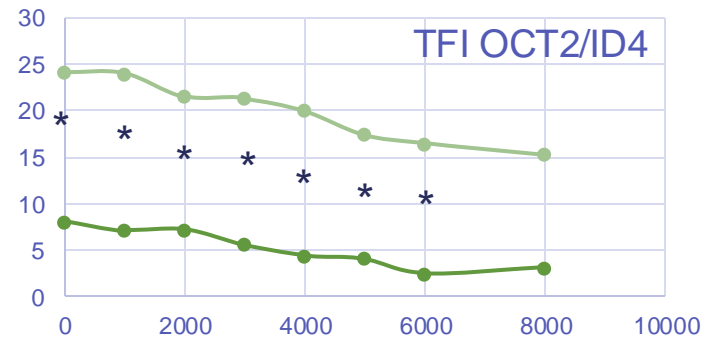
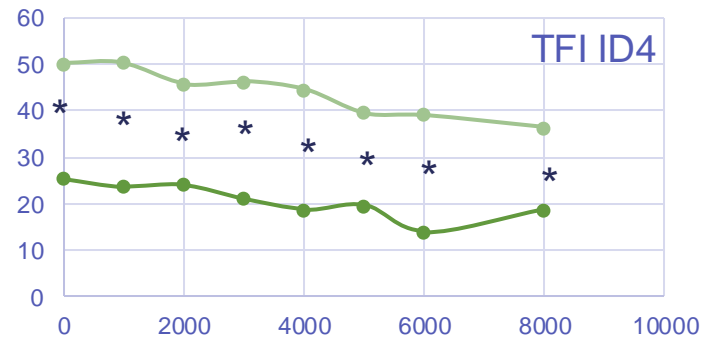
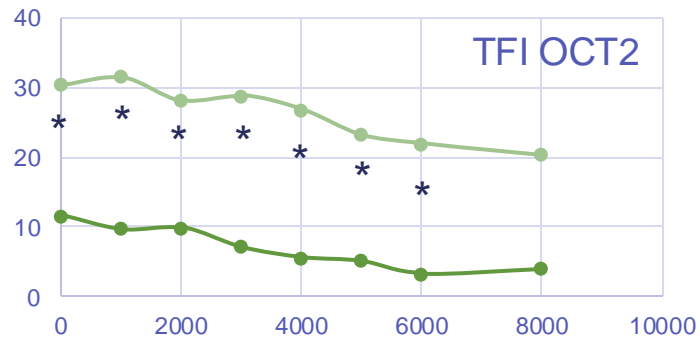
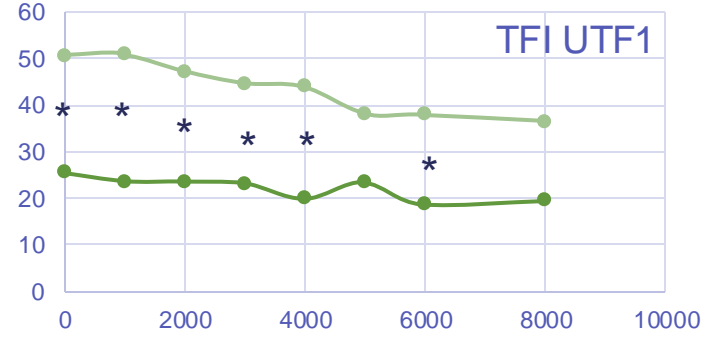
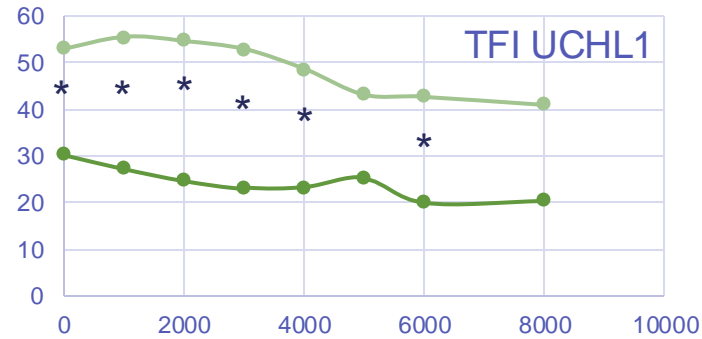
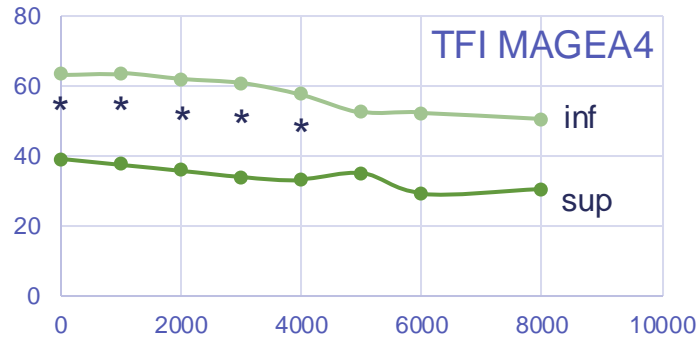
	Population totale	Groupe K-means 1	Groupe K-means 2	pValue Mann Whitney
n (%)	49 (100)	22 (45)	24 (49)	
Age (années) Moyenne ± SD [min- max]	7 ± 5 [1 - 16]	7 ± 5 [1 - 15]	7 ± 4 [2 - 16]	0,9172
CED (mg/m ²) Moyenne ± SD [min- max]	4331,8 ± 5664,5 [0,0 - 21922,9]	6443,8 ± 6357,9 [0,0 - 21922,9]	2531,6 ± 3699,7 [0,0 - 12834,1]	0,0062
DCA (mg/m ²) Moyenne ± SD [min- max]	154,1 ± 122,3 [0,0 - 415,1]	194,3 ± 108,1 [0,0 - 415,1]	117,4 ± 123,7 [0 - 310,8]	0,0411
Dose cumulée de doxorubicine (mg/m ²)	145,9 ± 90,94 [53,63 - 351,3]	122,2 ± 107,5 [0 - 351,3]	31,5 ± 66,9 [0 - 300,3]	0,0003
Durée du traitement de chimiothérapie (jours)	352 ± 435 [4 - 2333]	403 ± 334 [4 - 1253]	306 ± 514 [4 - 2333]	0,0179

- Analyse sans a priori
- Méthode des K-means (+ contrôle CAH)
- Analyse :
 - Toutes les données cliniques + histologiques
 - Cliniques (âge, poids, spermatogenèse, traitements...)
 - Histologiques (UCHL1, UTF1, MAGEA4...)
- Histologiques → k-means 1 et k-means 2

Différence entre les deux groupes :

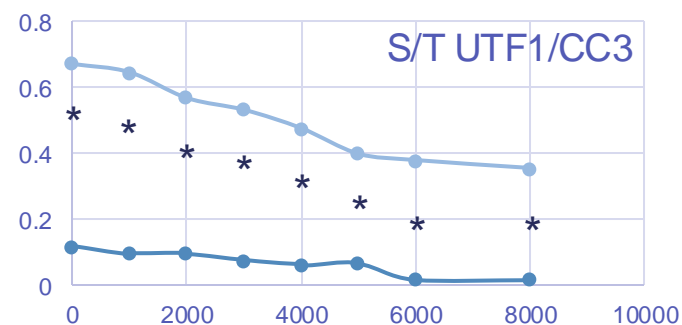
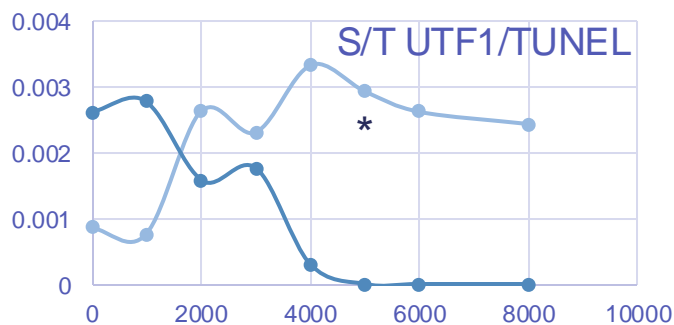
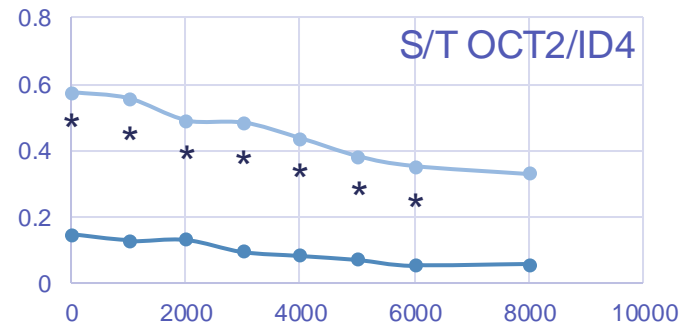
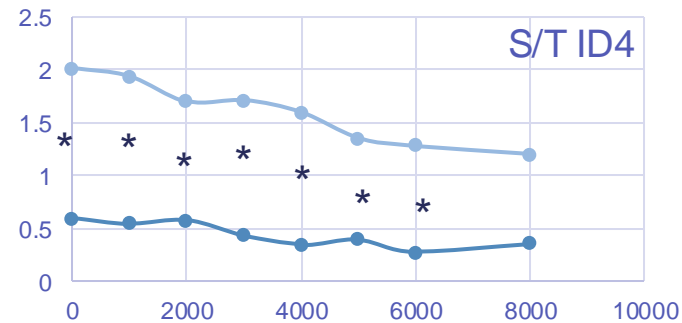
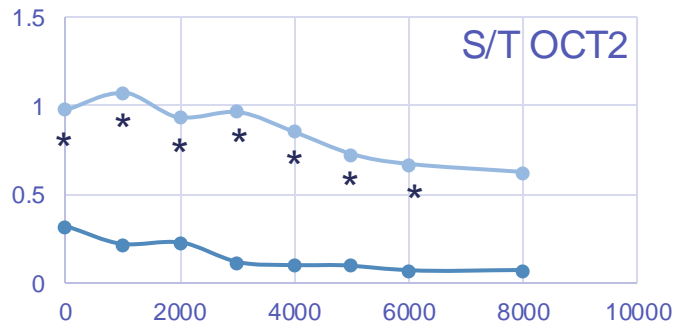
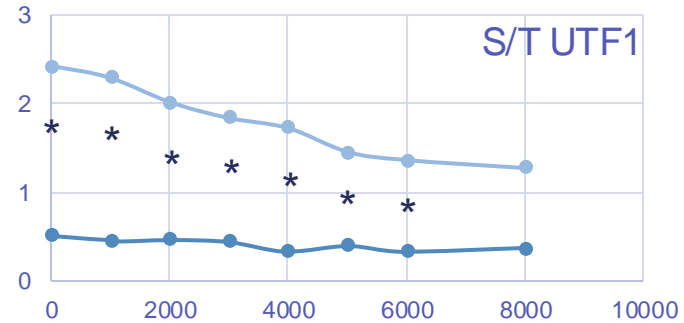
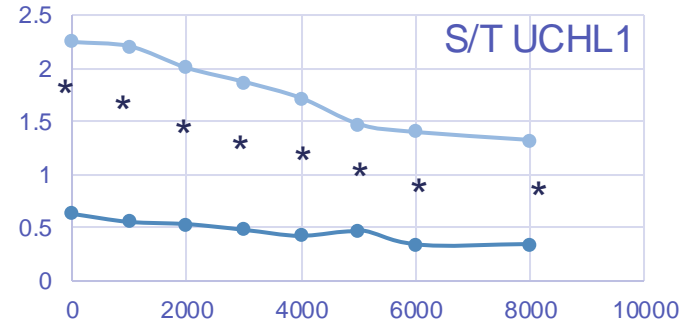
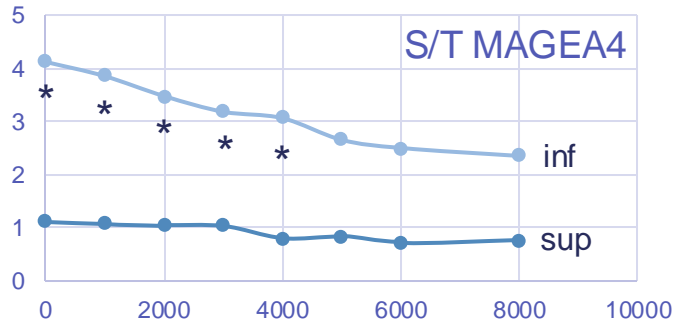
- CED
- DCA
- la durée du traitement
- la dose cumulée de doxorubicine

Analyse en fonction de la CED



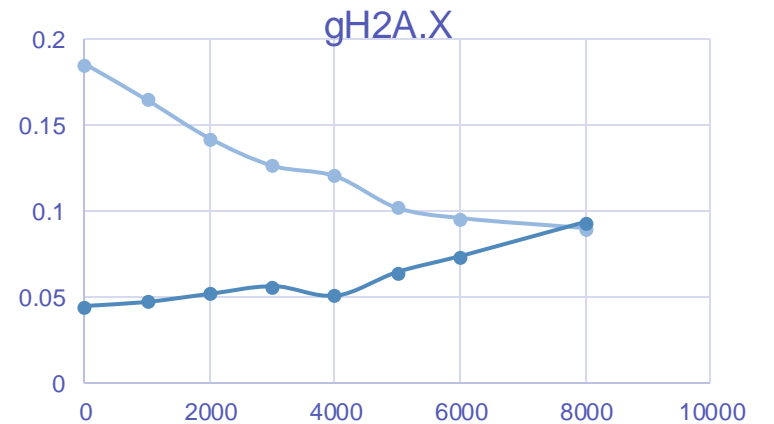
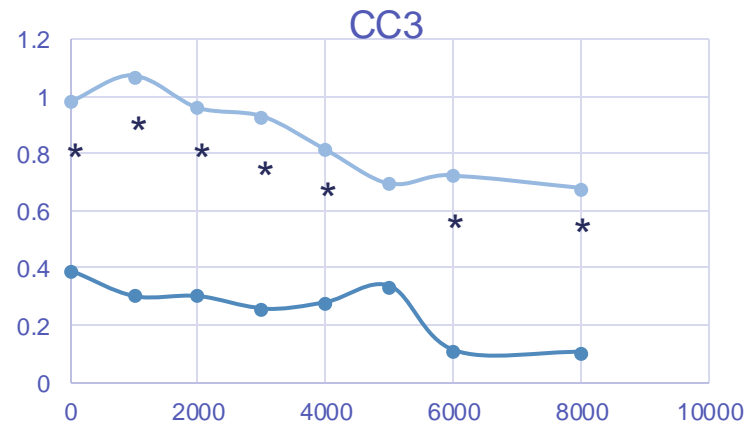
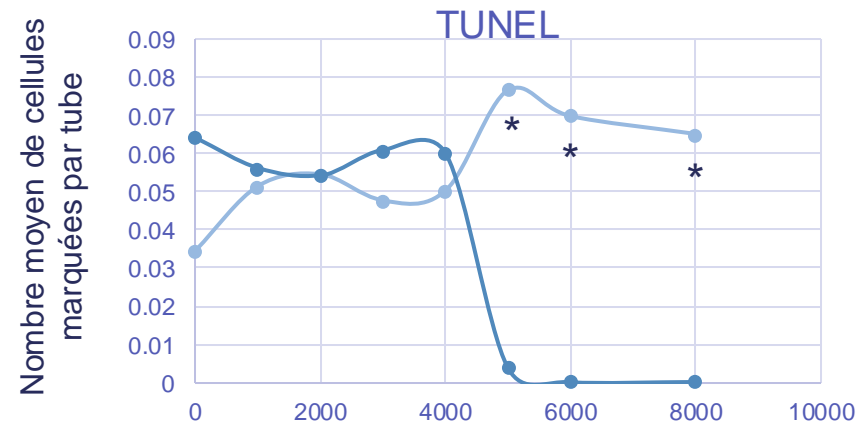
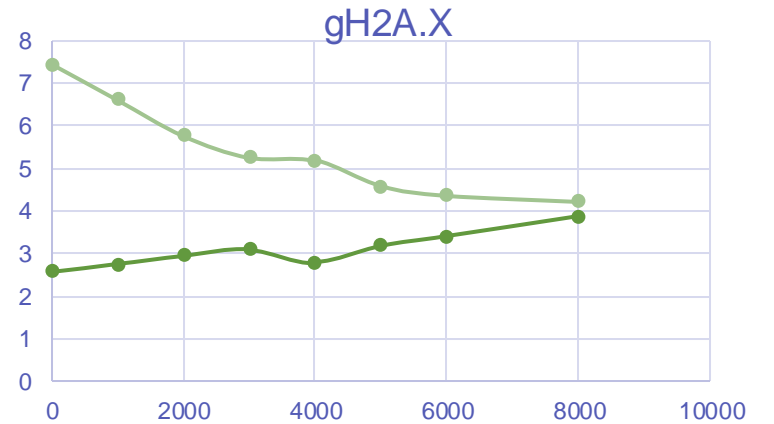
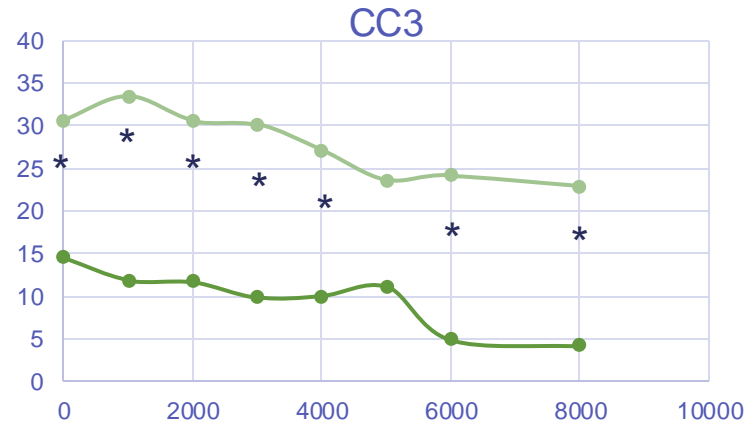
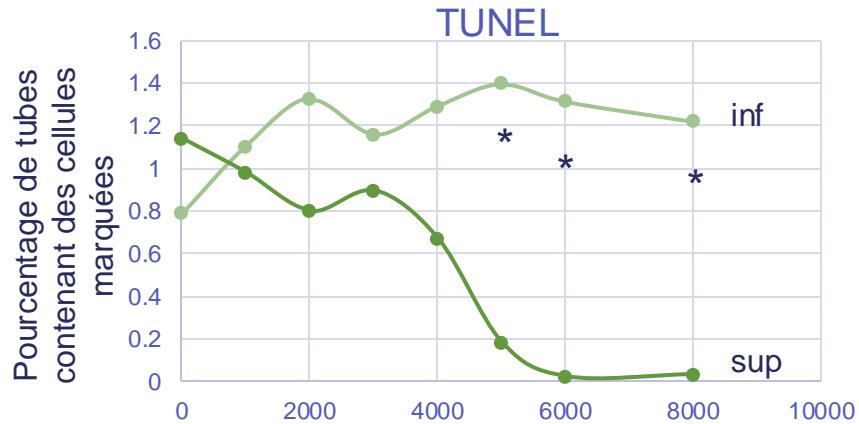
Dès l'introduction d'agents alkylants (seuil $\geq 783,93$ mg/m²), il existe un effet constaté sur le TFI

Analyse en fonction de la CED



Dès l'introduction d'agents alkylants (seuil $\geq 783,93 \text{ mg/m}^2$), il existe un effet constaté sur le S/T

Analyse en fonction de la CED



Différence dès l'introduction d'agents alkylants ($\geq 783,93 \text{ mg/m}^2$) pour l'apoptose mais plus marquée à partir de 5000 mg/m^2

Message à retenir

- 1) Il existe un impact négatif de la chimiothérapie sur les population de spermatogonies B mais aussi A
- 2) l'impact est du à la dose, au nombre de molécules reçues ainsi que leurs classes
- 3) Les patients ayant reçus les molécules prises en compte dans la CED, ont des paramètres plus altérés
- 4) En analyse sans apriori, les paramètres distinctif :
 - CED
 - DCA
 - la durée du traitement
 - la dose cumulée de **doxorubicine**
- 5) L'altération du nombre de spermatogonies existe déjà dès l'introduction d'agents alkylants (seuil $\geq 783,93$ mg/m²)
→ Pour la cohorte (molécules € CED): **cyclophosphamide** et **ifosfamide**



RÉPUBLIQUE
FRANÇAISE

*Liberté
Égalité
Fraternité*



Merci pour votre attention



PARIS | 3 DÉCEMBRE 2024
SÉMINAIRE RECHERCHE EN PRÉSERVATION DE LA FERTILITÉ
CHEZ LES PATIENTS ATTEINTS D'UN CANCER