

LA PROTECTION DE LA SPERMATOGENESE AVANT TRAITEMENT ANTICANCEREUX Est-elle Possible ?

J.F. VELEZ de la CALLE

Clinique Pasteur-Brest

Séance Conjointe SALF

XIèmes Journées SMR-Arcachon 2009

MEDICAMENTS SUSCEPTIBLES D'AGIR SUR LA SPERMATOGENESE HUMAINE

- Antimitotiques et alkylants
- Antimétaboliques
- Poisons cellulaires
- Sulfamides
- Tétracyclines
- Stéroïdes
- Sels de quinine
- Corticostéroïdes
- Antagonistes d'acides aminés
- Colchicine
- Anti-HTA
- Diurétiques
- Hormones et anti-hormones
- Anti-ulcéreux (tagamet)
- Hypo-cholestérol
- Neuroleptiques
- Antidépresseurs
- Antiépileptiques
- Anxiolytiques

THERAPIES ANTICANCEREUSES SENSIBILITE GONADIQUE

- **LA GONADE MALE EST PLUS SENSIBLE.**
- **COMPLEXITE DU TESTICULE (anatomique et physiologique)**
- **FONCTION EXOCRINE ET ENDOCRINE.**
- **L'AGE DE L'INDIVIDU EST DETERMINANTE (prénatal, pré-pubère, pubère, adulte).**
- **FERTILITE AU MOMENT DU DIAGNOSTIC**

PROTECTION DE LA SPERMATOGENESE : MEDICAMENTS CIBLES

- **Irradiations**
- **Procarbazine**
- **Cyclophosphamide**
- **Chlorambucil**
- **Cisplatin**
- **Busulphan**
- **Adriamycine**
- **Cytosine arabinoside**
- **5 Fluoro Uracyl**
- **Polychimiothérapies**

NEOPLASIQUES ET MUTAGENESE

- Effets difficiles à établir (uniquement en cas de conception)
- Délais très longs (récessives)
- Augmentent les mutations spontanées (récessives, dominantes, génétiques, chromosomiques).
- Nouvelles mutations ?
- La mutation est acquise définitivement.
- Irréversibles, cumulatives et transmissibles aux F (cellules souches).
- Réversibles (spermatogonies différenciées, cellules en méiose et post-méiose).
- Attente, Contraception, DPN, DPI (?)

THERAPIES ANTICANCEREUSES : EFFETS SUR LA FERTILITE MASCULINE HUMAINE

(Byrne J. et coll., N. Engl. J. Med., 317, 1987)

- Étude portant sur **2283** cas et **3270** témoins avec un suivi de 30 ans.
- Irradiation seule : 25% d'individus inféconds-stériles.
- Chimiothérapie + irradiation : **60%** d'individus inféconds-stériles
- Résultats variables selon l'âge, le type de cancer et le traitement reçu.

L'IRRADIATION : EFFETS SUR LA FERTILITE HUMAINE

(Meistrich & Van Beek, Adv. Rad. Biol., 1990)

- **Hiroshima et Nagasaki : 3500 individus (> 10 Gy).**
- **Effets inconnus en 1946 (début étude).**
- **Effets immédiats sur spermatogenèse (histologie SCO).**
- **Effets sur carcinogenèse et tératogenèse dramatiques.**
- **Mutagenèse non négligeable.**
- **Mortalité néonatale, enfants avec aneuploïdie, déficits enzymatiques congénitaux.**
- **Altérations reproductives de la F1 dans les années 60**
- **La F2 et F3 ?**

PROTECTION DE LA SPERMATOGENESE : JUSTIFICATION ET METHODES CLINIQUES 2005

- 5% d 'hommes de < 35 ans (26000/an USA).
 - Survie > 90% à 7 ans.
 - 50% d'hommes stériles à 5 ans.
 - Risques génotoxiques transmissibles (platines : transcription génique et réparation de l 'ADN ?).
 - Nouvelles molécules
- Champs de plomb (irradiation)
 - Hypothermie
 - Cryopreservation.
 - Poly Chimiothérapies moins toxiques

LIMITES DE L'ÉVALUATION GONADIQUE HUMAINE DES THÉRAPIES ANTICANCÉREUSES

- LE TESTICULE EST UN ORGANE ANATOMIQUEMENT ET PHYSIOLOGIQUEMENT COMPLEXE.
- LA DOUBLE FONCTION DE LA GONADE MALE (exocrine et endocrine) DIFFICULTE L'ÉVALUATION.
- LE DIAGNOSTIC DE L'INFERTILITÉ EST SOUVENT D'ÉTIOLOGIE INCONNUE.
- DES CONSIDÉRATIONS ÉTHIQUES ÉVIDENTES EMPECHENT L'EXPERIMENTATION HUMAINE.
- LES EFFETS SONT NON SEULEMENT IMMÉDIATS, MAIS PEUVENT COMPROMETTRE LA DESCENDANCE.

EFFETS DES IRRADIATIONS SUR LA SPHERE GENITALE

- **L 'ESPECE : épithélium séminifère humain plus sensible.**
 - **LE TYPE D 'ADMINISTRATION DES RAYONS : aiguë vs chronique**
 - **LE TYPE DE RAYON : neutron et neutron-gamma plus cytotoxiques que gamma ou X.**
 - **LA DOSE : effet proportionnel**
 - **LE STADE DE LA SPERMATOGENESE : mitose**
 - **L 'AGE DE L'INDIVIDU : prénatal, pré puberté, puberté et adulte.**
- **« CONCERNE LA MORTALITE ET LA MATURATION CELLULAIRE »**

THERAPIE ANTICANCEREUSE ET INFERTILITE CELLULES TESTICULAIRES IMPLIQUEES

- - cellules germinales = cibles
 - * spermatogonies différenciées plus sensibles
 - * spermatocytes et spermatides relativement résistantes
 - * spermatogonies souches vulnérables selon l 'agent
 - * cellules de Sertoli et Leydig assez résistantes en fonction de la dose (interactions).
-
- *Le spermogramme séquencé nous indique les cellules touchées*

INTERET ET LIMITES DE LA CRYOCONSERVATION

- - Effets directs de la thérapie anticancéreuse : stérilité
- - Effets « indirects » : tératogénèse et mutagenèse
- - Malgré une qualité spermatique altérée : AMP

- - Proposée aux hommes pouvant éjaculer
- - Effets directs du processus néoplasique (qualité ?)
- - Difficulté pour le prélèvement
- Projection du malade dans le projet parental (40% souhaitent conserver leur sperme à 4 ans)

- *« Méthode la plus sûre pour garantir une paternité »*

Etat de la spermatogenèse au moment du diagnostic (1/600 avec cancer < 16 ans)

- - **Altérations très fréquentes : cancer de testicule**
- - **18% Azoospermie (n=147) Ktestis (*Fossa et al., 89*)**
- - **Azoospermie 17.3% (40/231) Différents types de K (*Lass et al., 98*)**
- **Largement sous-estimés car seuls 42% de patients sont informés ou souhaitent faire une cryoconservation**
- - **Minnesota 74% d'oncologues ne connaissent pas l'ICSI (*Zapzalka,et al., 04*)**
- - **Irlande 68% ne donnent aucune information sur l'infertilité (*Allen et al., 03*)**
- - **Seuls 9% en UK font une congélation (*Bazeos et al., 99*)**

TOXICOLOGIE DE LA SPERMATOGENESE CYCLOPHOSPHAMIDE, PCB, IRRADIATIONS

(Vélez de la Calle et al., 1988,89,90,91,92,94)

- **CYTOTOXICITE DES CELLULES GERMINALES (dose dépendante) ET DES GAMETES PRODUITS (PIL très élevées).**
- **GENOTOXICITE TRANSMISSIBLE A LA DESCENDANCE MALE**
- **EFFETS PLUS IMPORTANTS AU STADE PRE-PUBERE.**
- **DYSFONCTION SERTOLIENNE LIEE A LA DIMINUTION DES SPERMATIDES ALLONGEES.**
- **PAS D 'EFFET SUR LA FONCTION LEYDIGUIENNE, SAUF INTERACTIONS AVEC SERTOLI**

TOXICOLOGIE DE LA SPERMATOGENESE : EFFETS DE L'IRRADIATION CHRONIQUE ET AIGUE

(Vélez de la Calle et al., Cancer Res., Endocrinology, 1989,1990,1993)

- **CYTOTOXICITE SELECTIVE ET SEQUENCEE DES CELLULES GERMINALES (dose dépendante) ET DES GAMETES PRODUITS (PIL très élevées).**
- **GENOTOXICITE TRANSMISSIBLE A LA DESCENDANCE MALE : jusqu'à F3**
- **DYSFONCTION SERTOLIENNE LIEE A L 'ABSENCE DES SPERMATIDES ALLONGEES.**
- **EFFET PROBABLE DE LA PRESENCE DE SPERMATOCYTES PRELEPTOTENE SUR LA FONCTION LEYDIGUIENNE.**

EFFETS DE L'IRRADIATION CHEZ L'HOMME (Rowley, 1974)

- *Testis rat 50 X + Radiorésistant*
- **< à 0.1 Gy : sans effet**
- **0.15 à 0.5 Gy : oligozoospermie très sévère.**
- **> à 0.5 et < 0.8 Gy : azoospermie réversible (1 an)**
- **> 0.8 Gy : azoospermie réversible avec élévation de FSH et de LH (2 ans, 50%)**
- **4-6 Gy : azoospermie irréversible (5 ans)**

irradiation (photons) sur champ 12x12 cm à 10cm de la gonade, 2% de la dose totale est parasite

EFFETS DE L'IRRADIATION SUR LE TESTICULE HUMAIN

- **RADIOSENSIBILITE IMMEDIATE AVEC EFFETS DE DEUX TYPES :**
- **CYTOTOXICITE DIRECTE, SELECTIVE ET SEQUENCEE DES CELLULES GERMINALES (dose et type de rayon dépendante) AVEC REVERSIBILITE COMPROMISE.**
- **MALGRE UNE REVERSIBILITE (tardive) UNE GENOTOXICITE TRANSMISSIBLE EST POSSIBLE AVEC EFFETS A LONG TERME.**
- **LES ALTERATIONS SPERMATIQUES ET/OU HORMONALES NE SONT PAS « FIABLES » DANS L'ANALYSE ET LE PRONOSTIC.**

PROTECTION DE LA SPERMATOGENESE : LES AGENTS TESTES

- MPA + T
- œnanthate de testostérone
- Hypothermie
Testostérone (T)
(implants)
- Oestradiol (E)
- T + E
- FSH
- GnRH agonistes
- GnRH antagonistes.
- GnRH antagoniste +
antiandrogène
- Hypoxie
- Antioxydants

PROTECTION DE LA SPERMATOGENESE PAR LE MPA+T vs PCB, RX ET CYCLO

*(Vélez de la Calle et al., PNAS, Cancer Res., Endocrinology,
1990,1991,1998)*

- Un pré traitement de 55 jours avec MPA (8 mg/kg/j) et T (1 mg/kg/j) induit une contraception totale et réversible chez le rat mâle adulte.
- Ce pré traitement protège les rats de 3 doses de PCB (150 mg/kg) ou d'une irradiation aiguë de 300 cGy ou d'un traitement de 5 semaines au cyclophosphamide (20 mg/kg/j).
- La progéniture mâle des animaux sans MPA+T, montre des mutations létales dominantes (DLM), des altérations dans leur fonction reproductive et dans leur capacité d'apprentissage et de comportement spontané.
- Le traitement par le MPA+T protège non seulement les rats traités, mais aussi leur progéniture jusqu'à la F2.
- Ces atteintes en F1 et F2 peuvent être comportementales et d'apprentissage *(Vélez de la Calle, Dulioust, Aroux, 1994)*

PROTECTION DE LA SPERMATOGENESE : RESULTATS CLINIQUES

- Protection observée après un pré traitement par des stéroïdes ou agonistes du GnRH.
- La protection est spécifique aux gonies souches (génétoxicité)
- Dans la cascade d'évènements observés, le responsable de la protection est inconnu.
- Le mécanisme moléculaire, cellulaire ou physiologique responsable est inconnu.
- La contraception semble la voie la + prometteuse
- La protection par MPA+T est valable pour 3 antimétopiques différents.
- Les mécanismes de réparation de l'ADN peuvent être responsables.
- La connaissance du mécanisme de protection est indispensable pour la mise en place d'études chez l'homme (molécules, durée, etc).

CASCADE D'ÉVÉNEMENTS LORS DE LA PROTECTION HORMONALE : RESPONSABLE ?

(Vélez de la Calle & Jégou, PNAS-92; Endocrinology-92)

- **Baisse des niveaux de LH.**
- **Baisse des niveaux de FSH.**
- **Diminution du volume testiculaire.**
- **Inhibition de la spermiogenèse.**
- **Baisse de la fonction Leydiguienne.**
- **Diminution des taux intra testiculaires de testostérone.**
- **Fonction androgène-dépendante de la cellule de Sertoli modifiée par la diminution de l'ABP.**

PROTECTION DE LA SPERMATOGENESE :

L 'EXPERIENCE CLINIQUE

*(Johnson 1985; Waxman 1987; Kreuser; Fossa; Klingsmüller 1988;
Krause 1989; Meistrich et coll 2005)*

- Utilisation d'agonistes et antagonistes du GnRH avec échec vis à vis de différents protocoles de chimiothérapie.
 - Faible nombre de patients.
 - Absence de pré traitement par l 'analogue.
 - Protocole anticancéreux combinant chimiothérapie et rayons.
 - Temps de suivi post traitement inadéquat.
 - Absence de témoins.
-
- Etudes en 1997 : agoniste du GnRH (*Blumenfeld & Haim*) et Testostérone (*Masala et al.*) avec **protection efficace.**

PROTECTION DE LA SPERMATOGENESE (I)

Mécanismes *Probables* physiologiques, cellulaires et moléculaires

- a) Augmentation du nombre de gonies souches ?
- b) Augmentation du taux de récupération des cellules souches survivantes ?
- c) Inhibition de la prolifération des cellules souches ?
- d) Augmentation des mécanismes de réparation de l'ADN (cellules germinales) ?
- a) Pas de modification quantitative chez les témoins « protection »
- Index de repopulation cellulaire identique au départ.
- b) Le pré-traitement permet la protection des effets cyto et génotoxiques de l'antimitotique.
- C) histologie quantitative
- d) Spermogramme

PROTECTION DE LA SPERMATOGENESE (II)

Mécanismes *Probables*

physiologiques, cellulaires et moléculaires

- a) Diminution systémique de l'action de l'antimitotique ?
- b) Diminution localisée ou diminution du débit sanguin testiculaire ?
- c) Diminution des niveaux d'oxygène testiculaire ?
- d) Augmentation des niveaux de glutathion-SDO testiculaire ?
- a) Perte de poids; diminution du nombre de lymphocytes.
- b) Efficacité différente de l'agent protecteur selon l'antimitotique.
- c) L'histologie quantitative ne montre pas de protection précoce (gonies différenciées ou pré leptotène).

CONCLUSION I

- **Les études expérimentales ne sont pas rassurantes et doivent nous mettre en garde.**
- **Chez l'animal, les antiméiotiques induisent des modifications de la fertilité chez les individus traités et au niveau de leur progéniture.**
- **Chez l'homme, les effets concernent directement la spermatogenèse avec une atteinte dépendante de l'agent, du sexe, de l'âge et de la dose.**
- **Les données cliniques présentent des biais qui rendent difficile leur interprétation.**

CONCLUSION II

- **La protection de la spermatogenèse chez l'animal, peut être obtenue par différents agents hormonaux et physiques.**
- **Le MPA+T ou l'hypothermie permettent une protection de la progéniture mâle.**
- **La cryoconservation doit rester d'actualité. Elle constitue le moyen le plus sûr de garantir une paternité ultérieure.**
- **Les études cliniques récentes de la protection sont très encourageantes. D'autres études aideront à mieux connaître les mécanismes et à accroître la batterie de moyens disponibles.**

THERAPIES ANTICANCEREUSES : PERSPECTIVES

De 1988 à 2008, développement d'autant d'agents cytotoxiques que durant les 50 années précédentes.

- L'intensification thérapeutique (facteurs de croissance, autogreffes)
- Les antifacteurs de croissance (régulation des signaux de transduction, modification du cycle cellulaire).
- Le blocage de l'angiogénèse (destruction sélective des cellules tumorales en voie de différenciation).
- La vaccination antitumorale.
- La thérapie génique.