

UNIVERSITE DE LIMOGES

FACULTE DE PHARMACIE

---



ANNEE 2006

THESE N° 308/12

Biologie de la reproduction et cancer germinal  
testiculaire : à propos de 306 patients adressés au  
C.E.C.O.S. Midi-Pyrénées de 1997 à 2004



THESE  
POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE  
obtenu après la soutenance du 19 Mai 2006

MEMOIRE  
du Diplôme d'Etudes Spécialisées de Biologie Médicale

présenté et soutenu publiquement

le 19 Mai 2006 à 15h00

par

Caroline LASSIS  
née le 21 Juillet 1976, à Condom

JURY

Président : Monsieur le Professeur CHATELUT Etienne

Juges : Monsieur le Professeur PLANTE Pierre  
Monsieur le Docteur BUJAN Louis  
Monsieur le Docteur CARDI Patrice  
Madame le Docteur CHEVREAU Christine  
Mademoiselle le Docteur DAUDIN Myriam

# *UNIVERSITE DE LIMOGES*

## **FACULTE DE PHARMACIE**

---

**DOYEN DE LA FACULTE** Monsieur le Professeur **HABRIOUX** Gérard

**ASSESEURS** Madame le Professeur **CHULIA** Dominique  
Monsieur **COMBY** Francis, Maître de Conférences

### **PROFESSEURS**

<b>BENEYTOUT</b> Jean-Louis	BIOCHIMIE - BIOLOGIE MOLECULAIRE
<b>BOTINEAU</b> Michel	BOTANIQUE - CRYPTOLOGAMIE
<b>BROSSARD</b> Claude	PHARMACIE GALENIQUE
<b>BUXERAUD</b> Jacques	CHIMIE ORGANIQUE - CHIMIE THERAPEUTIQUE
<b>CARDOT</b> Philippe	CHIMIE ANALYTIQUE
<b>CHULIA</b> Albert	PHARMACOGNOSIE
<b>CHULIA</b> Dominique	PHARMACIE GALENIQUE
<b>DELAGE</b> Christiane	CHIMIE GENERALE - CHIMIE MINERALE
<b>DREYFUSS</b> Gilles	PARASITOLOGIE
<b>DUROUX</b> Jean-Luc	PHYSIQUE - BIOPHYSIQUE
<b>GHESTEM</b> Axel	BOTANIQUE - CRYPTOLOGAMIE
<b>HABRIOUX</b> Gérard	BIOCHIMIE FONDAMENTALE
<b>LACHATRE</b> Gérard	TOXICOLOGIE

<b>MOESCH</b> Christian	HYGIENE - HYDROLOGIE - ENVIRONNEMENT
<b>UDART</b> Nicole	PHARMACODYNAMIE
<b>ROGEZ</b> Sylvie	BACTERIOLOGIE - VIROLOGIE

### MAITRES DE CONFERENCES

<b>ALLAIS</b> Daovy	PHARMACOGNOSIE
<b>BASLY</b> Jean-Philippe	CHIMIE ANALYTIQUE
<b>BATTU</b> Serge	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
<b>CALLISTE</b> Claude	BIOPHYSIQUE
<b>CARDI</b> Patrice	PHYSIOLOGIE
<b>CLEDAT</b> Dominique	CHIMIE ANALYTIQUE
<b>COMBY</b> Francis	CHIMIE THERAPEUTIQUE
<b>DELEBASSEE</b> Sylvie	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE
<b>DREYFUSS</b> Marie-Françoise	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
<b>FAGNERE</b> Catherine	CHIMIE ORGANIQUE
<b>FROISSARD</b> Didier	BOTANIQUE ET CRYPTOLOGAMIE
<b>JAMBUT</b> Anne Catherine	CHIMIE THERAPEUTIQUE
<b>LAGORCE</b> Jean-François	CHIMIE ORGANIQUE ( <i>en disponibilité</i> )
<b>LARTIGUE</b> Martine	PHARMACODYNAMIE
<b>LIAGRE</b> Bertrand	SCIENCES BIOLOGIQUES
<b>LOTFI</b> Hayat	TOXICOLOGIE
<b>MARION-THORE</b> Sandrine	CHIMIE THERAPEUTIQUE
<b>MARRE-FOURNIER</b> Françoise	BIOCHIMIE
<b>MOREAU</b> Jeanne	IMMUNOLOGIE
<b>PARTOUCHE</b> Christian	PHYSIOLOGIE

<b>POUGET</b> Christelle	PHARMACIE GALENIQUE
<b>ROUSSEAU</b> Annick	BIOMATHEMATIQUE
<b>SIMON</b> Alain	CHIMIE PHYSIQUE ET CHIMIE MINERALE
<b>TROUILLAS</b> Patrick	BIOMATHEMATIQUES ET INFORMATIQUE
<b>VIANA</b> Marylène	PHARMACIE GALENIQUE
<b>VIGNOLES</b> Philippe	INFORMATIQUE

### **PROFESSEUR CERTIFIE**

<b>MARBOUTY</b> Jean-Michel	ANGLAIS
-----------------------------	---------

### **ATER**

COURTIOUX Bertrand	Sce M. le Prof. DREYFUSS
DUMETRE Aurélien	Sce M. le Prof. DREYFUSS et MOESCH
FAURE Sébastien	Sce Mme le Prof. OUDART
YAHIAOUI Samir	Sce M. le Prof. BUXERAUD

*A notre président de thèse*

*Monsieur le Professeur Etienne Chatelet  
Professeur des Universités  
Biologiste (Institut Claudius Regaud Service de  
Pharmacocinétique)*

*Vous nous faites le plaisir et l'honneur de présider le jury de cette thèse, et de bien vouloir juger notre travail. Au cours de nos années d'études vous avez su nous inculquer la rigueur scientifique et le goût d'apprendre. La qualité de vos enseignements dans les modules de préparation au concours de l'internat a contribué à notre réussite. Veuillez trouver dans ce travail, le témoignage d'un profond respect et de toute notre gratitude.*

*A mon directeur de thèse*

*Mademoiselle le Docteur Myriam Daudin  
Praticien hospitalier (Cecos Midi-Pyrénées)*

*Vous m'avez fait l'honneur d'accepter de diriger cette thèse. Votre gentillesse, vos compétences et vos conseils m'ont été fort utiles. Votre humanisme, votre sens de l'écoute, votre grande humilité vis-à-vis des patients et des étudiants seront pour moi un exemple à suivre. Soyez assurée de ma profonde gratitude et de ma plus haute estime à votre égard. Je vous remercie de tout cœur.*

*A notre jury de thèse,*

*Monsieur le Professeur Pierre Plante  
Professeur des Universités  
Praticien hospitalier (Service d'Uro-Andrologie)*

*Nous vous remercions pour le grand honneur que vous nous faites en siégeant à notre jury de thèse et en acceptant de juger ce travail. Vous nous avez permis de mener à bien ce travail au sein de votre service. Nous tenons à vous exprimer toute notre reconnaissance.*

*Monsieur le Docteur Louis Bujan  
Maître de Conférences des Universités  
Praticien hospitalier (Cecos Midi-Pyrénées)*

*Nous sommes très touchés par votre présence à ce jury. Nous vous remercions d'avoir mis votre savoir au service de l'enseignement et de la recherche. Vos compétences et votre disponibilité ont aidé à la réalisation de ce travail. Nous vous prions d'accepter l'expression de notre respectueuse reconnaissance.*

*Monsieur le Docteur Patrice Cardé  
Maître de Conférences des Universités*

*Vous avez accepté sans hésitation de siéger à ce jury, nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites. Soyez assuré de notre profonde gratitude.*

*Madame le Docteur Christine Chevreau  
Praticien hospitalier (Institut Claudius Regaud)*

*Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en voulant bien juger notre travail, qui sans votre participation n'aurait pu voir le jour. Veuillez trouver ici l'expression de nos sincères remerciements et l'assurance d'un profond respect.*



*A mes parents*

*A mes grands-parents*

*A Alexandre*

*J'aurais tant aimé que tu puisses assister à cette soutenance*

*A toute ma famille, et ma tribu de cousins et cousines*

*A Cécile, la plus gersoise des Parisiennes*

*A tous mes copains de fac*

*Astrid (qui m'a supportée comme binôme), Stéphanie, Hélène, Henri, Jo,  
Benoît, Lola, Audrey, Bruno (je te passe le flambeau), sans oublier la petite  
marmaille (la relève est assurée !)*

*A tous mes copains internes, limougeauds, bordelais et toulousains  
Vous avez contribué à faire de ces années d'internat, quatre ans de fête et de franche  
rigolade. J'espère que d'autres sont à venir...*

*A cette faculté dont les murs gardent le souvenir de six de mes plus  
belles années.*

*A Olivier et Baptiste*

*Je vous aime.*

*À la mémoire de mon grand-père Gabriel*

# PLAN

## INTRODUCTION

### I. GENERALITES SUR LE CANCER GERMINAL DU TESTICULE

- Données épidémiologiques
- Caractères histologiques des tumeurs germinales testiculaires
- Diagnostic
- Classification des tumeurs germinales du testicule
- Histoire naturelle du cancer germinal testiculaire

### II. MODALITES DE TRAITEMENT DES TUMEURS GERMINALES TESTICULAIRES

- Arsenal thérapeutique
- La chimiothérapie (le cisplatine, l'étoposide, la bléomycine)
- La radiothérapie

### III. PHYSIOLOGIE DE LA SPERMATOGENESE

- Rappels anatomiques
- Localisation de la spermatogenèse
- La production des spermatozoïdes
- La maturation des spermatozoïdes
- La régulation de la spermatogenèse
- Le spermatozoïde, une organisation nucléaire spécifique

### IV. NOTRE ETUDE

- Matériel et méthode
- Nos résultats

### V. DISCUSSION

- Limites de notre étude
- Nos résultats
- Autres analyses à développer pour améliorer les connaissances sur les effets secondaires gonadiques des traitements anti-cancéreux
- Comment préserver la fertilité des patients traités par des cytotoxiques

### V. CONCLUSION

# INTRODUCTION

Dans les pays occidentaux, le cancer germinale du testicule est le cancer le plus fréquent chez les hommes jeunes. Ces dernières décennies, aucune autre tumeur n'a vu son incidence augmenter dans de telles proportions : en 25 ans, les cas de cancer du testicule se sont accrus de près de 50 % [1]. Pour tenter d'expliquer ce phénomène, de nombreuses hypothèses épidémiologiques sont avancées, mais rares sont celles unanimement reconnues.

Malgré sa grande diversité histo-pathologique, le traitement de ce cancer est l'un des grands succès de la lutte anti-cancéreuse : la mortalité a considérablement diminué depuis l'introduction du cisplatine dans les protocoles de chimiothérapie, et aujourd'hui on estime que plus de 80 % des patients traités pour un cancer testiculaire sont en rémission à long terme [2]. Le perfectionnement continu des techniques de diagnostic (permettant d'apprécier au mieux la progression de la maladie) et les progrès thérapeutiques (assurant au malade une optimisation maximale du rapport bénéfice/risque), permet donc à ces jeunes patients d'envisager une guérison définitive, et d'appréhender une vie future comme tout un chacun. Pour certains se posera alors un jour la question de fonder une famille, et d'envisager la paternité.

Si certaines tumeurs germinales du testicule sont traitées par une simple opération chirurgicale, les oncologues ont généralement recours à une chimiothérapie et/ou une radiothérapie adjuvante(s), deux options thérapeutiques très délétères pour les cellules germinales mâles. Le traitement proposé à ces patients doit être le plus efficace possible et le moins agressif sur la spermatogenèse, afin de préserver au maximum leur capacité de reproduction. C'est tout le challenge proposé aux thérapeutes.

Pour prévenir la gonadotoxicité des traitements, il est maintenant proposé des auto-conservations de sperme, avant l'induction de la chimiothérapie ou de la radiothérapie. Les chirurgiens et les oncologues adressent alors les patients dans un CECOS<sup>1</sup>, pour la mise en banque de paillettes de sperme. Actuellement, il n'existe aucun consensus quant au moment opportun pour effectuer ces auto-conservations : ces dernières sont réalisées exclusivement avant, ou exclusivement après l'orchidectomie, et parfois avant et après la chirurgie. Dans une première partie de notre étude, nous avons analysé les paramètres spermatiques des patients en fonction du moment des auto-conservations par rapport à l'opération chirurgicale, dans le but de définir le meilleur moment pour leur réalisation.

Préserver la fertilité de ces hommes est un objectif d'autant plus important que près de 70 % d'entre eux envisagent d'avoir un enfant à la fin du traitement, ou n'excluent pas une paternité dans un futur proche [3]. Malheureusement, il est admis que ces hommes ont des spermatozoïdes de qualité médiocre au moment du diagnostic de leur cancer, et avant tout traitement [4]. Nous avons donc étudié la qualité des

---

<sup>1</sup> Centre d'Etude et de Conservation des Œufs et du Sperme

éjaculats recueillis au moment des auto-conservations en fonction de la nature histologique de la tumeur, afin d'essayer de mettre en évidence une corrélation entre les paramètres spermatiques et le type de cancer.

Enfin, nous nous sommes intéressés à la reprise de la spermatogenèse après le traitement cytotoxique : étude de la cinétique de récupération de la spermatogenèse, proportion de patients ayant à nouveau une production normale... Nous avons ainsi pu comparer la qualité des spermatozoïdes des patients pris en charge par radiothérapie, à celle des patients traités suivant le protocole BEP. Nous avons essayé de voir si ce protocole, indiqué en première intention dans la prise en charge de la plupart des tumeurs germinales non séminomateuses, provoque à long terme des dommages plus importants sur la spermatogenèse que la radiothérapie.

Pour finir, après avoir discuté nos résultats, nous avons abordé dans la dernière partie les voies de recherche développées en biologie de la reproduction pour permettre à ces hommes jeunes de connaître un jour les joies de la paternité.

Parce que les tumeurs germinales testiculaires touchent des hommes jeunes, parce que la spermatogenèse de ces patients est initialement anormale, et parce que le pronostic de ces cancers est excellent, il est nécessaire d'optimiser les protocoles de traitements et de prévention de la fertilité afin de minimiser au maximum les effets secondaires des traitements.

## I. GENERALITES SUR LE CANCER GERMINAL DU TESTICULE :

Les cancers testiculaires sont composés de tumeurs germinales et de tumeurs non germinales. Ces dernières sont rares (moins de 5 %), et elles ne seront pas abordées ici. Cependant, pour information, il s'agit de :

- Leydigome : cette pathologie représente 1 à 3 % des tumeurs testiculaires, et près de 90 % des tumeurs testiculaires non germinales. Elle est le plus souvent bénigne, mais peut métastaser (10 % des cas).
- tumeur à cellules de Sertoli (bénigne dans 90 % des cas et souvent bilatérale)
- lymphome malin primitif ou secondaire
- carcinoïde testiculaire
- mésothéliome malin
- gonadoblastome
- tumeur para-testiculaire
- métastase d'origine pulmonaire, prostatique, rénale, vésicale, digestive

Dans le cadre de ce travail, nous ne traiterons que des tumeurs germinales testiculaires. Elles représentent 95 % des cancers testiculaires [5].

### 1. DONNEES EPIDEMIOLOGIQUES :

Les tumeurs germinales du testicule sont rares (1 % des tumeurs malignes masculines et 5 % des tumeurs urogénitales). Elles représentent cependant la première cause de cancer chez les hommes jeunes, âgés de 20 à 35 ans (12 % des cancers recensés dans cette population) [6]. Elles sont reconnues responsables de 0,6 % des décès des suites d'un cancer dans la population masculine.

Les cancers testiculaires sont généralement limités à un testicule. Il existe cependant des tumeurs bilatérales (5% des cas) : les deux testicules sont alors atteints de façon simultanée ou consécutive.

Cette pathologie est en constante augmentation à travers le monde depuis plusieurs décennies : + 50 % au Canada entre 1969 et 1993 [1], + 95 % au Connecticut entre 1965 et 1991 [7], + 215 % en Norvège entre 1955 et 1992 [8]... Ainsi, ces 40 dernières années, son incidence a plus que doublé dans le monde [9]. En France, un rapport de l'IARC en 2000 révèle que la prévalence du cancer du testicule est supérieure à celle des leucémies aiguës et des cancers de la thyroïde (tableau 1).

CANCER	CAS	DECES	PREVALENCE / 5 ANS
TESTICULE	1 945	123	13 170
THYROÏDE	498	156	1 699
LEUCEMIE	3 509	2754	9 562

Tableau 1 - Rapport de l'IARC en 2000 [10]

Son incidence dans les pays industrialisés est de 3 à 6 / 100 000 par an. Les pays scandinaves et la Suisse recensent le maximum de cas par habitant : en Norvège et au Danemark par exemple, l'incidence avoisine les 10/100 000 [11]. Il existe cependant des variations géographiques considérables (tableau 2). L'incidence de ce cancer ne cesse d'augmenter, toutes formes histologiques confondues : + 2,8 à + 5,2 % par an [12]. Il semble cependant que cette augmentation concerne surtout les formes séminomateuses des jeunes adultes [10].

Pays	Incidence
Suisse (Graubunden)	10,3
Danemark	9,2
Suisse (Zurich)	8,9
Norvège	8,0
Allemagne (Saarland)	6,1
Etats-Unis (population blanche)	5,4
République Tchèque	5,2
Suède	4,8
Pays de Galle, Angleterre	4,6
Australie	4,7
Pays Bas	4,0
Canada	3,8
<b>France</b>	<b>3,0</b>
Pérou (Lima)	2,9
Finlande	2,5
Colombie (Cali)	1,7
Hong Kong	1,3
Inde (Bombay)	0,9
Etats-Unis (population noire)	0,7
Chine (Shanghai)	0,7
Ouganda (Kyadondo)	0,7
Algérie (Setif)	0,2

Tableau 2 - Incidence mondiale du cancer du testicule [12, 13]

On le voit des différences notables existent entre le continent européen et le continent asiatique, mais des différences existent aussi au sein d'une même zone géographique. En effet, alors que le Danemark et la Lituanie sont deux pays limitrophes, l'incidence est 10 fois moindre dans l'ancienne république soviétique [12]. De la même manière, dans les pays occidentaux, certaines populations semblent plus exposées : aux Etats-Unis par exemple, les Noirs Américains sont 5

fois moins atteints par cette pathologie que les Américains d'origine caucasienne [14], et depuis 1973, le nombre de cas de cancers testiculaires n'a cessé de croître dans la population blanche alors qu'il est resté sensiblement stable dans la population noire [15].

L'année de naissance des hommes atteints pourrait jouer un rôle déterminant : certaines générations seraient plus enclines à développer un cancer germinifère testiculaire que d'autres. Cette théorie de « Birth cohort » est avancée par de très nombreux épidémiologistes [16]. Aux Etats-Unis par exemple, l'incidence des cancers germinifères testiculaires a fortement augmenté entre 1988 et 1992, et entre 1998 et 2001 au sein de la population noire [15] : + 124,4 % pour les séminomes, et + 64,3 % pour les TGNS. Au Danemark, un pays particulièrement exposé, l'incidence du cancer testiculaire a sensiblement diminué au cours des dix dernières années (- 0,3 %), alors que globalement, dans huit pays européens (Danemark, Estonie, Finlande, Lituanie, Lettonie, Norvège, Suède et Pologne), cette incidence a progressé de 2,6 à 4,9 % au cours de la même période. Cette analyse épidémiologique fait dire à l'équipe italienne à l'origine de ce travail, que cette particularité danoise est certainement due à un phénomène de « birth cohort » [17].

Pour essayer d'expliquer l'étiologie et la pathogénicité de ces cancers testiculaires germinifères, des facteurs cliniques suspects ont été identifiés. De nombreuses études ont été menées, une multitude de facteurs rapportés, mais trois facteurs de risque seulement semblent directement liés à ce type de cancer :

- la cryptorchidie
- l'existence au sein d'une même famille de plusieurs cas de cancer testiculaire germinifère (frère, père)
- un antécédent de cancer testiculaire sur le testicule controlatéral

#### La cryptorchidie:

L'association étiologique entre cancer testiculaire et cryptorchidie fut suspectée dès le XIX<sup>e</sup> siècle par Curling TB, en 1856. D'après une étude épidémiologique statistique menée par Dieckmann K.P. et Pichlmeier U., l'existence chez un homme d'un testicule en position ectopique serait le seul facteur de risque de niveau I pour le cancer testiculaire (corrélation maximale) [18]. Un antécédent de testicule non descendu multiplie le risque de cancer testiculaire sur le testis concerné par 11 [19]. Pour certains auteurs, la réalisation d'une orchidopexie même précoce ne diminuerait pas le risque de cancer testiculaire [20]. Cette opération chirurgicale permettrait en revanche de mieux surveiller cliniquement le testicule abaissé. En cas de cryptorchidie unilatérale, le testis controlatéral (qui a toujours été en position scrotale) serait aussi à risque de cancérisation.

Pour de nombreux auteurs, la carcinogenèse serait secondaire à une dysgénésie gonadique plus qu'à la mauvaise position anatomique du testis [21].

#### Le cancer testiculaire familial:

Les premiers cas de cancer testiculaire familial ont été rapportés en 1930 par Champlin H.W. L'existence de plusieurs cancers testiculaires au sein d'une même famille (frère, père) constitue un risque relatif de 3 à 10. Environ 1,5 % des cas de



cancer testiculaire le seraient dans un contexte familial [22]. Un gène de susceptibilité a été mis en évidence sur le chromosome X (Xq27) [23].

#### Antécédent de cancer testiculaire:

Un antécédent de cancer germinale testiculaire multiplie le risque relatif de cancer testiculaire sur le second testicule par 25. On estime que 5% des patients orchidectomisés ont un TIN (néoplasie intra-épithéliale, anciennement appelée CIS) sur le testicule controlatéral au moment du primo-diagnostic : 5%, c'est exactement la proportion rapportée de cancer testiculaire bilatéral [24, 25].

De nombreux autres facteurs de risque ont été avancés, sans qu'une corrélation claire n'ait été établie. Certains sont propres à l'individu. Nous citerons ainsi :

- une atrophie ou une hypotrophie testiculaire (< 12 mL) quelle que soit son étiologie (post-ourlienne, vasculaire ou traumatique) [11]
- une torsion testiculaire
- un antécédent de traumatisme scrotal [26] : le traumatisme serait plutôt un facteur révélateur du cancer et non à l'origine de cette tumeur.
- une hernie inguinale [27]
- une varicocèle [27]
- une vasectomie (une seule étude sur 8 conclut dans ce sens) [28, 29]
- une hydrocèle
- une dysgénésie chromosomique : trisomie 21 [30], syndrome de Klinefelter [11]. Dans le cas du syndrome de Klinefelter (47,XXY), on observe surtout un risque accru de tumeur germinale testiculaire extra-gonadique [31].
- un problème de fertilité sous-jacent, même si on ne sait pas si l'infertilité est une étiologie ou une conséquence au cancer testiculaire : dans une étude danoise menée sur plus de 30 000 patients<sup>2</sup> venus conserver du sperme dans le cadre d'une aide médicale à la procréation, il apparaît que les hommes avec un sperme de qualité inférieure à la normale sont plus à risque de développer un cancer testiculaire (risque multiplié par 1,6 fois par rapport à la population générale<sup>3</sup>) [32].

Le fait que l'on observe une diminution régulière et persistante de la qualité spermatique des hommes depuis le milieu du XX<sup>e</sup> siècle [33] fait penser que l'augmentation de l'incidence de ce type de cancer et la diminution de la fertilité sont peut-être liées. Depuis 1945, dans les pays développés, le style de vie a été bouleversé. Certains scientifiques évoquent des facteurs de risque qui joueraient un rôle pendant la grossesse, d'autres après la naissance.

---

<sup>2</sup> Les conservations de sperme étaient réalisées dans un contexte d'infertilité de couple : l'infertilité pouvait être masculine, et/ou féminine. Dans l'effectif étudié, certains hommes avaient donc des paramètres spermatiques normaux.

<sup>3</sup> p significatif.

A noter que cette équipe a mis en évidence un risque accru pour la population étudiée de tumeur du péritoine et de cancer digestif (risque multiplié par 3,7) : p significatif.

Parmi les travaux qui se sont intéressés à la période ante natale, nous citons une étude de cohorte sur l'incidence du cancer testiculaire en Norvège entre 1955 et 1992 [8] qui a mis l'accent sur l'importance de l'environnement gestationnel : les enfants norvégiens nés pendant l'occupation nazie étaient plus enclins à développer un cancer testiculaire que les enfants nés 5 ans avant, ou 5 ans après la seconde guerre mondiale. Une autre équipe suggère que la prise de diéthylstilbestrol par la mère [34] pourrait être un autre facteur de risque, même si très peu d'études concluent dans ce sens. Pettersson A. [35] accuse lui, le tabagisme maternel pendant la grossesse, mais d'autres scientifiques y voient un effet protecteur si la consommation est supérieure à 12 cigarettes par jour (effet anti-oestrogénique du tabac) [36]. L'exposition in utero à de fortes concentrations d'androgènes endogènes pourrait aussi être incriminée. Des jumeaux seraient donc plus à risque de développer un cancer testiculaire en raison de l'imprégnation hormonale de la mère (plus importante lors d'une grossesse gémellaire)[37]. L'étude de l'imprégnation hormonale maternelle fait dire à certains que les petits garçons nés de femmes victimes de nausées pendant leur grossesse (les nausées seraient causées par un excès d'hormones) seraient plus à risque (!) [38]. Pour d'autres, les aînés pourraient être plus sujets au cancer testiculaire que les derniers de la fratrie, parce que les premières grossesses des femmes s'accompagnent souvent de taux d'oestrogènes supérieurs aux grossesses suivantes [39].

L'exposition à des substances toxiques ou à des oestrogènes d'origine exogène est aussi évoquée [40]. Les perturbateurs endocriniens classiques sont directement incriminés mais les produits laitiers (lait et fromages surtout) et la viande rouge sont aussi montrés du doigt ! Ces aliments renfermeraient des hormones sexuelles féminines (oestrogène, progestérone) en grande quantité. Pour Gallagher R.P., une consommation quotidienne de ces aliments pourrait accroître le risque de cancer testiculaire [41]. L'état nutritionnel des petits garçons pendant l'enfance pourrait donc avoir son importance [42].

L'implication de bien d'autres facteurs de risque est soulevée : un niveau social élevé [43], l'exposition répétée à de fortes chaleurs [26], un poids de naissance inférieur à 2,5 kg, une prématurité, un âge avancé de la mère à la naissance, un indice de masse corporelle élevé [44], des apports caloriques importants (la consommation de charcuterie notamment) [45]... Certaines professions seraient plus exposées : les agriculteurs, ceux qui travaillent le cuir, le plastique, les dérivés du pétrole, les métaux... Le risque de développer un cancer testiculaire concernerait alors l'individu lui-même et /ou sa descendance [46]. A l'inverse, une puberté tardive aurait un effet protecteur pour cette pathologie [47].

## 2. CARACTERES HISTOLOGIQUES DES TUMEURS GERMINALES TESTICULAIRES :

Les tumeurs germinales testiculaires correspondent à un groupe hétérogène de néoplasmes dérivant de cellules de la lignée germinale. Elles se localisent dans 95 % des cas dans le testicule, et dans 5 % des cas en extra-gonadique. Deux catégories de cancer sont individualisées : les tumeurs germinales et les tumeurs germinales non germinales (TGNS). Ce classement repose sur les propriétés

histologiques et biochimiques de la pièce opératoire. Il y a autant de séminomes que de TGNS diagnostiqués.

Quelques cancers testiculaires sont rapportés chez des enfants (tumeur vitelline infantile, tératome mature), ou chez des personnes âgées (séminome spermatocytaire<sup>4</sup>). Ces pathologies étant rares, il n'en sera pas question dans ce travail.

## 2.1. LES TUMEURS GERMINALES NON SEMINOMATEUSES :

Les tumeurs germinales non germinales (TGNS) sont composées d'un ou plusieurs sous-types histologiques, représentant chacun une lignée et un stade de différenciation cellulaire spécifique. On retrouve ainsi :

- le carcinome embryonnaire (CE) : les cellules souches qui le composent, sont susceptibles de se différencier en tissus extra-embryonnaires (choriocarcinome ou Yolk-Sac), ou en tissus embryonnaires (tératocarcinome mature ou immature). Les cellules du carcinome embryonnaire diffusent très précocement par voie hématogène et lymphatique. Au moment du diagnostic, le stade clinique est donc souvent élevé. C'est le type histologique le plus fréquemment rencontré.
- la tumeur du Yolk-Sac (ou tumeur vitelline, ou tumeur du sinus endodermique) : elle s'accompagne souvent d'une production d'AFP. La forme pure ne n'observe quasiment que chez les jeunes enfants. C'est une forme rare.
- le choriocarcinome : il comprend des cellules cytotrophoblastiques et syncytiotrophoblastiques (ces dernières sécrètent la  $\beta$  hCG). C'est une tumeur hautement maligne, rare dans sa forme pure (< 1 %), souvent associée à d'autres entités histologiques dans une tumeur mixte (15-20 %). Elle se développe très vite (temps de doublement habituel inférieur à 30 jours) et métastase très rapidement par voie hématogène et lymphatique.
- le tératome : il s'agit de cellules provenant des 3 feuilletts embryonnaires (ecto-, endo- et mésoderme). On distingue les tératomes matures et les tératomes immatures. Le tératome est rare dans sa forme pure (sauf chez les enfants), et on le rencontre souvent associé à une composante séminomateuse ou carcino-embryonnaire.
- le polyembryome : tumeur rarissime, hautement pathogène, que l'on ne retrouve jamais à l'état pur.

Les tumeurs mixtes représentent 70 % des tumeurs germinales non germinales. Au sein d'une tumeur mixte, il est possible de rencontrer un contingent de cellules germinales (15 % des cas).

---

<sup>4</sup> Séminome spermatocytaire, ou spermatocytome : tumeur maligne très rare. Les cellules cancéreuses ressemblent aux spermatozoïdes.

Les TGNS sont plus fréquemment diagnostiquées chez des hommes âgés de 20 à 30 ans.

## 2.2. LE SEMINOME GONIOME (ou séminome classique de Chevassu):

Il est exclusivement composé de cellules germinales. Le séminome goniome se caractérise par le développement de cellules très jeunes qui ressemblent à des cellules germinales/gonocytes [48]. Dans sa forme pure, il représente 40 % des tumeurs germinales. Le séminome est considéré comme un cancer peu agressif.

Au moment du diagnostic, dans 70 % des cas, le stade clinique est limité (stade I). Il survient dans 8,5 % des cas, sur un testicule ectopique. Le séminome est bilatéral dans 2 % des cas.

Une augmentation du taux d'AFP n'est jamais visible avec un séminome pur. Une élévation modérée de la  $\beta$  hCG est possible (10 % des cas).

Il touche majoritairement des hommes âgés de 30 à 40 ans.

## 3. DIAGNOSTIC

### 3.1. PRESENTATION CLINIQUE :

L'examen clinique du patient basé sur une palpation des testicules permet souvent d'orienter le médecin. Il doit être bilatéral et comparatif.

#### 3.1.1. LA FORME TYPIQUE :

Les symptômes les plus fréquents au moment du diagnostic sont un gonflement d'un des testicules accompagné ou non d'une douleur, ou une induration testiculaire décelée par l'autopalpation. La tumeur est dure et elle peut déformer le testicule. Le patient évoque parfois simplement une sensation de pesanteur. Le clinicien perçoit un nodule dur, intra-testiculaire (éventuellement fixé), séparable de l'épididyme (signe de Chevassu).

Diagnostic différentiel : nodule testiculaire<sup>5</sup>.

#### 3.1.2. LES BOURSES AIGUËS :

L'existence d'une douleur aiguë n'est rapportée que dans 10 % des cas. Des signes inflammatoires peuvent accompagner le syndrome algique. Il faudra alors envisager une tumeur testiculaire associée à un infarctus ou un syndrome hémorragique intra-testiculaire, une torsion du cordon spermatique, ou une épididymite.

---

<sup>5</sup> Tout nodule testiculaire doit être considéré comme cancer jusqu'à preuve histologique du contraire. Sa découverte impose une exploration chirurgicale.

### 3.1.3. AUTRES FORMES CLINIQUES :

Une hydrocèle ou une hématocele d'apparition récente peuvent parfois constituer le signe d'appel.

Si des métastases sont déjà présentes (20 % des cas), d'autres signes cliniques peuvent être associés : hémoptysie et/ou dyspnée si localisation pulmonaire, douleur et/ou sensation d'une masse abdominale, douleurs lombaires, adénopathies sus-claviculaires... Enfin, 5 % des patients rapportent une gynécomastie ou une tension mammaire.

Ces symptômes peuvent parfois conduire à un retard de diagnostic [6].

Enfin, pour de rares patients, le diagnostic de cancer testiculaire est posé de manière fortuite, à l'occasion d'un bilan de stérilité.

## 3.2. LE DIAGNOSTIC ECHOGRAPHIQUE :

Une échographie transcrotale est nécessaire pour affirmer le diagnostic. Cet examen doit toujours être réalisé sur les deux testicules pour éliminer une tumeur germinale bilatérale (0,6 % synchrone, et 0,9 % métachrone). Avec une sensibilité de l'ordre de 100 %, et une spécificité de 95 %, cette technique permet de déterminer s'il s'agit d'une masse tumorale intra- ou extra-testiculaire. Une image hypo-échogène intra-testiculaire est hautement suspecte.

L'urologue peut aussi avoir recours à l'imagerie par résonance magnétique (IRM). Sa sensibilité est de 100 % et sa spécificité de 95 à 100 %, mais, du fait d'un coût beaucoup plus élevé, son utilisation en routine n'est pas justifiée [11].

## 3.3. L'EXPLORATION CHIRURGICALE :

L'orchidectomie par voie inguinale est l'élément essentiel du diagnostic. On la pratique par voie haute, après incision inguinale avec ligature première et haute du cordon spermatique. L'exérèse du testis atteint permet l'analyse anatomopathologique, la seule à pouvoir affirmer le diagnostic.

Ce geste n'expose pas à un risque d'impuissance. Pour des raisons esthétiques, la mise en place d'une prothèse pourra être proposée au patient.

## 3.4. LE DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE :

Il repose essentiellement sur le dosage des marqueurs tumoraux (AFP,  $\beta$  hCG) et des LDH. Avec ces valeurs, le clinicien pourra affiner le stade de la tumeur. Ces dosages sont réalisés avant et après la chirurgie. Un suivi de la cinétique post-opératoire de ces marqueurs tumoraux permet d'apprécier la présence ou l'absence d'une masse tumorale résiduelle sécrétante. Les marqueurs tumoraux doivent

toujours être dosés dans le même laboratoire. Un séminome n'est en général pas ou très peu sécrétant.

#### 3.4.1. $\alpha$ FOETO-PROTEINE (AFP) :

Cette  $\alpha_1$  globuline est synthétisée pendant la vie fœtale par le foie, le tractus intestinal, le tractus rénal et le sac vitellin : elle jouerait un rôle similaire à celui de l'albumine dans la circulation embryonnaire. A l'âge adulte, chez l'homme sain, sa concentration sérique est infime, inférieure à 10 ng/mL. C'est un marqueur assez spécifique des tumeurs germinales.

Des taux élevés d'AFP s'observent au cours :

- de tumeurs germinales non séminomateuses (surtout si contingent de tumeur du sac vitellin ou de CE)
- de carcinomes hépatocellulaires
- de tumeurs malignes gastro-intestinales
- de pathologies hépatiques bénignes (cirrhose, hépatite)

Sa demi-vie est de l'ordre de 5 à 7 jours.

Dans le cadre des cancers testiculaires, une augmentation de ce taux s'accompagne fréquemment d'une élévation de la hCG.

#### 3.4.2. L'HORMONE CHORIO-GONADOTROPINE HUMAINE (hCG) :

Il s'agit d'une hormone glyco-protéique produite normalement par le syncytiotrophoblaste placentaire, dès la nidation de l'œuf dans la muqueuse utérine. L'hormone active est composée de 4 sous-unités (2 sous-unités  $\alpha$  et 2 sous-unités  $\beta$ ), mais seule la partie  $\beta$  est bioactive. Sa structure est très proche de celle des hormones hypophysaires (LH, FSH et TSH). L'hCG est un marqueur tumoral spécifique des tumeurs germinales.

Chez un homme, le taux de hCG doit être inférieur à 1 ng/mL, et le dosage de la sous-unité  $\beta$ , inférieur à 1,5 ng/mL.

Des taux élevés traduisent une tumeur maligne d'origine trophoblastique :

- tumeur germinale testiculaire : taux élevé de hCG dans 50 % des TGNS (surtout si présence de choriocarcinome), et dans 8 à 20 % des séminomes.
- tumeur germinale extra-gonadique
- tumeur non germinale

Dans certains cancers hépatiques, coliques, de l'estomac, du rein, et du poumon (cancer bronchique épidermoïde), il peut exister une sécrétion ectopique de « hCG like » ou de sous-unité  $\beta$  isolée.

L'apparition d'une gynécomastie uni ou bilatérale (traduction clinique possible de la sécrétion de  $\beta$  hCG) peut motiver la consultation des malades. Celle-ci se

manifeste parfois bien avant la survenue d'une induration au niveau de l'un des testicules.

Sa demi-vie est de l'ordre de 12-36 heures.

### 3.4.3. LES LACTICODESHYDROGENASES :

Les lactates déshydrogénases sériques sont divisées en 5 isoenzymes isolables par électrophorèse sérique sur acétate de cellulose. En pratique, on ne dose que les LDH totales (marqueur tumoral non spécifique). Leur augmentation traduit une destruction tissulaire : leur taux est fonction de la masse tumorale.

Le taux de LDH est souvent élevé au cours des cancers du testicule, particulièrement quand il existe une composante séminomateuse. Il s'agit essentiellement de l'isoenzyme LDH<sub>1</sub>. Cette isoforme est surtout présente à l'état normal dans les cellules cardiaques. La LDH<sub>1</sub> représente 20 % de l'ensemble des LDH.

### 3.4.4. LES AUTRES MARQUEURS BIOLOGIQUES :

#### LA PHOSPHATASE ALCALINE PLACENTAIRE :

Cette phosphatase alcaline sérique est normalement absente chez les hommes (on la retrouve chez les femmes pendant la grossesse : son taux augmente régulièrement à partir du 4<sup>e</sup> mois). La phosphatase alcaline placentaire isolée dans certains cancers testiculaires (et parfois du thymus), se différencie de la phosphatase alcaline placentaire normale par ses propriétés immunologiques : on l'appelle l'isoenzyme de Nagao, ou isoenzyme placental-like.

C'est un marqueur peu spécifique et peu sensible. Sa concentration plasmatique peut être élevée dans certains séminomes.

#### LA NEURONE SPECIFIQUE ENOLASE (NSE) :

C'est la forme neuronale de l'énolase, une enzyme glycolytique intracytoplasmique. Le dosage de la NSE est surtout utilisé pour le diagnostic des cancers bronchiques anaplasiques à petites cellules, et dans certains diagnostics différentiels des tumeurs à différenciation neuroendocrine.

Son dosage est peu contributif au diagnostic, car peu spécifique et peu sensible. Sa concentration plasmatique peut être élevée dans certains séminomes.

### 3.4.5. INTERET DU DOSAGE DES MARQUEURS TUMORAUX :

Le dosage des marqueurs biologiques contribue peu au diagnostic du cancer testiculaire, mais les taux de LDH, hCG et AFP sont pris en compte dans le pronostic

de la tumeur, et ils sont très utiles à la surveillance en post-opératoire. Ainsi, après une nœphrectomie, on contrôle la cinétique de décroissance de l'AFP et de la  $\beta$  hCG: une chute anormalement lente des taux de hCG et AFP doit alerter les oncologues et leur faire évoquer une tumeur résiduelle. L'évolution de ces marqueurs sera aussi surveillée pendant la chimiothérapie adjuvante, si nécessaire.

Enfin, les dosages de l'AFP, de la  $\beta$  hCG et des LDH font partie du bilan de surveillance à long terme des patients en rémission.

### 3.5. AUTRES EXAMENS A VISEE DIAGNOSTIQUE :

Pour réaliser le bilan d'extension, d'autres examens tels que des radiographies pulmonaires, une tomodensitométrie thoraco-abdomino-pelvienne, voire une échographie abdominale, ou une IRM cérébrale... sont nécessaires. Ces résultats permettent d'apprécier le niveau d'extension local, régional et général de la tumeur, et d'adapter le traitement.

Puisqu'un TIN siègerait dans le testis controlatéral de 5 % des patients chez qui le diagnostic de cancer germinale testiculaire est posé, certains médecins préconisent une biopsie du second testicule. Ce geste à visée exploratrice permettrait de diagnostiquer 99 % des TIN. Les recommandations du consensus européen sur les tumeurs germinales testiculaires [49] n'incitent aux biopsies sur le testicule controlatéral que dans le cas de patients de moins de 30 ans présentant une atrophie testiculaire < 12 mL. Cette population est jugée à risque puisque plus de 34 % de ces patients auraient un TIN controlatéral au moment du diagnostic du cancer testiculaire.

## 4. CLASSIFICATION DES TUMEURS GERMINALES DU TESTICULE

Plusieurs classifications sont à la disposition des cliniciens. Elles permettent d'apprécier le niveau d'extension de la maladie, et de déterminer son pronostic.

### 4.1. LA CLASSIFICATION DE WHO (World Health Organisation):

Elle permet à l'anatomo-pathologiste de classer la tumeur.



## Classification de WHO

### TUMEUR TESTICULAIRE PURE (un seul type histologique) :

- Séminome
- Séminome spermatocytaire
- Carcinome embryonnaire
- Polyembryome
- Tératome
  - Mature
  - Immature
  - Avec une transformation maligne
- Tumeur du York Sac
- Choriocarcinome

### TUMEUR TESTICULAIRE COMPOSEE DE PLUSIEURS TYPES HISTOLOGIQUES (plus de 2):

- Tératocarcinome (carcinome embryonnaire + tératome)
- Choriocarcinome associé à d'autres types histologiques
- Autres combinaisons

## 4.2. CLASSIFICATION RMH (Royal Marsden Hospital) selon M.J. Peckhman :

### Classification RMH [50]

**Stade I** : tumeur limitée au testicule

**Stade II** : métastases ganglionnaires sous-diaphragmatiques

- **A** : < 2 cm de diamètre
- **B** : entre 2 et 5 cm de diamètre
- **C** : > 5 cm de diamètre

**Stade III** : métastases ganglionnaires sus-diaphragmatiques

**Stade IV** : métastases viscérales

- **L1** : jusqu'à 3 métastases pulmonaires < 2 cm
- **L2** : plus de 3 métastases pulmonaires < 2 cm
- **L3** : métastases pulmonaires > 2 cm
- **H+** : métastases hépatiques
- **CNS** : métastases au niveau du système nerveux central

### 4.3. LE SYSTEME TNM :

Ce système de classification des tumeurs malignes par stade est conservé par tradition, mais il est de moins en moins utilisé au profit de la classification RMH, et surtout la classification IGCCCG pour les tumeurs métastatiques. La classification N, M et S se base sur l'examen clinique, l'imagerie, les tests biochimiques et les dosages sériques des marqueurs tumoraux.

Classification TNM (1997)
<b>T ou pT – Tumeur primitive</b> pTx : non évaluée (utilisé en l'absence natale) pT0 : pas de tumeur primitive évidente pTis : néoplasie intratubulaire pT1 : tumeur limitée au testicule et à l'épididyme, sans invasion vasculaire, ni lymphatique. La tumeur peut envahir l'albuginée, mais pas la vaginale. pT2 : tumeur limitée au testicule et à l'épididyme avec invasion vasculaire ou lymphatique, ou tumeur étendue à l'albuginée avec envahissement de la vaginale. pT3 : tumeur envahissant le cordon spermatique, avec ou sans invasion vasculaire ou lymphatique. pT4 : tumeur envahissant le scrotum, avec ou sans invasion vasculaire ou lymphatique.
<b>N – Ganglions régionaux</b> Nx : ganglions régionaux non évaluables N0 : pas d'adénopathie métastatique régionale N1 : métastase ganglionnaire unique de moins de 2 cm (dans son plus grand axe), ou multiples ganglions métastatiques de moins de 2 cm. N2 : métastase ganglionnaire unique de 2 à 5 cm (dans son plus grand axe), ou multiples ganglions métastatiques dont au moins un est entre 2 et 5 cm de plus grande dimension, ou effraction capsulaire. N3 : métastase de plus de 5 cm de plus grande dimension
<b>M – Métastase à distance</b> Mx : métastases à distance non évaluables M0 : pas de métastase à distance M1 : métastase à distance M1a : métastase pulmonaire ou ganglionnaire non régionale M1b : métastase à distance autre que pulmonaire ou ganglionnaire non régionale
<b>S – Dosage des marqueurs biologiques</b> S0 : hCG et AFP normaux S1 : LDH < 1,5 N et hCG < 5 000 et AFP < 1 000 S2 : LDH entre 1,5 et 10 N ou hCG entre 5000 et 50000 ou AFP entre 1000 et 10000 S3 : LDH > 10 N ou hCG > 50000 ou AFP > 10000

#### 4.4. CLASSIFICATION AJCC/UICC <sup>6</sup> :

**Stade I** : tumeur limitée au testicule

**Stade II** : atteinte ganglionnaire sous-diaphragmatique

- II a : une seule adénopathie  $\leq$  2 cm
- II b : une ou plusieurs adénopathies de taille inférieure à 5 cm
- II c : adénopathie de plus de 5 cm

**Stade III** : atteinte ganglionnaire sus-diaphragmatique ou atteinte viscérale

#### 4.5. CLASSIFICATION IGCCCG<sup>7</sup> POUR LES TUMEURS METASTASIQUES :

TGNS	SEMINOMES
Pronostic favorable	
Absence de métastase viscérale extra-pulmonaire <b>et</b> $\alpha$ FP < 1000 ng/mL <b>et</b> hCG < 5000 U.I. /mL <b>et</b> LDH < 1,5 x N	Absence de métastase (autres que ganglionnaires et pulmonaires)
Pronostic intermédiaire	
Pas de métastase viscérale extra-pulmonaire <b>et</b> 1000 ng/mL < $\alpha$ FP < 10 000 ng/mL ou 5000 U.I./mL < hCG < 50 000 U.I. /mL ou 1,5 x N < LDH < 10 x N	Présence de métastases viscérales extra-pulmonaires
Pronostic défavorable	
Existence de métastases viscérales extra-pulmonaires ou $\alpha$ FP > 10 000 ng/mL ou hCG > 50 000 U.I. /mL ou LDH > 10 x N	Il n'existe pas de séminome considéré comme de mauvais pronostic

<sup>6</sup> AJCC: American Joint Committee on Cancer  
UICC: International Union Against Cancer

<sup>7</sup> IGCCCG : International Germ Cell Cancer Collaborative Group

## 5. L'HISTOIRE NATURELLE DU CANCER DU TESTICULE

L'histoire du cancer du testicule pourrait débuter très tôt, pendant la vie périnatale voire dès la vie fœtale, puisque le cancer du testicule concerne une population jeune. Ainsi, l'exposition à des hormones (de source exogène ou endogène) in utero pourrait conduire quelques années plus tard, au développement de cette pathologie. Cette hypothèse avancée par de nombreux scientifiques se heurte cependant au fait qu'il existe deux entités distinctes de cancers testiculaires (séminome et TGNS), ayant chacune leur propre pic d'incidence. Il existerait donc plusieurs facteurs de risque, plus ou moins spécifiques aux deux groupes. Pourtant, il est admis depuis plus de trente ans que séminomes et tumeurs germinales non séminomateuses ont le même point de départ : le TIN.

### 5.1. LA NEOPLASIE INTRA-EPITHELIALE DU TESTICULE :

Anciennement appelée carcinome in situ (CIS), la néoplasie intra-épithéliale du testicule (TIN) est considérée comme le précurseur des tumeurs germinales testiculaires (à l'exception du séminome spermatocytaire). Elle serait présente chez 0,8 % des hommes âgés de 18 à 50 ans (pic d'incidence entre 30 et 35 ans) et serait souvent associé à une histoire de cryptorchidie, de tumeur testiculaire controlatérale [51], d'infertilité [32], de dysgénésies gonadiques, d'atrophie testiculaire [52], de testicule féminisant ou de tumeur germinale extra-gonadique [53].

Il s'agit d'une lésion pré-cancéreuse asymptomatique, non invasive, limitée à l'épithélium testiculaire (absence d'effraction de la membrane basale). Les cellules qui le composent présentent de nombreuses anomalies : atypies cytonucléaires, mitoses anormales, désorganisation structurale... D'un point de vue morphologique et immunocytologique, elles s'apparentent à des gonocytes : elles expriment par exemple, la phosphatase alcaline placentaire.

Le TIN se développerait pendant la vie fœtale, à partir de cellules germinales primordiales [54] dans les tubules séminifères. A la faveur de certains facteurs encore non élucidés, ces cellules pré-cancéreuses évolueraient vers une différenciation gonadique (séminome), embryonnaire (tumeur germinale non séminomateuse) ou extra-embryonnaire. En l'absence de traitement, Von der Maase et al estiment qu'un TIN deviendra dans la quasi-totalité des cas si ce n'est dans 100 % des cas un cancer testiculaire [55]. Pour Giwercman A., après une biopsie testiculaire, si le diagnostic de TIN est posé, 50 % de ces hommes développeront une tumeur testiculaire dans les cinq ans qui suivent (pour certains, le cancer n'apparaîtra que plus de quinze ans après) [56]. Dans le dernier consensus européen sur les tumeurs germinales, la communauté scientifique semble considérer qu'un TIN détecté dans le testicule controlatéral et non traité, se transformera en tumeur maligne dans 70 % dans les 7 ans [49].

### 5.2. HYPOTHESES CARCINO-GENETIQUES :

Des gènes et des protéines communs liés au cancer testiculaire ont été identifiés dans les cellules cancéreuses et dans le TIN [54] (annexe 1 : liste des gènes décrits

en relation avec le génome des tumeurs germinales testiculaires). Plusieurs hypothèses physiopathologiques sont avancées pour tenter d'expliquer cette transformation maligne. Nous n'en évoquons que deux.

Skakkebaeck N.E. envisage l'action de xénobiotiques environnementaux. Par leur(s) action(s) pendant la vie *in utero*, ils provoqueraient un déséquilibre hormonal et entraîneraient un retard de différenciation des gonocytes en spermatogonies. L'évolution des gonades serait perturbée et le TIN apparaîtrait. Les cellules précancéreuses seraient présentes dès la naissance, mais le véritable processus de cancérisation ne débiterait qu'à la puberté, au moment de la stimulation hormonale. Dans cette théorie, une boucle de régulation SCF/C-Kit jouerait un rôle important<sup>8</sup>. Des perturbateurs endocriniens modifieraient la production d'androgènes, et/ou supprimeraient l'expression des récepteurs aux androgènes, ou la sécrétion de LH et FSH par un phénomène de rétrocontrôle négatif, et/ou agiraient sur les cellules de Leydig (production anormale de testostérone) et/ou inhiberaient la sécrétion de InsL3 (Insulin like factor) par les cellules de Leydig fœtales [57, 58].

La seconde hypothèse est proposée par Chaganti R.S. et Houldsworth J. [59]. Elle se base sur l'observation que dans les TIN et dans presque toutes les tumeurs testiculaires germinales, on observe une surexpression du bras court du chromosome 12. La cellule siège de la transformation maligne serait un spermatocyte I au stade zygotène/pachytène de la prophase de la première division de la méiose. Au moment du crossing-over, des échanges chromosomiques aberrants se réaliseraient conduisant à une augmentation du nombre de copies de la portion p du bras court du chromosome 12 (multiplication des copies i(12p), duplication en tandem 12p *in situ* ou transposition sur un autre chromosome). Le bras court du chromosome 12 porte le gène de la cycline D2 qui contrôle l'entrée dans le cycle cellulaire au niveau du point G1-S. Un dérèglement de cette cycline pourrait initier le développement tumoral.

### 5.3. LE DEVELOPPEMENT DE LA TUMEUR :

Initialement, la tumeur est strictement intra-testiculaire. Elle s'étend progressivement au parenchyme voisin, par invasion directe ou via les tubules séminifères pour atteindre l'albuginée. L'effraction de cette membrane se fait au niveau d'une zone de faiblesse (ancien site de biopsie, implantation du rete testis...). L'extension à l'épididyme et au cordon spermatique est observée dans 10 à 15 % des cas. A un stade plus avancé, une atteinte scrotale est possible.

Les enveloppes du testicule sont drainées par les ganglions inguinaux et rétrocruraux (schéma 1) : ils sont rarement envahis car l'albuginée se comporte comme une barrière très résistante. Une extension lymphatique est cependant possible et fréquente : le cancer testiculaire est un cancer très lymphophile. Les métastases ganglionnaires les plus fréquentes sont au niveau lombo-aortique,

---

<sup>8</sup> SCF (*Stem Cell factor*) est le ligand d'une tyrosine kinase codée par le gène C-Kit. Cette interaction joue un rôle fondamental dans le contrôle par les cellules de Sertoli, de la prolifération et de la différenciation des spermatogonies A en spermatogonies B.

accessoirement au niveau iliaque homolatéral<sup>9</sup>. A un stade plus avancé, on peut observer une atteinte des ganglions sus-diaphragmatiques, sus-claviculaires (gauches surtout), ou médiastinaux après dissémination par le canal thoracique.

Les métastases hématogènes, moins nombreuses, siègent surtout au niveau pulmonaire (dispersion par le canal thoracique ou par les veines spermatiques) et beaucoup plus rarement au niveau hépatique, cérébral ou osseux. Les autres localisations métastasiques sont exceptionnelles. Ces métastases reproduisent ou non, l'histologie de la tumeur initiale.

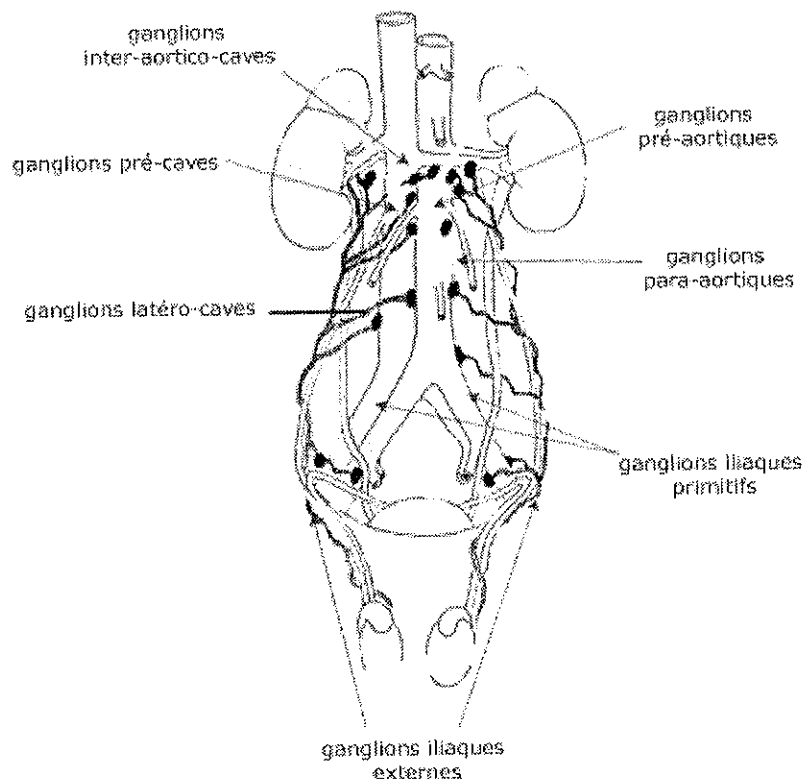


Schéma 1 - Drainage lymphatique rétro-péritonéal [60]

Le risque de survenue de métastases est supérieur si l'anatomo-pathologiste identifie sur la biopsie testiculaire :

- un contingent de CE > 80 %
- un envahissement vasculaire (lymphatique ou veineux) intra- ou péri-tumoral
- un envahissement au niveau du cordon
- un envahissement du rete testis, de l'épididyme et/ou de l'albuginée
- l'absence de tumeur vitelline (composante différenciée)

<sup>9</sup> Pour une tumeur testiculaire droite, les métastases ganglionnaires siègeront au niveau des ganglions pré-caves et inter-aortico-caves. Dans le cas d'une tumeur testiculaire gauche, l'extension se fera vers un ganglion pré-aortique, puis latéro-aortique gauche.

Ces métastases ne sont pas rares, puisque après chirurgie seule, 15 à 20 % des patients avec séminome testiculaire de stade I rechutent dans les 5 ans. Les aires ganglionnaires lombo-aortiques sont le site préférentiel de ces rechutes [61].

## II. MODALITES DE TRAITEMENT DES TUMEURS GERMINALES TESTICULAIRES

### 1. ARSENAL THERAPEUTIQUE

Ces vingt dernières années, le cancer germinal testiculaire est devenu un modèle de tumeur curable : non seulement c'est un cancer très sensible aux principes actifs cytotoxiques, mais il existe en plus, plusieurs alternatives thérapeutiques. Ainsi, entre 1978 et 1989, le taux de rémission à 5 ans est passé de 12 % à 79,9 % (et jusqu'à 91,9 % selon les études) [62]. Une prise en charge multidisciplinaire permet de choisir pour chaque patient le meilleur traitement, notamment pour les cancers testiculaires de faible stade, guéris par une intervention minimale, et pour lesquels il existe un risque de sur-traitement.

L'efficacité de ces traitements permet d'envisager maintenant une survie à 5 ans voisine de 90 % [10]. Les oncologues disposent donc d'un large arsenal thérapeutique dont il faut user avec modération, doigté et rigueur. Ils doivent choisir le protocole adéquat et minimiser au maximum les effets secondaires. Ces derniers en effet, altèrent la qualité de vie de ces patients jeunes dont la survie est estimée à 40 ans (à l'issue de l'annonce de leur rémission) [63]. De plus, ils coûtent cher à la société et dans certains cas, augmentent la morbidité.

#### 1.1. LA CHIRURGIE :

##### 1.1.1. L'ORCHIDECTOMIE :

C'est un geste diagnostique et thérapeutique. Il doit être réalisé avant toute chimiothérapie ou radiothérapie en l'absence de métastases. Si le cancer est déjà disséminé, cette chirurgie radicale pourra être retardée. Dans le cadre d'un cancer testiculaire bilatéral (exceptionnel), ou d'un diagnostic de TIN controlatéral, une chirurgie préservant en partie un testicule peut être envisagée. Elle ne s'adresse qu'à des équipes chirurgicales très expérimentées, et doit être limitée à des essais cliniques.

La pose d'une prothèse doit être proposée au patient.

Une auto-conservation de sperme doit être envisagée avant ou après l'opération.

### 1.1.2. LE CURAGE GANGLIONNAIRE :

Réalisée de manière quasi-systématique dans les pays anglo-saxons ou en Allemagne, la lymphadénectomie lombo-aortique<sup>10</sup> est effectuée avec parcimonie en France en raison du risque de survenue d'une éjaculation rétrograde secondaire à la section des nerfs sympathiques lombaires au moment de l'acte chirurgical.

### 1.2. LA SURVEILLANCE EXCLUSIVE :

Si le compte-rendu anatomopathologique et le bilan d'extension sont en faveur d'un cancer testiculaire de bon pronostic, le cancérologue pourra proposer à son patient un simple suivi, et une abstention thérapeutique. Cette alternative ne peut être envisagée que chez des sujets compliants, éduqués (autopalpation), vivant à proximité de centres spécialisés dans la prise en charge de cette pathologie. Même si 80 % des hommes atteints par un séminome de stade I, et 78 à 86 % [64-66] des hommes atteints par un TGNS de stade I [67-69] n'ont pas besoin de radiothérapie ou de chimiothérapie adjuvante après natale, une surveillance seule peut être à l'origine d'un stress psychologique difficile à gérer pour des patients.

Cette surveillance étroite s'étale sur 6 à 7 ans. Elle repose sur des examens cliniques, des dosages de marqueurs tumoraux, des radiographies pulmonaires et des scanners abdomino-pelviens répétés. Si dans ce laps de temps une rechute survient, elle est presque toujours curable.

### 1.3. LA CHIMIOTHÉRAPIE [70-74] :

En 1983, Peckham M.J. rapportait les premiers succès thérapeutiques du protocole BEP (cisplatine, étoposide, bléomycine) dans le traitement des cancers testiculaires métastatiques [75]. Depuis, ce protocole s'est imposé comme le traitement de choix des tumeurs germinales testiculaires non séminomateuses. Il a détrôné le protocole PVB à l'origine de nombreux effets secondaires. Le nombre de cures à administrer à chaque patient doit être discuté en comité de chimiothérapie en fonction des facteurs pronostiques de chaque tumeur (2 à 4 cures en général).

Dans le cas d'une insuffisance respiratoire ou d'une sensibilité à la bléomycine, le protocole EP pourra se substituer au BEP. De plus, si un patient présente une hypoacousie, le carboplatine pourra remplacer le cisplatine (protocole BEC). Enfin, face à un séminome de stade I, une simple cure de carboplatine a conduit à de très bons résultats [76].

La chimiothérapie adjuvante constitue un traitement systémique : les effets secondaires attendus sont donc plus importants qu'avec une prise en charge locale (chirurgie), ou loco-régionale (radiothérapie). Cependant, cette attitude thérapeutique permet aussi de traiter des micro-métastases susceptibles d'échapper au diagnostic.

---

<sup>10</sup> Si la tumeur siège sur le testicule droit, le chirurgien retire les ganglions latéro-caves, pré-caves et inter-aortico-caves. Si la tumeur concerne est localisée à gauche, le curage est limité aux ganglions para-aortiques, pré-aortiques, et inter-aortico-caves.



## 1.4. LA RADIOTHERAPIE :

C'est le traitement adjuvant de choix pour les séminomes testiculaires de stade I. De nombreuses études ont porté sur la réduction des doses à délivrer et la géométrie des champs d'irradiation. L'EGCCCG recommande une irradiation testiculaire de 20 Gy (dose totale) au moyen d'un accélérateur linéaire (5 séances de 2 Gy par semaine). Une extension du champ à la région ipsilatérale iliaque, inguinale ou scrotale n'est pas conseillée même s'il existe des antécédents de cryptorchidie, de violations scrotales ou inguinales, ou s'il s'agit de tumeurs primaires de stade pT2 ou pT3. Enfin, il est conseillé de protéger le testicule restant [49].

La radiothérapie peut être indiquée dans la prise en charge des séminomes IIa et IIb. Dans ce cas, le champ d'irradiation s'étend aux ganglions lymphatiques paraaortiques et ipsilatéraux iliaques. Le rythme d'administration est identique à celui des séminomes I, mais la dose totale délivrée est de 30 Gy pour un stade IIa et 36 Gy pour un stade IIb [49].

## 1.5. AUTRES TRAITEMENTS :

Après traitement, des masses résiduelles de plus de 3 cm peuvent persister : une chirurgie d'exérèse complémentaire est alors nécessaire. L'analyse histologique des pièces opératoires permettra de mettre en évidence une nécrose et une fibrose signant une guérison, ou la persistance de cellules tumorales obligeant le clinicien à débiter un traitement supplémentaire.

Enfin, exceptionnellement, face à des cancers au stade métastatique, le traitement curatif pourra combiner chimiothérapie et radiothérapie.

Quelque soit le traitement retenu, les patients seront suivis régulièrement par leur oncologue ou leur urologue après l'annonce de la rémission. Cette surveillance s'étalera sur 5 à 7 ans suivant le stade de la tumeur au moment du diagnostic (voir annexe 2 et 3 : protocoles de surveillance des tumeurs germinales).

## 2. LA CHIMIOOTHERAPIE :

La chimiothérapie anti-cancéreuse est basée sur une association de principes actifs cytotoxiques. Les produits combinés doivent avoir des mécanismes d'action et de résistance différents, des voies métaboliques qui ne doivent pas entrer en compétition, et des toxicités aiguës non identiques.

Les médicaments cytotoxiques peuvent être classés en 3 catégories:

- les anti-métaboliques : anti-folique, analogues des bases puriques ou pyrimidiques
- les poisons du fuseau : certains empêchent la polymérisation des micro-tubules (alcaloïdes de la pervenche), d'autres inhibent leur dépolymérisation (taxanes) ; ils empêchent le bon déroulement de la mitose.

- les agents actifs sur l'ADN :
  - les alkylants : formation de ponts intra-, ou inter-caténares qui inhibent la réplication de l'ADN...(ifosfamide)
  - les intercallants qui en s'insèrent entre deux bases adjacentes modifient la structure de la double hélice et inhibent la transcription et la réplication: anthracycline.
  - les inhibiteurs d'enzymes : topotécan, étoposide...
  - les agents scindants : bléomycine

Grâce aux progrès de la pharmacologie moléculaire, de nouveaux principes actifs sont apparus ces dernières années dans le traitement anti-cancéreux. Certains agissent directement sur le métabolisme des cellules tumorales (L-Asparaginase et lymphoblastes), d'autres ont pour cible des signaux de transduction cellulaire (le Glivec<sup>®</sup> utilisé dans le traitement des LMC inhibe une tyrosine kinase *bcr-abl* présente uniquement dans les précurseurs malins de la lignée granuleuse hématopoïétique). Enfin, le recours à des anticorps monoclonaux est prometteur (Ac anti-CD20 et lymphome par exemple).

Dans le cadre du traitement du cancer du testicule, les 3 principes actifs retenus dans le protocole de référence sont : le cisplatine, l'étoposide et la bléomycine.

## 2.1. LE CISPLATINE :

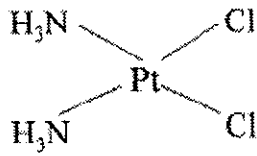
### 2.1.1. HISTORIQUE :

La découverte du pouvoir anti-prolifératif du cisplatine remonte à 1965 : Rosenberg et ses collaborateurs observaient une inhibition de la croissance de *E. coli* dans une solution de chlorure d'ammonium parcourue par un courant électrique entre deux électrodes de platine. Ils attribuaient cet effet cytotoxique à la présence de dichlorodiamine-platine, un produit connu depuis 1845.

Depuis la découverte du cisplatine, de très nombreux dérivés dits de deuxième génération ont été synthétisés : le carboplatine, l'ipropatine, l'oxaliplatine ... des principes actifs présentant soi-disant, moins d'effets secondaires et une activité anti-tumorale importante. Pourtant, en pratique, le CDDP (cisplatine) est l'un des antinéoplasiques les plus utilisés et les plus puissants.

### 2.1.2. STRUCTURE :

La molécule de cisplatine est un complexe de coordination plan carré. L'atome de platine est lié de manière covalente à 2 groupements inertes d'ammoniaques et 2 groupements chlorures labiles en position cis (l'isomère trans est inactif). C'est un agent hydrosoluble, très électrophile : il est donc susceptible de réaliser des liaisons covalentes avec des molécules nucléophiles.



*Cis*-diamminedichloroplatinum (II) ou CDDP

En présence d'eau, le cisplatine peut perdre un ou les groupement(s) chlorure(s) : la forme hydratée (aqua ou di-aqua) est beaucoup plus réactive que la forme chlorée (les deux formes restent en équilibre).

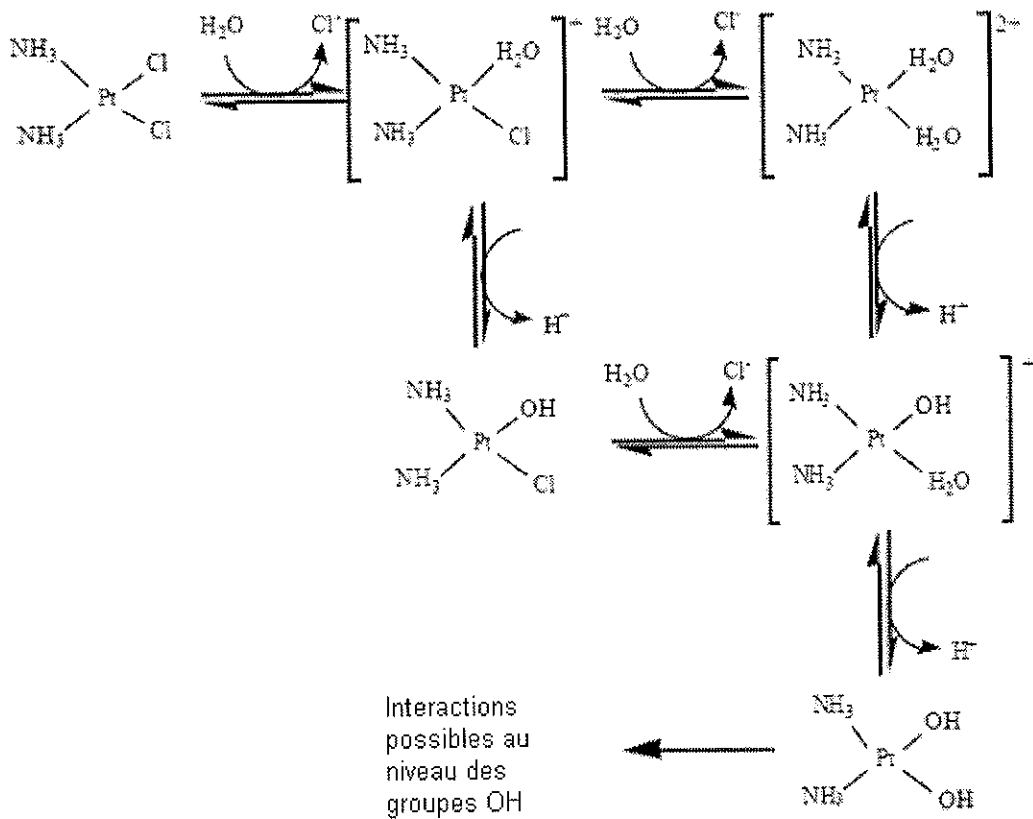


Schéma 2 – Hydrolyse de la molécule de cisplatine (d'après Bose R.) [77]

L'hydrolyse du cisplatine n'est observable que dans le milieu intra-cellulaire. En effet, les concentrations en ions chlorures sont trop importantes dans le milieu extra-cellulaire pour que la molécule perde l'un de ses groupements hydroxyles (la  $[\text{Cl}^-]_{\text{extra-cellulaire}}$  est de l'ordre de 100 mM alors que la  $[\text{Cl}^-]_{\text{intra-cellulaire}}$  avoisine les 10-20 mM).

### 2.1.3. DONNEES PHARMACOCINETIQUES :

Le cisplatine ne s'administre que par voie IV. Il se lie à 90 % aux protéines plasmatiques. La distribution tissulaire est très rapide : il s'accumule surtout au

niveau des reins, du foie, de l'intestin grêle et du colon, mais peu dans le système nerveux central.

La cinétique du cisplatine obéit à un modèle triphasique : la demi-vie initiale d'élimination est de 25 à 50 minutes, et de 58 à 73 heures en phase terminale. L'élimination est essentiellement urinaire : 30 % de la dose est excrétée en 24 heures, 43 % en 5 jours. L'élimination par la voie biliaire et la voie intestinale semble minime.

Gietema et al. ont dosé chez 61 patients traités par BEP ou PVB dans le cadre d'un cancer testiculaire, la concentration plasmatique du CDDP. Ils ont détecté du cisplatine circulant plus de 10 ans après la fin de la chimiothérapie ; 20 ans après, il resterait encore du cisplatine dans l'organisme. La concentration maximale observée 10 ans après le traitement (140 pg/g de plasma), a été dosée chez un malade qui avait reçu entre 300 et 450 mg/m<sup>2</sup> de cisplatine [78]. Ces résultats sont le reflet d'une élimination extrêmement lente du cisplatine. Pour une dose cumulée de 400 mg/m<sup>2</sup>, Gietema J.A. estime que la demi-vie du CDDP est de 4 à 6 ans. La cinétique de décroissance est corrélée à la dose totale administrée, à la fonction rénale et au temps. Cette rétention pourrait être à l'origine des effets secondaires prolongés de ce cytotoxique [79].

#### 2.1.4. MECANISME D'ACTION :

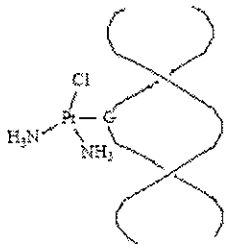
Le véritable mécanisme d'action du cisplatine n'est pas encore clairement élucidé. Depuis sa découverte, on considère que le cisplatine agit sous sa forme mono- et surtout di-aqua, en se fixant sur l'ADN [80] : il est assimilé à un agent alkylant. Sa cytotoxicité serait liée à la formation d'adduits de platine sur la double hélice : en l'absence de réparation, la cellule s'engagerait dans la voie de l'apoptose.

##### 2.1.4.1. INTERACTIONS DU CISPLATINE DANS LA CELLULE :

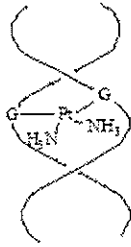
###### *LE MODELE DE LIAISON A L'ADN :*

Selon cette théorie, après diffusion passive à travers la membrane cellulaire, le cisplatine se lierait de manière covalente à l'ADN au niveau de groupes réactifs tels que l'atome d'azote N<sub>7</sub> de la guanine, les atomes N<sub>7</sub> et N<sub>1</sub> des adénines, l'atome N<sub>3</sub> de la cytosine et, l'atome O<sub>6</sub> de la guanine dans une moindre mesure. Chaque molécule de cisplatine peut accomplir 2 liaisons. Ces deux liaisons peuvent se réaliser sur :

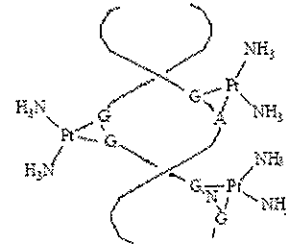
- une même base
- sur deux bases différentes situées sur le même brin d'ADN
- sur deux bases localisées chacune sur un des 2 brins d'ADN



Liaison monocaténaire



Liaison inter-brin



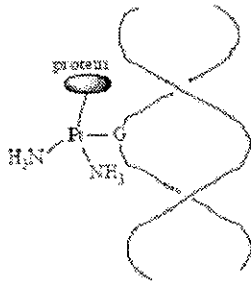
Liaison intra-brin

Schéma 3 – Interaction d'une molécule de cisplatine avec l'hélice d'ADN

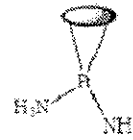
Ces liaisons inter- et intra-brins sont à l'origine de la formation d'adduits de platine: 60 à 70 % des adduits sont réalisés entre deux bases guanine voisines situées sur un même brin d'ADN (liaison 1,2-d(GpG) ou G^G), et 10 à 20 % entre une guanine et une adénine adjacentes. La cytotoxicité du cisplatine reposerait sur la formation de liaisons intracaténares Ptd(GpG) à l'origine d'une déformation de la structure de l'ADN (la double hélice se courbe et se vrille). Longtemps, on a pensé que la formation des doubles liaisons était à la base de l'action anti-tumorale du CDDP, pourtant d'autres dérivés du platine capables de se lier par un seul site sur l'ADN ont aussi une réelle action sur les cellules cancéreuses [77].

#### AUTRES LIAISONS POSSIBLES DU CISPLATINE :

Le cisplatine est susceptible de réagir avec des protéines porteuses de groupements nucléophiles, tels que -SH ou -NH<sub>2</sub> (schéma 4).



Liaison entre une protéine et une base nucléotidique



Liaison unique sur une protéine

Schéma 4 – Interactions entre le cisplatine et une protéine

De très nombreuses combinaisons d'adduits pourraient donc coexister dans une même cellule, et toutes pourraient jouer un rôle dans le mécanisme d'action du cisplatine (schéma 5).

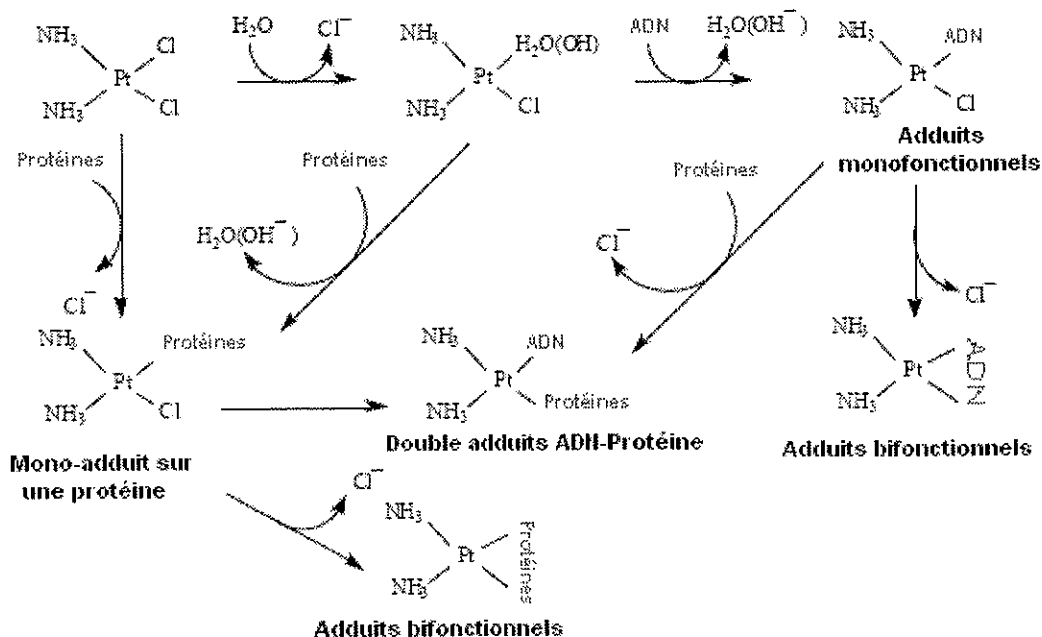


Schéma 5 - Modèles d'interactions du cisplatine avec les composants cellulaires (d'après Bose R.) [77]

Les adduits formés devraient normalement être éliminés par la cellule grâce à un système de réparation par excision de nucléotide (système NER). Pourtant, la cellule peine à s'en débarrasser. Pour expliquer la persistance des adduits dans les cellules, Lippard et al, en se basant sur le modèle de liaison à l'ADN, envisagent une théorie de camouflage des adduits de cisplatine [81]. Ils évoquent une homologie de structure entre les adduits 1,2-GAG et un site de liaison reconnu par de petits peptides de la famille des protéines HMG (high-mobility-group)[82]. En se fixant au niveau des adduits, ces protéines pourraient masquer des sites reconnus par les ADN polymérases. Ce camouflage inhiberait alors l'initiation de la réparation par excision (schéma 6). Ces protéines HMG pourraient aussi être impliquées dans l'action cytotoxique du CDDP.

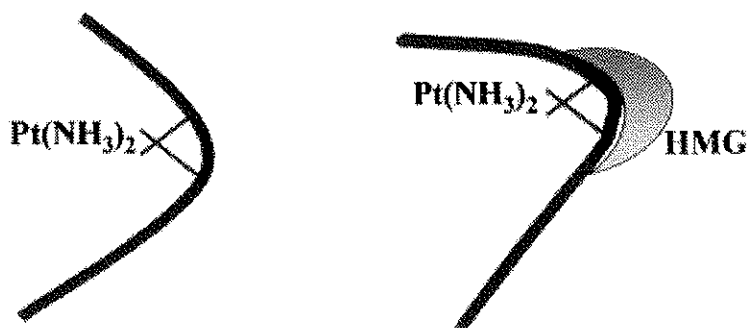


Schéma 6 – Interaction entre l'adduit de cisplatine et une protéine HMG [83]

#### 2.1.4.2. LE MECANISME D'ACTION DU CISPLATINE :

Bien que les effets du cisplatine ne soient pas encore précisément connus, on suppose que l'action cytotoxique du CDDP est multiple : inhibition de la réplication, inhibition de la transcription et induction de l'apoptose des cellules en phase G<sub>2</sub>. Il semble que les actions anti-tumorales du cisplatine soient liées aux liaisons du CDDP sur les protéines, plus que par les liaisons sur l'hélice d'ADN. En effet, le modèle d'action basé sur la liaison du cisplatine à l'ADN, est mis à mal par de nombreuses expériences [77] : 1 à 2 % de la dose de cisplatine injectée se fixerait seulement sur l'ADN [84].

##### *ACTION ANTI-TRANSCRIPTIONNELLE :*

De très nombreux facteurs de transcription appartiennent à la famille des protéines HMG. Le facteur TBP (TATA-binding protein) par exemple, est un facteur transcriptionnel commun aux 3 ARN polymérases : il se fixe sur la TATA box. Or, il existe une homologie structurale entre la TATA box et les adduits de cisplatine, 1,2-G<sup>+</sup>G. En raison d'une affinité de liaison 200 fois supérieure à celle de la TATA box [85], TBP se lie préférentiellement sur les adduits de cisplatine. On obtient donc un défaut de transcription des ARN polymérases, par défaut de fixation sur la TATA box (phénomène de compétition). Le même phénomène s'observerait pour le facteur de transcription UBF (upstream binding protein) dont la liaison sur les adduits 1,2-G<sup>+</sup>G provoquerait un défaut d'initiation de la transcription de l'ARN polymérase I [83].

Le cisplatine pourrait donc avoir pour principale cible l'ADN ribosomique : les cellules qui produisent beaucoup de protéines telles que les neurones seront particulièrement sensibles au cisplatine. Ceci pourrait expliquer la très forte toxicité neurologique de ce produit [86].

##### *ACTION PRO-APOPTOTIQUE :*

Le cisplatine semble agir aussi via le système d'apoptose. Après l'échec de réparation par le système d'excision nucléotidique, l'adduit est repéré par des protéines de réparation des erreurs et le cycle cellulaire se bloque en phase G<sub>2</sub>. Il s'en suit une élimination de la cellule par induction de la mort cellulaire programmée [83]. Plusieurs voies sont impliquées : la voie mettant en jeu p53 bien sûr, mais d'autres voies d'induction apoptotique sont concernées puisque des cellules cancéreuses avec une p53 mutée sont moins sensibles à l'action du cisplatine [87], mais pas totalement résistantes pour autant.

La voie impliquant p73 pourrait aussi entrer en jeu : le cisplatine en se liant sur une tyrosine kinase c-Abl, activerait c-Abl, un médiateur essentiel à l'arrêt du cycle cellulaire quand il existe un dommage sur l'ADN. Son activation potentialiserait l'effet pro-apoptotique de p73 [88], entraînant la mort de la cellule.

La mort des cellules pourraient aussi faire intervenir des protéines de la famille Bcl-2 dont l'expression est induite par le cisplatine [89], ou l'activation d'une cascade de kinases-stress [90], ou une perte des télomères [91].

## CRITIQUE DU MODELE D'ACTION BASE SUR LA LIAISON A L'ADN :

Cette théorie considère que la forme di-aqua est majoritairement responsable de l'effet anti-cancéreux, grâce à la formation de liaisons intra-brin 1,2-G<sup>+</sup>G. Or des dérivés du platine dotés d'une activité anti-tumorale certaine, ne réalisent que des liaisons simples sur l'ADN [92]. Le mécanisme d'action du cisplatine basé sur la forme di-aqua, n'est donc certainement pas le seul mécanisme d'action du cisplatine à envisager.

De plus, la cytotoxicité du cisplatine ne semble peut-être pas liée exclusivement à la concentration intracellulaire d'adduits. En effet, alors qu'il faut 200 fois plus de carboplatine que de cisplatine pour obtenir la même quantité d'adduits sur l'ADN, une concentration de carboplatine 4 à 20 fois supérieure à la concentration de cisplatine seulement, est nécessaire pour obtenir le même effet cytotoxique [93, 94]. Une autre voie d'activité doit donc exister.

Le cisplatine possède une forte affinité pour les molécules porteuses de groupements thiols (cystéine, glutathion...) dont les concentrations intra-cellulaires sont de l'ordre de 10 mMol/L. Une équipe ayant estimé que 1 à 2 % de la dose de cisplatine injectée seulement se liait à l'ADN [77], il est fort probable que le CDDP interagisse avec ce type de composés. L'existence de ces liaisons implique nécessairement un mécanisme d'action du cisplatine indépendant de la liaison sur l'ADN.

Les ADN polymérases pourraient elles aussi, jouer un rôle déterminant dans la cytotoxicité du cisplatine. Dans le modèle de liaison à l'ADN, l'ADN polymérase  $\beta$  serait incapable de réparer les adduits. D'autres enzymes telles que l'ADN polymérase  $\alpha$  (enzyme impliquée dans la réplication de l'ADN) pourraient intervenir dans la cytotoxicité du cisplatine. Des équipes ont incubé des enzymes et du CDDP pendant deux heures, puis ont mesuré l'activité de plusieurs ADN polymérases : ces expériences ont mis en évidence une inhibition totale de leur activité [77, 95]. Ce mode opératoire va à l'encontre du modèle de liaison à l'ADN. Dans ce modèle, l'inhibition enzymatique semble secondaire à une action directe du cisplatine sur les enzymes et non à sa liaison sur la double hélice. Cet effet découle-t-il d'un changement conformationnel de l'enzyme ? D'un blocage de son site actif ? Dans le cas de l'ADN polymérase  $\alpha$ , des domaines riches en résidus cystéine organisés en doigt de zinc ont été identifiés au niveau des sites de liaison de l'enzyme sur l'ADN. Le CDDP pourrait modifier cette structure, empêchant ainsi l'enzyme de se fixer sur l'ADN : la réplication ne pourrait pas débuter.

De la même façon, le cisplatine pourrait agir directement sur certains facteurs transcriptionnels, ou sur les ARN polymérases dont la structure tertiaire renferme aussi des motifs en doigt de zinc. Une sensibilité au cisplatine a été mise en évidence pour d'autres enzymes telles que la thioltransférase, une enzyme qui régénère la vitamine C oxydée par des radicaux libres, en vitamine C active. Elle est inactivée en présence de CDDP. L'effet anti-tumoral pourrait donc aussi impliquer les radicaux libres (action indirecte sur cisplatine) [96].

Le mécanisme d'action du cisplatine est inconnu dans sa globalité, mais il semble certain que les adduits de cisplatine sur l'ADN ne peuvent seuls, être à l'origine de



l'effet anti-cancéreux. La cytotoxicité du CDDP résulte sûrement d'une combinaison d'interactions entre le cisplatine et l'ADN et entre le cisplatine et certaines protéines (enzymes ou autres...)

### 2.1.5. LES EFFETS SECONDAIRES :

Les adduits formés par le cisplatine ne seraient pas à l'origine des effets secondaires majeurs de ce médicament. Ce sont les radicaux libres générés par le cisplatine, qui pourraient expliquer en partie les effets indésirables du CDDP en raison de leur haute réactivité [97].

#### 2.1.5.1. LES EFFETS A COURT TERME :

Le cisplatine est une drogue qui présente une toxicité digestive forte. Les vomissements surviennent dans les 6 heures qui suivent l'administration, et durent en moyenne un jour. Un état nauséux peut s'installer ensuite pendant plusieurs jours. Le CDDP agirait à la fois au niveau central (excitation des chémorécepteurs de la trigger zone, et action sur la medulla oblongata qui abrite le centre du vomissement), et au niveau périphérique (action au niveau du pharynx et du tractus gastro-intestinal) où il pourrait induire une libération de sérotonine par les cellules entérochromaffines intestinales. Cette hormone stimule les nerfs vagues et provoque le vomissement. La prescription d'un anti-émétique de la famille des sétrons est très souvent associée à l'administration de cisplatine, mais elle s'avère parfois insuffisante. Des corticoïdes voire des anxiolytiques peuvent alors atténuer cet effet indésirable.

Une toxicité neurologique survient dès une dose cumulée supérieure à 300 mg/m<sup>2</sup> : les ganglions de la racine dorsale sont les premiers atteints, et constituent un site préférentiel d'accumulation du cisplatine [98]. Il s'agit principalement d'une neuropathie périphérie sensitive qui se traduit par des paresthésies des extrémités supérieures et inférieures (fourmillements plus ou moins permanents), puis par une altération de la sensibilité profonde (évolution vers l'ataxie). Ces symptômes disparaissent à l'arrêt de la chimiothérapie, mais des troubles plus ou moins invalidants persistent chez 20 à 60 % des patients. Physiologiquement, on observe une dégénération axonale, une démyélinisation secondaire des nerfs périphériques et une accumulation du cisplatine dans le ganglion dorsal. Cette neurotoxicité pourrait résulter d'une peroxydation lipidique par des radicaux libres générés [97]. Aucune neuropathie végétative n'a été mise en évidence, mais des atteintes du système nerveux moteur peuvent accompagner des intensifications de traitement.

Une toxicité auditive est observée chez 20 à 40 % des malades recevant une dose cumulée de 500 mg/m<sup>2</sup> [99] : elle se traduit par une hypoacousie pour les hautes fréquences (4 à 8 MHz), un tinnitus, une perte de sélectivité de l'oreille... Cet effet pourrait être secondaire à une atteinte de la huitième paire de nerfs crâniens, ou à une altération des mécanismes de sécrétion de l'organe de Corti [100], ou à une altération des cellules ciliées de la cochlée (avec modification du transport Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATP dépendant) [97]. Avec des doses plus élevées, une ataxie d'origine vestibulaire peut être associée. On ne connaît pas encore la réversibilité de ces effets secondaires. C'est une toxicité dose dépendante et Cmax dépendante.

Enfin de rares cas d'allergie au produit sont rapportés (éruption cutanée).

### 2.1.5.2. LES EFFETS A LONG TERME :

La toxicité rénale du CDDP est quasi constante : nécrose focale aiguë des tubules distaux convolutés et des conduits collecteurs, dilatation des tubules convolutés, formation de calculs. Ces altérations de la fonction rénale semblent irréversibles et auraient pour origine une peroxydation des membranes tubulaires : plusieurs études font état d'une diminution de la fonction glomérulaire à long terme chez 20 à 30 % des malades traités avec du cisplatine (tableau 3).

Etudes	Nombre de patients	Suivi (mois)	Dose moyenne de CDDP administrée (mg/m <sup>2</sup> )	Diminution moyenne du taux de filtration glomérulaire (%)
Fjeldborg et al [101]	22	16-52	452	12.5
Daugaard et al [102]	30	non précisé	1200 mg (absolu)	30
Hansen et al [103]	34	43-97	583	8-15
Hamilton et al [104]	22	8-59	400	19
MacLeod et al [105]	17	6-60	720 mg (absolu)	28
Groth et al [106]	25	12	600	29
Bisset et al [107]	74	13-125	400	23
Osanto et al [108]	36	18-112	483	20

Tableau 3 – Récapitulatif des différentes études ayant mis en évidence une altération de la fonction rénale après administration de cisplatine [109]

Cette néphrotoxicité s'accompagne d'une hypomagnésémie et une hypocalcémie secondaires : l'effet hypocalcémiant est maximum au 10<sup>e</sup> jour, et persiste jusqu'à 1 mois post traitement. Il est aggravé si un aminoside, l'ifosfamide,... ou tout autre médicament nocif pour le rein est associé. Le fractionnement de la dose de cisplatine (5 fois 20 mg/m<sup>2</sup> contre 2 fois 50 mg/m<sup>2</sup>) permettrait de diminuer la toxicité sur la filtration glomérulaire [109]. L'administration de cisplatine doit toujours être accompagnée d'une hyperhydratation et d'une diurèse forcée pour limiter l'incidence des effets toxiques sur la fonction rénale.

Des problèmes cardiovasculaires sont aussi fréquemment observés chez les malades traités par cisplatine [110, 111]. L'hypomagnésémie, une hypertension artérielle secondaire à une augmentation de la sécrétion d'aldostérone et de rénine [111], une hyperlipidémie ou une altération de l'endothélium vasculaire par le CDDP pourraient en être responsables.

### 2.1.6. LES INDICATIONS :

- cancer du testicule (protocole B.E.P., E.P., V.I.P.)
- cancer de l'ovaire (protocole Taxol-CDDP, Cyclophosphamide-CDDP)
- cancer de la sphère ORL (protocole 5-FU + CDDP)
- cancer de l'œsophage (protocole 5-FU + CDDP)
- cancer du col utérin (protocole 5-FU + CDDP)

- cancer de la vessie (protocole M.V.A.C. ou Gemcitabine-CDDP)
- cancer épidermoïde

### 2.1.7. PRECAUTIONS D'EMPLOI :

Afin de limiter les effets secondaires du cisplatine, on s'oriente maintenant vers l'utilisation de molécules susceptibles de protéger les cellules normales sans modifier l'efficacité anti-tumorale du CDDP.

L'amifostine est un composé organique triphosphaté qui se comporte comme une prodrogue. Après la perte d'un groupement phosphate, le métabolite actif (WR-1065) se lie aux phosphatases alcalines liées aux tissus. Son action est multiple : suppression de radicaux libres, don d'atome d'hydrogène, prévention ou suppression de la formation d'adduits de platine. Une étude chez 31 patients de Bokemeyer et al en 1997 [112] rapporte une réduction des effets secondaires néfastes sur le rein.

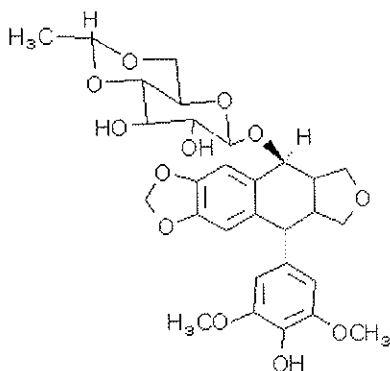
### 2.1.8. SPECIALITES :

- Cisplatyl ®

## 2.2. L'ETOPOSIDE :

### 2.2.1. STRUCTURE :

L'étoposide (ou VP-16) est une molécule glycosidique hémisynthétique dérivée de la podophyllotoxine, principe actif extrait de la résine de *Podophyllum peltatum* (mandragore vivant en Amérique), ou de l'Emodi (plante herbacée d'Inde). L'étoposide est un inhibiteur des ADN topoisomérases II. Il ne possède aucune propriété d'interaction avec le fuseau, contrairement à la podophyllotoxine qui se fixe sur la tubuline [73].



(O-éthylidène-4,6 bêta-D-glucopyrannoside)-9 déméthyl-4'épipodophyllotoxine

Schéma 7 – Structure de la molécule d'étoposide

### 2.2.2. DONNEES PHARMACOCINETIQUES [71, 73, 74, 113] :

L'administration de l'étoposide peut être orale (50 % d'absorption intestinale) ou parentérale (pic de concentration plasmatique = 30 µg/mL).

L'étoposide se lie très fortement aux protéines (94 %), et se distribue largement dans l'organisme (foie, reins, cœur, rate, cerveau, intestin). La diffusion méningée est faible (la concentration dans le LCR est environ égale à 1-10 % à la concentration plasmatique). Le volume de distribution = 0,36 +/- 0,15 litre / kg.

L'élimination est essentiellement urinaire (30 à 60 % de la dose dont 50 % sous forme inchangée). Il faudra donc tenir compte de la fonction rénale du patient et réduire si nécessaire la dose administrée en fonction de sa clairance à la créatinine. La clairance de l'étoposide = 0,68 +/- 0,23 mL.min<sup>-1</sup>.kg<sup>-1</sup>. La bile participe aussi à l'élimination.

Sa demi-vie est de l'ordre de 8,1 +/- 4,3 heures.

### 2.2.3. LES ADN TOPOISOMERASES II :

Les ADN topoisomérase II furent découvertes pour la première fois en 1976, par Gellert M. qui identifia chez *E. coli* une ADN gyrase (quelques années avant, en 1971, Wang J.C. rapportait l'existence des ADN topoisomérase I<sup>11</sup>[114]).

Ces enzymes ubiquitaires jouent un rôle fondamental dans l'homéostasie cellulaire en agissant sur la topologie de l'ADN. Il existe deux isoformes d'ADN topoisomérase II:

- la Topo II $\alpha$  dont la concentration cellulaire fluctue en fonction du cycle cellulaire : sa synthèse augmente fortement au moment de la phase S dans les cellules en cours de prolifération. Les taux maximum de Topo II $\alpha$  sont observés en phase G<sub>2</sub>/M.
- la Topo II $\beta$  exprimée de manière constante dans les cellules, indépendamment du cycle cellulaire.

Ces enzymes sont à la fois des hydrolases et des ligases. Elles se lient à l'ADN, génèrent des coupures double-brins transitoires par une réaction nécessitant de l'ATP et de l'eau, changent la topologie de la double chaîne, puis relient les deux brins. Ces cassures permettent d'ajouter, ou de supprimer des surenroulements sur la double hélice.

---

<sup>11</sup> Les ADN topoisomérase I réalisent des coupures simple brin sur l'hélice d'ADN, alors que les ADN topoisomérase II scindent les 2 brins de l'hélice.

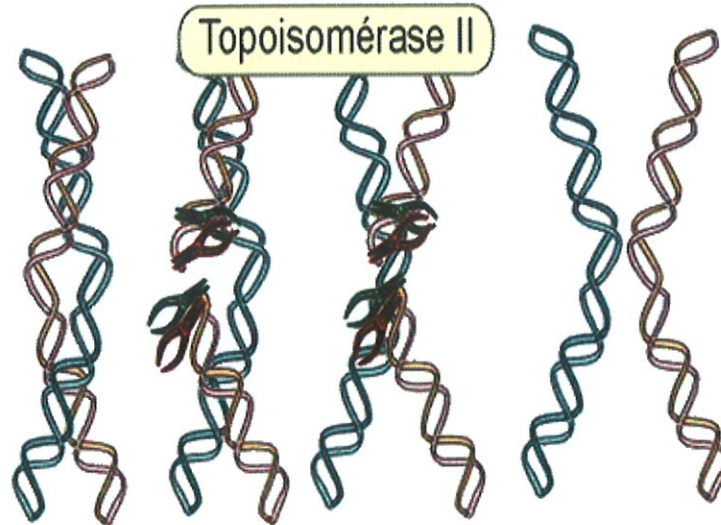


Schéma 8 - Mécanisme d'action des topoisomérases de type II [115]

Même si la structure primaire de l'ADN (succession des bases nucléotidiques) supporte l'information nécessaire à la production des ARNm et donc des protéines, l'aspect tridimensionnel de la double hélice a son importance : la morphologie de l'hélice d'ADN est aussi une source d'informations pour la cellule. En jouant sur la structure tertiaire de l'ADN, les topoisomérases II modulent donc les propriétés physiologiques des cellules.

Leur domaine d'activité est étendu : elles sont impliquées dans le maintien de la structure des chromosomes, dans la ségrégation des chromatides, ainsi que dans les phénomènes de réplication, de transcription et de recombinaison.

#### 2.2.4. MECANISME D'ACTION:

L'étoposide est un médicament phase dépendant (classe 3 selon Bruce)[113] qui inhibe les ADN topoisomérases II $\alpha$  [116] : les cellules en phase S et G<sub>2</sub> sont plus sensibles à cette drogue car c'est au cours de ces phases que la concentration cellulaire de cette enzyme est maximale. On considère souvent l'étoposide comme un poison parce qu'il transforme cette enzyme essentielle au fonctionnement normal des cellules, en véritable toxine cellulaire capable de générer des cassures dans le génome.

Après administration d'étoposide, on observe la formation d'un complexe ternaire (ADN/Enzyme/Etoposide) et une stabilisation du complexe de clivage de l'enzyme. Les 2 brins d'ADN sont scindés, mais les étapes suivantes (relaxation et re-soudure) ne peuvent avoir lieu. L'enzyme reste liée à la terminaison du brin d'ADN libre coupé. Les nombreuses brèches bicaténaire générées sur la double hélice d'ADN conduisent à un blocage des cellules en prophase et à l'accumulation de cellules en phase G<sub>2</sub>. Cet état initie une cascade d'évènements qui aboutit à la mort cellulaire.

En agissant sur l'activité catalytique de l'enzyme, l'étoposide inhibe la synthèse d'ADN et d'ARN, induit de nombreuses cassures qui fragmentent les chromosomes, génère des aberrations et des échanges entre chromatides sœurs [117], ainsi que des cassures double-brins sur l'ADN [118, 119]. L'étoposide en inhibant la ligation des brins coupés pourrait conduire à des ligations illégitimes [118, 120].

Il existe une autre catégorie d'inhibiteur des topoisomérases II. Ces anticancéreux ne stabilisent pas le complexe de clivage ADN/Enz/médicament, mais inhibent l'activité catalytique de l'enzyme en agissant comme des antagonistes : la liaison au domaine N-terminal de l'enzyme bloque l'activité ATPase intrinsèque (exemple d'inhibiteur de ces enzymes : ICRTF-154, un dérivé de la bisdioxopiperazine) [121].

## 2.2.5. LES EFFETS SECONDAIRES :

### 2.2.5.1. EFFETS SECONDAIRES PRECOCES [71, 73, 113]:

L'étoposide est un myélosuppresseur responsable de leucopénie réversible en 3 semaines environ (le nadir survient entre 10 et 14 jours après l'administration). La lignée mégacaryocytaire peut être atteinte, mais moins souvent et de manière moins intense (nadir entre J9 et J16) : la thrombopénie est réversible en 4 semaines. Cette toxicité hématologique est dose dépendante, non cumulative.

Les nausées et les vomissements à court terme sont d'autant plus fréquents que l'administration se fait par voie orale (50 % contre 15 % si voie IV). Des cas de stomatite, de diarrhée, de neuropathies, d'alopécie (grade 2) généralement réversible ont été décrits, et plus rarement des fièvres, des phlébites, des dermatites ou des réactions allergiques de type anaphylactiques [73].

Ce principe actif se liant fortement aux protéines, sa toxicité sera d'autant plus forte que la protéinémie des malades est faible. Il faudra donc s'attendre à des effets secondaires majorés chez les dénutris, les insuffisants hépatiques... Enfin, l'étoposide étant peu soluble, des excipients ajoutés à la préparation galénique pourront être à l'origine d'épisodes d'hypotension ou de bronchospasmes si la perfusion n'est pas réalisée suffisamment lentement.

### 2.2.5.2. LES EFFETS SECONDAIRES RETARDES :

L'étoposide comme tous les inhibiteurs de topoisomérases II, est responsable de leucémies aiguës (LAM4, LAM5..., LAL) dont l'incidence est cependant inférieure à celle observée avec les anticancéreux alkylants. Ces hémopathies surviennent dans les deux ans post-traitement et concernent 2 à 12 % des malades traités [122]. Aucun facteur prédisposant n'a pour le moment été isolé, mais le schéma d'administration de la chimiothérapie, un antécédent de leucémie aiguë lymphoïde ou un traitement par L-Asparaginase pourraient constituer des facteurs de risque.

L'effet leucémogène de l'étoposide serait lié à des phénomènes de translocations. En effet, des anomalies génétiques récurrentes sont souvent identifiées :

- t(11q23) : translocation du gène *MLL*
- t(8 ;21) souvent associée avec une LAM 2
- t(3 ;21)
- inv (16) : anomalie se traduisant par une hyperéosinophilie
- t(8;16)
- t(15 ;17)
- t(9 ;22)

#### 2.2.6. LES INDICATIONS [71] :

- cancer testiculaire (protocole B.E.P., BEC AUC 90)
- cancer bronchique à petites cellules (protocole A.C.E. ou C.E.V.)
- lymphomes hodgkiniens
- lymphomes non hodgkiniens (protocole PRO.MA.C.E.)
- sarcome de Kaposi associé au SIDA
- carcinome du sein
- leucémie aigue non lymphoblastique
- tumeurs gastriques (protocole E.A.P. ou E.L.F)

#### 2.2.7. SPECIALITES :

- Celltop<sup>®</sup>
- Etoposide<sup>®</sup>
- Vépéside<sup>®</sup>

### 2.3. LA BLEOMYCINE:

#### 2.3.1. STRUCTURE ET ORIGINE :

La bléomycine, découverte par Umezawa et ses collègues [123], est un mélange d'une dizaine de molécules glycoprotéiques ne se différenciant que par leur résidu aminé terminal. Les deux composés majoritaires sont la bléomycine A<sub>2</sub> (70 %) et la bléomycine B<sub>2</sub> (20 à 25 %). Cet anticancéreux naturel est produit par la fermentation de *Streptomyces verticillus*.

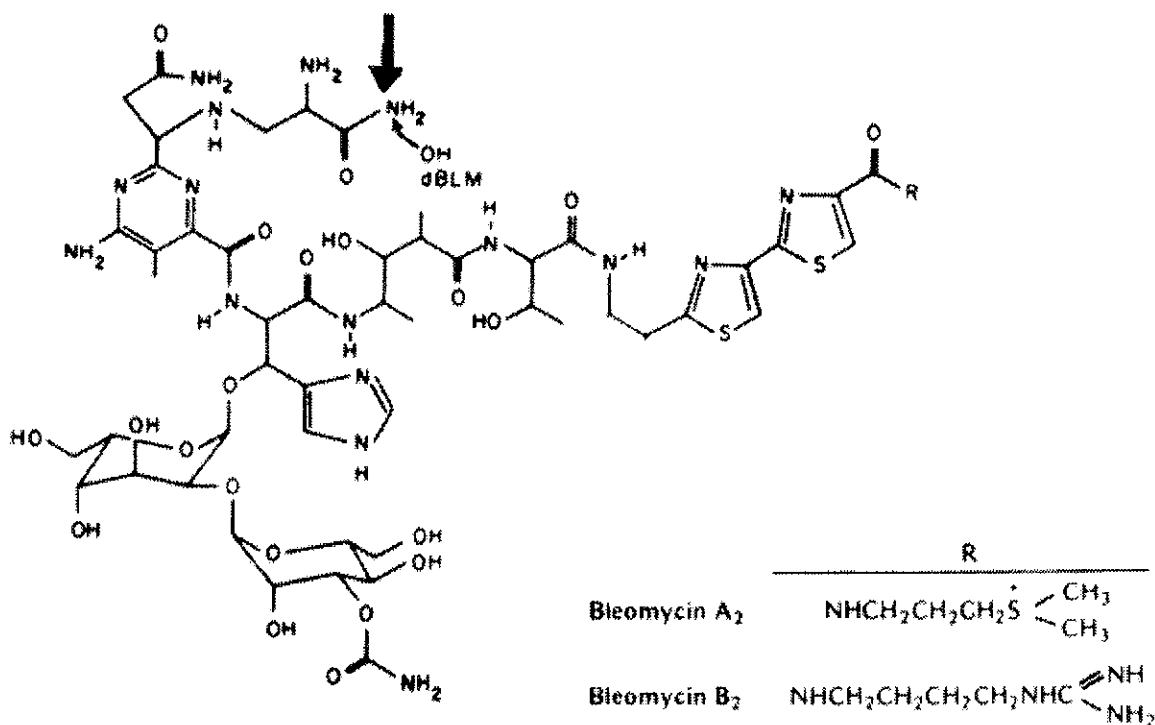


Schéma 9 – Structure de la bléomycine

La structure de base de la bléomycine peut être décomposée en 4 parties:

- une partie bithiazole qui stabilise la liaison à l'ADN
- une partie amine terminale qui pourrait intervenir dans la liaison avec l'ADN
- une partie pseudopeptidique qui lie les métaux (Fe, Cu, Co, ...)
- une partie glycanique dont le rôle est mal connu

Les 2 premières parties assurent une liaison stable et suffisamment longue pour que les 2 autres parties aient le temps de produire l'effet anti-cancéreux au moyen d'une attaque radicalaire.

### 2.3.2. DONNEES PHARMACOCINETIQUES :

L'administration de la bléomycine se fait par voie parentérale IV ou IM (ou intracavitaire dans des cas bien particuliers). La concentration plasmatique maximale est atteinte très rapidement (30 à 60 minutes après une IM). La demi-vie du produit est de 3 heures après une IV bolus, 9 heures si perfusion. On n'observe aucune liaison aux protéines plasmatiques. Sa distribution est rapide, et s'étend à l'ensemble de l'organisme (volume de distribution = 0,27 +/- 0,09 litre / kg). Cependant, en raison de son poids moléculaire très élevé, la bléomycine ne passe quasiment pas la barrière hémato-encéphalique.

Chez les animaux, les concentrations les plus élevées de bléomycine sont retrouvées au niveau de la peau et des poumons. En effet, une hydrolase responsable de la dégradation de ce médicament est présente en très faible



concentration dans ces deux sites. L'absence d'activité hydrolasique expliquerait la forte toxicité de la bléomycine sur la peau et l'appareil respiratoire [124, 125].

Les 2/3 de la dose injectée sont éliminés par le rein, probablement par filtration glomérulaire ; il faudra donc tenir compte de la clairance à la créatinine et adapter la posologie si le malade présente une insuffisance rénale.

### 2.3.3. MECANISME D'ACTION :

La bléomycine est un cytotoxique anticancéreux qui scinde l'ADN par l'intermédiaire du complexe métallique. En présence d'O<sub>2</sub> et de fer, la bléomycine se complexe au fer (bléomycine – Fe(II) – O<sub>2</sub>) et se lie à l'ADN, essentiellement au niveau des bases guanines. Après liaison sur l'hélice d'ADN, le complexe s'oxyde générant des cassures mono ou bicaténares, consécutives à la formation de radicaux libres (90 % de coupures simple brin et 10 % de coupures double brin).

Elle inhibe la synthèse de l'ADN et provoque des aberrations chromosomiques (coupure de chromatines, trous, fragments et translocations). Les cellules s'accumulent en phase G<sub>2</sub> (drogue phase-dépendante). La bléomycine agit en synergie avec le cisplatine.

### 2.3.4. LES EFFETS SECONDAIRES :

Le traitement peut s'accompagner de troubles digestifs à type d'anorexie, de nausées et de vomissements (10 à 30 %). On observe parfois une stomatite, une alopécie (grade 1-2), des vésications, une hyperkératose palmaire avec hyperpigmentation de la peau et des ongles, et un érythème des mains, des coudes et des épaules.

Une réaction anaphylactique peut survenir: rash, urticaire, bronchospasme, voire choc.

Dans les 24 à 48 heures post-administration, une fièvre accompagnée ou non de frissons (le plus souvent dans le cas du traitement des lymphomes) peut apparaître : cette fièvre, chez les malades les plus faibles, occasionne de temps en temps une hypotension et une déshydratation. Il est donc conseillé de tester la tolérance individuelle à la bléomycine à faible dose, avant de débiter l'administration de la dose curative.

Une dyspnée d'effort ou une toux sèche doivent faire évoquer une fibrose pulmonaire irréversible, et motiver un arrêt immédiat du traitement. Cette toxicité dose dépendante est majorée si une radiothérapie est associée, s'il existe une insuffisance respiratoire et/ou rénale préexistante, si le malade est âgé de plus de 70 ans ou si la dose cumulée de bléomycine est > 300 mg. On observe ainsi chez 46 % des malades traités par bléomycine une pneumonie interstitielle et 1-2% de fibrose pulmonaire [97]. Les radicaux libres libérés lèsent les alvéoles pulmonaires et induisent une inflammation: on observe alors un œdème pulmonaire, un afflux de cellules pro-inflammatoires, et un dépôt de collagène et d'élastine à l'origine de la

fibrose. Chez des souris transgéniques, un gène de susceptibilité à la fibrose pulmonaire, le gène H2-Ea, a été identifié [126].

Le traitement par bléomycine peut aussi conduire à l'apparition d'un syndrome de Raynaud. Cet effet secondaire est le reflet d'une toxicité vasculaire probablement d'origine multifactorielle. La bléomycine endommage l'endothélium vasculaire [127]: en microscopie capillaire, une altération des sillons péri-unguéaux a été observée par Bellmunt J. [128]. Cet effet secondaire est plus ou moins réversible et concerne environ 35 % des patients qui reçoivent une chimiothérapie avec de la bléomycine [111].

En raison d'une absence de toxicité hématologique et d'une toxicité gastro-intestinale modérée, la bléomycine est facilement associable à d'autres anticancéreux. Le cisplatine pourrait potentialiser la toxicité de la bléomycine en diminuant son élimination.

#### 2.3.5. LES PRECAUTIONS D'EMPLOI :

En raison de sa toxicité pulmonaire, une surveillance clinique et radiologique de la fonction respiratoire est exigée. Pour prévenir la fièvre ou les manifestations allergiques, des antipyrétiques ou des antihistaminiques peuvent être associés.

#### 2.3.6. LES INDICATIONS :

- Cancer du testicule (protocole B.E.P.)
- Cancer du pénis
- Cancer du rectum
- Carcinomes épidermoïdes des voies aéro-digestives supérieures
- Cancer du col utérin
- Cancer de la peau
- Maladie de Hodgkin (protocole E.B.V.P.)
- Lymphome non hodgkinien (protocole E.C.V.B.P. ou M.A.C.O.P.-B.)

#### 2.3.7. SPECIALITES :

- Blenoxane®
- Bléomycin®

### 2.4. LE PROTOCOLE BEP :

Le protocole BEP est le traitement de référence dans la prise en charge des tumeurs germinales testiculaires non séminomateuses: les résistances sont rares. L'extrême sensibilité des cellules cancéreuses pour ce traitement pourrait s'expliquer par une perte des pompes membranaires d'efflux (les agents cytotoxiques ne sont

pas relargués dans le milieu extra-cellulaire), par une absence d'activité des mécanismes de détoxification, par une faible aptitude à réparer les dommages causés sur l'ADN (système NER, BER), et par une absence de résistance au phénomène d'apoptose [129]. Le tératome mature semble le moins chimiosensible: ce phénotype de résistance serait lié à une différenciation d'origine somatique plus qu'à une modification de la tumeur elle-même. Si des métastases de tératome mature sont diagnostiquées après la première ligne de chimiothérapie, une résection chirurgicale de ces résidus sera nécessaire. Les modalités de traitement des TGNS sont consultables en (recommandations de l'EGCCCG [49]) : annexe 4 et 7 .

	Cisplatine (mg/m <sup>2</sup> )	Etoposide (mg/m <sup>2</sup> )	Ifosfamide** (mg/m <sup>2</sup> )	Bléomycine (mg/m <sup>2</sup> )	Délai entre 2 cures	Nombre de cycles	
						Bon pronostic	Pronostic intermédiaire ou mauvais
BEP « 5 jours »	20 J1-J5	100 J1-J5	-	30 J1, J8 et J15	22	3	4
BEP « 3 jours »	50 J1 et J2	165 J1-J3	-	30 J1, J8 et J15	22	3	-
EP	20 J1-J5	100 J1-J5	-	-	22	4	-
PEI ou VIP*	20 J1-J5	75 J1-J5	1200 J1-J5	-	22-29	-	4

\* uniquement si contre-indication à l'utilisation de la bléomycine

\*\* injection de 400 mg de Mesna en IV la veille de l'injection d'Ifosfamide, puis 1200 mg de Mesna par jour pendant 5 jours (à partir du jour d'injection de l'ifosfamide)

Tableau 4 – Protocoles de chimiothérapie utilisés dans le traitement des cancers germinaux avancés (d'après EGCCCG [49])

Les hommes traités pour un cancer testiculaire germinale ont 37 % de nevi atypiques contre 15 % dans la population saine [130]. On ne sait pas encore si le risque de survenue d'un mélanome est secondaire au traitement ou si ces malades présentent une prédisposition.

Les patients traités par le protocole BEP présenteraient un risque cardiovasculaire accru même si les cytotoxiques utilisés ne semblent pas avoir de toxicité cardiaque directe. Cette toxicité cardiaque pourrait être secondaire à une altération rénale ou à des modifications métaboliques. L'association bléomycine / cisplatine responsable de lésions de l'endothélium vasculaire, serait incriminée. Ainsi, dans son étude, Meinardi rapporte que 22 % des patients traités par BEP ou PVB ont une microalbuminurie [131]; il est reconnu que la microalbuminurie reflète un dysfonctionnement rénal [132]. L'hypo-magnésémie secondaire à l'administration du cisplatine est une autre étiologie possible. Enfin, des changements métaboliques peuvent aussi avoir un rôle néfaste. Ainsi, chez des patients traités par chimiothérapie pour un cancer testiculaire, le taux de cholestérol total mesuré est

supérieur à celui observé chez des hommes traités par une orchidectomie seule [133].

Pour Fossa S.D. [134], le protocole BEP prescrit dans le traitement des cancer testiculaire n'est pas associé à un risque accru de développement de tumeur maligne solide secondaire. Elle insiste cependant sur le fait que nous n'avons que 10 à 15 ans de recul vis-à-vis de ce protocole, et qu'il est donc trop tôt pour valider cette observation.

Des leucémies aiguës secondaires au protocole BEP peuvent être diagnostiquées dans les 4 à 7 ans post traitement. L'association étoposide et cisplatine serait incriminée. Selon Travis et al. [135], le risque d'hémopathie serait multiplié par 3 après des doses standards.

	Nombre de cas recensés	Risque relatif		
		Cancer testiculaire (tous types histologiques)	Séminome	Tumeur germinale non séminomateuse
Cancers secondaires (tous)	1406	1,43	1,42	1,50
Tumeurs solides (tous)	1251	1,35	1,35	1,36
Cancer de l'estomac	93	1,95	1,73	2,95
Cancer de l'intestin grêle	12	3,18	4,35	-
Cancer du colon	105	1,27	1,30	1,32*
Cancer du rectum	77	1,41	1,58	0,92*
Cancer du pancréas	66	2,21	2,35	1,85*
Cancer du rein	55	1,50	1,50	1,41*
Cancer du poumon	154	2,02	2,12	1,85
Mélanome	58	1,69	1,57	1,74
Cancer de la thyroïde	19	2,92	2,61	3,82
Cancer du tissu conjonctif	22	3,16	3,46	2,40*
Lymphome non hodgkinien	68	1,88	1,83	2,09
Leucémies (toutes)	64	2,13	1,92	2,78

\* non significatif

Tableau 5 – Risque relatif de cancers secondaires après traitement de cancer testiculaire [134]

Durant ces deux dernières décennies, les oncologues ont essayé de déterminer des facteurs de bon et de mauvais pronostic pour adapter au mieux le traitement : conserver le même taux de guérison mais, limiter ainsi les effets secondaires. Certains ont tenté d'éliminer la bléomycine, d'autres ont remplacé le cisplatine par le carboplatine, d'autres enfin ont réduit le nombre de cures. Actuellement, l'EGCCCG préconise dans le traitement des TGNS le protocole BEP en première ligne. En face d'un échec thérapeutique, une deuxième ligne de chimiothérapie pourra être conduite un autre protocole, type VIP par exemple.

Aux Etats-Unis, des chimiothérapeutes optent pour le protocole EP dans le cas de cancers germinaux métastatiques de bon pronostic. L'organisation européenne pour la recherche et le traitement des cancers avait comparé en 1997 le protocole 4 BEP versus 4 EP [136] : les résultats étaient en faveur des 4 cures de BEP, avec un meilleur taux de rémission. Avec le temps, aucune différence n'était objectivée entre les deux bras de l'étude, en ce qui concerne le taux de rechute, ou la survie à long

terme. En revanche, il était rapporté plus d'effets secondaires dans le bras BEP : ils étaient imputés à la bléomycine puisqu'il s'agissait de fibrose pulmonaire, et de syndrome de Raynaud. Pour certains médecins anglo-saxons, le défaut d'efficacité des 4 EP repose sur les doses d'étoposide administrées dans l'étude européenne. Avec des doses d'étoposide de 500 mg/m<sup>2</sup> par cycle (contre 360 mg/m<sup>2</sup> dans les protocoles européens), Toner et ses collaborateurs [137] rapportent de meilleurs résultats en terme de rémission. Sur la base de ces résultats, et d'une autre étude menée par Culine S.[138], il apparaît que le protocole 4 EP<sup>12</sup> associé à une résection chirurgicale des masses résiduelles, est une alternative à 3 BEP dans le cadre de tumeur germinale non séminomateuse, métastasée de bon pronostic. Une équipe du Memorial Hospital de New York [139] rapporte ainsi un taux de réponse et de guérison supérieur à 95 %, et un taux de rechute inférieur à 6 %. Face à des patients à risque de fibrose pulmonaire, ce protocole est donc envisageable.

### 3. LA RADIOTHERAPIE [140, 141]:

#### 3.1. GENERALITES SUR LES ONDES :

La radiothérapie est basée sur la propagation d'énergie à travers l'espace. Seuls les rayonnements ionisants ont une application en cancérologie: ils sont capables de produire des ionisations ou des excitations quand ils sont absorbés par un tissu biologique. Il existe des rayonnements particuliers (chargés ou non) et des rayonnements électromagnétiques de haute énergie. La prise en charge des séminomes testiculaires repose sur ces rayonnements électromagnétiques: les photons X ou  $\gamma$ .

##### 3.1.1. PROPRIETES DES PHOTONS :

Les photons ont été décrit par Einstein comme des « grains d'énergie » capables de céder leur énergie aux électrons d'un atome (c'est l'aspect corpusculaire de la lumière). Ils n'ont ni masse, ni charge électrique, et ils se déplacent à la vitesse de la lumière.

Les photons X ou  $\gamma$  ont les mêmes propriétés. Ils sont porteurs d'une très forte énergie, et leur longueur d'onde est très faible ( $E = h\nu = hc/\lambda$   $h =$  constante de Planck,  $c =$  vitesse de la lumière et  $\lambda =$  longueur d'onde). Ils sont très réactifs vis-à-vis des tissus biologiques, les traversent très facilement, et peuvent d'interagir avec des composés biologiques situés en profondeur.

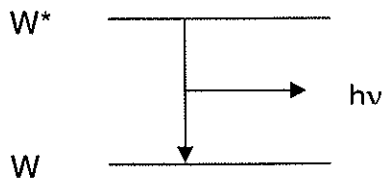
##### 3.1.2. ORIGINE DES PHOTONS DE HAUTE ENERGIE :

###### 3.1.2.1. LES PHOTONS $\gamma$ :

L'émission de photons  $\gamma$  correspond à une désexcitation électromagnétique d'un noyau d'atome radioactif.

---

<sup>12</sup> 100 mg/m<sup>2</sup> d'étoposide par jour pendant 5 jours + 20 mg/m<sup>2</sup> de cisplatine par jour pendant 5 jours



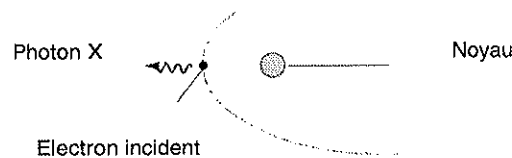
Le photon émis lors du retour à l'état fondamental du noyau véhicule une très grande énergie. Sa longueur d'onde est courte de  $10^{-1}$  à  $10^{-5}$  nm [140].

### 3.1.2.2. LES PHOTONS X :

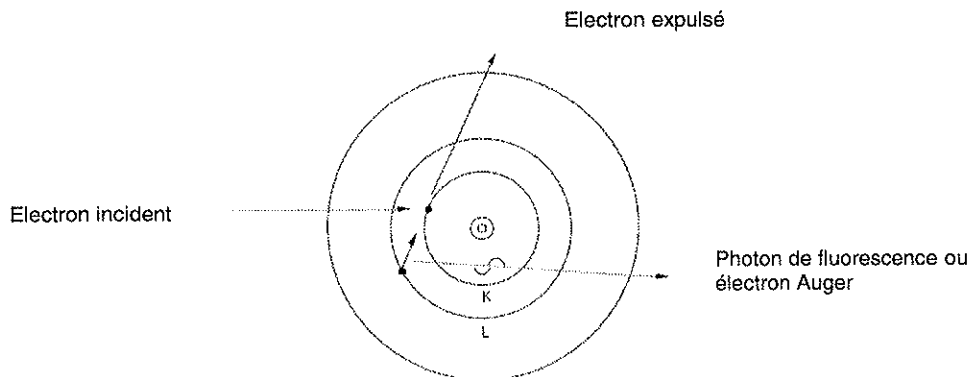
Contrairement aux photons  $\gamma$ , les photons X ont une origine extra-nucléaire. Ils sont produits artificiellement à chaque fois qu'un faisceau d'électrons animés d'une vitesse suffisante entre en collision avec la matière.

Il existe deux mécanismes d'émission:

- le bombardement d'un noyau lourd par des électrons conduit à un rayonnement de freinage :



- la collision d'un électron incident avec un électron atomique: phénomène d'excitation ou ionisation. On obtient alors un rayonnement de collision. C'est ce mécanisme de production qui prédomine.



### 3.2. MODE D'ACTION DES PHOTONS DE HAUTE ENERGIE :

Les photons de haute énergie sont des éléments indirectement ionisants. Plusieurs étapes successives sont nécessaires pour obtenir l'effet anti-tumoral recherché.

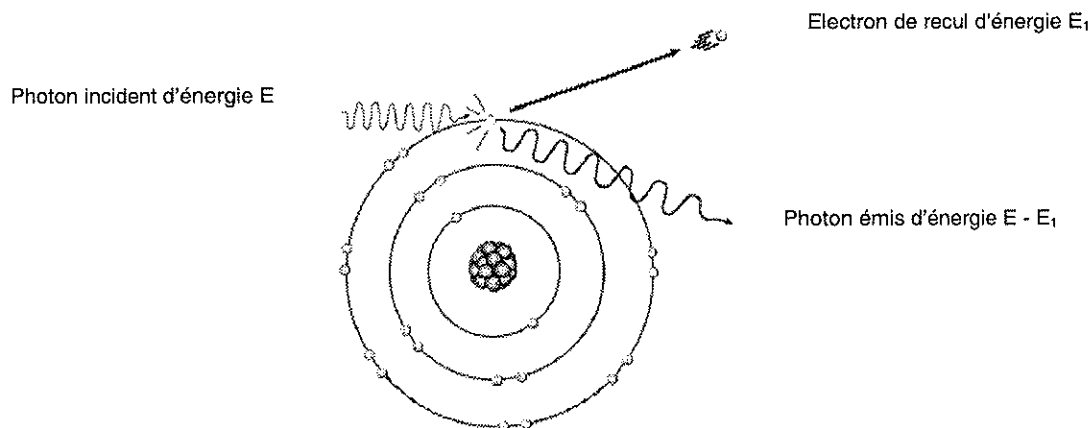
### 3.2.1. ETAPE PHYSIQUE :

Comme les photons X et  $\gamma$  ne portent aucune charge électrique, ils sont insensibles aux champs électriques générés autour des atomes: ils peuvent ainsi atteindre les couches profondes jusqu'à ce qu'ils rencontrent un obstacle (électron le plus souvent, ou noyau). En les percutant, des électrons secondaires sont émis : ils sont à l'origine de l'action biologique réelle de la radiothérapie.

#### 3.2.1.1. PRODUCTION DES ELECTRONS :

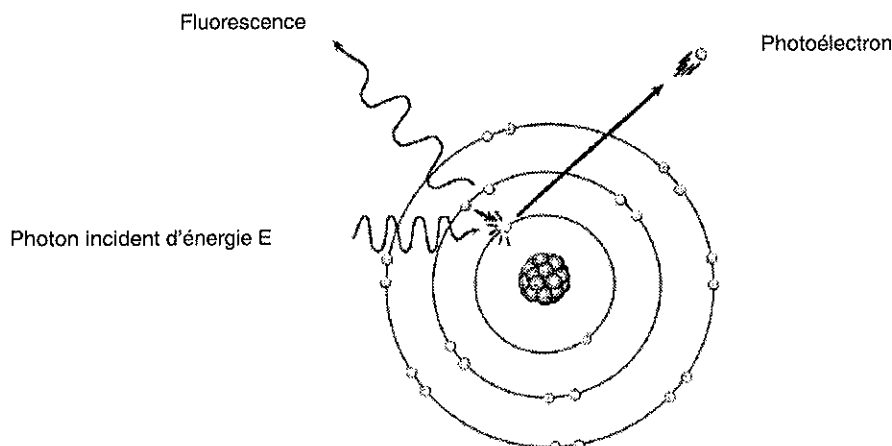
Les photons vont générer une émission d'électrons secondaires par deux mécanismes :

- le photon d'énergie  $E$ , en entrant en collision avec un électron orbital des couches externes de la matière irradiée, lui transfère une partie de son énergie et l'arrache à son orbite. Cet électron de recul est alors porteur d'une énergie  $E_1$ . La différence d'énergie entre  $E$  et  $E_1$  se retrouve sous la forme d'un photon diffusé. C'est l'interaction avec effet Compton.



- le photon incident peut aussi entrer en collision avec un électron lié à un atome et lui transmettre l'intégralité de son énergie. Si cette énergie est supérieure à l'énergie de liaison de l'électron, il est arraché : on parle de photoélectron. Il sera responsable des effets biologiques.

Ces deux réactions provoquent le départ d'électrons secondaires, laissant une orbitale atomique vide et le noyau dans un état excité. Le retour à l'état fondamental s'accompagne alors d'une cascade de sauts d'électrons d'une couche orbitale supérieure vers une couche inférieure qui se traduit par un rayonnement de fluorescence. On parle d'interaction avec effet photoélectrique.



### 3.2.1.2. INTERACTIONS DES ELECTRONS AVEC LA MATIERE :

Ce sont donc les électrons secondaires et les photoélectrons porteurs d'une grande énergie qui sont responsables des effets d'excitation et d'ionisation.

L'excitation consiste à faire passer un électron d'une orbitale interne à une orbitale plus externe après captation de l'énergie de l'électron incident. Le noyau excité retrouve son état fondamental après émission d'un photon fluorescent (libération d'une énergie thermique).

L'ionisation se produit quand l'électron incident possède suffisamment d'énergie pour éjecter un électron lié de son orbite: un ion chargé positivement est créé et un électron libre projeté.

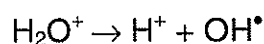
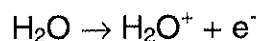
### 3.2.2. ETAPE CHIMIQUE :

#### 3.2.2.1. MECANISMES BIOCHIMIQUES :

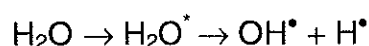
Les électrons en arrivant au niveau des cellules peuvent rencontrer des molécules d'eau ( $10^{13}$  molécules d'eau par cellules) ou des macromolécules membranaires, cytoplasmiques extra- ou intra-nucléaires ( $10^8$  macromolécules par cellules) [142]. Deux réactions sont alors possibles.

#### *LA RADIOLYSE DE L'EAU :*

Sous l'effet des électrons secondaires, si leur énergie est suffisante, une dissociation des molécules d'eau peut s'opérer. Des radicaux libres sont alors produits par ionisation.

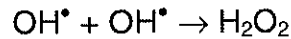
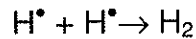


Si les électrons ne sont pas porteurs d'une énergie suffisante, d'autres radicaux libres sont fabriqués par un phénomène d'excitation.





Les radicaux libres sont des espèces chimiques très réactives, dotés d'une durée de vie très courte. Ils cherchent à s'apparier avec un autre électron de leur environnement. Certains peuvent se combiner entre eux et donner naissance à des molécules de  $H_2O_2$  et  $H_2$ :



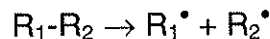
Après radiolyse des molécules d'eau, on obtient donc des composés très réactifs:  $OH^{\bullet}$ ,  $H^{\bullet}$ ,  $H_2O_2$  et  $H_2$ .

#### *LA RADIOLYSE DES MACROMOLÉCULES :*

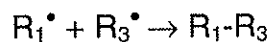
Elle se réalise surtout à partir des produits de la radiolyse de l'eau :



Des interactions directes électron/macromolécule peuvent aussi se produire :



Les cassures sont réalisées au niveau des liaisons covalentes (cassures intra-brin) ou sur des doubles liaisons. Après coupure de la macromolécule mère, les radicaux moléculaires générés peuvent s'apparier :



#### 3.2.2.2. CONSEQUENCES BIOLOGIQUES :

##### *AU NIVEAU MEMBRANAIRE :*

Ces cassures se traduisent au niveau membranaire par plusieurs phénomènes nocifs pour la cellule :

- des lésions membranaires immédiatement létales peuvent apparaître
- les radicaux libres libérés par l'irradiation des lipides insaturés de la membrane peuvent fixer l'oxygène moléculaire. Les réactions radicalaires qui se déroulent ensuite, provoquent une peroxydation de la double couche de phospholipides. Les fonctions membranaires sont gravement altérées: la survie de la cellule est impossible.
- augmentation de l'activité de la protéine kinase C impliquée dans le mécanisme d'apoptose.

##### *AU NIVEAU DE L'ADN :*

L'ADN est une macromolécule de très grande taille: statistiquement, elle est donc une cible privilégiée des radicaux libres et des électrons. Les attaques radicalaires engendrent des ruptures simples ou doubles brins, des altérations des bases (la

thymine surtout), une destruction des désoxyriboses, des pontages et la formation de dimères.

Certaines lésions peuvent être réparées par la cellule: si la cassure est simple brin par exemple, une restauration est possible. On parle de lésion sublétales.

Les coupures double-brins résultent de l'action d'un ou deux électrons<sup>13</sup>. Ces dommages génétiques peuvent conduire la cellule au suicide.

#### **AU NIVEAU DES CHROMOSOMES :**

Les chromosomes peuvent aussi être victimes de cassures uniques ou multiples: des délétions, des inversions, des translocations peuvent apparaître. Certains peuvent même prendre un aspect d'anneau par soudure des deux extrémités d'un même chromosome, ou après liaison de deux chromosomes dicentriques.

#### **AU NIVEAU CELLULAIRE :**

Les conséquences pour la cellule ne sont pas les mêmes selon sa progression dans le cycle cellulaire: les cellules en phase S, sont plus radio-résistantes que les cellules engagées dans le cycle (phases G<sub>2</sub> et M les plus radio-sensibles). La mort cellulaire induite par les radiations survient au moment de la mitose (mort reproductrice), ou à n'importe quel moment du cycle par un phénomène d'apoptose.

MORT CELLULAIRE REPRODUCTIVE : l'irradiation induit un blocage des cellules en phase G<sub>2</sub>. Cet arrêt permet à la cellule d'essayer de réparer les lésions radio-induites. Si la réparation est possible, la mitose reprend, mais les deux cellules-filles peuvent cependant être porteuses de mutations. Souvent ces cellules-filles meurent quelques cycles plus tard : 2 ou 3 mitoses après la lésion primaire sur la cellule-mère, tout un clone cellulaire est ainsi éliminé. C'est une mort différée. On observe ainsi constamment un délai entre l'irradiation et la régression clinique de la tumeur.

MORT PAR APOPTOSE : si le matériel génétique de la cellule est trop endommagé (lésion létale ou accumulation de lésions sub-létales), et si la réparation est impossible, la cellule entre dans un cycle de mort programmée<sup>14</sup>.

### **3.3. LES EFFETS SECONDAIRES :**

Les radiations sont à l'origine d'effets secondaires précoces sur les tissus à renouvellement rapide, et tardifs sur les tissus à croissance lente. Ils sont fonction de

---

<sup>13</sup> Une coupure double-brin peut être générée par un seul électron, ou par la combinaison de deux attaques simple-brin simultanées menée par deux électrons distincts.

<sup>14</sup> L'apoptose est un phénomène régulé par la protéine p53. Cette protéine contrôle le cycle cellulaire: elle peut bloquer la cellule en interphase G<sub>1</sub>/S et permettre une réparation des chromatines lésées, ou induire l'apoptose.

la dose totale, du volume irradié, de la durée totale du traitement, du nombre de séances et de la dose délivrée par séance.

L'étalement et le fractionnement de la dose totale permettent de protéger les tissus qui ont une capacité de restauration et de repopulation élevée: les cellules ont plus de temps pour réparer des lésions sub-létales (voire létales), et les cellules peuvent se multiplier et repeupler leur compartiment tissulaire. Attention, ceci s'applique à la fois pour les cellules saines et pour les cellules tumorales.

### 3.3.1. LES EFFETS PRECOCES :

Parmi les effets secondaires immédiats les plus fréquents, on citera les nausées, les vomissements, et les diarrhées. Pour les séminomes de stades I qui reçoivent une dose faible, on ne rapporte que peu d'effets secondaires, et le traitement est généralement bien toléré. Pour les stades supérieurs, on peut observer un discret érythème sous le champ d'irradiation et une épilation (dès 25 Gy). Le tube digestif (surtout l'intestin grêle dont la muqueuse est renouvelée tous les 3 jours) est très exposé aux irradiations abdomino-pelviennes appliquées dans le cas des cancers testiculaires. Ces malades peuvent alors souffrir de troubles digestifs. Tous ces effets sont transitoires, réversibles, généralement bien contrôlés par les anti-émétiques de la famille des sétrons. Ils s'estompent en quelques semaines.

Une toxicité hématologique précoce peut se manifester, même si dans le cas des séminomes testiculaires, les champs d'irradiation n'incluent pas ou très peu la moelle osseuse. Pour une dose totale de l'ordre de 30 Gy, une leucopénie transitoire a été observée chez 19 à 40 % des patients irradiés respectivement en lombo-aortique seul et en lombo-aortique et pelvien de type *dog leg* [143]. Pour des doses totales inférieures, Sultanem et al. [144] et Bauman et al. [145] ne font état d'aucune toxicité hématologique. Si des cytopénies surviennent, un traitement par facteurs de croissance hématopoïétiques peut être envisagé.

### 3.3.2. LES EFFETS RETARDES :

Ces effets retardés sont observables quelques mois après la radiothérapie. Ils sont peu ou pas réversibles, et concernent uniquement les tissus à renouvellement lent: foie, poumons, cœur, reins, vessie... et les gonades.

Bokemeyer et al. [146] estiment que l'irradiation sous-diaphragmatique expose les patients à un risque de cancer solide secondaire deux à trois supérieur à la normale: il s'agit de cancers de l'estomac, du pancréas, de la vessie, du rein, ou de sarcomes. Quant aux hémopathies secondaires à une radiothérapie, elles sont rares dans le cas des séminomes testiculaires, et elles surviennent dans les 10 ans post traitement. Ces hémopathies sont essentiellement retrouvées après des irradiations des aires sus- et sous-diaphragmatiques, mais cette technique est maintenant abandonnée. Elles pourraient être secondaires à des altérations du génome induites par les radiations: selon le type de cellule, Michel-Langlet et al. observent en effet une aberration par chromosome, et par cellule dès 0,5 à 2 Gy [142].

### 3.4. PROTOCOLE D'IRRADIATION DES SEMINOMES :

La radiothérapie est proposée en traitement adjuvant des séminomes de stade I et IIa ou IIb. Pour des séminomes de stade plus avancé, le traitement repose sur des protocoles de chimiothérapie (annexe 5, 6 et 7).

#### 3.4.1. SEMINOME DE STADE I :

Le protocole consiste en une irradiation lombo-aortique de 20 Gy, en 10 fractions. Ce traitement s'étend sur 2 semaines. Il a pour but de stériliser d'éventuelles métastases infracliniques logées dans les ganglions rétro-péritonéaux.

#### 3.4.2. SEMINOME DE STADE IIa ET IIb :

Il est conseillé de réaliser une radiothérapie lombo-aortique (primitive et externe) et iliaque homolatérale de 30 Gy, en 15 fractions réparties sur 3 semaines. Un complément de dose de 5 à 10 Gy est délivré sur les adénopathies envahies.

L'irradiation des aires ganglionnaires sus-claviculaires et médiastinales en prophylaxie est abandonnée. Si le patient présente un antécédent de chirurgie susceptible de modifier le drainage lymphatique local (cure d'hernie inguino-crurale, ou d'hydrocèle, ou biopsie transcrotale, ou orchidopexie), et si l'enveloppe testiculaire ou le scrotum sont atteints (exceptionnel), une irradiation supplémentaire en inguino-scrotal peut être proposée.

#### 3.4.3. TECHNIQUE D'IRRADIATION :

Le malade est en décubitus dorsal. L'irradiation se fait par 2 faisceaux antéro-postérieurs opposés, également pondérés au moyen de photons de haute énergie.

## III. PHYSIOLOGIE DE LA SPERMATOGENESE [147]:

### 1. RAPPELS ANATOMIQUES :

Le tractus reproducteur masculin est composé de deux testicules (siège de la spermatogenèse), de voies spermatiques et de glandes annexes.

Certaines voies spermatiques sont intra-testiculaires (tubes droits, rete testis) et d'autres sont localisées hors des testicules (canaux épидидymaires, canaux déférents et canaux éjaculateurs). Les deux canaux éjaculateurs débouchent au milieu de l'urètre prostatique qui aboutit au méat urinaire.

Les glandes annexes sont représentées par les deux vésicules séminales, la prostate et les deux glandes de Meryl-Cowper. La prostate et les vésicules

séminales produisent la plus grande partie du liquide dans lequel les spermatozoïdes éjaculés sont en suspension. On retrouve dans ce liquide séminal des nutriments, et diverses substances chimiques qui protègent les spermatozoïdes des sécrétions acides du vagin, qui favorisent la mobilité des gamètes... Cette solution, associée aux spermatozoïdes constitue le sperme (voir annexe 8 : composition du liquide séminal).

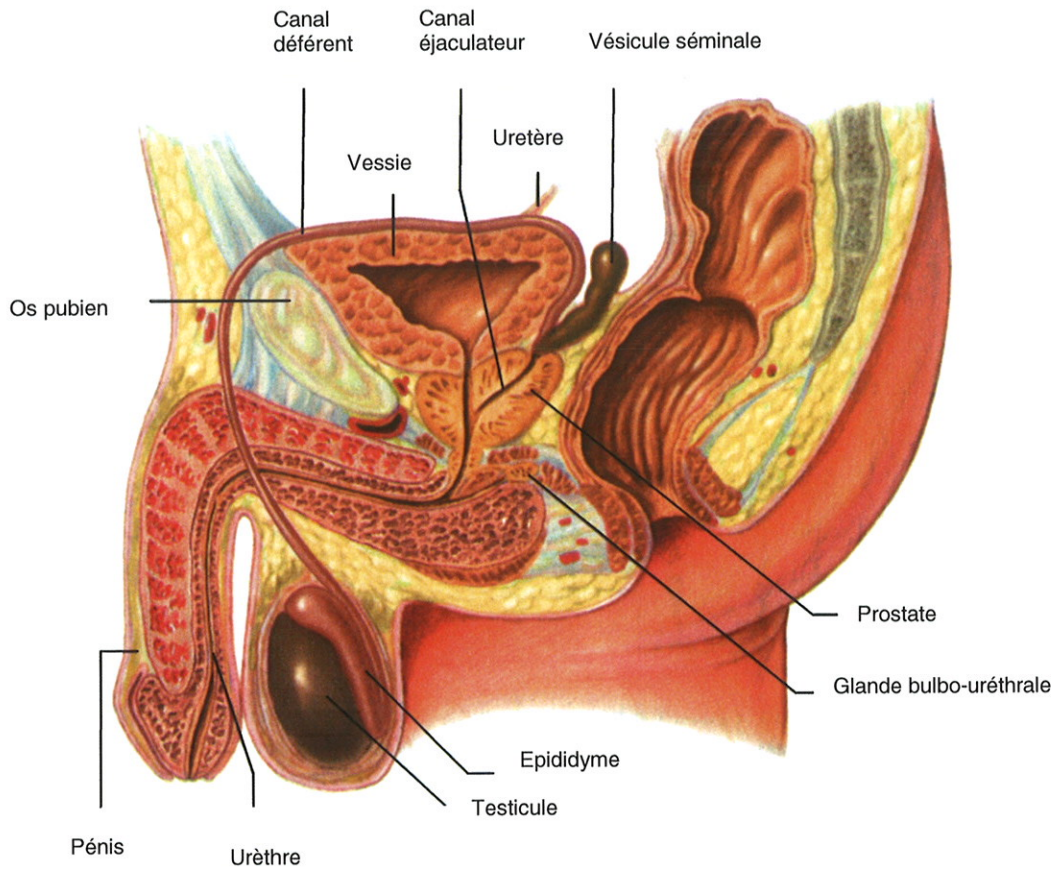


Schéma 10 – Tractus génital masculin [148]

## 2. LOCALISATION DE LA SPERMATOGENESE:

### 2.1. LES TESTICULES :

Les testicules, enfermés dans les bourses, abritent la production des spermatozoïdes, tout en assurant une fonction endocrine importante. Ils sont fixés à la face profonde du scrotum par le ligament scrotal. Cette localisation extra-abdominale permet d'abaisser la température scrotale de 2°C par rapport à la température interne de l'organisme. La descente normale des testicules se produit vers le septième mois de la vie fœtale. Un défaut de migration des testicules dans le scrotum est appelé cryptorchidie.

Les testicules sont constitués de 3 structures fibreuses : l'albuginée, les septa et le corps de Highmore.

L'albuginée est une membrane fibreuse solide, inextensible, qui enveloppe entièrement les testicules. Elle s'insinue dans le testis et crée de nombreuses cloisons délimitant des lobules testiculaires (environ 370 par testicule). Les septa qui renferment des vaisseaux et des fibres nerveuses, confluent vers le corps de Highmore. Les testicules sont donc très compartimentés.

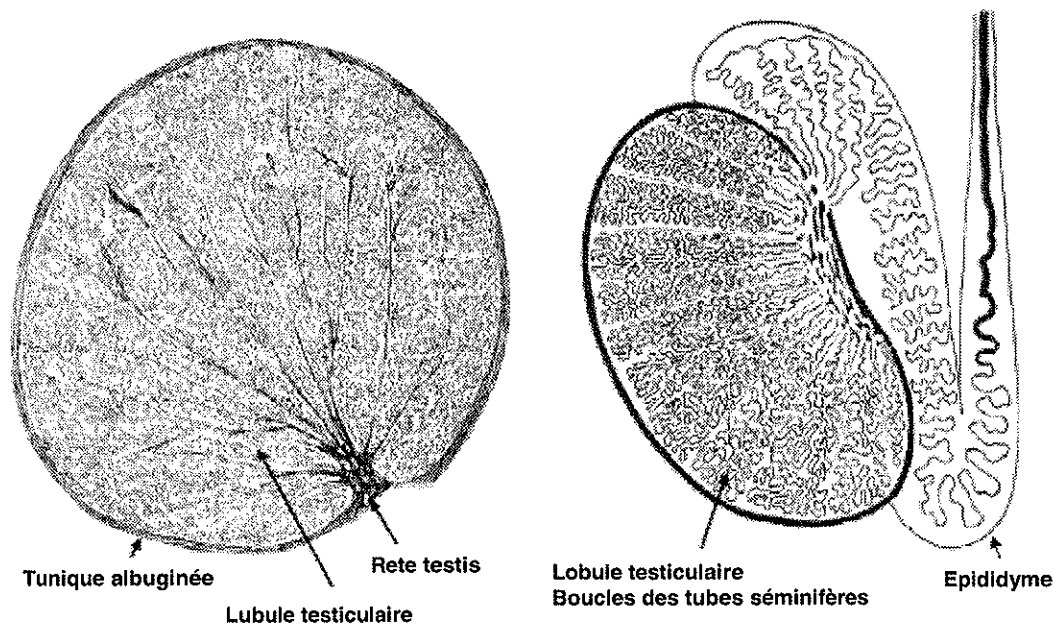


Schéma 11 – Structure d'un testicule

Chaque lobule renferme plusieurs tubules séminifères, siège proprement dit de la spermatogenèse. L'ensemble des tubules confluent pour donner naissance aux tubes droits, puis au rete testis (ou réseau de Haller), puis aux cônes efférents qui débouchent dans la tête de l'épididyme. L'épididyme aboutit dans le canal déférent, un conduit de gros calibre tapissé de cellules musculaires lisses.

Entre les tubules, les cellules de Leydig regroupées en amas synthétisent et sécrètent la testostérone. Dans ces petits espaces interstitiels, des vaisseaux lymphatiques, des capillaires sanguins, des terminaisons nerveuses et des cellules diverses (mastocytes, macrophages...) sont retrouvés (schéma 12).

Les testicules sont richement vascularisés. L'artère spermatique débouche dans l'albuginée et se divise en plusieurs artères centripètes qui s'insinuent dans les septa (une par septum). Lorsque l'artère centripète arrive à proximité du rete testis, elle donne naissance à une artère récurrente qui pénètre dans le lobule séminifère. Cette dernière va émettre des ramifications (artères segmentaires) tous les 300 µm.

Une veine intra-lobulaire collecte le sang après son passage dans le réseau capillaire situé dans l'espace interstitiel et dans la paroi propre des tubes séminifères.

L'innervation testiculaire est réalisée à partir de nerfs issus du plexus solaire (plexus spermatique) et du plexus hypogastrique (plexus vésiculo-déférentiel).

## 2.2. LES TUBULES SEMINIFERES :

On comptabilise en moyenne 2 à 3 tubes séminifères par lobule. Chaque tube séminifère se compose d'une paroi fine (8  $\mu\text{m}$ ), d'un épithélium séminifère (80  $\mu\text{m}$ ) et d'une lumière centrale qui renferme de très rares spermatozoïdes. Ils constituent le site de production des gamètes mâles. Cette structure canalaire forme une boucle dont les 2 extrémités se jettent dans le rete testis.

### 2.2.1. LA PAROI DES TUBULES SEMINIFERES :

La paroi, ou gaine périvitubulaire est constituée :

- d'une membrane basale interne (fibres de collagène, laminine)
- d'une couche fibreuse (collagène, élastine, microfibrilles) et cellulaire : les cellules myoïdes périvitubulaires (myofibroblastes) assurent une circulation des liquides dans les tubes séminifères grâce à leur contraction, ont une action sécrétoire et un rôle de médiateur entre le milieu interstitiel et les tubes séminifères.
- et de fibroblastes externes.

Dans cette gaine périvitubulaire, des cellules de Leydig ont été isolées.

### 2.2.2. L'EPITHELIUM SEMINIFERE :

Deux compartiments cellulaires distincts constitue l'épithélium séminifère : les cellules de Sertoli, et les cellules germinales.

#### 2.2.2.1. LES CELLULES DE SERTOLI :

Les cellules de Sertoli ont un rôle nourricier et sécrétoire (production de l'inhibine B par exemple). Ce sont des cellules de soutien de la spermatogenèse. Ces cellules ne se divisent plus après la puberté. Elles occupent toute la largeur de l'épithélium et ont d'abondants prolongements cytoplasmiques. Les cellules de Sertoli d'un même tube séminifère sont accolées les unes aux autres et communiquent entre elles. Ces cellules sont les seules à communiquer avec l'ensemble des cellules qui constituent l'épithélium séminifère.

Insérées entre les cellules de Sertoli et la gaine périvitubulaire se trouvent les spermatogonies. Les autres cellules germinales sont localisées entre les cellules de Sertoli.





### 2.2.2.2. LES CELLULES GERMINALES :

Les spermatogonies sont directement au contact de la gaine péricubulaire, alors que les autres cellules germinales au fur et à mesure de leur maturation, se déplacent vers la lumière du tubule séminifère.

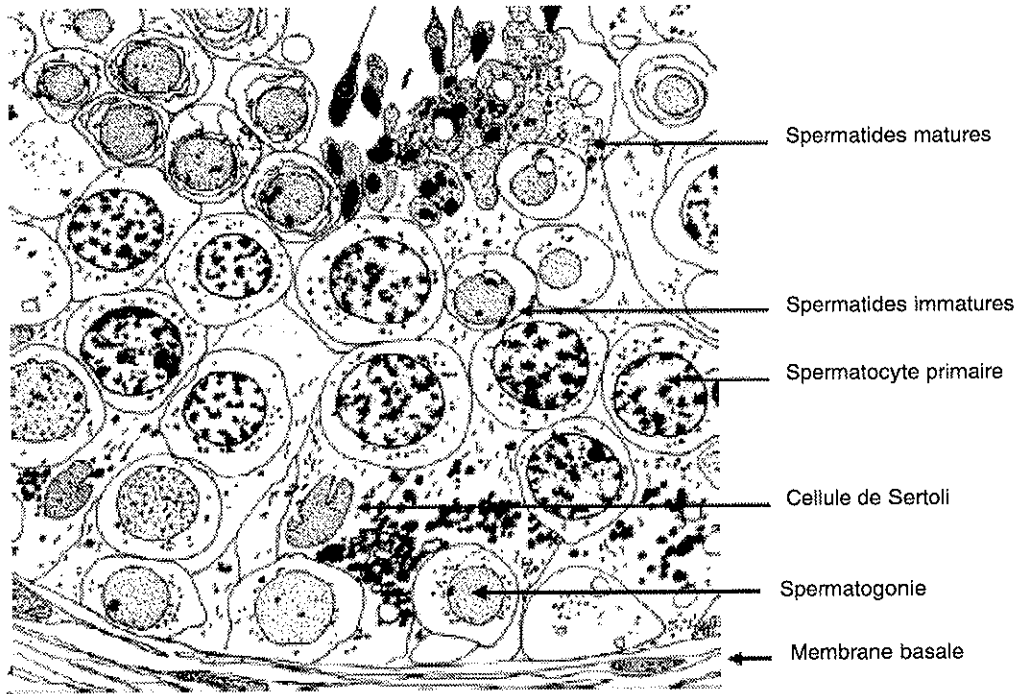


Schéma 13 - Organisation de l'épithélium séminifère

### 2.3. LES CELLULES DE LEYDIG :

On trouve ces cellules dans les espaces interstitiels des testicules, entre les tubules séminifères. Elles ont un rôle sécrétoire: la liaison sur leurs récepteurs de surface de LH, de prolactine ou d'hormone de croissance, induit la production d'androgène à partir du cholestérol. Plus de 75 % de la testostérone totale de l'organisme provient des cellules de Leydig.

Elles jouent un rôle crucial pendant la vie fœtale en sécrétant les androgènes. La production de testostérone qui débute dès la sixième semaine de gestation dans les testicules fœtaux, induit la différenciation du canal primitif de Wolff en épидидyme, vésicule séminale et canal déférent. Ce stéroïde, via son dérivé la dihydrotestostérone, est responsable de la masculinisation des organes génitaux externes et du SNC [149]. Plus tard, à la puberté, l'apparition des caractères masculins secondaires sera sous la dépendance de la testostérone.

En ce qui concerne la spermatogenèse, la testostérone est indispensable à l'initiation et au maintien de la production des spermatozoïdes en association avec

les autres cellules des testicules. Elle module aussi l'activité des cellules de Sertoli bien que les inter-relations entre cellule de Leydig/cellule de Sertoli ne soient pas encore totalement élucidées. On sait cependant, qu'une partie de la testostérone produite est transformée dans les cellules de Sertoli en oestradiol par une aromatasase. Cet oestradiol agirait à son tour directement sur les cellules de Leydig.

La testostérone exerce un rétrocontrôle négatif sur l'axe hypothalamo-hypophysaire en inhibant la libération de LH.

### 3. LA PRODUCTION DES SPERMATOZOÏDES :

La production de spermatozoïdes matures aptes à féconder un ovocyte se fait en deux étapes : la spermatogenèse proprement dite et la maturation des gamètes mâles.

#### 3.1. LA SPERMATOGENESE :

La spermatogenèse par définition, est un processus de maturation et de différenciation cellulaire, qui à partir de cellules souches, aboutit à la formation du gamète mâle, le spermatozoïde. Elle se déroule à l'intérieur des tubes séminifères.

##### 3.1.1. LA PROLIFERATION MITOTIQUE :

Elle se déroulent dans le compartiment basal des tubules séminifères et met en jeu les cellules germinales primordiales et les spermatogonies.

##### 3.1.1.1. LES CELLULES GERMINALES SOUCHES :

Les petits garçons naissent avec un petit stock de cellules germinales souches (ou primordiales ou spermatogonie Ad). Au moment de la puberté, ces cellules indifférenciées, sortent de leur état quiescent (en interphase). Certaines entrent en division puis en différenciation. C'est le premier stade de la spermatogenèse.

##### 3.1.1.2. LES SPERMATOGONIES :

Il existe 3 populations de spermatogonies : les spermatogonies A, ou cellules souches qui ne possèdent pas d'hétérochromatine (elles se subdivisent en spermatogonies Ad (dark)<sup>15</sup> et Ap (pale)<sup>1</sup> ), et les spermatogonies B qui renferment de l'hétérochromatine.

---

<sup>15</sup> En fonction de leur capacité à fixer l'hématoxyline

Chaque cellule spermatogoniale Ad souche donne naissance à 2 autres cellules primordiales strictement identiques: les spermatogonies Ap. Ces spermatogonies Ap sont des cellules douées d'un pouvoir de prolifération. Elles s'auto-renouvellent maintenant ainsi un stock constant de spermatogonies A. Certaines d'entre elles se divisent ou se différencient en spermatogonies B (les mécanismes de régulation sont à ce jour inconnus). L'apparition des spermatogonies B signe l'entrée en spermatogenèse. Dès lors, une spermatogonie B ne pourra pas redonner une spermatogonie A. Les apports énergétiques et nutritionnels nécessaires aux spermatogonies transiteraient par la gaine périvitulaire.

Chaque spermatogonie Ap subit plusieurs mitoses successives et donne ainsi naissance à une génération de spermatogonies B reliées entre elles par de minces ponts cytoplasmiques. Cette prolifération mitotique associe en fait une division nucléaire complète (caryocinèse) à une division cytoplasmique incomplète (cytocinèse). Ces ponts cytoplasmiques permettent le passage d'informations et de substances de cellule à cellule. Le clone cellulaire est donc organisé comme un syncytium. On observe de 32 à 64 cellules filles unies par cette structure. Elles se développeront en parallèle, de manière synchrone, et cette organisation perdurera jusqu'aux stades les plus tardifs de la spermatogenèse.

Les spermatogonies B se divisent une dernière fois pour former les spermatocytes primaires au repos (phase leptotène).

Les spermatogonies Ap ont une durée de vie moyenne de 18 jours et les B de 9 jours. Cette première phase de multiplication dure 27 jours. Elle se déroule dans le compartiment basal.

### 3.1.2. LA DIVISION MEIOTIQUE :

Cette seconde étape de la spermatogenèse permet un brassage génétique et une réduction du nombre de chromosomes de moitié dans chaque cellule. Progressivement, les gamètes en devenir vont migrer du compartiment basal vers la lumière des tubules séminifères. Cela prendra 24 jours (schéma 14).

#### 3.1.2.1. LES SPERMATOCYTES PRIMAIRES (SCPI):

Les spermatocytes primaires restent quelques jours en interphase (leur taille s'accroît notablement), puis ils entrent en prophase méiotique. Dans les spermatocytes leptotènes, la chromatine devient filamenteuse, se condense, et l'ADN se duplique. Au stade zygotène, les chromosomes homologues s'épaississent et s'associent en paires (formation de synapses). Au stade pachytène, les chromatides se cassent et des segments génomiques peuvent s'échanger (phénomène de crossing-over). Au stade suivant (diplotène), les chromosomes homologues se séparent et la cytocinèse se termine mettant fin à la première division méiotique: apparition des spermatocytes secondaires.

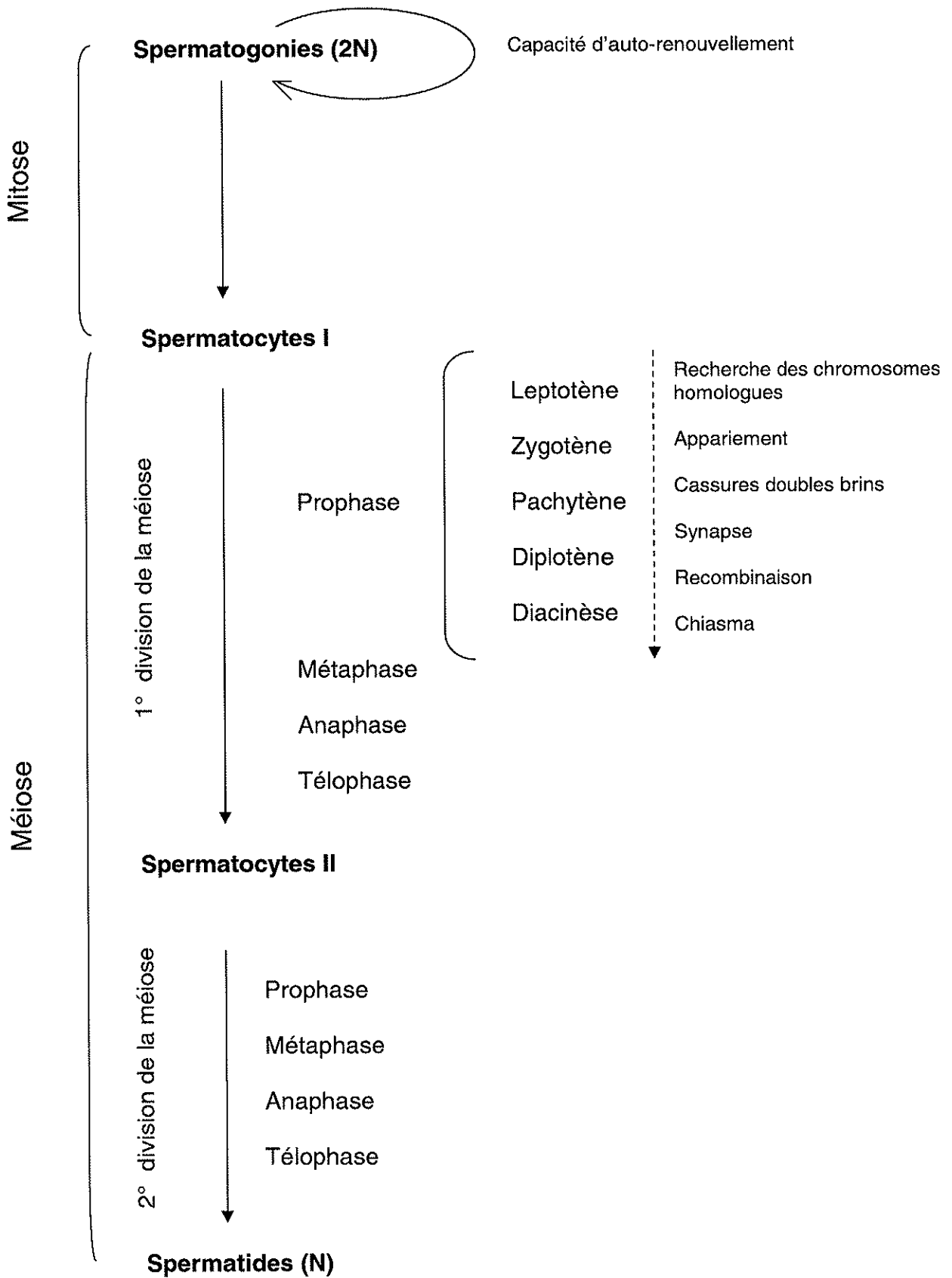


Schéma 14 – La spermatogenèse

### 3.1.2.2. LES SPERMATOCYTES SECONDAIRES (SCPII):

Ce sont des cellules haploïdes (N chromosomes à 2 chromatides). Après une interphase brève, elles entrent très rapidement dans une seconde division méiotique. Les chromatides se séparent au niveau des centromères et donnent naissance aux spermatides rondes précoces.

En réalité, le nombre de spermatides rondes obtenues à la fin de la méiose est plus faible que le nombre de spermatocytes primaires initial. En effet, pour maintenir une certaine homéostasie au sein de l'épithélium séminifère, nombre de spermatogonies sont éliminés par un processus d'apoptose.

### 3.1.3. LA SPERMIOGENESE :

Cette dernière phase de cyto-différenciation permet d'élaborer des cellules hautement spécialisées, capables de féconder l'ovocyte et de transmettre le génome paternel.

Les spermatides sont des cellules sphériques immobiles, subissent un important remodelage cytoplasmique. La cellule se polarise et les principales caractéristiques morphologiques du spermatozoïde peu à peu apparaissent :

- la queue nécessaire à la locomotion se dessine au point d'inflexion de la membrane (anulus), à partir du centriole distal
- les mitochondries du cytoplasme migrent autour du flagelle et forment la pièce intermédiaire (réservoir énergétique de la cellule)
- la cape post-acrosomiale fondamentale pour la fusion des membranes au moment de la rencontre avec l'ovocyte, s'élabore
- l'acrosome capital pour pénétrer dans l'ovule s'organise

Le noyau des spermatides est lui aussi profondément remanié: d'abord rond, il s'allonge et se condense (diminution du volume de  $\frac{3}{4}$ ). Cette condensation nucléaire s'opère une fois que la cellule a entrepris sa rotation<sup>16</sup>.

Le cytoplasme migre le long du flagelle, et s'évacue progressivement.

Toutes ces transformations s'opèrent en 23 jours (schéma 15).

---

<sup>16</sup> Dans un premier temps, la future tête du spermatozoïde est orientée vers la membrane basale du tubule séminifère. Ce n'est qu'après une rotation de 180°, que la cellule polarisée se déplace vers la lumière du tubule.

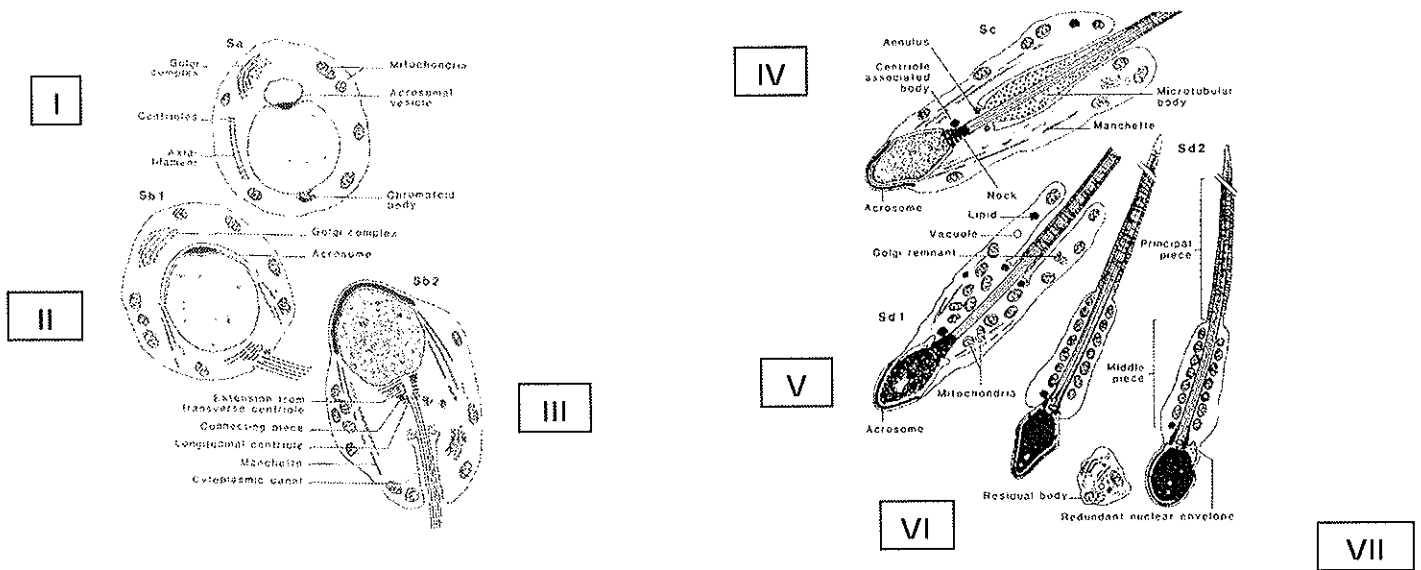


Schéma 15 – La spermiogenèse [150]

### 3.2. LA SPERMATION :

Les spermatozoïdes naissent de la rupture des ponts cytoplasmiques qui relient entre elles les spermatides (processus de spermiation), et de la perte de leur corps résiduel phagocyté par les cellules de Sertoli. Libérés dans la lumière des tubules séminifères, ils sont entraînés par le fluide testiculaire produit par les cellules de Sertoli vers le rete testis. Ce transport passif dans les tubes droits est facilité par la contraction régulière de l'albuginée (une contraction toutes les 14 minutes).

Cinq millions de spermatozoïdes sont produits par jour et par gramme de testicule.

Entre la première division d'une spermatogonie A et la dernière étape de la spermiation, 74 jours se sont écoulés.

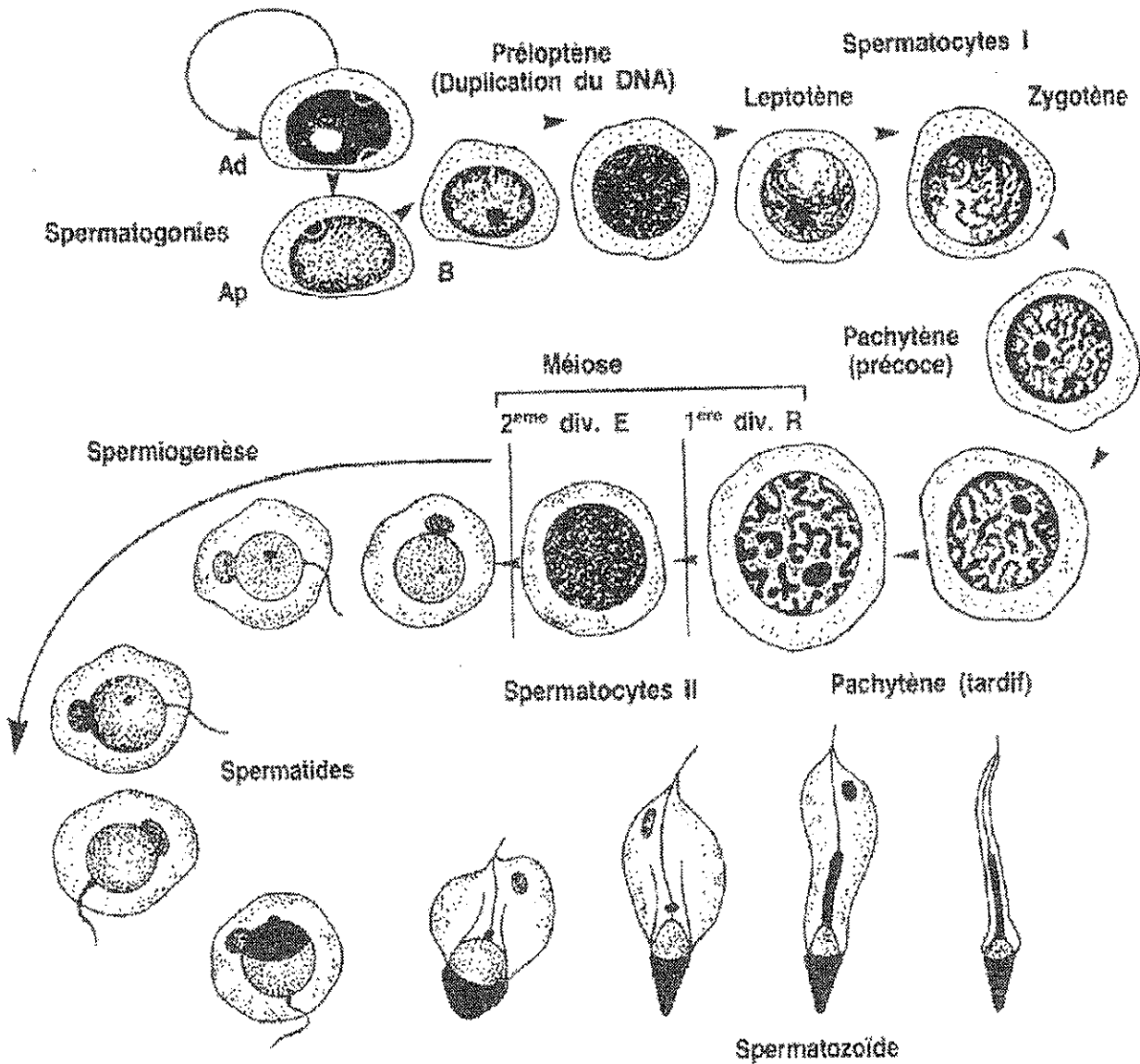


Schéma 16 - Evolutions morphologiques des cellules germinales au cours de la spermatogenèse [150]

### 3.3. NOTION DE CYCLE DE L'EPITHELIUM SEMINIFERE :

Toutes les spermatogonies d'un même tube séminifère n'évoluent pas de manière synchrone. Si l'on observe un tube séminifère à un instant T, on observe 6 types d'association cellulaire (de I à VI) (schéma 17 [147]). Ces 6 stades de maturation se succèdent tous les 16 jours. On parle de cycle de l'épithélium séminifère.

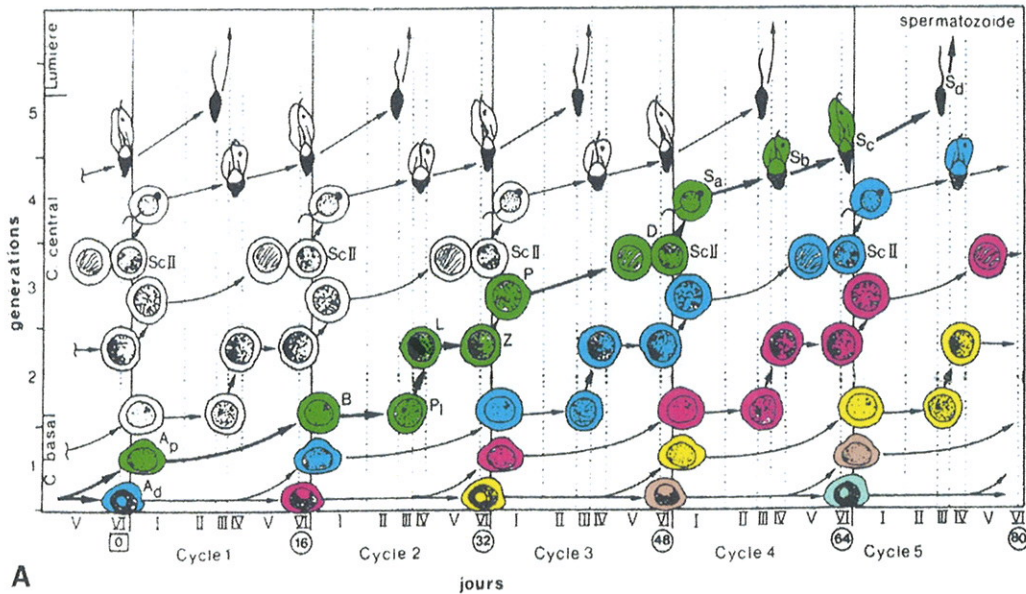


Schéma 17 – Cycle de l'épithélium séminifère

#### 4. LA MATURATION DES SPERMATOZOÏDES

Cette dernière étape indispensable à l'acquisition du pouvoir fécondant des spermatozoïdes, se déroule dans l'épididyme. A la sortie du rete testis, les tubes droits (environ 150) confluent pour donner naissance aux canaux (ou cônes) efférents (une quinzaine) qui débouchent dans le canal épидидymaire. En passant dans les canaux efférents, la concentration en spermatozoïdes augmente en raison d'une réabsorption liquidienne importante (environ 80 % du fluide). Dans le canal épидидymaire, les spermatozoïdes subissent diverses modifications structurales, biochimiques, métaboliques et fonctionnelles. Au cours de cette dernière étape, l'épididyme interagirait directement ou indirectement sur les spermatozoïdes via la sécrétion de différentes substances<sup>17</sup>, et l'épithélium épидидymaire réabsorberait certaines protéines relarguées par les spermatozoïdes en cours de maturation.

A la sortie de l'épididyme, les gamètes mâles sont capables de se mouvoir, de reconnaître la membrane de l'ovocyte, de fusionner avec lui, de le féconder, et de donner naissance à un embryon viable. Les spermatozoïdes sont doués de toutes ces facultés, mais elles sont inactivées.

Cette ultime phase nécessite de 1 à 12 jours.

<sup>17</sup> Par exemple, certains produits du fluide épидидymaire inhiberaient l'activation des spermatozoïdes en masquant les sites spécifiques.



## 5. LA REGULATION DE LA SPERMATOGENESE :

La spermatogenèse est un processus complexe contrôlé en une multitude de points, par une multitude de systèmes. Il existe une régulation hormonale, paracrine, vasculaire et thermique.

### 5.1. LA REGULATION ENDOCRINE :

Cette régulation hormonale est orchestrée par l'axe hypothalamo-hypophysaire. L'hypophyse sécrète de manière pulsatile la GnRH (Gonadotrophin Releasing Hormone) toutes les 15-30 minutes. Cette hormone atteint l'hypophyse par le système porte-hypothalamo-hypophysaire et se fixe sur des récepteurs spécifiques: stimulation de la synthèse et de la sécrétion par l'hypophyse de LH (hormone lutéinisante) et de FSH (hormone folliculo-stimulante).

La LH agit sur les cellules de Leydig: elle se fixe sur son récepteur et stimule très rapidement la production d'hormones stéroïdiennes (en 2 à 3 minutes). La transduction du signal fait appel à plusieurs voies: la voie de l'AMPc, la voie de la phospholipase A<sub>2</sub>, ou la voie de la phospholipase C. La LH assure aussi un fonctionnement normal de la cellule de Leydig, et elle permet le maintien de la spermatogenèse.

La FSH a majoritairement pour cible les cellules de Sertoli. Avant la puberté, elle stimule la multiplication de ces cellules. Après, elle initie l'entrée en spermatogenèse en favorisant la multiplication des spermatogonies. La liaison de FSH sur les récepteurs de la cellule de Sertoli induit la synthèse et la libération d'inhibines et d'activines. Les inhibines A et B potentialiseraient les effets de LH sur les cellules de Leydig et exerceraient un rétrocontrôle négatif sur la sécrétion de FSH. Les activines auraient un effet inverse: elles s'opposent à l'action de LH et favorisent la sécrétion de FSH. Ces activines auraient aussi un rôle dans l'érythropoïèse et pendant la vie foétale. La FSH et de la testostérone stimulent aussi l'élaboration par les cellules de Sertoli de l'ABP (Androgen Binding Protein), une protéine nécessaire au transport des androgènes vers l'épididyme. Enfin, la FSH agit sur le métabolisme propre de la cellule de Sertoli en activant certaines enzymes telles que la 5 $\alpha$  réductase, l'aromatase...

D'autres hormones circulantes pourraient moduler indirectement la spermatogenèse. Il s'agit de la prolactine, de l'insuline, de l'hormone de croissance et des glucocorticoïdes (schéma 18).

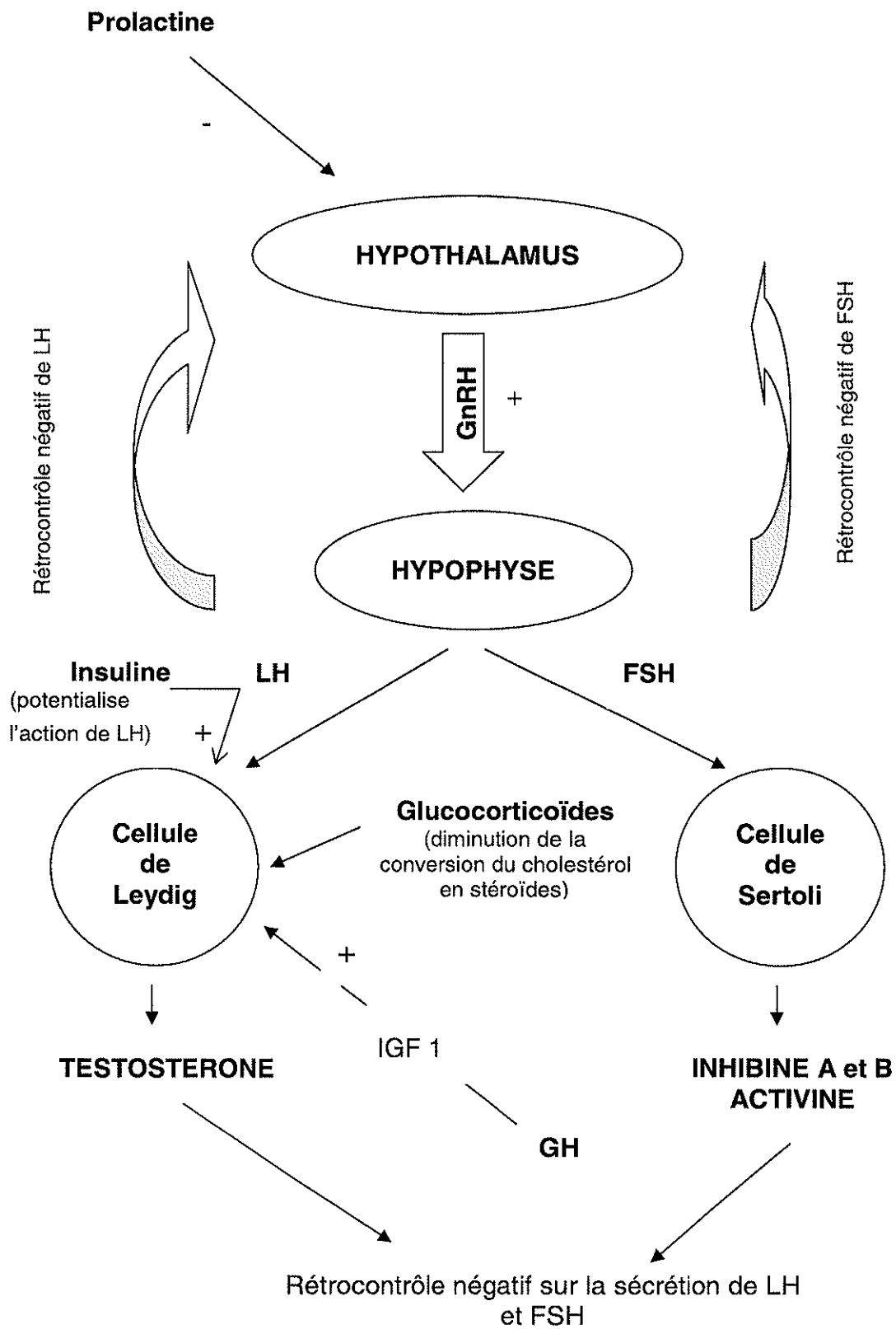


Schéma 18 – Régulation endocrine de la spermatogenèse

## 5.2. LA REGULATION PARACRINE :

### 5.2.1. LA REGULATION PARACRINE DU TUBULE SEMINIFERE:

Cette régulation implique une communication étroite entre plusieurs cellules voisines. Deux types d'interactions cellulaires sont concernés :

- cellule de Leydig / cellule pérítubulaire / cellule de Sertoli: la cellule de Leydig produit de la testostérone qui agit sur les cellules myoïdes de la paroi du tube. Ces myofibroblastes produisent alors une protéine P-Mod-S qui module l'activité aromatasé de la cellule de Sertoli, et induit une production accrue de transferrine et d'ABP. La cellule de Leydig synthétise aussi des ocytocines responsables de la contraction des cellules pérítubulaires, et des facteurs de croissance.
- cellule de Sertoli / cellule germinale: les cellules de Sertoli élaborent le liquide tubulaire qui baigne les cellules germinales. Ce substrat leur apporte les éléments nutritifs nécessaires à leur croissance et véhiculent des médiateurs qui régulent leur différenciation.

### 5.2.2. LA REGULATION PARACRINE DES CELLULES DE LEYDIG :

Les cellules de Leydig sont sous le contrôle partiel des cellules de Sertoli. Ces dernières produisent des peptides qui modulent la stéroïdogénèse réalisée par les cellules de Leydig. L'inhibine favorise la production de testostérone, alors que l'activine inhibe cette synthèse.

L'hormone de croissance, via l'IGF 1 synthétisé par les cellules de Sertoli et de Leydig, entraîne une surexpression des récepteurs à la LH sur les cellules de Leydig et active plusieurs enzymes impliquées dans la stéroïdogénèse. Le TGF  $\alpha$  agirait dans le même sens, alors que le TGF  $\beta$  aurait un effet inverse.

## 5.3. LA REGULATION VASCULAIRE :

Le testicule est un organe très richement vascularisé. Le réseau vasculaire permet des échanges de chaleur, et le transport d'hormones, d'éléments nutritifs et d'informations nécessaires à la spermatogénèse. Ainsi, dans les lobules, les artères segmentaires traversent les amas de cellules de Leydig qui libèrent dans la circulation sanguine, leur testostérone. Elles cheminent ensuite le long des tubes séminifères et approvisionnent les cellules de Sertoli et les cellules germinales.

## 5.4. LA REGULATION THERMIQUE :

La spermatogénèse se déroule physiologiquement à une température inférieure de 3 à 5°C à la température corporelle. Cette eutherme testiculaire est possible

grâce à un système d'irrigation particulier des testicules, et à la structure anatomique du scrotum (positionnement des testicules hors de l'abdomen, peau du scrotum richement plissée permettant un échange maximum de chaleur avec le milieu extérieur, sudation supérieure à la normale dans cette partie du corps).

Toute anomalie de descente des gonades dans le scrotum, toute anomalie susceptible d'engendrer une stase veineuse ou un reflux sanguin en direction du scrotum entraîne une spermatogenèse imparfaite.

## 6. LE SPERMATOZOÏDE, UNE ORGANISATION NUCLEAIRE SPECIFIQUE :

A la différence des cellules somatiques, les gamètes mâles possèdent un noyau dont le volume est insuffisant pour renfermer une molécule d'ADN simple brin enroulée sur des histones [151]. On observe donc un réarrangement génomique spécifique aux cellules germinales. Dans les phases tardives de la spermatogenèse, au moment où le noyau des spermatides s'allonge, des formations toroïdes apparaissent. Ces structures de 25 x 60 à 100 nm, contiennent en moyenne 50 kb (environ 50 000 taurus par noyau). Elles assurent une compaction efficace du matériel génétique.

Les nucléoprotamines sont à la base de ces formations toroïdes ; il semble cependant, qu'on trouve encore dans le noyau quelques nucléohistones (15 % contre 85 % de protamines) [152]. Les protamines sont des protéines riches en Arginine (acide aminé basique chargé positivement). Le gène codant pour ces protéines est localisé sur le chromosome 16 (16p13.13). Il existe deux sortes de protamines :

- P1 retrouvé chez presque tous les mammifères
- P2 chez l'homme et quelques animaux (souris) : 67 % des protamines humaines (34 % chez la souris)

Ces 2 protamines bien que très proches l'une de l'autre, auraient un rôle propre ; si on inactive un des deux gènes chez une souris, on obtient des animaux infertiles (3). Aucune ne semble donc pouvoir assurer la fonction de l'autre.

Le remplacement des histones par les protamines se déroule progressivement dans les dernières étapes de la spermatogenèse. Ces histones sont d'abord en partie remplacées par des protéines de transition (TP1 et TP2) quelques jours avant la formation des spermatides. Chez le rat, TP2 apparaît 24 heures avant TP1 [153]. Cette première condensation s'accompagne de nombreuses cassures sur l'ADN [154] : TP1 permettrait un arrêt de la transcription et TP2 stimulerait la réparation [153]. Les protamines synthétisées par la suite sont très chargées positivement : elles déplacent alors TP1 et TP2 en se liant à l'ADN de manière non spécifique [153], accentuant le degré de compaction du génome. Le zinc jouerait un rôle de co-facteur dans ces liaisons : une étude in vitro sur la liaison de TP2 et P2 à une molécule simple brin d'ADN [153] rapporte 3 fois plus de fixation en présence de zinc. La présence de zinc n'aurait en revanche aucun effet sur le taux de condensation de

l'ADN (cette compaction dépendrait uniquement de la concentration en protamines en protéines de transition dans le milieu).

Une fois condensé, le noyau s'organise en « épingle à cheveux »: les centromères au centre et les télomères en périphérie au plus près de l'ovule (rôle dans la formation du pronucléus mâle immédiatement après la fécondation ?). A la différence des centromères, les télomères sont enrichis en histones: il est alors légitime de penser que la répartition des protamines et des histones n'est peut-être pas hasardeuse.

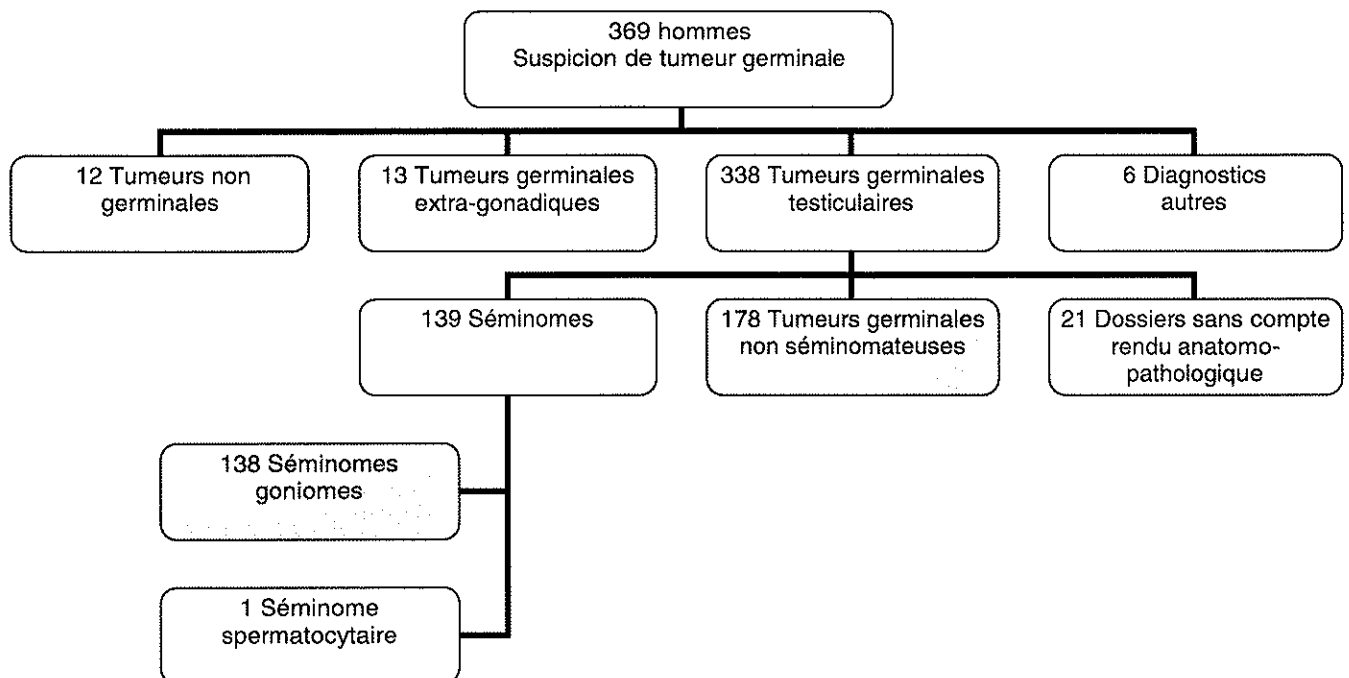
Cette distribution jouerait un rôle dans la structure tridimensionnelle du nucléus mâle et supporterait une information épigénétique essentielle au fonctionnement du spermatozoïde. Ce remodelage moléculaire permettrait aussi une protection du matériel génétique masculin, et une inactivation du génome jusqu'à son transport dans l'œuf [155].

#### IV. NOTRE ETUDE :

##### 1. MATERIEL ET METHODE :

###### 1.1. DESCRIPTIF DE LA POPULATION :

Entre Janvier 1997 et Décembre 2004, 369 hommes âgés de 14,5 à 52,7 ans (29,4 ans en moyenne) ont été adressés au CECOS de Midi-Pyrénées dans le cadre de la prise en charge d'une tumeur germinale supposée. Le diagnostic de tumeur germinale testiculaire n'a finalement été retenu que pour 338 patients.



Les hommes chez qui le diagnostic de tumeur germinale testiculaire n'a pas été posé, ont tous été évincés de la base de données. Le patient porteur d'un séminome spermatocytaire a lui aussi été retiré de cette base, cette tumeur se distinguant clairement des séminomes gonadiques par ces propriétés épidémiologiques et pathologiques. Les caractéristiques de ces malades exclus sont détaillés en annexe (annexe 9).

Sur les 316 dossiers complets « tumeur germinale testiculaire », certains n'ont pu être conservés dans la base. En effet, 10 patients avaient un antécédent de pathologie maligne (traitée pour 8 d'entre eux par radiothérapie ou chimiothérapie) (tableau 6).

PRIMO-CANCER				CANCER TESTICULAIRE				
Nature du cancer	Année du diagnostic	Traitement	Histologie de la tumeur	Année du diagnostic	Age au diagnostic (ans)	Traitement	Devenir	
1	Térato-carcinome (testicule gauche)	1992	2 BEP	Séminome + CE (testicule droit)	1999	41,2	Chirurgie seule	Rémission
2	Leydigome	1990	Aucun	?	2001	36,4	?	Rémission
3	TGNS	1994	Curage lombo-aortique	Tératome mature et immature	2002	27,5	Chirurgie seule	Rémission
4	Maladie de Hodgkin	1992	Radiothérapie	CE	2002	28,1	2 BEP	Rémission
5	Tumeur germinale extra-gonadique	1993	Chimiothérapie	Séminome	2002	40,7	Radiothérapie (24,4 Gy)	Rémission
6	?	1978	Radiothérapie	Tératome mature et immature + CE + Choriocarcinome	2002	20,6	3 BEP	Rechute (2003)
7	Séminome	2002	Radiothérapie	Séminome	2003	40,7	CarboPt AUC 7 + Radiothérapie (20,4 Gy)	Rémission
8	Cancer thyroïdien		Iode radio-actif	Séminome	2003	40,2	Radiothérapie	Rémission
9	CE rétropéritonéal	1991	3 BEP	Séminome	2003	31,6	Chimiothérapie avec CarboPt	Rémission
10	Cancer cérébral	1990	Chimiothérapie	Tumeur vitelline	2003	40,0	3 BEP	Rémission

Tableau 6 – Caractéristiques des 10 patients exclus de la base en raison d'un antécédent de tumeur maligne

Notre étude se base donc sur l'analyse de 306 dossiers de tumeur germinale testiculaire répertoriés au CECOS Midi-Pyrénées entre 1997 et 2004.

Les informations nécessaires à ce travail ont été recueillies après consultation des dossiers d'auto-conservation du CECOS, de certains dossiers du Service d'Andrologie et d'Infertilité Masculine de l'Hôpital Paule de Viguier, de dossiers du Service d'Urologie de Ranguel, ou de dossier de l'Institut Claudius Regaud (ICR). Pour les patients dont le suivi n'était pas effectué par les urologues du CHU de Toulouse ou par les oncologues de l'ICR, des questionnaires ont été rédigés à l'attention des différents médecins concernés (urologues, chimiothérapeutes ou radiothérapeutes).

## 1.2. FACTEURS DE RISQUE :

Au moment de la première auto-conservation, les patients s'entretiennent avec les médecins du CECOS: cette consultation permet d'aborder les modalités de

conservation (aspect législatif<sup>18</sup> et pratique<sup>19</sup>), de présenter les risques inhérents au traitement qui va être débuté pour la spermatogenèse. Lors de cet entretien, les médecins soulignent l'importance d'une contraception efficace dans les 2 ans suivant le traitement anti-cancéreux, et insistent sur la nécessité de réaliser au moins un spermogramme de contrôle avant d'envisager la conception d'un enfant.

A l'occasion de cette consultation, les médecins recherchent aussi des facteurs de risque innés ou acquis pour la fertilité. Des questions leur sont posées sur leur famille (importance de la fratrie, âge des parents à leur naissance...), sur d'éventuelles grossesses (passées, ou à venir), sur leurs antécédents médicaux et chirurgicaux, sur leur activité socio-professionnelle (métier, loisirs...)... Grâce à ce questionnaire, nous avons ainsi pu identifier 2 catégories de facteurs de risque: des facteurs de risque de cancer du testicule, et des facteurs de risque pour la fertilité.

### 1.2.1. LES FACTEURS DE RISQUE DE CANCER TESTICULAIRE :

Nous n'avons retenu que 2 des 3 facteurs de risque reconnus par les scientifiques : l'existence d'un antécédent de cryptorchidie ou de testicule ascenseur, et une histoire de cancer testiculaire familial. Nous n'avons pas pu considérer l'atrophie testiculaire comme facteur de risque, car cette notion n'était jamais confortée par une mesure précise du volume du testicule incriminée.

### 1.2.2. LES FACTEURS DE RISQUE D'INFERTILITE :

En fonction des différentes données épidémiologiques et cliniques dont nous disposons, nous avons essayé de mettre en évidence pour chaque patient des facteurs de risque pour leur fertilité. Nous avons ainsi défini 2 grandes catégories de facteurs de risque :

- facteurs de risque direct pour la fertilité
- facteurs risque indirect (familiaux, environnementaux)

#### 1.2.2.1. LES FACTEURS DE RISQUE DIRECT :

Nous avons identifié dans ce groupe plusieurs facteurs de risque.

#### *LES ANOMALIES DE POSITION DES TESTICULES :*

La cryptorchidie et l'existence d'un ou de testicule(s) ascenseur(s) sont à la fois un facteur de risque de cancer et d'infertilité. Le risque pour la fertilité est d'autant plus grand que ce défaut de migration scrotale est traité tardivement ; dans notre base de données, aucun patient n'a été pris en charge avant l'âge de 2 ans. L'impact de ce défaut de migration des testicules sur la fertilité est donc évident.

---

<sup>18</sup> Les paillettes sont la propriété exclusive de l'homme (sa conjointe ou son épouse n'a aucun droit sur elles). Elles seront détruites si le patient le désire (présence obligatoire), ou s'il décède. Le CECOS est responsable de la conservation, et garantit la sécurité sanitaire des paillettes. La signature d'un consentement par le malade est nécessaire.

<sup>19</sup> Modalités d'utilisation, possibilité de transfert des paillettes si les patients déménagent ...



### *LES ANOMALIES ANATOMIQUES DU TRACTUS URO-GENITAL :*

Cet item renferme les cas d'hernies inguinales, varicocèle et hydrocèle. Ces anomalies peuvent être à l'origine de trouble de la production spermatique par exposition des testicules à des températures anormalement élevées (secondaire à une stase veineuse par exemple).

Dans ces anomalies anatomiques, nous avons aussi inclus les anomalies de l'appareil urinaire puisque le tractus génital et le tractus urinaire dérivent tous deux d'un même tissu embryonnaire. Nous avons ainsi considéré les patients porteurs de malformations urinaires comme potentiellement porteur de malformations génitales. Nous avons ainsi recensé 4 malades avec chacun un kyste rénal, un urétocèle, un diverticule de la vessie, et un rein en fer à cheval.

### *LES TRAUMATISMES TESTICULAIRES DIRECTS :*

De nombreux patients ont fait état à l'interrogatoire de traumatismes scrotaux. Ces accidents les avaient parfois conduit à consulter un médecin. Dans cet item, nous avons ainsi considéré comme risque pour la fertilité, un épisode de traumatisme scrotal rapporté par les patients, mais aussi, les loisirs exposants à des traumatismes évidents : sports de selles (vélo, VTT, équitation), parachutisme, judo, rugby...).

### *LES TORSIONS TESTICULAIRES :*

La notion de traitement chirurgical de ces torsions n'était pas toujours précisée dans les dossiers, surtout quand cet accident était survenu pendant l'enfance. Le risque d'une non-prise en charge, ou d'une prise en charge tardive de ce genre de pathologie aiguë réside dans une nécrose plus ou moins totale du tissu testiculaire.

### *LES INFECTIONS :*

Il s'agit d'infections urinaires à répétition, et d'infections génitales (prostatite, épididymite).

### *UN EPISODE DE FIEVRE > 38°C DANS LES 3 MOIS PRECEDANT LE RECUEIL DE SPERME :*

### *LES OREILLONS A L'ÂGE ADULTE :*

## 1.2.2.2. LES FACTEURS DE RISQUE INDIRECT :

### *FACTEURS DE RISQUE FAMILIAL :*

Certains patients bien que ne montrant aucune malformation génitale, ont un ou plusieurs parents proches porteurs d'une anomalie testiculaire. Quatorze dossiers sont concernés: nous avons ainsi noté des cas d'hernie inguinale chez un frère, de pathologie testiculaire chez un grand-père (sans plus de précision), de cryptorchidie chez un frère (7 cas) ou un cousin (2 cas) ou un neveu (1 cas)...Dans un autre dossier, un homme bien que ne présentant en apparence aucune anomalie, faisait état dans sa famille d'un père, d'un frère et d'un neveu ne possédant qu'un seul testicule. Nous avons donc considéré ces patients comme potentiellement porteurs d'une anomalie infra-clinique.

### FACTEURS DE RISQUE ENVIRONNEMENTAL :

Nous avons ici examiné tous les facteurs exogènes, susceptibles d'entraîner une augmentation de la température scrotale (fortes chaleurs, position assise prolongée) et tous les facteurs extérieurs toxiques (produits dangereux, radiations).

Un même patient peut cumuler plusieurs facteurs de risque.

### 1.3. LES SPERMOGRAMMES :

Les prélèvements de sperme sont faits sur place, dans le laboratoire du CECOS, après miction et toilette intime, et par masturbation. Le sperme était recueilli dans un réceptacle stérile. Un délai d'abstinence sexuelle de 3 à 5 jours était conseillé, mais cette condition était rarement remplie à l'occasion de la première conservation. Pour cette raison, nous avons décidé de considérer la deuxième visite au CECOS comme l'éjaculat de référence, cette seconde visite étant en général programmée 3 à 5 jours après la première.

Pour chaque échantillon, le volume, le pH, la viscosité, la mobilité, la vitalité et la numération cellulaire (spermatozoïdes, cellules rondes et polynucléaires) ont été appréciés. Pour simplifier l'analyse de la mobilité, nous avons regroupé les spermatozoïdes progressifs rapides et lents en une seule catégorie (spermatozoïdes progressifs).

	NORMES	ANOMALIES
VOLUME	1.6 à 6.5 mL	<1.6 mL : hypospermie > 6.5 mL : hyperspermie
pH	7 à 8.3	< 7 : pH acide > 8.3 : pH alcalin
VITALITE	≥ 60%	< 60 % : nécrospermie
MOBILITE (a + b) Spermatozoïdes progressifs	≥ 40 %	≤ 20 % : asthénospermie sévère < 40 % et > 20 % : asthénospermie modérée
NUMERATION DES SPERMATOZOÏDES	≥ 20 millions de spermatozoïdes	< 20 millions et > 5 millions : oligospermie modérée ≤ 5 millions : oligospermie sévère Absence de spermatozoïde : azospermie
NUMERATION DES CELLULES RONDES	≤ 1 million de cellules ou < 10 % de la numération des spermatozoïdes	

Tableau 7 – Normes du spermogramme tel qu'il est réalisé au CECOS Midi-Pyrénées

Les échantillons réalisés après éjaculation fractionnée n'ont pas été étudiés.

### 1.4. ANALYSES STATISTIQUES :

Les calculs statistiques ont été réalisés à l'aide du logiciel STAT VIEW<sup>®</sup>.

Avant chaque analyse, nous avons étudié la distribution de la population pour chaque paramètre étudié grâce au test de Kolmogorov-Smirnov. Pour comparer deux populations identiques, nous avons appliqué le test de Student apparié si la distribution de la population est normale, et le test de Wilcoxon si la distribution est

non gaussienne. Dans le cas de populations différentes, nous avons eu recours au test de Student non apparié (si population normale), et au test de Mann-Whitney si la distribution ne suivait pas une loi normale.

Nous avons retenu comme seuil de significativité un  $p < 0,05$ .

## 2. NOS RESULTATS :

### 2.1. DESCRIPTIF DE LA POPULATION :

#### 2.1.1. PROPRIETES GENERALES :

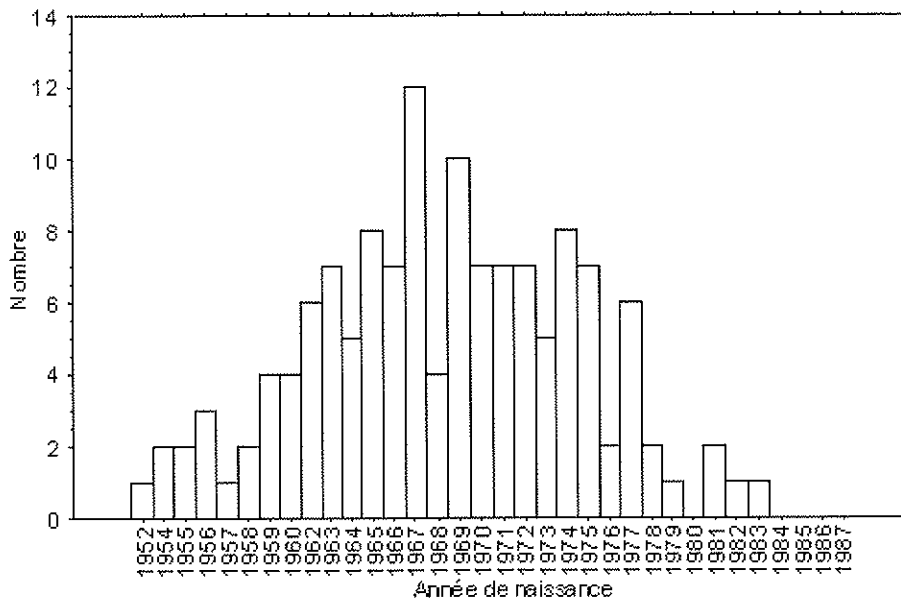
Sur les 306 dossiers de « tumeurs germinales testiculaires », nous dénombrons 134 cas de séminomes (44,8%), et 172 cas de TGNS (55,2 %) dont les caractéristiques anatomopathologiques sont résumées dans le tableau 8. Le patient le plus jeune porteur d'une tumeur séminomateuse pure est âgé de 19,1 ans, et le plus vieux de 52,7 ans. L'âge moyen de la population « séminome » est de 32,7 +/- 6,4 ans. Au moment du diagnostic, l'âge moyen des hommes du groupe « TGNS » est de 26,7 +/- 5,5 ans (16,3 ans au minimum et 46,4 au maximum).

Diagnostic anatomopathologique	Nombre de cas	Testicule atteint	Stade
Séminome	134	Droit : 71	I : 96
		Gauche : 62	II : 14
		Bilatéral : 1	III : 5
			Non précisé : 19
TGNS mixte	92	Droit : 46	I : 41
		Gauche : 45	II : 22
		Bilatéral : 1	III : 15
			Non précisé : 14
CE pur	44	Droit : 23	I : 21
		Gauche : 20	II : 15
		Bilatéral : 1	III : 6
			Non précisé : 2
TGNS avec CE ≥ 80 %	22	Droit : 17	I : 13
		Gauche : 5	II : 2
			III : 3
			Non précisé : 4
Tératome pur	12	Droit : 7	I : 6
		Gauche : 5	II : 2
			III : 2
			Non précisé : 2
Choriocarcinome pur	2	Droit : 2	I : 1
		Gauche : 0	II : 0
			III : 1
TOTAL	306	Droit : 166	I : 178
		Gauche : 137	II : 55
		Bilatéral : 3	III : 32
			Non précisé : 41

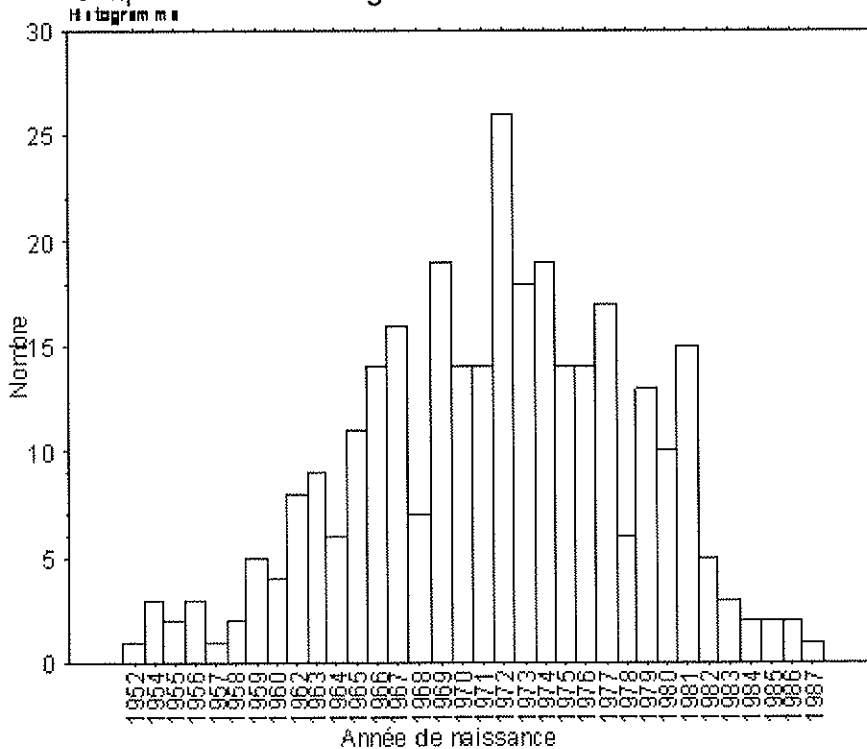
Tableau 8 – Caractéristiques anatomopathologiques des tumeurs

Les tumeurs germinales non séminomateuses sont essentiellement des tumeurs mixtes (30,1 % de la population étudiée). Les tumeurs de stade I représentent 58,2 % de l'effectif, les tumeurs de stade II 18 %, et les tumeurs de stade III 10,5 %. Nous dénombrons 54,2 % de cancers sur le testicule droit, 44,8 % sur le testicule gauche, et 1 % de tumeurs bilatérales.

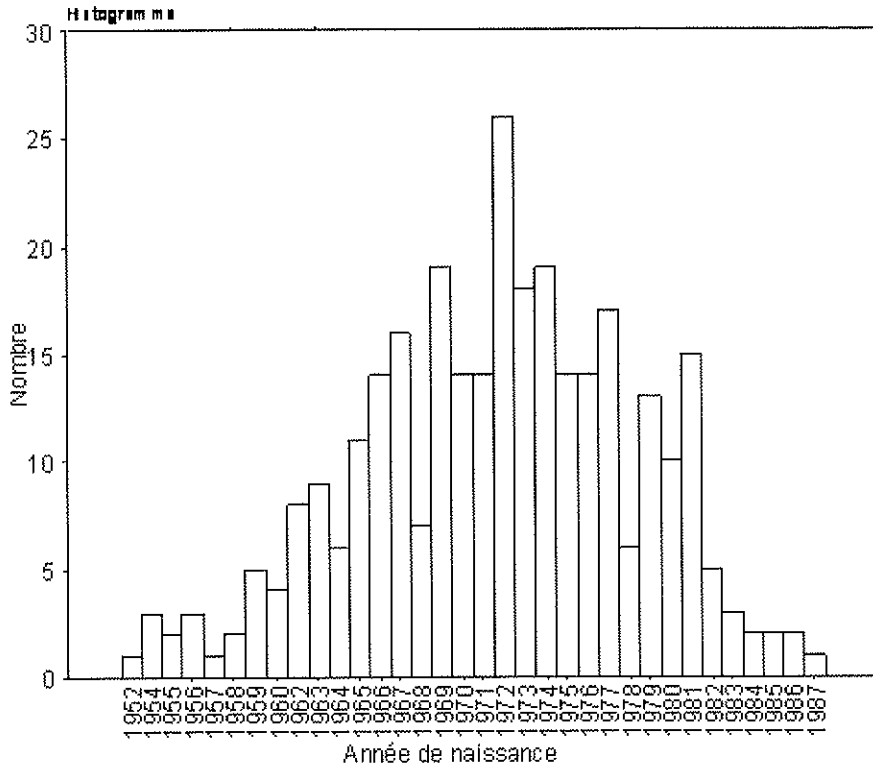
Pour certains auteurs, l'incidence du cancer germinal testiculaire serait liée en partie à un phénomène de « birth cohort » : les bébés nés certaines années seraient plus enclins à développer quelques années plus tard une tumeur germinale testiculaire. Les graphes 1, 2 et 3 représentent le nombre de cas recensés en fonction de leur année de naissance.



Graphe 1 – Tumeurs germinales non séminomateuses



Graphe 2 – Séminomes



Graph 3 – Séminomes et TGNS confondus

### 2.1.2. LES FACTEURS DE RISQUE DE CANCER TESTICULAIRE :

Il est maintenant admis qu'une descente anormale d'un ou des testicule(s) dans le scrotum est un facteur de risque de cancer du testicule. De la même manière, un antécédent de tumeur germinale testiculaire et l'existence au sein d'une famille de plusieurs cas de ce type de cancer sont reconnus comme « facteur de risque de malignité ». Sur les 306 patients inclus dans la base, 69 (22,55 %) présentaient un risque accru de développer un cancer germinal testiculaire.

Une sensibilité familiale peut être évoquée pour 3 d'entre eux. Il s'agissait de cas de cancer testiculaire chez le père ou un cousin maternel (2 cas).

Cinquante deux patients (17 %) présentaient une anomalie de la migration des testicules: cryptorchidie uni- ou bilatérale, ou testicule(s) ascenseur(s). Pour certains, un traitement hormonal ou chirurgical fut nécessaire pour obtenir une descente correcte des testicules. Ce traitement n'a jamais été réalisé avant l'âge de 2 ans. Pour d'autres, la migration scrotale s'est faite spontanément.

Les tumeurs siégeaient sur le testicule non descendu dans 48,08 % des cas, et sur le testicule controlatéral pour 15,38 %. Deux malades (3,85 %) faisaient état d'une cryptorchidie bilatérale, les 2 testicules étant descendus ensuite spontanément. Dans les autres dossiers, il est question de cryptorchidie sans que le côté ne soit clairement identifié par les patients à l'interrogatoire.

Dans la population « Séminome », 76,86 % des malades ne présentaient aucun facteur de risque de cancer du testicule, contre 86,05 % dans la population « TGNS ». Il faut cependant remarquer que pour 4 patients considérés comme exempts de facteur de risque (2 dans chaque groupe) il était question d'une atrophie du testicule atteint. L'atrophie testiculaire, si elle est inférieure à 12 mL, est un facteur de risque de cancer testiculaire reconnu. Le volume du testicule n'étant pas spécifié dans nos dossiers, nous avons volontairement éliminé ce paramètre de nos facteurs de risque de cancer testiculaire.

	<b>SEMINOMES</b> (nombre de cas)	<b>TGNS</b> (nombre de cas)
<b>Absence de facteur de risque</b>	103 (76,86 %)	148 (86,05 %)
<b>Cancer familial</b>	2 (1,49 %)	1 (0,58 %)
<b>Cryptorchidie ou testicule ascenseur</b>	Côté atteint : 14 (10,45 %)	Côté atteint : 10 (5,81 %)
	Côté controlatéral : 6 (4,48 %)	Côté controlatéral : 4 (2,33 %)
	Bilatérale : 6 (4,48 %)	Bilatérale : 6 (3,49 %)
	Côté indéterminé : 3 (2,24 %)	Côté indéterminé : 3 (1,74 %)

Tableau 9 – Description des facteurs de risque identifiés dans les deux populations (Séminome / TGNS)

Sur ces 306 patients, aucun ne présentait d'antécédent de tumeur testiculaire sur le testicule controlatéral. En effet, dans cette base, tous les hommes ayant déjà eu une orchidectomie ou un traitement anti-cancéreux avaient déjà été évincés<sup>20</sup>.

### 2.1.3. TRAITEMENT :

#### 2.1.3.1. GROUPE DES SEMINOMES (134 dossiers) :

Après orchidectomie, une surveillance simple a été proposée à 5 hommes. Cent seize patients ont subi une irradiation prophylactique (de 18 à 36 Gy), associée pour l'un d'entre eux à un curage ganglionnaire. Les autres ont été pris en charge par une chimiothérapie couplée ou non à une radiothérapie. Il s'agissait essentiellement de patients porteurs de métastases. Sur ces 8 hommes, un seul patient aurait eu un curage ganglionnaire à la fin de sa chimiothérapie.

Nous sommes sans connaissance du traitement pour 5 patients.

<sup>20</sup> Sur les 338 patients suivis pour une tumeur germinale testiculaire, 4 avaient déjà eu un cancer testiculaire sur le testis controlatéral, et 2 une tumeur germinale extragonadique.

	Nombre de cas	Grade anatomopathologique
<b>SURVEILLANCE</b>	5	I : 5
<b>RADIODHÉRAPIE</b>	116	I : 90 II : 11 III : 0 Non précisé : 15
<b>CHIMIOTHÉRAPIE</b>		
• Protocole BEP	1	II : 1
• Protocole EP	5	II : 1 III : 3 Non précisé : 1
• Protocole BEP + VEIP	1	III : 3
<b>CHIMIOTHÉRAPIE + RADIODHÉRAPIE</b>	1	III : 3

Tableau 10 – Résumé des traitements proposés aux patients porteurs d'un séminome testiculaire

#### 2.1.3.2. GROUPE DES TGNS (172 cas) :

Neuf patients ont opté pour une surveillance rapprochée, un homme s'est vu proposer une radiothérapie exclusive pour traiter sa tumeur mixte composée majoritairement d'un séminome, et 162 chimiothérapies ont été conduites. Plusieurs protocoles ont été utilisés: 119 TGNS ont été pris en charge selon un protocole BEP (2 à 5 cures), et 9 selon un protocole EP (2 à 4 cures). D'autres associations médicamenteuses associées ou non à de la radiothérapie ont parfois été administrées: ce fut le cas pour 17 patients, dont 10 étaient réfractaires d'emblée à la première ligne de chimiothérapie (tableau 11).

Un curage ganglionnaire a été pratiqué après la chimiothérapie chez 30 malades.

Enfin, on ne nous a pas informé des modalités de traitement pour 15 patients.

ANNEE DU DIAGNOSTIC	AGE AU DIAGNOSTIC (ans)	DIAGNOSTIC	STADE RMH	TRAITEMENT DE 1 <sup>e</sup> LIGNE	TRAITEMENT(S) SUIVANT(S)	DEVENIR	
1	1997	24	Tératome immature	IV	BEP	3 VEIP puis 3 VB BOP CISCA puis VP 16 seul	Décès
2	1997	32	Séminome	III	5 BEP	VEIP	Rémission
3	1997	31	CE + Tératome + Choriocarcinome + Séminome	II	4 BEP	1 EP + Ifosfamide	Rémission
4	1998	29	Choriocarcinome	?	5 CISCA II + Velbe	-	Décès
5	1998	25	CE (80%) + Séminome (15%) + Tératome mature et immature	IV	4 EP	Velbe	Décès
6	1999	23	Tumeur vitelline (40%) + CE (30%) + Tératome immature (30%)	III	4 BEP	2 VEIP	Rémission
7	2000	26	CE (60%) + YS (30%) + Choriocarcinome (10%)	III	4 BEP	Protocole Motzer	Rémission
8	2001	19	Tératome immature + CE (50%) + YS	III	4 BEP	4 VEIP puis irradiation	Décès
9	2003	28	CE (50%) + Tératome immature (30%) + Séminome (20%)	II	4 BEP	Protocole Motzer puis Gemcitabine	Décès
10	2004	25	Tératome mature	III	4 BEP	Protocole Motzer	Rémission

Tableau 11 - Patients « non-répondeurs » au premier traitement initié (Caractéristiques et devenir)

#### 2.1.4. DEVENIR DES PATIENTS :

Sur l'ensemble des tumeurs germinales testiculaires dénombrées entre Janvier 1997 et Décembre 2004, nous avons été informés du décès de 5 patients tous atteints par une tumeur germinale non séminomateuse (tableau 11), et de 15 cas de rechute (2 séminomes et 13 TGNS). Nous comptabilisons donc moins de 5 % de cas de rechute. Les caractéristiques de ces patients sont définies dans le tableau 12.



Année du diagnostic	Age au diagnostic (ans)	Primo-diagnostic	Stade	Primo-traitement	Délai de la rechute	Traitement de la rechute	
1	1997	23	CE (90%) + Tératome immature	I m	3 BEP	25 mois	3 VEIP
2	1998	24	Séminome		Radiothérapie	< 12 mois	?
3	1998	19	CE + YS	IV	3 BEP	48 mois	?
4	1998	30	CE (55%) + Séminome (45%)	I	Surveillance	3 mois	3 BEP
5	1999	19	Tératome immature + CE	II	3 BEP	18-24 mois	?
6	1999	23	Tératome mature et immature	I	Surveillance	14 mois	3 BEP
7	2000	33	Séminome	II	33,7 Gy	25 mois	4 EP
8	2002	23	CE (70%) + Tératome immature et mature	I	Surveillance	4 mois	3 BEP
9	2002	28	CE (70%) + Séminome (30%)	I	2 BEP	18 mois	4 VEIP
10	2003	23	CE	I	Surveillance	3 mois	2 BEP + 1 BE CarboPt
11	2003	23	Tératome mature (50%) + CE (40%) + Séminome (10 %)	I m	Surveillance	9 mois	3 BEP
12	2003	26	Tératome immature (90%) + Tératome mature (10%) + Tumeur vitelline	I	2 BEP	17 mois	Radiothérapie (18 Gy)
13	2003	26	CE	I	Surveillance	14 mois	3 BEP
14	2003	26	YS + Tératome mature + Tératome immature		Surveillance	12 mois	4 BEP
15	2003	34	Tératome mature + Tératome immature + Séminome		Surveillance	2 mois	3 BEP

Tableau 12 - Description des 15 cas de rechute recensés parmi les 306 patients étudiés

### 2.1.5. LES SPERMOGRAMMES :

Ces patients ont réalisé de 0 à 6 autoconservations de sperme, avant ou après orchidectomie (29,01 % avant, 54,95 % après et 16,04 % à cheval de l'intervention chirurgicale). Ils sont venus en moyenne 3 fois au laboratoire pour constituer un stock de paillettes suffisant.

Deux hommes nous ont été adressés par leur médecin, après l'induction de la chimiothérapie.

Sur cette population de 306 patients, seuls 119 (38,89 %) sont venus réaliser un contrôle de leur spermatogenèse à distance de leur traitement. Certains ont fait jusqu'à 7 contrôles.

## 2.2. ETUDE DE LA QUALITÉ DE L'ÉJACULAT DE LA PREMIÈRE ET DE LA SECONDE AUTO-CONSERVATION :

Les patients réalisent en général plusieurs autoconservations. Nous disposons donc souvent pour chaque patient, de plusieurs éjaculats. Nous nous sommes posés la question de savoir s'il existait une différence qualitative entre le premier et le second éjaculat, sachant qu'à l'occasion de leur premier recueil, un délai d'abstinence de 3 à 5 jours n'est généralement pas observé.

Nous avons donc étudié et comparé les deux premières auto-conservations de 279<sup>21</sup> patients venus au moins 2 fois au CECOS avant le traitement par chimiothérapie ou radiothérapie. Il s'agissait de 123 cas de séminome (dont un bilatéral d'emblée), et de 156 cas de TGNS.

Les caractéristiques des différents paramètres spermatiques de la première et de la seconde autoconservation sont listées dans le tableau 13. Après analyse statistique, nous n'avons mis en évidence une différence significative que pour le délai d'abstinence.

---

<sup>21</sup> Sur les 306 patients de la base, 5 n'ont pu réaliser aucun prélèvement, et 26 n'ont fait qu'une auto-conservation.

	Moyenne +/- SD (minimum – maximum) n		p	Test effectué
	1° autoconservation	2° autoconservation		
Délai d'abstinence (jours)	6,1 +/- 6,6 (0,5 – 45) n = 253	3,4 +/- 1,7 (0,5 – 19,5) n = 276	<b>&lt;0,0001</b>	Wilcoxon
Volume (mL)	3,5 +/- 1,6 (0,1 – 9,1) n = 279	3,5 +/- 1,5 (0,3 – 8,7) n = 279	0,6841	Student apparié
pH	8,0 +/- 0,3 (7,4 – 9) n = 277	7,9 +/- 0,3 (7,4 – 8,9) n = 277	0,1002	Wilcoxon
Mobilité (a+b)	36,7 +/- 17,0 (0 – 80) n = 272	37,5 +/- 16,8 (0 – 100) n = 273	0,3010	Student apparié
Vitalité (%)	67,8 +/- 17,1 (0 – 96) n = 265	68,6 +/- 16,8 (0 – 94) n = 267	0,1311	Student apparié
Concentration (10 <sup>6</sup> /mL)	29,9 +/- 35,2 (0 – 204) n = 279	27,4 +/- 33,5 (0 – 247) n = 279	0,1467	Wilcoxon
Numération totale par éjaculat 10 <sup>6</sup>	102,2 +/- 125,2 (0 – 874) n = 279	91,5 +/- 108,3 (0 – 624) n = 279	0,0504	Wilcoxon

Tableau 13 – Paramètres spermatiques moyens de la première et de la deuxième auto-conservation

### 2.3. ETUDE DES PARAMETRES SPERMATIQUES AVANT ET APRES CHIRURGIE :

La pratique montre qu'un peu moins de la moitié (45 %) des patients sont venus réaliser leur première auto-conservation avant la chirurgie. Sur les 306 patients porteurs d'une tumeur testiculaire germinale, 83 ont fait leurs auto-conservations avant la chirurgie, 162 après, et 51 ont conservé avant et après l'orchidectomie. Pour 10 patients, la date de l'orchidectomie n'était pas précisée dans les dossiers.

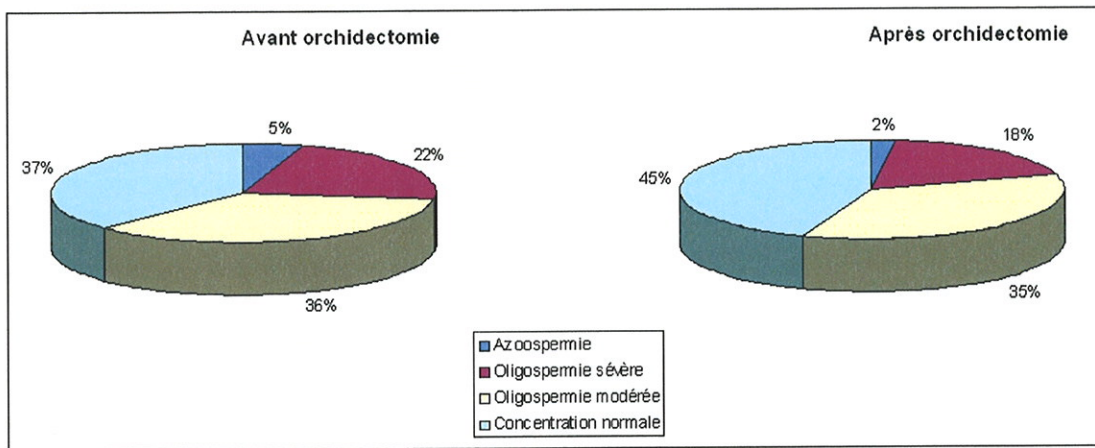
Nous avons regardé si l'orchidectomie pouvait avoir une incidence sur les paramètres spermatiques. Pour cela, nous avons comparé les propriétés des 83 spermogrammes examinés avant la chirurgie, aux 162 spermogrammes analysés après la chirurgie, puis nous avons étudié le cas des 51 patients venus conserver avant et après exérèse d'un testicule.

#### 2.3.1. ETUDE DES SPERMOGRAMMES REALISES EXCLUSIVEMENT AVANT ET APRES L'ORCHIDECTOMIE :

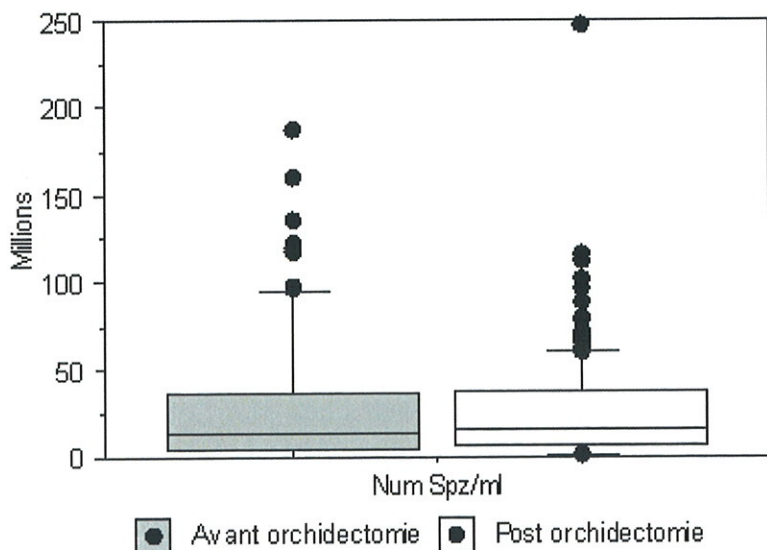
Quatre-vingt trois hommes sont venus conserver avant la chirurgie, mais deux patients ont été exclus: le premier n'était parvenu à aucune éjaculation, et le second présentait avant toute chirurgie, une éjaculation rétrograde. Sur les 81 dossiers retenus, nous dénombrons 41 cas de séminome, et de 40 cas de TGNS. Les hommes ont entre 18,2 et 43,1 ans (29,5 +/- 5,6 ans). Nous recensons dans ce

groupe, 4 azoospermes, 18 oligospermes sévères, 29 oligospermes modérés, et 30 hommes avec une concentration normale.

Cent soixante deux hommes ont été adressés au CECOS Midi-Pyrénées pour autoconservation de sperme après l'orchidectomie. Ces 4 patients ont été exclus: deux patients sont venus conserver alors que la chimiothérapie était déjà initiée, un patient traité en 2003 par orchidectomie seule pour TGNS est venu conserver au moment de sa rechute en 2004 (aucune auto-conservation de sperme ne lui avait été proposée en 2003), et un patient n'a réussi aucun prélèvement. Ce groupe de patients est donc constitué de 158 hommes âgés en moyenne de 29,6 ans (de 17,5 à 52,6 ans): 61 étaient porteurs d'un séminome, et 97 d'une tumeur germinale non séminomateuse. Ces autoconservations se sont réalisées de 5 à 88 jours après la chirurgie (27,4 +/- 15,6). Au sein de cette population, 70 patients avaient plus de 20 millions de spermatozoïdes par mL dans leur éjaculat, 56 étaient oligospermes modérés, 29 sévères et 3 azoospermes.



L'analyse statistique des différents paramètres spermatiques n'a mis en évidence aucune différence significative pour la qualité des éjaculats, entre les 2 groupes étudiés (tableau 14).



Graph 4 – Concentration spermatique avant et après chirurgie

	Moyenne +/- SD (minimum – maximum) N		p	Test effectué
	Avant chirurgie	Après chirurgie		
Délai d'abstinence (jours)	5,8 +/- 9,8 (2 – 60) n = 80	3,5 +/- 1,5 (2 – 15) n = 158	0,1471	Mann-Whitney
Volume (mL)	3,4 +/- 1,6 (0,35 – 8,7) n = 81	3,6 +/- 1,7 (0,3 – 8,8) n = 158	0,5771	Student non apparié
pH	7,9 +/- 0,2 (7,4 – 8,5) n = 81	8,0 +/- 0,3 (7,4 – 8,9) n = 157	0,5229	Mann-Whitney
Mobilité (a+b)	36,4 +/- 15,8 (0 – 70) n = 76	37,2 +/- 16,7 (0 – 75) n = 154	0,7230	Student non apparié
Vitalité (%)	68,1 +/- 14,4 (36 – 93) n = 75	69,7 +/- 15,9 (4 – 94) n = 151	0,4734	Student non apparié
Concentration (10 <sup>6</sup> /mL)	29,7 +/- 40,5 (0 – 187) n = 81	26,0 +/- 30,5 (0 – 247) n = 158	0,4841	Mann-Whitney
Numération totale par éjaculat 10 <sup>6</sup>	93,2 +/- 124,0 (0 – 624) n = 81	89,1 +/- 100,5 (0 – 518,4) n = 158	0,4455	Mann-Whitney

Tableau 14 – Paramètres spermatiques avant orchidectomie et après orchidectomie

### 2.3.2. ETUDE DES 51 PATIENTS VENUS FAIRE LEUR CONSERVATION AVANT ET APRES ORCHIDECTOMIE :

Les médecins du CECOS préconisent généralement 3 auto-conservations pour assurer un stock de paillettes suffisant. Il arrive cependant que la date de l'orchidectomie soit fixée avant la visite au CECOS. Il est alors impossible de planifier 3 auto-conservations en respectant un délai d'abstinence de 3 à 5 jours. Dans ce cas, si le patient l'accepte, des auto-conservations peuvent être programmées après l'opération chirurgicale.

Cinquante et un patients ont ainsi accepté de revenir au CECOS à distance de la chirurgie, avant l'induction d'un traitement adjuvant éventuel. Sur ces 51 patients, l'un d'entre eux avait réalisé une autoconservation après chirurgie sous forme d'une éjaculation fractionnée. Il a été exclu de cette analyse. En raison du petit effectif de cette population, nous n'avons pas tenu compte de la nature histologique de la tumeur : nous avons poolé les patients porteurs d'un séminome et les patients porteurs d'une tumeur germinale non séminomateuse. Au final, nous avons comparé la moyenne des 50 spermogrammes réalisés avant orchidectomie, à la moyenne des 50 spermogrammes réalisés après. Le choix des spermogrammes à comparer a été dicté par la valeur du délai d'abstinence: nous avons essayé d'avoir pour chaque patient, un délai d'abstinence comparable dans les 2 groupes (avant et après).

	<b>TGNS</b>	<b>Séminomes</b>
<b>Population (nombre de patients)</b>	26	24
<b>Nombre d'autoconservations avant chirurgie</b>	1 à 3 (1,8 +/- 0,6)	1 à 3 (2,0 +/- 0,7)
<b>Nombre d'autoconservations après chirurgie</b>	1 à 2 (1,4 +/- 0,5)	1 à 5 (1,5 +/- 0,9)
<b>Délai après la chirurgie</b>	4 à 46 jours (18 +/- 12)	7 à 67 jours (23 +/- 16)

Tableau 15 – Caractéristiques des 50 patients venus conserver à cheval de la date de la chirurgie

Avant la chirurgie, nous recensons 20 patients avec une numération en spermatozoïdes normale (9 séminomes et 11 TGNS), 19 patients oligospermes modérés (8 séminomes et 11 TGNS), 10 patients avec une oligospermie sévère (7 séminomes et 3 TGNS) et un patient azoosperme (TGNS).

Les valeurs moyennes des paramètres spermatiques des patients avant l'orchidectomie sont détaillées dans le tableau 16.

	<b>Avant Chirurgie</b>		<b>Après chirurgie</b>	
<b>Numération normale des spermatozoïdes</b>	Normospermes	8	Normospermes	6
	Asthénospermie modérée (dont 1 avec nécrospermie associée)	10	Asthénospermie modérée (dont 3 avec nécrospermie associée)	11
	Asthénospermie sévère (1 avec nécrospermie)	2	Asthénospermie sévère (dont 2 avec nécrospermie associée)	3
<b>Oligospermie modérée</b>	Mobilité normale (1 avec nécrospermie)	11	Mobilité normale (1 avec nécrospermie associée)	7
	Asthénospermie modérée	7	Asthénospermie modérée (1 avec nécrospermie associée)	5
	Asthénospermie sévère et nécrospermie	1	Asthénospermie sévère	2
<b>Oligospermie sévère</b>	Mobilité normale et nécrospermie associée	1	Mobilité normale (1 avec nécrospermie)	6
	Asthénospermie modérée (dont un avec nécrospermie)	2	Asthénospermie modérée (dont 2 avec nécrospermie associée)	4
	Asthénospermie sévère et nécrospermie	2	Asthénospermie sévère (3 avec nécrospermie associée)	4
<b>Oligospermie très sévère</b>	Mobilité normale	2	Mobilité normale (1 avec nécrospermie associée)	2
	Asthénospermie sévère (2 avec nécrospermie)	3		
<b>Azoospermie</b>		1		2

Tableau 16 – Caractéristiques des spermogrammes avant et après chirurgie

Après la chirurgie, 20 patients avaient un numération en spermatozoïdes supérieure ou égale à 20 millions par mL, 14 étaient oligospermes modérés, 14 oligospermes sévères, 2 très sévères et 2 azospermes (tableau 16).

Après analyses statistiques, nous n'avons mis en évidence aucune différence significative pour le pH, la vitalité, la mobilité (a+b), la concentration en spermatozoïdes de l'éjaculat, et le nombre de spermatozoïdes mobiles par éjaculat. En revanche, il existe une réelle augmentation du volume de l'éjaculat après orchidectomie et une augmentation significative de la durée du délai d'abstinence (tableau 17).

	Moyenne +/- SD (minimum – maximum) N		p	Test effectué
	Avant chirurgie	Après chirurgie		
Délai d'abstinence (jours)	4,8 +/- 4,9 (1 – 30) n = 48	7,3 +/- 6,7 (2 – 35) n = 49	<b>&lt; 0,0001</b>	Wilcoxon
Volume (mL)	3,3 +/- 1,5 (0,9 – 8,1) n = 50	3,9 +/- 1,9 (1,3 – 8,1) n = 50	<b>0,0086</b>	Student apparié
pH	7,9 +/- 0,3 (7,4 – 9,0) n = 50	7,9 +/- 0,3 (7,4 – 8,5) n = 50	0,2461	Student apparié
Mobilité (a+b)	36,2 +/- 16,8 (0 – 100) n = 49	35,2 +/- 14,7 (5 – 70) n = 48	0,8691	Student apparié
Vitalité (%)	67,2 +/- 15,2 (12 – 91) n = 45	68,2 +/- 13,3 (36 – 93) n = 47	0,7941	Student apparié
Concentration (10 <sup>6</sup> /mL)	26,1 +/- 34,3 (0 – 156) n = 50	30,5 +/- 45,2 (0 – 225) n = 50	0,7882	Wilcoxon
Numération totale par éjaculat 10 <sup>6</sup>	85,2 +/- 113,4 (0 -504) n = 50	118,3 +/- 211,2 (0 – 1344) n = 50	0,2230	Wilcoxon

Tableau 17 - Valeurs des paramètres spermatiques avant et après la chirurgie

Il est important de remarquer que certains patients voient la qualité de leur éjaculat s'améliorer après l'orchidectomie, alors que pour d'autres elle se détériore. Après la chirurgie, 10 patients ont vu leur numération en spermatozoïdes dans le sperme augmenter. La concentration en spermatozoïdes de 6 oligospermes modérés s'est normalisée après la chirurgie. Trois oligospermes très sévères se sont transformés en oligospermes sévères, et un oligosperme sévère a vu sa concentration en spermatozoïdes dépasser les 20 millions par mL.

A l'inverse, chez treize patients, nous avons observé une diminution de la numération. Six d'entre eux avaient une numération normale avant l'orchidectomie: 6 présentaient une oligospermie modérée après, et 1, une oligospermie sévère. Cinq autres oligospermes modérés étaient oligospermes sévères après chirurgie. Enfin, dans le sperme d'un patient oligosperme très sévère avant l'opération, nous n'avons retrouvé aucun spermatozoïde après l'orchidectomie.

## 2.4. COMPARAISON DE LA QUALITE DES SPERMOGRAMMES DES PATIENTS ATTEINTS PAR UN TGNS OU PAR SEMINOME, AVANT TRAITEMENT CYTOTOXIQUE :

Nous avons comparé ici, les spermogrammes des patients porteurs d'un séminome, aux spermogrammes des patients atteints par un TGNS. Cette étude concerne uniquement des échantillons de sperme recueillis avant chimiothérapie ou radiothérapie. Nous disposons pour cela de :

- 133 dossiers de séminome<sup>22</sup>
- 166 dossiers de TGNS<sup>23</sup>

Dans le cadre de cette étude comparative, le choix du spermogramme de référence a été dicté par l'optimisation du délai d'abstinence. Il s'agit en général du spermogramme réalisé à l'occasion de la seconde auto-conservation. En effet, lors de leur première visite au CECOS, les hommes ne respectent généralement pas un délai d'abstinence idéal de 3 à 5 jours. Quand ce deuxième éjaculat était absent (une seule auto-conservation) ou n'était pas exploitable (réalisation d'une éjaculation fractionnée lors de la seconde auto-conservation), nous avons pris en compte le premier ou le troisième spermogramme. Enfin, nous n'avons pas tenu compte du timing vis-à-vis de la chirurgie, puisque dans nous n'avons mis en évidence aucune différence significative entre les différents paramètres spermatiques des spermogrammes réalisés avant et après orchidectomie.

Nous avons ainsi pu comparer les spermogrammes avant traitement, de 133 hommes porteurs d'une tumeur testiculaire de nature séminomateuse (98 de stade I, 14 de stade II, 4 de stade III et 17 de stades non renseignés) à celui de 166 patients atteints par un TGNS (81 de stade I, 40 de stade II, 23 de stade III et 22 de stades indéfinis).

### 2.4.1. DESCRIPTION DE LA POPULATION « SEMINOME » :

#### 2.4.1.1. POPULATION AVEC UNE NUMERATION NORMALE :

Soixante cinq hommes atteints par une tumeur séminomateuse ne présentent aucune altération de la concentration spermatique, soit 48,9 % de cette population. Pour 48 patients, la tumeur est de stade I, pour 8 de stade II, et 3 tumeurs sont de stade III (pas d'information pour 6 patients). Sur ces 65 patients, 41 patients ont une mobilité (a+b) normale, 17 sont asthénospermes modérés, et 7 présentent une asthénospermie sévère. Une nécrospermie est observée chez 15,4 % des patients.

Même si leur concentration spermatique est correcte, nous avons relevé chez certains patients des facteurs de risque pour la spermatogenèse, tels qu'une

---

<sup>22</sup> Notre base contient 134 dossiers de séminomes, mais un dossier a été évincé car le patient n'a réussi aucun prélèvement de sperme.

<sup>23</sup> Sur les 172 TGNS de la base, trois patients n'ont réalisé aucune auto-conservation, un autre présentait avant l'orchidectomie une éjaculation rétrograde, et deux hommes ont été adressés au CECOS pour leur première auto-conservation alors que leur chimiothérapie avait débuté depuis quelques jours. Ils ont tous été exclus de cette analyse.



cryptorchidie (9 patients), et/ou une exposition à un environnement potentiellement dangereux pour la fertilité (tableau 18).

<b>FACTEURS DE RISQUE IDENTIFIÉS</b>	<b>Nombre de cas</b>	<b>Caractères spermatiques</b>
ATCD de cryptorchidie	9	2 cas d'asthénospermie modérée et 1 cas d'asthénospermie sévère
ATCD de torsion testiculaire	2	Normospermies
ATCD de traumatisme testiculaire direct	4	1 cas d'asthénospermie modérée et un cas d'asthénospermie sévère
ATCD d'hernies inguinales (traitée ou pas), de varicocèle, d'hydrocèle	6	1 cas de nécro-asthénospermie sévère, et 1 cas de nécrospermie isolée
Anomalies de l'appareil génito-urinaire	1	Normospermie
Pratique d'un sport exposant potentiellement à des traumatismes testiculaires	2	1 cas d'asthénospermie modérée
Oreillons à l'âge adulte	1	Normospermie
ATCD de plusieurs infections urinaires ou génitales	2	1 cas d'asthénospermie modérée
Fièvre	2	1 cas de nécro-asthénospermie sévère
Exposition à de fortes chaleurs	8	2 cas d'asthénospermie modérée (dont un avec nécrospermie associée)
Exposition à des produits toxiques ou à des radiations	6	Normospermie
Position assise plus de 12 heures par jour	4	Normospermie

Tableau 18 – Récapitulatif des facteurs de risque pour la fertilité pour les patients séminomateux, avec une numération spermatique normale

#### 2.4.1.2. POPULATION OLIGOSPERME MODEREE :

Dans le sperme de 39 patients, la concentration en spermatozoïdes était comprise entre 5 et 20 millions. Les tumeurs de stade I représentent 74,4 % de cette population oligosperme modérée, les stades II, 12,8 % (pas de renseignement pour un dossier). L'étude de la mobilité (a+b) révèle une asthénospermie modérée pour 43,6 % des hommes, et sévère pour 17,9 %. Les spermatozoïdes ont une progression normale dans 38,5 % des cas. Une nécrospermie est présente dans 25,6 % des spermogrammes étudiés.

Dans cette population aussi, des facteurs de risque pour la fertilité ont été identifiés. Ils sont listés dans le tableau 20.

<b>FACTEURS DE RISQUE IDENTIFIÉS</b>	<b>Nombre de cas</b>
ATCD de cryptorchidie	13
ATCD de traumatisme testiculaire direct	4
ATCD de torsion testiculaire	1
ATCD d'hernies inguinales (traitée ou pas), de varicocèle, d'hydrocèle	1
Problème testiculaire familial	3
ATCD de plusieurs infections urinaires ou génitales	3
Pratique d'un sport exposant potentiellement à des traumatismes testiculaires	3
Fièvre	1
Exposition à de fortes chaleurs	2
Expositions à des produits toxiques ou à des radiations	5
Position assise plus de 12 heures par jour	4

Tableau 20 - Récapitulatif des facteurs de risque pour la fertilité pour les patients séminomateux oligospermes modérés

#### 2.4.1.3. POPULATION OLIGOSPERME SEVERE :

Onze personnes atteintes par une tumeur séminomateuse se sont avérées oligospermes sévères, et 14 oligospermes très sévères. Il s'agissait majoritairement de tumeur de stade I (17 cas). La mobilité était normale chez 5 hommes, diminuée chez 4 autres et très fortement diminuée chez 15 patients. Huit cas de nécrospERMIE ont été identifiés.

Cette oligospermie sévère ne s'explique pas pour 4 patients, pour qui nous n'avons noté à l'interrogatoire, aucun facteur de risque pour la fertilité. Un antécédent de défaut de migration d'un ou des testicule n'est retrouvé que chez 6 hommes. Les différents facteurs de risque retenus sont retranscrits dans le tableau 21.

<b>FACTEURS DE RISQUE IDENTIFIÉS</b>	<b>Nombre de cas</b>
ATCD de cryptorchidie	6
Exposition à de fortes chaleurs	1
ATCD d'hernies inguinales (traitée ou pas), de varicocèle, d'hydrocèle	4
Expositions à des produits toxiques ou à des radiations	4
Position assise plus de 12 heures par jour	0
Pratique d'un sport exposant potentiellement à des traumatismes testiculaires	1
Anomalies de l'appareil génito-urinaire	2
Problème testiculaire familial	1
ATCD de torsion testiculaire	1
ATCD de traumatisme testiculaire	2
ATCD de plusieurs infections urinaires ou génitales	4

Tableau 21 - Récapitulatif des facteurs de risque pour la fertilité pour les patients séminomateux oligospermes sévères

#### 2.4.1.4. POPULATION AZOOSPERME :

Quatre patients tous porteurs d'un séminome de stade I étaient azoospermes. Un seul ne présentait pas de facteur de risque pour sa fertilité. L'un d'entre eux avait un antécédent de cryptorchidie sur le testicule controlatéral (l'auto-conservation a été réalisée avant l'orchidectomie), mais il était papa de 2 petites filles nées un an auparavant (par ICSI). Un autre avait eu une torsion testiculaire à l'âge de 14 ans, et le dernier passait beaucoup de temps en position assise.

<b>Numération normale (65)</b>	Mobilité normale	41	30,8 %
	Asthénospermie modérée	17	12,8 %
	Asthénospermie sévère	7	5,4 %
<b>Oligospermie modérée (39)</b>	Mobilité normale	15	11,3 %
	Asthénospermie modérée	17	12,3 %
	Asthénospermie sévère	7	5,4 %
<b>Oligospermie sévère (25)</b> Pas d'info sur la mobilité pour un oligosperme très sévère	Mobilité normale	5	3,8 %
	Asthénospermie modérée	4	3,0 %
	Asthénospermie sévère	15	11,3 %
<b>Azoospermie (4)</b>		4	3,0 %

Tableau 22 - Propriétés des spermogrammes des patients séminomateux

#### 2.4.2. POPULATION TGNS :

##### 2.4.2.1. POPULATION AVEC UNE NUMERATION NORMALE :

Soixante cinq patients, soit 39,2 % de la population des TGNS, se situent dans cette catégorie. Dans les dossiers, le compte-rendu anatomo-pathologique des pièces opératoires relate 28 cas de tumeurs de stade I, 21 stades II et 7 stades III (pas d'information pour 9 dossiers). Il s'agit majoritairement de tumeurs mixtes (31 cas) et de CE purs (20 cas). On retrouve par ailleurs, 5 tératomes purs et 8 TGNS composées à plus de 80 % de CE.

Sur ces 65 patients, la mobilité est normale pour 44, une asthénospermie a été diagnostiquée pour 18 d'entre eux, et 3 présentent une asthénospermie sévère. Une nécrospermie est observée sur 12,3 % des spermogrammes.

Dans 23 dossiers, aucun facteur de risque pour la fertilité n'est identifié. Sept patients rapportent un antécédent de cryptorchidie, 3 un épisode fébrile (fièvre supérieure à 38°C) dans les 3 mois qui ont précédé l'auto-conservation, 6 un traumatisme testiculaire. Les facteurs de risques retenus chez ces 23 patients sont listés dans le tableau 23.

<b>FACTEURS DE RISQUE IDENTIFIÉS</b>	<b>Nombre de cas</b>	<b>Caractères spermatiques</b>
ATCD de cryptorchidie	7	3 cas d'asthénospermie modérée et un cas de nécrospermie isolée
Exposition à de fortes chaleurs	7	2 cas d'asthénospermie modérée
Expositions à des produits toxiques ou à des radiations	15	3 cas d'asthénospermie modérée et un cas de nécro-asthénospermie sévère
Problème testiculaire familial	5	1 cas d'asthénospermie modérée et un cas de nécrospermie isolée
ATCD d'hernies inguinales (traitée ou pas), de varicocèle, d'hydrocèle	1	<i>Ras</i>
Anomalies	1	<i>Ras</i>
Fièvre	3	1 cas de nécro-asthénospermie modérée
Oreillons à l'âge adulte	1	<i>Ras</i>
Position assise	2	<i>Ras</i>
ATCD de torsion testiculaire	2	1 asthénospermie modérée
ATCD de traumatisme testiculaire	6	2 cas d'asthénospermie modérée et une nécrospermie isolée
Pratique d'un sport exposant potentiellement à des traumatismes testiculaires	8	2 cas d'asthénospermie modérée (dont un avec nécrospermie associée) et un cas de nécrospermie isolée
ATCD de plusieurs infections urinaires ou génitales	1	Nécro-asthénospermie sévère

Tableau 23 - Récapitulatif des facteurs de risque pour la fertilité chez les patients porteurs d'un TGNS ayant une numération spermatique normale

#### 2.4.2.2. POPULATION OLIGOSPERME MODERE :

Soixante trois patients sont oligospermes modérés : ils représentent 37,9 % de la population TGNS. Ils sont porteurs essentiellement de tumeurs de stade I (39 cas) ou II (11 cas). L'analyse anatomopathologique fait état de 28 TGNS mixtes, 14 CE purs, 13 TGNS avec contingent CE > 80 %, 6 tératomes purs, et 1 tumeur vitelline pure.

L'analyse des spermogrammes au moment de l'auto-conservation, met en évidence une mobilité normale chez plus de la moitié des patients (57,1 %), une asthénospermie modérée chez 30,2 % et sévère chez 9,7 % des patients. Douze cas de nécrospermie sont rapportés.

Des facteurs de risque pour la fertilité n'ont été retrouvés à l'interrogatoire que chez 44 patients (tableau 24).

<b>FACTEURS DE RISQUE IDENTIFIÉS</b>	<b>Nombre de cas</b>
ATCD de cryptorchidie	10
Exposition à de fortes chaleurs	5
Expositions à des produits toxiques ou à des radiations	14
Position assise plus de 12 heures par jour	3
Fièvre	3
ATCD de torsion testiculaire	2
Oreillons à l'âge adulte	1
Problème testiculaire familial	2
Anomalies	1
Pratique d'un sport exposant potentiellement à des traumatismes testiculaires	6
ATCD d'hernies inguinales (traitée ou pas), de varicocèle, d'hydrocèle	7
ATCD de traumatisme testiculaire	5
ATCD de plusieurs infections urinaires ou génitales	1

Tableau 24 - Récapitulatif des facteurs de risque pour la fertilité chez les patients porteurs d'un TGNS ayant une oligospermie modérée

#### 2.4.2.3. POPULATION OLIGOSPERME SEVERE :

Dans cette population, nous avons recensé 34 hommes porteurs de tumeurs de stade I pour 14 d'entre eux, de stade II pour 8 autres et de stade III pour 10 autres. D'un point de vue histologique, il s'agissait de 22 TGNS (dont 1 avec une contingent carcino-embryonnaire > 80%), 8 CE purs, 1 tératome pur, et 1 tumeur vitelline pure. Parmi ces hommes, 13 sont oligospermes sévères.

Dans la plupart des spermés étudiés la mobilité (a+b) n'était pas normale ; une asthénospermie sévère est retrouvée dans 48,5 % des cas, et une asthénospermie modérée dans 36,4 % des cas. Malgré une altération manifeste de la spermatogenèse chez ces hommes, nous n'avons retrouvé à l'interrogatoire que peu de facteurs de risque pour leur fertilité (tableau 25).

<b>FACTEURS DE RISQUE IDENTIFIÉS</b>	<b>Nombre de cas</b>
ATCD de cryptorchidie	3
Exposition à de fortes chaleurs	1
Expositions à des produits toxiques ou à des radiations	6
Position assise plus de 12 heures par jour	1
Pratique d'un sport exposant potentiellement à des traumatismes testiculaires	1
ATCD d'hernies inguinales (traitée ou pas), de varicocèle, d'hydrocèle	3
Problème testiculaire familial	4
Fièvre	1
ATCD de torsion testiculaire	3
ATCD de traumatisme testiculaire	3
ATCD de plusieurs infections urinaires ou génitales	2

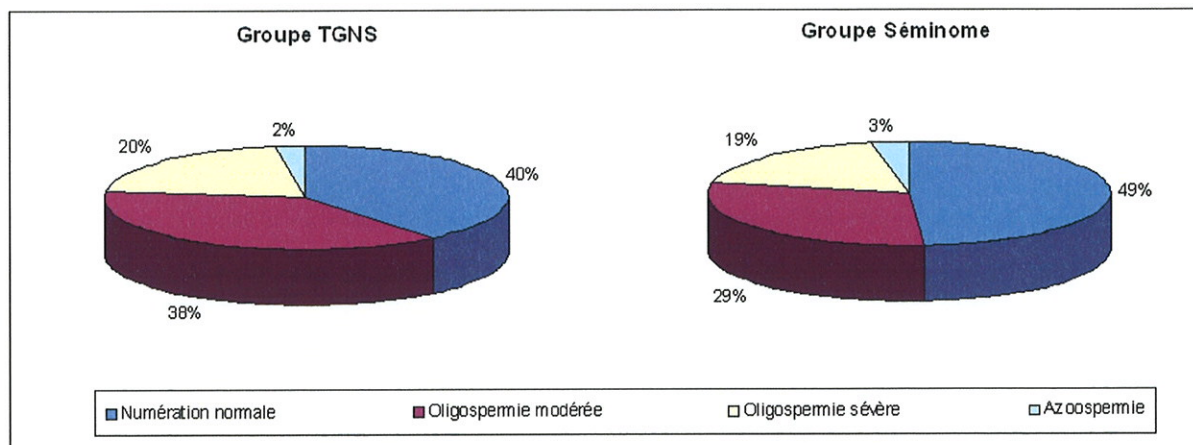
Tableau 25 - Récapitulatif des facteurs de risque pour la fertilité chez les patients porteurs d'un TGNS ayant une oligospermie sévère

#### 2.4.2.4. POPULATION AZOOSPERME :

Dans le sperme de quatre patients porteurs d'une tumeur mixte (trois de stade I et une de stade III), nous n'avons retrouvé aucun spermatozoïde. Trois d'entre eux possédaient des facteurs de risque d'hypofertilité. Un homme avait un antécédent de cryptorchidie traitée à l'âge de 5 ans, et était exposé à des produits toxiques régulièrement. Un autre présentait une hypotrophie du testicule controlatéral, et le troisième, chauffeur routier, passait de nombreuses heures en position assise.

<b>Numération normale (65)</b>	Mobilité normale	44	26,5 %
	Asthénospermie modérée	18	10,8 %
	Asthénospermie sévère	3	1,8 %
<b>Oligospermie modérée (63)</b>	Mobilité normale	36	21,7 %
	Asthénospermie modérée	19	11,4 %
	Asthénospermie sévère	8	4,8 %
<b>Oligospermie sévère (34)</b> Pas d'info sur la mobilité pour un oligosperme très sévère	Mobilité normale	5	3,0 %
	Asthénospermie modérée	12	7,2 %
	Asthénospermie sévère	16	9,6 %
<b>Azoospermie (4)</b>		4	2,4 %

Tableau 26 – Propriétés des spermogrammes des patients du groupe TGNS



Graph 5 – Descriptif de l'effectif TGNS et séminome

#### 2.4.3. COMPARAISON DES SPERMOGRAMMES TGNS / SEMINOMES :

Les moyennes des différents paramètres étudiés dans cette analyse sont présentées dans le tableau 27. Après analyse statistique, nous n'avons souligné aucune différence significative entre ces deux populations. La qualité des spermogrammes des patients porteurs de séminome ou de TGNS est statistiquement identique.

	Moyenne +/- SD (minimum – maximum) N		p	Test effectué
	Séminome	TGNS		
Délai d'abstinence (jours)	4,5 +/- 4,2 (1 – 31) n = 130	4,7 +/- 7,1 (1 – 60) n = 162	0,2758	Mann-Whitney
Volume (mL)	3,5 +/- 1,7 (0,6 – 8,7) n = 133	3,6 +/- 1,7 (0,3 – 8,8) n = 166	0,1270	Student non apparié
pH	7,9 +/- 0,3 (7,4 – 9,0) n = 133	8,0 +/- 0,3 (7,4 – 8,9) n = 165	0,4160	Mann-Whitney
Mobilité (a+b)	35,3 +/- 16,4 (0 – 75) n = 128	37,2 +/- 16,1 (0 – 75) n = 161	0,3239	Student non apparié
Vitalité (%)	67,7 +/- 15,7 (25 – 94) n = 125	70,2 +/- 15,4 (4 – 93) n = 155	0,1929	Student non apparié
Concentration (10 <sup>6</sup> /mL)	31,4 +/- 39,0 (0 – 247) n = 133	24,8 +/- 29,0 (0 – 156) n = 166	0,3454	Mann-Whitney
Numération totale par éjaculat 10 <sup>6</sup>	98,1 +/- 118,2 (0 – 624) n = 133	86,9 +/- 102,2 (0 – 504) n = 166	0,6438	Mann-Whitney

Tableau 27 – Tableau des moyennes des paramètres spermatiques dans les 2 groupes étudiés (Séminomes / TGNS)

## 2.5. ETUDE DE LA RECUPERATION SPERMATIQUE APRES CHIMIOTHERAPIE OU RADIOTHERAPIE

Cent dix neuf patients sont revenus au CECOS Midi-Pyrénées après leur traitement, pour contrôler l'état de leur spermatogenèse. Cette démarche s'est faite spontanément<sup>24</sup> (avec ou sans projet de grossesse à court terme), après discussion avec leur urologue ou leur cancérologue, ou dans le cadre de protocoles de recherche. Ces prélèvements ont été réalisés dans les mêmes conditions que pour les auto-conservations, mais n'ont pas donné lieu à des congélations à visée médicale. Les délais entre la fin du traitement et les spermogrammes de contrôle sont donc très variables: de 3 jours à plus de 6 ans.

Sur ces 119 patients, 56 ont été pris en charge pour un séminome et 63 pour TGNS (18 CE pur, 10 tumeurs mixtes composées de 80 % au moins de CE, 2 tératomes purs, et 33 tumeurs mixtes). Un traitement par radiothérapie exclusive a été conduit chez 54 patients, et 48 personnes ont été traitées suivant le protocole BEP (tableau 28).

<sup>24</sup> Au moment des auto-conservations, à l'occasion de la consultation avec les médecins du CECOS, les patients étaient invités à venir réaliser un spermogramme de contrôle à distance de la fin du traitement.

	Diagnostic	Nombre de patients
BEP	TGNS	48
EP	TGNS Séminome	5 2
BEP + autre protocole	TGNS	8
EP + Radiothérapie	Séminome	1
BEP + Radiothérapie	TGNS (puis rechute séminomateuse sur le testis controlatéral)	1
Radiothérapie seule	Séminome	54

Tableau 28 – Répartition de la « population contrôle » en fonction du traitement anti-cancéreux

## 2.5.1. DESCRIPTION DE LA POPULATION CONTRÔLE :

### 2.5.1.1. POPULATION « CHIMIOThERAPIE CONTRÔLE »

Nous nous sommes intéressés aux 48 patients traités exclusivement selon le protocole BEP: 22 ont reçu deux cures, 21 trois cures, et 5 quatre cures de BEP. Un curage ganglionnaire a été pratiqué chez 6 de ces hommes: un seul<sup>25</sup> a présenté une éjaculation rétrograde secondaire (exclu de l'étude). Sur ces 47 personnes, nous avons dû évincer deux autres patients pour qui nous ne disposions d'aucun spermogramme de référence avant l'induction de la chimiothérapie. Ils avaient été adressés au CECOS alors que le traitement avait été initié quelques jours auparavant. Enfin, un dernier patient a été éliminé: son spermogramme de contrôle était concomitant avec une rechute sur le testicule controlatéral.

Au final, la « population BEP contrôle » est composée de 44 hommes âgés de 25,95 ans en moyenne (17,50 - 40,44) au moment du diagnostic, et traités exclusivement selon le protocole BEP (tableau 29).

	2 BEP	3 BEP	4 BEP
Nombre de patients	21	19	4

Tableau 29 – Répartition de l'effectif en fonction du nombre de cure de BEP

<sup>25</sup> Patient porteur d'une tumeur germinale testiculaire droite à composante mixte de stade pT2N2M0 traitée par 3 BEP et un curage ganglionnaire. Ses paramètres spermatiques avant chimiothérapie étaient sensiblement normaux, malgré un antécédent de cryptorchidie bilatérale (testicules descendus spontanément vers l'âge de 8 ans). Ce patient a réalisé 2 spermogrammes de contrôle. La recherche de spermatozoïdes dans les urines est toujours restée négative.



Au sein de cette population, les spermogrammes de contrôle ont été réalisés 33 jours à 72 mois après la fin du traitement. Les patients ont fait 1 à 7 contrôles (moyenne : 2,05). Nous disposons ainsi d'une base de données de 90 spermogrammes de contrôle.

	<b>Délai de réalisation du spermogramme de contrôle</b> (nombre de spermogrammes)				
	0-6 mois	6-12 mois	12-24 mois	24-36 mois	> 36 mois
1° contrôle	8	12	17	3	4
2° contrôle	1	7	6	3	6
3° contrôle	0	1	6	3	4
4° contrôle	0	0	0	1	3
5° contrôle	0	0	0	1	1
6° contrôle	0	0	0	1	1
7° contrôle	0	0	0	0	1
<b>TOTAL</b>	<b>9</b>	<b>20</b>	<b>29</b>	<b>12</b>	<b>20</b>

Tableau 30 – Nombre de spermogrammes et délai de réalisation des spermogrammes de contrôle après chimiothérapie

	2 BEP	3 BEP	4 BEP
0 - 6 mois	5	3	1
6 - 12 mois	8	10	2
12 - 24 mois	14	11	4
24-36 mois	4	8	0
> 36 mois	12	5	3

Tableau 31 – Nombre de spermogrammes de contrôle en fonction du nombre de cures de BEP

Avant l'induction du traitement, 29,5 % avaient une numération spermatique normale, 45,5 % étaient oligospermes modérés, 20,5 % oligospermes sévères et à 4,5 % azoospermes (tableau 32). Les valeurs moyennes des différents paramètres spermatiques étudiés sont détaillées dans le tableau 33.

	<b>NOMBRE DE CAS RECENSES</b> (nombre de cas de nécrospermie)		
	Mobilité normale	Asthéno modérée	Asthéno sévère
Numération normale	8 (1)	5	0
Oligo modérée	13 (1)	6	1
Oligo sévère	1 (1)	4 (2)	4 (3)
Azoospermie		2	

Tableau 32 – Caractéristiques des spermogrammes des 44 patients de la population « BEP contrôle » avant l'induction du traitement

		Moyenne +/- DS (minimum – maximum)
Délai d'abstinence (jours)	n = 44	3,6 +/- 1,5 (2 -12)
Volume (mL)	n = 44	4,0 +/- 1,7 (0,5 – 8,1)
pH	n = 44	7,9 +/- 0,3 (7,4 – 8,7)
Mobilité (a+b)	n = 42	38,7 +/- 17,7 (0 – 75)
Vitalité (%)	n = 41	71,2 +/- 16,1 (0 – 90)
Concentration en spermatozoïdes (10 <sup>6</sup> )/mL	n = 44	22,1 +/- 29,2 (0 – 120)
Nombre de spermatozoïdes (10 <sup>6</sup> ) par éjaculat	n = 44	81,7 +/- 100,5 (0 – 432,9)

Tableau 33 – Paramètres spermatiques moyens des 44 patients de la population « BEP contrôle » avant l'induction du traitement

#### 2.5.1.2. POPULATION « RADIOTHERAPIE CONTRÔLE »

Sur les 116 patients traités par radiothérapie pour un séminome testiculaire, 54 (46,55 %) sont venus réaliser un spermogramme de contrôle au CECOS Midi Pyrénées, à distance du traitement.

Aucun malade ne présente d'éjaculation rétrograde, même si un patient a subi un curage inguinal bilatéral associé à sa radiothérapie. Un homme est venu faire un seul spermogramme de contrôle, 3 jours après la fin de son traitement, à la demande des médecins du CECOS, et dans un contexte particulier: nous l'avons exclu de l'étude. Un second patient a du être éliminé de la base de données: lors de son unique spermogramme de contrôle, il n'avait pu récupérer l'ensemble de l'éjaculat. Même si les 0,3 mL étaient suffisants pour réaliser le spermogramme, nous ne pouvions calculer le nombre total de spermatozoïdes dans l'éjaculat.

La « population radiothérapie contrôle » se compose donc de 52 hommes âgés en moyenne de 33,94 ans (24,35 - 52,65). L'analyse de la pièce opératoire avait permis de conclure à un séminome de stade I pour 42 patients, et de stade II pour 4 autres (stade non renseigné pour les 6 dossiers restants). Les hommes ont reçu de 21,6 à 36 Gy (26 Gy en moyenne):

- 26 patients ont reçu une irradiation entre 20 et 25 Gy
- 20 patients une dose cumulée comprise entre 25 et 30 Gy
- 3 patients une dose cumulée comprise entre 30 et 35 Gy
- et 3 autres, une dose cumulée comprise entre 35 et 40 Gy

Ils ont réalisé de 1 à 7 contrôles (1,64 en moyenne). Nous disposons ainsi pour notre étude de 86 spermogrammes de contrôle.

	<b>Délai de réalisation du spermogramme de contrôle</b> (nombre de spermogrammes)				
	0 - 6 mois	6 - 12 mois	12 - 24 mois	24 - 36 mois	> 36 mois
1° contrôle	10*	14	16	9	3
2° contrôle	3	4	6	2	5
3° contrôle	1	1	3	3	1
4° contrôle	0	0	2	1	0
5° contrôle	0	0	0	1	0
6° contrôle	0	0	0	1	0
7° contrôle	0	0	0	0	1
<b>TOTAL</b>	<b>14*</b>	<b>19</b>	<b>27</b>	<b>17</b>	<b>10</b>

\*Sur les 10 spermogrammes étudiés, l'un d'entre eux a été effectué au cours de la radiothérapie (12 jours après la première séance): ce spermogramme de contrôle n'entrera pas dans la base.

Tableau 34 – Délai de réalisation des spermogrammes de contrôle après radiothérapie

Dans cette population, la majorité (59,6 %) des patients ne présente pas d'anomalie quantitative de la production de spermatozoïdes. Une oligospermie modérée est retrouvée chez 23,1 % des hommes, une oligospermie sévère chez 15,4 %, et un seul patient est azoosperme avant le début de la radiothérapie (1,9 %) (tableau 35).

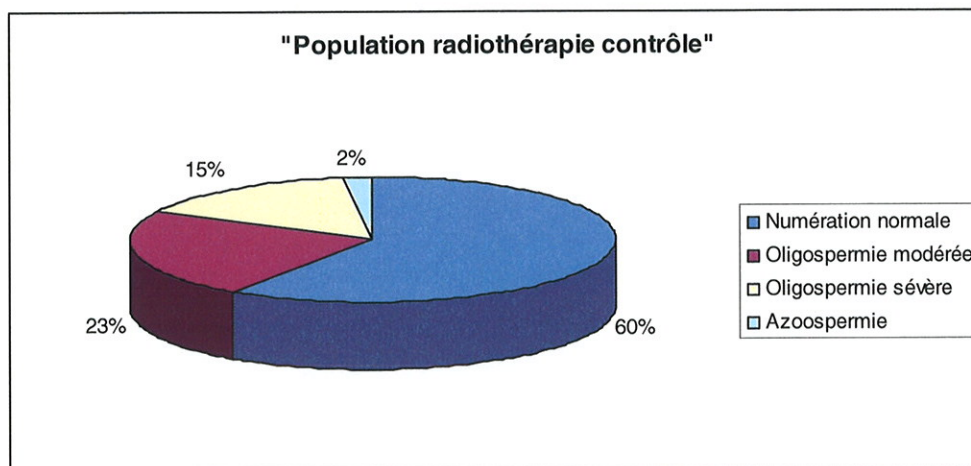
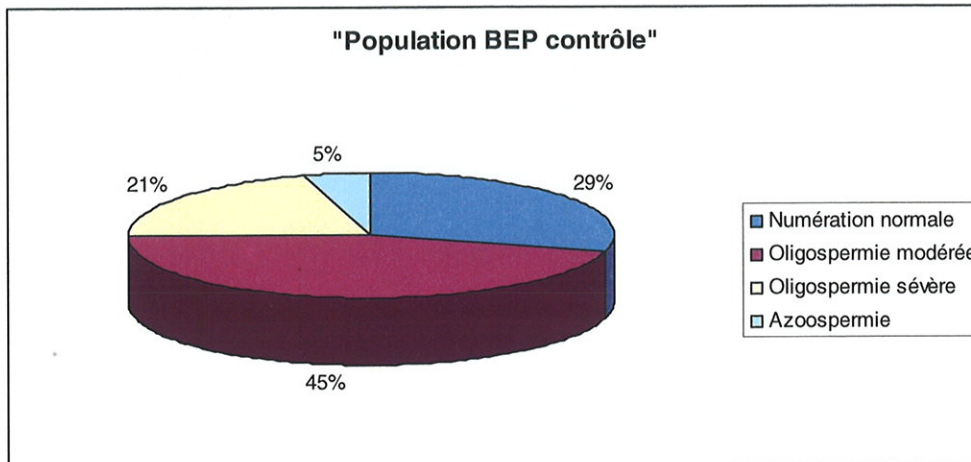
	<b>NOMBRE DE CAS RECENSES</b> (nombre de cas de nécrospermie)		
	Mobilité normale	Asthéno modérée	Asthéno sévère
Numération normale	19 (4)	9 (2)	3
Oligo modérée	4	6 (2)	2 (2)
Oligo sévère	4	2 (1)	2 (2)
Azoospermie		1	

Tableau 35 – Caractéristiques des spermogrammes des 52 patients de la population « radiothérapie contrôle » avant l'induction du traitement

		Moyenne +/- DS (minimum - maximum)
Délai d'abstinence (jours)	n = 52	3,5 +/- 0,9 (2 - 7)
Volume (mL)	n = 52	3,6 +/- 1,7 (0,7 - 8,2)
pH	n = 52	7,9 +/- 0,2 (7,4 - 8,5)
Mobilité (a+b)	n = 51	39,1 +/- 16,4 (0 - 75)
Vitalité (%)	n = 50	65,4 +/- 17,6 (0 - 94)
Concentration en spermatozoïdes (10 <sup>6</sup> )/mL	n = 52	39,4 +/- 41,5 (0 - 247)
Nombre de spermatozoïdes (10 <sup>6</sup> ) par éjaculat	n = 52	123,9 +/- 116,0 (0 - 484,7)

Tableau 36 – Paramètres spermatiques moyens des 52 patients de la population « radiothérapie contrôle » avant l'induction du traitement

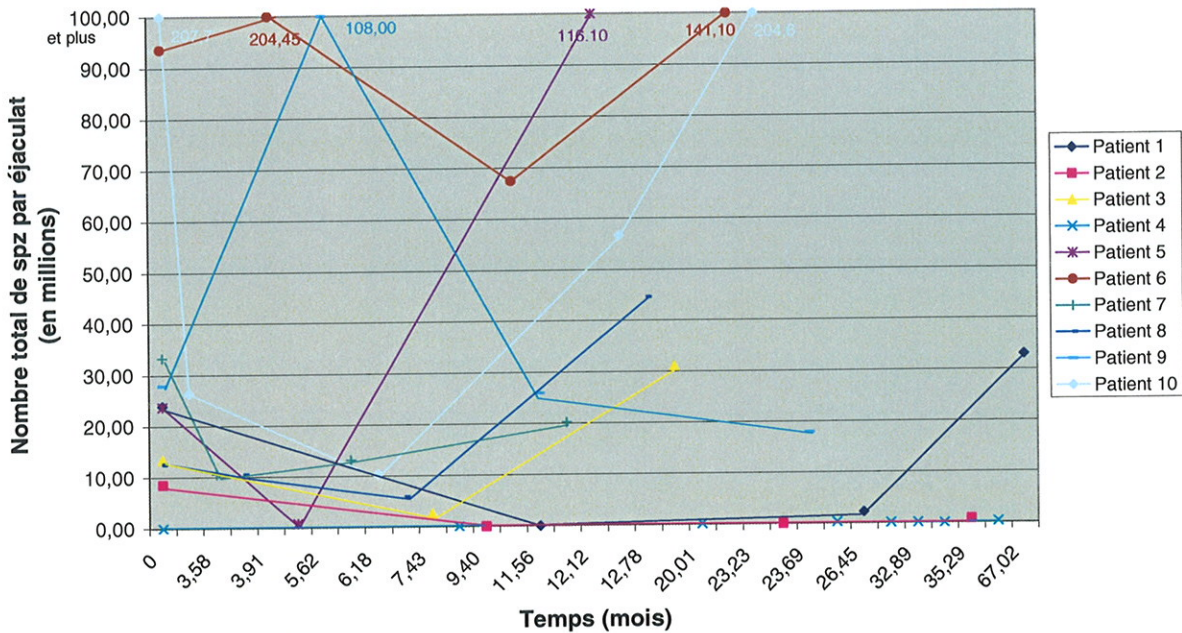
Dans les deux bases (chimiothérapie ou radiothérapie contrôlée), certains hommes ont réalisé des spermogrammes de contrôle rapprochés, si bien que dans le même intervalle de temps, nous pouvions comptabiliser plusieurs spermogrammes pour un même patient. Nous avons choisi de ne garder pour chaque patient, et pour chaque intervalle de temps, qu'un seul spermogramme. Pour chaque intervalle de temps, nous avons ainsi conservé le spermogramme le plus éloigné de la fin du traitement.



### 2.5.2. CINETIQUE DE RECUPERATION DE LA SPERMATOGENESE :

Nous nous sommes intéressés ici, aux patients des deux groupes qui ont réalisé au moins un contrôle dans l'année qui a suivi la fin de leur traitement, et un autre au-delà. Nous avons ainsi apprécié la cinétique de récupération de la spermatogenèse de 10 patients suivis pour séminome, et de 14 hommes suivis pour TGNS. De manière générale, nous observons une reprise progressive de la production des spermatozoïdes dans les deux groupes étudiés (Graphes 1 et 2), même si cette récupération ne semble pas homogène.

### 2.5.2.1. POPULATION « RADIOTHERAPIE CONTRÔLE » :



Graph 5 – Cinétique de récupération de la spermatogenèse chez 10 patients traités par radiothérapie

A l'exception du patient 4, nous observons chez tous ces patients traités par radiothérapie, une chute plus ou moins importante de la production des spermatozoïdes après irradiation. Elle se produit au cours de la première année post traitement, mais le délai d'apparition du nadir est très variable: il semble survenir entre 3 et 11 mois après la fin du traitement.

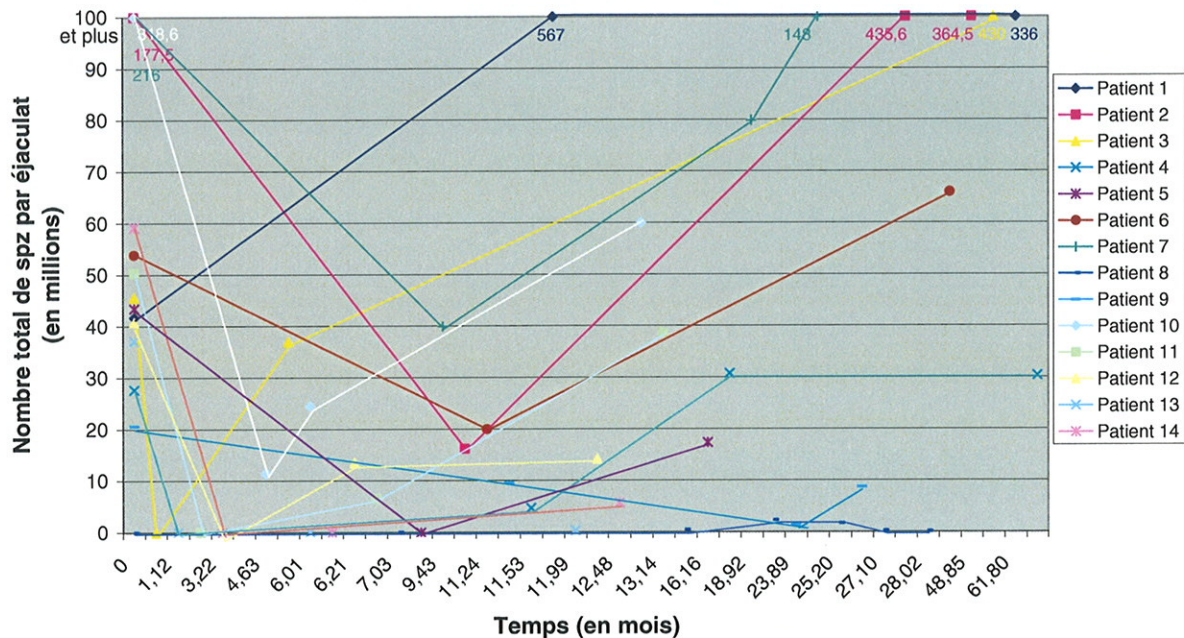
Chez un patient (1), la production spermatique reste très faible pendant plus de 2 ans, avant de revenir à son niveau normal: plus de 5 ans après l'irradiation (36 Gy), le spermogramme de cet homme est sensiblement meilleur que celui réalisé au moment de l'auto-conservation.

Pour deux patients (6 et 9), la chute du nombre de spermatozoïdes dans l'éjaculat est précédée d'un pic. Dans les deux cas, cette augmentation transitoire du nombre de spermatozoïdes dans l'éjaculat ne s'accompagne pas d'une augmentation de la nécospermie. De plus, dans le cas du patient 6, la spermatogenèse ne semble quasiment pas altérée par l'irradiation (24,4 Gy en lombo-aortique): sa concentration spermatique est toujours restée très largement supérieure à 40 millions de spermatozoïdes.

Même si globalement, ce graphe met en lumière une récupération de la spermatogenèse, l'irradiation du patient 2 semble avoir eu un effet très néfaste pour sa production spermatique: alors que ce patient de 29 ans était oligosperme sévère avant le traitement (9 millions de spermatozoïdes dans son éjaculat dont 3,15 millions de mobiles), 3 ans après une irradiation de 26 Gy en lombo-aortique et

iliaque droite sans curage ganglionnaire associé pour un séminome de stade I, on ne retrouve plus que 833 000 spermatozoïdes par éjaculat (50 % de mobiles). Le volume des éjaculats avant et après radiothérapie était sensiblement identique.

### 2.5.2.2. POPULATION « CHIMIOThERAPIE CONTRÔLE » :



Graph 6 – Cinétique de récupération de la spermatogenèse chez 14 patients traités par BEP

La cinétique de récupération de la spermatogenèse dans la « population BEP contrôle » est comparable à celle observée dans la « population radiothérapie contrôle »: l'effondrement de la production se manifeste au cours de la première année. Si l'on visualise les courbes des 4 patients venus vers le 3<sup>o</sup>- 4<sup>o</sup> mois post chimiothérapie, nous avons l'impression que le nadir (proche de l'azoospermie) survient dans les tous premiers mois, plus tôt semble-t-il, que pour la radiothérapie.

Même si toutes les courbes de ce graph 2 ne sont pas superposables, elles suivent presque toutes le même mouvement. Il est intéressant de noter, qu'en post traitement, de nombreux patients ont une spermatogenèse quantitativement supérieure à celle observée au moment de l'auto-conservation. Comme dans le graph 7, il est curieux d'observer que la spermatogenèse d'un patient (1) est toujours restée de très bonne qualité (son premier contrôle 12 mois après la fin de la seconde cure de BEP, est peut-être réalisé trop tard pour nous permettre de visualiser le nadir).

Sur ce graph, nous ne visualisons en revanche aucune augmentation transitoire du nombre de spermatozoïdes dans les éjaculats.

### 2.5.3. COMPARAISON DES SPERMOGRAMMES DANS CHAQUE POPULATION, EN FONCTION DU DELAI POST TRAITEMENT :

#### 2.5.3.1. DE 0 A 6 MOIS APRES LA FIN DU TRAITEMENT :

Peu de patients sont venus au CECOS pour évaluer l'état de leur spermatogénèse, dans les 6 mois qui ont suivi la fin du traitement. Il s'agit majoritairement d'hommes ayant accepté de participer à un protocole de recherche. L'effectif se ainsi compose de :

- 8 TGNS (5 tumeurs de stade I et une de stade II) traités par 2 à 4 cures de BEP
- 10 séminomes (7 tumeurs de stade I et une de stade II)

Parmi les 8 patients suivis pour TGNS, 2 présentaient une production quantitativement normale, et 6 étaient oligospermes modérés au moment du diagnostic. Six mois après leurs cures de BEP, on ne retrouvait chez aucun patient plus de 20 millions de spermatozoïdes par mL dans les éjaculats: un patient était oligosperme modéré, 5 sévères et 2 azoospermes. Les 2 patients azoospermes étaient oligospermes modérés avant la chimiothérapie (3 et 4 cures de BEP sans curage ganglionnaire associé<sup>26</sup>).

	Moyenne +/- DS (minimum – maximum)		p	Test statistique
	Autoconservation	Spermogramme de contrôle (0 - 6 mois)		
Délai d'abstinence (jours)	3,2 +/- 1 (2 – 5) n = 8	3,7 +/- 0,5 (3 – 4) n = 7	0,4571	Student apparié
Volume (mL)	4,7 +/- 1,3 (3 – 6,4) n = 8	4,3 +/- 1,9 (1,8 – 7,5) n = 8	0,5285	Student apparié
pH	8,0 +/- 0,2 (7,7 – 8,3) n = 8	7,8 +/- 0,2 (7,4 – 8,1) n = 8	0,1429	Student apparié
Mobilité (a+b)	45,6 +/- 11,8 (30 – 65) n = 8	33,0 +/- 13,0 (20 – 50) n = 5	0,1151	Student apparié
Vitalité (%)	70,7 +/- 14,1 (47 – 85) n = 8	79,0 +/- 6,2 (70 – 84) n = 4	0,8119	Student apparié
Concentration en spermatozoïdes (10 <sup>6</sup> )/mL	26,9 +/- 31,1 (5,8 – 88,5) n = 8	1,8 +/- 3,5 (0 – 10) n = 8	<b>0,0173</b>	Wilcoxon
Nombre de spermatozoïdes (10 <sup>6</sup> ) par éjaculat	117,3 +/- 133,2 (37,1 – 346,5) n = 8	6,7 +/- 12,9 (0 – 37) n = 8	<b>0,0117</b>	Wilcoxon

Tableau 37 – Caractéristiques et comparaison des spermogrammes des patients traités par BEP à T<sub>0</sub> et T<sub>6</sub> mois.

<sup>26</sup> Ils sont revenus contrôler l'état de leur spermatogénèse à distance. L'un deux était oligosperme sévère (3,4 millions de spz/mL) 13 mois après ses 4 BEP. Le second, plus de 5 ans après 3 cures de BEP, était à nouveau oligosperme modéré (9,8 millions de spz /mL après contre 7 millions/mL avant).

Avant chimiothérapie	Total (%)	0 à 6 mois après la chimiothérapie			
		Numération $\geq$ $20 \cdot 10^6$ spz/mL	Oligospermie modérée	Oligospermie sévère	Azoospermie
		n	n	n	n
Numération $\geq$ $20 \cdot 10^6$ spz/mL	2 (25 %)	0	0	2	0
Oligospermie modérée	6 (75 %)	0	1	3	2
<b>Total (%)</b>	<b>8</b>	<b>0</b>	<b>1 (12,5 %)</b>	<b>5 (62,5 %)</b>	<b>2 (25 %)</b>

Tableau 38 – Répartition de l'effectif « BEP contrôle » à  $T_0$  et  $T_{0-6}$  mois

Dans la « population radiothérapie contrôle 0-6 mois », six patients ont été traités par des protocoles avant radiothérapie, 5 avaient plus de 20 millions de spermatozoïdes par mL, 4 étaient oligospermes modérés, et 1 homme était oligosperme sévère. Après irradiation par 24,4 à 36 Gy, 3 patients ont plus de 20 millions de spermatozoïdes par mL, 3 sont oligospermes modérés et 4 sont oligospermes sévères. Parmi les 4 oligospermes, un patient était normosperme avant, 2 autres oligospermes modérés et le dernier était déjà oligosperme sévère.

	Moyenne +/- DS (minimum – maximum)		p	Test statistique
	Autoconservation	Spermogramme de contrôle (0 - 6 mois)		
Délai d'abstinence (jours)	3,5 +/- 1,0 (2 – 5) n = 10	4,0 +/- 1,6 (2 – 7) n = 10	0,4344	Student apparié
Volume (mL)	3,1 +/- 1,4 (1,8 – 6,5) n = 10	3,6 +/- 1,5 (2,0 - 6,3) n = 10	0,3355	Student apparié
pH	7,9 +/- 0,2 (7,4 – 8,3) n = 10	7,9 +/- 0,3 (7,4 – 8,3) n = 10	0,5554	Student apparié
Mobilité (a+b)	35,5 +/- 11,4 (10 – 50) n = 10	29,2 +/- 19,3 (0 – 65) n = 10	0,3343	Student apparié
Vitalité (%)	71,7 +/- 10,9 (60 – 90) n = 10	71,6 +/- 18,0 (41 – 92) n = 9	0,7998	Student apparié
Concentration en spermatozoïdes ( $10^6$ )/mL	34,3 +/- 28,4 (3,5 – 80) n = 10	50,9 +/- 29,4 (0,02 – 87) n = 10	0,2411	Wilcoxon
Nombre de spermatozoïdes ( $10^6$ ) par éjaculat	101,0 +/- 88,9 (12,6 – 225) n = 10	51,0 +/- 65,3 (0,05 – 204) n = 10	0,1394	Wilcoxon

Tableau 39 – Caractéristiques et comparaison des spermogrammes des patients traités par radiothérapie à  $T_0$  et  $T_{6}$  mois.



Avant radiothérapie	Total (%)	0 à 6 mois après la radiothérapie			
		Numération $\geq$ $20 \cdot 10^6$ spz/mL	Oligospermie modérée	Oligospermie sévère	Azoospermie
		n	n	n	n
Numération $\geq$ $20 \cdot 10^6$ spz/mL	<b>5</b> (50 %)	2	2	1	0
Oligospermie modérée	<b>4</b> (40 %)	1	1	2	0
Oligospermie sévère	<b>1</b> (10 %)	0	0	1	0
<b>Total (%)</b>	<b>10</b>	<b>3 (30 %)</b>	<b>3 (30 %)</b>	<b>4 (40 %)</b>	<b>0</b>

Tableau 40 - Répartition de l'effectif « radiothérapie contrôle » à  $T_0$  et  $T_{0-6}$  mois

### 2.5.3.2. DE 6 A 12 MOIS APRES LA FIN DU TRAITEMENT :

Entre 6 et 12 mois après la fin du traitement cytotoxique, 19 patients suivis pour séminomes et 19 patients pour TGNS se sont rendus au CECOS pour réaliser un spermogramme de contrôle.

Dans la population « BEP contrôle 6-12 mois », nous dénombrons 5 CE purs, et 14 tumeurs mixtes (dont 5 avec CE > 80 %) : 10 étaient porteurs de tumeur de stade I et 6 de stade II (4 CE purs, 1 tumeur avec un contingent carcino-embryonnaire majoritaire et 1 tumeur mixte). Huit patients ont subi 2 cures de BEP, 9 patients 3 cures et 2 patients 4 cures. L'analyse des 19 spermogrammes de contrôle met en lumière une majorité de patients oligospermes: 42,1 % d'oligospermes sévères et 42,1 % d'oligospermes modérés. Seuls 10,5 % des hommes venus entre 6 et 12 mois après la fin de la dernière cure ont une numération supérieure à 20 millions de spermatozoïdes. Aucun spermatozoïde n'a été observé dans l'éjaculat de 5,3 % de ces patients.

Avant chimiothérapie	Total (%)	6 à 12 mois après la chimiothérapie			
		Numération $\geq$ $20 \cdot 10^6$ spz/mL	Oligospermie modérée	Oligospermie sévère	Azoospermie
		n	n	n	n
Numération $\geq$ $20 \cdot 10^6$ spz/mL	<b>6</b> (32 %)	0	5	1	0
Oligospermie modérée	<b>11</b> (58 %)	2	3	6	0
Oligospermie sévère	<b>1</b> (5 %)	0	0	1	0
Azoospermie	<b>1</b> (5 %)	0	0	0	1
<b>Total (%)</b>	<b>19</b>	<b>2 (11 %)</b>	<b>8 (42 %)</b>	<b>8 (42 %)</b>	<b>1 (5 %)</b>

Tableau 41 - Répartition de l'effectif « BEP contrôle » à  $T_0$  et  $T_{6-12}$  mois

Les caractères des spermogrammes avant et après chimiothérapie de cette population sont résumés dans le tableau 42. Après analyse statistique, nous avons

mis en évidence une diminution significative de la concentration et de la numération totale des éjaculats 6 à 12 mois après la fin de la chimiothérapie.

	Moyenne +/- DS (minimum – maximum)		p	Test statistique
	Autoconservation	Spermogramme de contrôle (6 -12 mois)		
Délai d'abstinence (jours)	3,4 +/- 0,8 (2 – 5) n = 19	4,9 +/- 4,3 (2 – 21) n = 19	0,1571	Student apparié
Volume (mL)	3,9 +/- 1,2 (2,2 – 6,4) n = 19	4,0 +/- 1,8 (1,5 – 7,3) n = 19	0,8197	Student apparié
pH	8,0 +/- 0,2 (7,7 – 8,3) n = 19	7,9 +/- 0,2 (7,7 – 8,3) n = 19	0,7114	Student apparié
Mobilité (a+b)	42,5 +/- 11,8 (25 – 65) n = 18	37,2 +/- 16,0 (10 – 70) n = 17	0,2835	Student apparié
Vitalité (%)	74,5 +/- 10,6 (47 – 87) n = 18	74,9 +/- 8,7 (61 – 92) n = 15	0,9859	Student apparié
Concentration en spermatozoïdes (10 <sup>6</sup> )/mL	28,5 +/- 35,1 (0 – 133) n = 19	9,7 +/- 18,6 (0 – 81) n = 19	<b>0,0123</b>	Wilcoxon
Nombre de spermatozoïdes (10 <sup>6</sup> ) par éjaculat	99,2 +/- 107,8 (0 – 356,5) n = 19	44,0 +/- 112,8 (0 – 486) n = 19	<b>0,0176</b>	Wilcoxon

Tableau 42 – Caractéristiques et comparaison des spermogrammes des patients traités par BEP à T<sub>0</sub> et T<sub>6-12 mois</sub>.

Dans la population « radiothérapie contrôle 6-12 mois », 16 patients étaient porteurs d'un séminome de stade I (aucune information sur le stade pour les 3 dossiers restants). Au moment des auto-conservations, 11 patients avaient une concentration spermatique normale (57,9 %), 5 étaient oligospermes modérés (26,3 %), et 3 sévères (15,8 %). Nous n'avions noté aucun cas d'azoospermie. Après radiothérapie, nous ne retrouvons que 8 patients avec une numération normale, 2 oligospermes modérés, 7 oligospermes sévères et 2 azoospermes.

Avant radiothérapie	Total (%)	6 à 12 mois après la radiothérapie			
		Numération ≥ 20.10 <sup>6</sup> spz/mL	Oligospermie modérée	Oligospermie sévère	Azoospermie
		n	n	n	n
Numération ≥ 20.10 <sup>6</sup> spz/mL	<b>11</b> (58 %)	7	1	3	0
Oligospermie modérée	<b>5</b> (26 %)	1	1	2	1
Oligospermie sévère	<b>3</b> (16 %)	0	0	2	1
Azoospermie	<b>0</b>	0	0	0	0
<b>Total (%)</b>	<b>19</b>	<b>8 (41 %)</b>	<b>2 (11 %)</b>	<b>7 (37 %)</b>	<b>2 (11 %)</b>

Tableau 43 - Répartition de l'effectif « radiothérapie contrôle » à T<sub>0</sub> et T<sub>6-12 mois</sub>

	Moyenne +/- DS (minimum – maximum)		p	Test statistique
	Autoconservation	Spermogramme de contrôle (6-12 mois)		
Délai d'abstinence (jours)	3,6 +/- 1,2 (2 – 7) n = 19	4,8 +/- 1,8 (2 – 8) n = 16	<b>0,0447</b>	Student apparié
Volume (mL)	3,3 +/- 2,0 (1,1 – 8,2) n = 19	3,5 +/- 2,4 (0,55 – 8,5) n = 19	0,6624	Student apparié
pH	7,9 +/- 0,2 (7,4 – 8,3) n = 19	7,8 +/- 0,2 (7,4 – 8,3) n = 19	0,7298	Student apparié
Mobilité (a+b)	37,105 +/- 12,727 (0 – 55) n = 19	36,176 +/- 17,458 (10 – 65) n = 17	0,6918	Student apparié
Vitalité (%)	66,3 +/- 19,9 (0 – 89) n = 19	66,1 +/- 12,7 (41 – 82) n = 16	0,1591	Student apparié
Concentration en spermatozoïdes (10 <sup>6</sup> )/mL	43,3 +/- 55,1 (0,01 – 247) n = 19	28,4 +/- 40,3 (0 – 154) n = 19	0,4997	Wilcoxon
Nombre de spermatozoïdes (10 <sup>6</sup> ) par éjaculat	128,6 +/- 127,4 (0,011 – 484,7) n = 19	77,6 +/- 119,1 (0 – 415) n = 19	<b>0,0196</b>	Wilcoxon

Tableau 44 – Caractéristiques et comparaison des spermogrammes des patients traités par radiothérapie à T<sub>0</sub> et T<sub>6-12</sub> mois.

Après analyse statistique, nous n'avons noté qu'une différence significative pour le nombre total de spermatozoïdes dans les éjaculats ( $p < 0,05$ ), et le délai d'abstinence.

### 2.5.3.3. DE 12 A 24 MOIS APRES LA FIN DU TRAITEMENT :

Dans ce laps de temps, nous disposons d'un effectif de 50 personnes.

Douze à vingt quatre mois après la fin du traitement, 27 hommes traités par chimiothérapie se sont présentés au CECOS pour contrôler leur spermatogenèse. Initialement, ils étaient porteurs pour 18 d'entre eux d'une tumeur germinale mixte dont 3 avec un pourcentage de CE supérieur à 80 % (10 stades I, 5 stades II et 1 stade III), 8 CE purs (3 stades I, 4 stades II), et 1 tératome pur de stade I. Un curage ganglionnaire nous a été rapporté pour 3 patients, mais aucune éjaculation rétrograde secondaire n'a été diagnostiquée.

Lors de l'auto-conservation, une numération spermatique supérieure à 20 millions par mL est retrouvée chez 25,9 % des hommes, une oligospermie modérée chez 44,5 %, une oligospermie sévère chez 22,2 % et une azoospermie chez 7,4 %. Après chimiothérapie (13 traités avec 2 cures, 11 avec 3 cures et 3 avec 4 cures), une numération normale s'observe chez 29,6 % des patients, et l'on retrouve 40,7 %

d'oligospermes modérés et 25,9 % sévères. Le pourcentage d'azoosperme diminue : 3,7 %.

Avant chimiothérapie	Total (%)	12 à 24 mois après la chimiothérapie			
		Numération $\geq 20.10^6$ spz/mL	Oligospermie modérée	Oligospermie sévère	Azoospermie
		n	n	n	n
Numération $\geq 20.10^6$ spz/mL	<b>7</b> (26 %)	5	2	0	0
Oligospermie modérée	<b>12</b> (44 %)	2	7	3	0
Oligospermie sévère	<b>6</b> (22 %)	1	2	3	0
Azoospermie	<b>2</b> (8 %)	0	0	1	1
<b>Total (%)</b>	<b>27</b>	<b>8 (29 %)</b>	<b>11 (41 %)</b>	<b>7 (26 %)</b>	<b>1 (4 %)</b>

Tableau 45 - Répartition de l'effectif « BEP contrôle » à T<sub>0</sub> et T<sub>12-24 mois</sub>

	Moyenne +/- DS (minimum – maximum)		p	Test statistique
	Autoconservation	Spermogramme de contrôle (12-24 mois)		
Délai d'abstinence (jours)	3,6 +/- 0,8 (2 – 5) n = 27	4,6 +/- 2,6 (1 – 14) n = 25	<b>0,0197</b>	Student apparié
Volume (mL)	3,6 +/- 1,6 (0,5 – 8,1) n = 27	3,8 +/- 1,8 (0,5 – 9) n = 27	0,6106	Student apparié
pH	7,9 +/- 0,3 (7,4 – 8,7) n = 27	7,9 +/- 0,2 (7,7 – 8,5) n = 27	0,4471	Student apparié
Mobilité (a+b)	36,6 +/- 19,4 (0 – 75) n = 25	37,7 +/- 17,4 (0 – 80) n = 26	0,6840	Student apparié
Vitalité (%)	68,2 +/- 19,4 (0 – 90) n = 24	71,1 +/- 11,9 (50 – 92) n = 24	0,7460	Student apparié
Concentration en spermatozoïdes (10 <sup>6</sup> )/mL	22,1 +/- 33,6 (0 – 120) n = 27	29,1 +/- 79,9 (0 – 420) n = 27	0,2087	Wilcoxon
Nombre de spermatozoïdes (10 <sup>6</sup> ) par éjaculat	71,3 +/- 101,1 (0 – 432,9) n = 27	109,0 +/- 358,6 (0 – 1890) n = 27	0,1446	Wilcoxon

Tableau 46 – Caractéristiques et comparaison des spermogrammes des patients traités par BEP à T<sub>0</sub> et T<sub>12-24 mois</sub>.

Après analyses statistiques, nous n'avons mis en évidence aucune différence significative intéressante avant et après traitement au sein de la population BEP contrôle. Les spermatozoïdes au moment de l'autoconservation semblent identiques aux spermatozoïdes analysés un à deux après la fin de la dernière cure de BEP.

Dans la « population radiothérapie contrôle 12-24 mois », 23 patients sont venus faire leur spermogramme de contrôle. Il s'agissait de 19 cas de séminome de stade I et de 2 cas de séminome de stade II (aucun renseignement sur le stade dans 2 dossiers). La dose moyenne administrée lors de la prise en charge des stades I était de 25,1 Gy (24-27 Gy), et de 28,7 Gy pour les stades II (27-30 Gy). Aucun patient n'a subi de curage ganglionnaire. Les spermogrammes réalisés au moment de l'autoconservation révèlent des numérations normales pour 7 patients (30,4 %), une oligospermie modérée chez 9 patients (39,1 %), sévère chez 6 hommes (26,1 %), et un seul patient azoosperme. Après la fin du traitement, 52,2 % des hommes ont plus de 20 millions de spermatozoïdes par mL, 17,4 % sont oligospermes modérés, 17,4 % sont oligospermes sévères, et 13 % sont azoospermes.

Avant radiothérapie	Total (%)	12 à 24 mois après la radiothérapie			
		Numération $\geq 20.10^6$ spz/mL	Oligospermie modérée	Oligospermie sévère	Azoospermie
		n	n	n	n
Numération $\geq 20.10^6$ spz/mL	7 (30 %)	5	2	0	0
Oligospermie modérée	9 (40 %)	5	1	1	2
Oligospermie sévère	7 (30 %)	2	1	3	1
<b>Total (%)</b>	<b>23</b>	<b>12 (53 %)</b>	<b>4 (17 %)</b>	<b>4 (17 %)</b>	<b>3 (13 %)</b>

Tableau 47 - Répartition de l'effectif « radiothérapie contrôle » à T<sub>0</sub> et T<sub>12-24</sub> mois

	Moyenne +/- DS (minimum – maximum)		p	Test statistique
	Autoconservation	Spermogramme de contrôle (12-24 mois)		
Délai d'abstinence (jours)	3,3 +/- 0,8 (2 – 5) n = 23	5,1 +/- 2,8 (2 – 15) n = 22	<b>0,0065</b>	Student apparié
Volume (mL)	3,3 +/- 1,844 (0,7 – 7,2) n = 23	3,7 +/- 2,0 (1,3 – 8,8) n = 23	0,2635	Student apparié
pH	7,9 +/- 0,3 (7,4 – 8,5) n = 23	7,8 +/- 0,2 (7,4 – 8,1) N = 23	0,1656	Student apparié
Mobilité (a+b)	41,4 +/- 16,0 (5 – 70) N = 21	31,0 +/- 20,5 (0 – 65) n = 21	0,2953	Student apparié
Vitalité (%)	69,3 +/- 13,5 (44 – 94) n = 21	66,6 +/- 19,7 (0 – 88) n = 19	0,6831	Student apparié
Concentration en spermatozoïdes (10 <sup>6</sup> )/mL	17,2 +/- 19,7 (0 – 67) n = 23	33,9 +/- 38,8 (0 – 147) n = 23	<b>0,0424</b>	Wilcoxon
Nombre de spermatozoïdes (10 <sup>6</sup> ) par éjaculat	46,6 +/- 46,4 (0 – 207,7) n = 23	102,6 +/- 123,4 (0 – 499,5) n = 23	0,0716	Wilcoxon

Tableau 48 – Caractéristiques et comparaison des spermogrammes des patients traités par irradiation à T<sub>0</sub> et T<sub>12-24</sub> mois.

Dans le groupe radiothérapie, la concentration en spermatozoïdes des spermes recueillis à distance de la fin des séances d'irradiation semble statistiquement meilleure. Le nombre de spermatozoïdes par éjaculat reste en revanche sensiblement identique.

#### 2.5.3.4. PLUS DE 2 ANS APRES LA FIN DU TRAITEMENT :

Plus de 24 mois après la fin de leur traitement, 40 patients ont fait un contrôle de leur spermatogenèse.

Parmi ces 40 patients, 22 ont été traités par BEP (10 par 2 cures, 10 par 3 cures et 2 par 4 cures) pour un TGNS de stade I (73,7 %), de stade II (21,1 %) ou de stade III (5,2 %). Le stade de la tumeur n'était pas précisé dans 3 dossiers. Avant l'induction du traitement, on dénombrait 6 patients avec une numération normale, 9 présentaient une oligospermie modérée, 6 une oligospermie sévère et un cas d'azoospermie était rapporté. Plus de 2 ans après la fin du traitement, nous comptabilisons 13 patients avec une numération normale, 5 avec une oligospermie modérée, 4 avec une oligospermie sévère (dont 1 avec une oligospermie très sévère). Les paramètres spermatiques moyens à distance du traitement de ces 22 patients appartenant à la « population BEP contrôle supérieur à 24 mois » sont résumés dans le tableau 49. Pour 4 hommes, il s'agissait de leur premier contrôle.

	Moyenne +/- DS (minimum – maximum)		p	Test statistique
	Autoconservation	Spermogramme de contrôle (> 24 mois)		
Délai d'abstinence (jours)	3,8 +/- 2,0 (3 – 12) n = 22	4,2 +/- 1,4 (2 – 8) n = 22	0,3406	Student apparié
Volume (mL)	4,2 +/- 1,8 (1,4 – 8,1) n = 22	3,9 +/- 1,7 (1 – 8,4) n = 22	0,4833	Student apparié
pH	7,9 +/- 0,3 (7,4 – 8,7) n = 22	7,9 +/- 0,2 (7,4 – 8,3) n = 22	0,2238	Student apparié
Mobilité (a+b)	33,4 +/- 18,8 (0 – 55) n = 21	34,7 +/- 13,9 (10 – 54) n = 21	0,4699	Student apparié
Vitalité (%)	68,3 +/- 20,4 (0 – 87) n = 21	71,1 +/- 12,0 (38 – 87) n = 21	0,6045	Student apparié
Concentration en spermatozoïdes (10 <sup>6</sup> )/mL	19,2 +/- 28,9 (0 – 120) n = 22	46,3 +/- 46,8 (0 – 148) n = 22	<b>0,0009</b>	Wilcoxon
Nombre de spermatozoïdes (10 <sup>6</sup> ) par éjaculat	67,2 +/- 81,2 (0 – 307) n = 22	150,7 +/- 146,2 (0 – 430) n = 22	<b>0,0130</b>	Wilcoxon

Tableau 49 – Caractéristiques et comparaison des spermogrammes des patients traités par BEP à T<sub>0</sub> et T<sub>>24 mois</sub>.

Avant chimiothérapie	Total (%)	Plus de 24 mois après la chimiothérapie			
		Numération $\geq$ $20 \cdot 10^6$ spz/mL	Oligospermie modérée	Oligospermie sévère	Azoospermie
		n	n	n	n
Numération $\geq$ $20 \cdot 10^6$ spz/mL	<b>6</b> (27 %)	6	0	0	0
Oligospermie modérée	<b>8</b> (36 %)	4	3	0	1
Oligospermie sévère	<b>7</b> (32 %)	3	2	2	0
Azoospermie	<b>1</b> (5 %)	0	0	1	0
<b>Total (%)</b>	<b>22</b>	<b>13 (59 %)</b>	<b>5 (23 %)</b>	<b>3 (13 %)</b>	<b>1 (5 %)</b>

Tableau 50 - Répartition de l'effectif « BEP contrôle » à  $T_0$  et  $T_{Sup}$  à 24 mois

Plus de deux après la fin du traitement, la quantité de spermatozoïdes éjaculés est significativement plus élevée dans les spermogrammes de contrôle que dans les auto-conservations.

Les 18 hommes du groupe « Radiothérapie contrôle supérieur à 24 mois », étaient porteurs d'une tumeur de stade I pour 15 d'entre eux (83,3 %). Un stade II n'avait été retenu que pour un seul patient (aucune information pour 2 dossiers). Onze hommes avaient reçu entre 20 et 25 Gy, 7 entre 25 et 30 Gy, un patient 30,1 Gy et un autre 36 Gy. Avant la radiothérapie, 8 patients avaient plus de 20 millions de spermatozoïdes par mL. Une oligospermie modérée avait été diagnostiquée chez 6 hommes, et une oligospermie sévère chez 4 autres (3 cas d'oligospermie très sévère). Après traitement, nous retrouvons le même nombre de patients avec une numération normale (soit 8 patients), 4 cas d'oligospermie modérée et 4 cas d'oligospermie très sévère et 2 cas d'azoospermie. Les paramètres spermatiques moyens de ces 18 patients, après radiothérapie, sont résumés dans le tableau 52. Pour 8 d'entre eux, il s'agissait de leur premier contrôle.

Avant radiothérapie	Total (%)	Plus de 24 mois après la radiothérapie			
		Numération $\geq$ $20 \cdot 10^6$ spz/mL	Oligospermie modérée	Oligospermie sévère	Azoospermie
		n	n	n	n
Numération $\geq$ $20 \cdot 10^6$ spz/mL	<b>8</b> (45 %)	7	1	0	0
Oligospermie modérée	<b>6</b> (33 %)	1	3	2	0
Oligospermie sévère	<b>4</b> (22 %)	0	0	2	2
<b>Total (%)</b>	<b>18</b>	<b>8 (45 %)</b>	<b>4 (22 %)</b>	<b>4 (22 %)</b>	<b>2 (11 %)</b>

Tableau 51 - Répartition de l'effectif « radiothérapie contrôle » à  $T_0$  et  $T_{Sup}$  à 24 mois

	Moyenne +/- DS (minimum – maximum)		p	Test statistique
	Autoconservation	Spermogramme de contrôle (> 24 mois)		
Délai d'abstinence (jours)	3,1 +/- 0,5 (2 – 4) n = 18	4,8 +/- 2,1 (2 – 10) n = 18	<b>0,0064</b>	Student apparié
Volume (mL)	3,6 +/- 1,3 (1,1 – 6,5) n = 18	3,6 +/- 1,3 (1,4 – 5,5) n = 18	0,9698	Student apparié
pH	7,9 +/- 0,2 (7,4 – 8,3) n = 18	7,9 +/- 0,2 (7,7 – 8,3) n = 18	0,6823	Student apparié
Mobilité (a+b)	37,9 +/- 17,1 (15 – 75) n = 17	30,5 +/- 18,1 (0 – 55) n = 16	0,5458	Student apparié
Vitalité (%)	65,4 +/- 17,0 (28 – 93) n = 16	70,6 +/- 18,2 (24 – 92) n = 14	0,2301	Student apparié
Concentration en spermatozoïdes (10 <sup>6</sup> )/mL	27,9 +/- 30,1 (0,005 – 116) n = 18	28,7 +/- 33,6 (0 – 114) n = 18	0,8446	Wilcoxon
Nombre de spermatozoïdes (10 <sup>6</sup> ) par éjaculat	92,0 +/- 96,1 (0,011 +/- 371) n = 18	109,9 – 155,3 (0 – 533) n = 18	0,8107	Wilcoxon

Tableau 52 – Caractéristiques et comparaison des spermogrammes des patients traités par irradiation à T<sub>0</sub> et T<sub>> 24 mois</sub>.

A distance de la fin des séances d'irradiation, nous n'avons mis en évidence aucune différence significative intéressante sur les paramètres spermatiques, sur la population étudiée.

#### 2.5.4. COMPARAISON DES SPERMOGRAMMES DES DEUX POPULATIONS EN FONCTION DU DELAI POST TRAITEMENT :

Afin de comparer à distance des traitements et dans un intervalle de temps défini, les différents paramètres spermatiques des patients appartenant au groupe « BEP contrôle » ou « Radiothérapie contrôle », nous nous sommes assurés de l'absence de différence entre les 2 groupes étudiés, au moment de l'auto-conservation.

##### 2.5.4.1. DE 0 A 6 MOIS POST-TRAITEMENT :

Bien que nous disposions dans cet intervalle de temps que d'un effectif très réduit (18 patients), nous avons essayé de comparer les spermogrammes des patients traités par BEP et par radiothérapie, moins de 6 mois après la fin du traitement. Nous avons ainsi considéré les spermogrammes des 8 patients traités par BEP et les spermogrammes des 10 patients irradiés venus contrôler dans ce laps de temps.



	Population BEP contrôle		Population Radiothérapie contrôle	
	Avant	0-6 mois après BEP	Avant	0-6 mois après Radiothérapie
Numération normale	2 (25 %)	0	5 (50 %)	3 (30 %)
Oligospermie modérée	6 (75 %)	1 (13 %)	4 (40 %)	3 (30 %)
Oligospermie sévère	0	5 (62 %)	1 (10 %)	4 (40 %)
Azoospermie	0	2 (25 %)	0	0

Tableau 53 – Descriptif de la population étudié à T<sub>0</sub> et T<sub>0-6</sub> mois

Avant l'induction du traitement, les spermogrammes des 2 groupes présentaient une différence significative pour le volume: nous avons donc choisi de comparer les différents paramètres spermatiques obtenus au moment des contrôles, à l'exception du volume de l'éjaculat (tableau 54).

	SPERMOGRAMMES AUTO-CONSERVATION Moyenne +/- DS (minimum – maximum)		p	Test statistique
	Population BEP	Population Radio		
Délai d'abstinence (jours)	3,2 +/- 1 (2 – 5) n = 8	3,5 +/- 1,0 (2 – 5) n = 10	0,6054	Student non apparié
Volume (mL)	4,7 +/- 1,3 (3 – 6,4) n = 8	3,1 +/- 1,4 (1,8 – 6,5) n = 10	<b>0,0297</b>	Student non apparié
pH	8,0 +/- 0,2 (7,7 – 8,3) n = 8	7,9 +/- 0,2 (7,4 – 8,3) n = 10	0,6635	Student non apparié
Mobilité (a+b)	45,6 +/- 11,8 (30 – 65) n = 8	35,5 +/- 11,4 (10 – 50) n = 10	0,0838	Student non apparié
Vitalité (%)	70,7 +/- 14,1 (47 – 85) n = 8	71,7 +/- 10,9 (60 – 90) n = 10	0,8736	Student non apparié
Concentration en spermatozoïdes (10 <sup>6</sup> )/mL	26,9 +/- 31,1 (5,8 – 88,5) n = 8	34,3 +/- 28,4 (3,5 – 80) n = 10	0,7223	Mann-Whitney
Nombre de spermatozoïdes (10 <sup>6</sup> ) par éjaculat	117,3 +/- 133,2 (37,1 – 346,5) n = 8	101,0 +/- 88,9 (12,6 – 225) n = 10	0,3743	Mann-Whitney

Tableau 54 - Comparaison des paramètres spermatiques de la « population BEP » et de la « population radiothérapie » à T<sub>0</sub>

Moins de 6 mois après la fin des traitements, il apparaît que les spermatozoïdes des patients irradiés sont statistiquement plus riches en spermatozoïdes que ceux des patients pris en charge par chimiothérapie adjuvante. Aucune différence significative n'a été objectivée pour les autres paramètres (tableau 55).

	SPERMOGRAMMES AUTO-CONSERVATION Moyenne +/- DS (minimum – maximum)		p	Test statistique
	Population BEP	Population Radio		
Délai d'abstinence (jours)	3,7 +/- 0,5 (3 – 4) n = 7	4,0 +/- 1,6 (2 – 7) n = 10	0,7143	Student non apparié
Volume (mL)	4,3 +/- 1,9 (1,8 – 7,5) n = 8	3,6 +/- 1,5 (2,0 – 6,3) n = 10	0,3435	Student non apparié
pH	7,8 +/- 0,2 (7,4 – 8,1) n = 8	7,9 +/- 0,3 (7,4 – 8,3) n = 10	0,3164	Student non apparié
Mobilité (a+b)	33,0 +/- 13,0 (20 – 50) n = 5	29,2 +/- 19,3 (0 – 65) n = 10	0,7006	Student non apparié
Vitalité (%)	79,0 +/- 6,2 (70 – 84) n = 4	71,6 +/- 18,0 (41 – 92) n = 9	0,4476	Student non apparié
Concentration en spermatozoïdes (10 <sup>6</sup> )/mL	1,8 +/- 3,5 (0 – 10) n = 8	50,9 +/- 29,4 (0,02 – 87) n = 10	<b>0,0164</b>	Mann-Whitney
Nombre de spermatozoïdes (10 <sup>6</sup> ) par éjaculat	6,7 +/- 12,9 (0 – 37) n = 8	51,0 +/- 65,3 (0,05 – 204) n = 10	<b>0,0164</b>	Mann-Whitney

Tableau 55 - Comparaison des paramètres spermatiques de la « population BEP » et de la « population radiothérapie » à T<sub>0-6</sub> mois

#### 2.5.4.2. DE 6 A 12 MOIS POST-TRAITEMENT :

Dans ce laps de temps, 19 patients traités par BEP, et 19 patients traités par radiothérapie ont fait un contrôle de leur spermatogenèse. Histologiquement, il s'agit de 10 tumeurs de stade I et de 6 tumeurs de stade II pour les TGNS, et de 16 séminomes de stade I.

	Population BEP contrôle		Population Radiothérapie contrôle	
	Avant	6-12 mois après BEP	Avant	6-12 mois après Radiothérapie
Numération normale	6 (32 %)	2 (11 %)	11 (58 %)	8 (42 %)
Oligospermie modérée	11 (58 %)	8 (42 %)	5 (26 %)	2 (11 %)
Oligospermie sévère	1 (5 %)	8 (42 %)	3	7 (36 %)
Azoospermie	1 (5 %)	1 (5 %)	0	2 (11 %)

Tableau 56 - Description des deux populations étudiées 6 à 12 mois après la fin du traitement

Au moment des auto-conservations, ces deux populations sont statistiquement identiques (tableau 57).

	SPERMOGRAMMES AUTO-CONSERVATION Moyenne +/- DS (minimum – maximum)		p	Test statistique
	Population BEP	Population Radio		
Délai d'abstinence (jours)	3,4 +/- 0,8 (2 – 5) n = 19	3,6 +/- 1,2 (2 – 7) n = 19	0,6353	Student non apparié
Volume (mL)	3,9 +/- 1,2 (2,2 – 6,4) n = 19	3,3 +/- 2,0 (1,1 – 8,2) n = 19	0,2702	Student non apparié
pH	8,0 +/- 0,2 (7,7 – 8,3) n = 19	7,9 +/- 0,2 (7,4 – 8,3) n = 19	0,1752	Student non apparié
Mobilité (a+b)	42,5 +/- 11,8 (25 – 65) n = 18	37,105 +/- 12,727 (0 – 55) n = 19	0,4893	Student non apparié
Vitalité (%)	74,5 +/- 10,6 (47 – 87) n = 18	66,3 +/- 19,9 (0 – 89) n = 19	0,5088	Student non apparié
Concentration en spermatozoïdes (10 <sup>6</sup> )/mL	28,5 +/- 35,1 (0 – 133) n = 19	43,3 +/- 55,1 (0,01 – 247) n = 19	0,3427	Mann-Whitney
Nombre de spermatozoïdes (10 <sup>6</sup> ) par éjaculat	99,2 +/- 107,8 (0 – 356,5) n = 19	128,6 +/- 127,4 (0,011 – 484,7) n = 19	0,7152	Mann-Whitney

Tableau 57 - Comparaison des paramètres spermatiques de la « population BEP » et de la « population radiothérapie » à T<sub>0</sub>

Ces deux populations étant comparables à T<sub>0</sub>, nous les avons comparées à T<sub>6-12</sub> mois. Il semblerait qu'aucune différence significative n'existe entre ces deux populations. La radiothérapie ne semble ni plus, ni moins délétère sur la récupération de la spermatogenèse 6 à 12 mois après la fin du traitement que le protocole BEP. Les résultats des tests statistiques sont détaillés dans le tableau 58.

	SPERMOGRAMMES AUTO-CONSERVATION Moyenne +/- DS (minimum – maximum)		p	Test statistique
	Population BEP	Population Radio		
Délai d'abstinence (jours)	4,9 +/- 4,3 (2 – 21) n = 19	4,8 +/- 1,8 (2 – 8) n = 16	0,9652	Student non apparié
Volume (mL)	4,0 +/- 1,8 (1,5 – 7,3) n = 19	3,5 +/- 2,4 (0,55 – 8,5) n = 19	0,4493	Student non apparié
pH	7,9 +/- 0,2 (7,7 – 8,3) n = 19	7,8 +/- 0,2 (7,4 – 8,3) n = 19	0,2510	Student non apparié
Mobilité (a+b)	37,2 +/- 16,0 (10 – 70) n = 17	36,176 +/- 17,458 (10 – 65) n = 17	0,8824	Student non apparié
Vitalité (%)	74,9 +/- 8,7 (61 – 92) n = 15	66,1 +/- 12,7 (41 – 82) n = 16	0,3941	Student non apparié
Concentration en spermatozoïdes (10 <sup>6</sup> )/mL	9,7 +/- 18,6 (0 – 81) n = 19	28,4 +/- 40,3 (0 – 154) n = 19	0,3281	Mann-Whitney
Nombre de spermatozoïdes (10 <sup>6</sup> ) par éjaculat	44,0 +/- 112,8 (0 – 486) n = 19	77,6 +/- 119,1 (0 – 415) n = 19	0,3281	Mann-Whitney

Tableau 58 - Comparaison des paramètres spermatiques de la « population BEP » et de la « population radiothérapie » à T<sub>6-12</sub> mois

#### 2.5.4.3. DE 12 A 24 MOIS POST-TRAITEMENT :

Un à deux ans après la fin du traitement, 50 hommes se sont déplacés au CECOS pour faire le point sur leur spermatogenèse: 27 étaient suivis pour un TGNS (61 % de stade I, 30 % de stade II et 9 % de stade III), et 23 pour séminome (83 % de stade I et 17 % de stade II). La répartition de l'effectif étudié en fonction de la concentration des éjaculat est précisée dans le tableau 59.

	Population BEP contrôle		Population Radiothérapie contrôle	
	Avant	6-12 mois après BEP	Avant	6-12 mois après Radiothérapie
Numération normale	7 (26 %)	8 (30 %)	7 (30 %)	12 (53 %)
Oligospermie modérée	12 (45 %)	11 (40 %)	9 (39 %)	4 (17 %)
Oligospermie sévère	6 (22 %)	7 (26 %)	6 (26 %)	4 (17 %)
Azoospermie	2 (7 %)	1 (4 %)	1 (5 %)	3 (13 %)

Tableau 59 - Description des deux populations étudiées 12 à 24 mois après la fin du traitement

Aucune différence significative n'est apparue entre les 2 groupes étudiés, ni avant le traitement, ni à distance de leur fin respective (tableaux 60 et 61). Dans cet intervalle de temps, l'impact des deux traitements sur la récupération de la spermatogenèse semble statistiquement identique.

	AUTO-CONSERVATION Moyenne +/- DS (minimum – maximum)		p	Test statistique
	Population BEP	Population Radio		
Délai d'abstinence (jours)	3,6 +/- 0,8 (2 – 5) n = 27	3,3 +/- 0,8 (2 – 5) n = 23	0,9558	Student non apparié
Volume (mL)	3,6 +/- 1,6 (0,5 – 8,1) n = 27	3,3 +/- 1,844 (0,7 – 7,2) n = 23	0,4072	Student non apparié
pH	7,9 +/- 0,3 (7,4 – 8,7) n = 27	7,9 +/- 0,3 (7,4 – 8,5) n = 23	0,9250	Student non apparié
Mobilité (a+b)	36,6 +/- 19,4 (0 – 75) n = 25	41,4 +/- 16,0 (5 – 70) N = 21	0,3337	Student non apparié
Vitalité (%)	68,2 +/- 19,4 (0 – 90) n = 24	69,3 +/- 13,5 (44 – 94) n = 21	0,8978	Student non apparié
Concentration en spermatozoïdes (10 <sup>6</sup> )/mL	22,1 +/- 33,6 (0 – 120) n = 27	17,2 +/- 19,7 (0 – 67) n = 23	0,7768	Mann- Whitney
Nombre de spermatozoïdes (10 <sup>6</sup> ) par éjaculat	71,3 +/- 101,1 (0 – 432,9) n = 27	46,6 +/- 46,4 (0 – 207,7) n = 23	0,9844	Mann- Whitney

Tableau 60 – Comparaison des paramètres spermatiques de la « population BEP » et de la « population radiothérapie » avant l'induction du traitement à T<sub>0</sub>.

	SPERMOGRAMMES DE CONTRÔLE		p	Test statistique
	Moyenne +/- DS (minimum – maximum)			
	Population BEP	Population Radio		
Délai d'abstinence (jours)	4,6 +/- 2,6 (1 – 14) n = 25	5,1 +/- 2,8 (2 – 15) n = 22	0,4038	Student non apparié
Volume (mL)	3,8 +/- 1,8 (0,5 – 9) n = 27	3,7 +/- 2,0 (1,3 – 8,8) n = 23	0,9314	Student non apparié
pH	7,9 +/- 0,2 (7,7 – 8,5) n = 27	7,8 +/- 0,2 (7,4 – 8,1) N = 23	0,5051	Student non apparié
Mobilité (a+b)	37,7 +/- 17,4 (0 – 80) n = 26	31,0 +/- 20,5 (0 – 65) n = 21	0,0841	Student non apparié
Vitalité (%)	71,1 +/- 11,9 (50 – 92) n = 24	66,6 +/- 19,7 (0 – 88) n = 19	0,1634	Student non apparié
Concentration en spermatozoïdes (10 <sup>6</sup> )/mL	29,1 +/- 79,9 (0 – 420) n = 27	33,9 +/- 38,8 (0 – 147) n = 23	0,4060	Mann-Whitney
Nombre de spermatozoïdes (10 <sup>6</sup> ) par éjaculat	109,0 +/- 358,6 (0 – 1890) n = 27	102,6 +/- 123,4 (0 – 499,5) n = 23	0,4228	Mann-Whitney

Tableau 61 - Comparaison des paramètres spermatiques de la « population BEP » et de la « population radiothérapie » à T<sub>12-24</sub> mois

#### 2.5.4.4. PLUS DE 24 MOIS APRES LA FIN DU TRAITEMENT :

La population étudiée dans cet intervalle de temps est de 22 dossiers de TGNS, et de 18 dossiers de séminomes. La répartition des stades de tumeur est la suivante: 74 % de stade I, 21 % de stade II et 5 % de stade III pour les TGNS et, 94 % de stade I et 6 % de stade II pour les séminomes.

	Population BEP contrôle		Population Radiothérapie contrôle	
	Avant	24 mois après	Avant	24 mois après
Numération normale	6 (27 %)	13 (58 %)	8 (45 %)	8 (45 %)
Oligospermie modérée	8 (36 %)	5 (23 %)	6 (33 %)	4 (22 %)
Oligospermie sévère	7 (32 %)	3 (14 %)	4 (22 %)	4 (22 %)
Azoospermie	1 (5 %)	1 (5 %)	0	2 (11 %)

Tableau 62 - Description des deux populations étudiées plus de 24 mois après la fin du traitement

Avant l'initiation d'un traitement complémentaire à la chirurgie d'exérèse, les deux populations analysées étaient statistiquement identiques (tableau 63).

	AUTO-CONSERVATION Moyenne +/- DS (minimum – maximum)		p	Test statistique
	Population BEP	Population Radio		
Délai d'abstinence (jours)	3,8 +/- 2,0 (3 – 12) n = 22	3,1 +/- 0,5 (2 – 4) n = 18	0,1452	Student non apparié
Volume (mL)	4,2 +/- 1,8 (1,4 – 8,1) n = 22	3,6 +/- 1,3 (1,1 – 6,5) n = 18	0,3004	Student non apparié
pH	7,9 +/- 0,3 (7,4 – 8,7) n = 22	7,9 +/- 0,2 (7,4 – 8,3) n = 18	0,8367	Student non apparié
Mobilité (a+b)	33,4 +/- 18,8 (0 – 55) n = 21	37,9 +/- 17,1 (15 – 75) n = 17	0,6174	Student non apparié
Vitalité (%)	68,3 +/- 20,4 (0 – 87) n = 21	65,4 +/- 17,0 (28 – 93) n = 16	0,2255	Student non apparié
Concentration en spermatozoïdes (10 <sup>6</sup> )/mL	19,2 +/- 28,9 (0 – 120) n = 22	27,9 +/- 30,1 (0,005 – 116) n = 18	0,3276	Mann-Whitney
Nombre de spermatozoïdes (10 <sup>6</sup> ) par éjaculat	67,2 +/- 81,2 (0 – 307) n = 22	92,0 +/- 96,1 (0,011 +/- 371) n = 18	0,2315	Mann-Whitney

Tableau 63 – Comparaison des paramètres spermatiques de la « population BEP » et de la « population radiothérapie » avant l'induction du traitement à T<sub>0</sub>.

Après le traitement, aucune différence significative n'a été objectivée entre les deux populations. Les spermogrammes de contrôle réalisés par les patients traités par radiothérapie ou par chimiothérapie sont statistiquement identiques, plus de 2 ans après la fin du traitement cytotoxique.

Le tableau 65 illustre l'évolution des spermogrammes des deux populations « contrôle » à distance de la fin du traitement.

	SPERMOGRAMMES DE CONTRÔLE Moyenne +/- DS (minimum – maximum)		p	Test statistique
	Population BEP	Population Radio		
Délai d'abstinence (jours)	4,2 +/- 1,4 (2 – 8) n = 22	4,8 +/- 2,1 (2 – 10) n = 18	0,3298	Student non apparié
Volume (mL)	3,9 +/- 1,7 (1 – 8,4) n = 22	3,6 +/- 1,3 (1,4 – 5,5) n = 18	0,5558	Student non apparié
pH	7,9 +/- 0,2 (7,4 – 8,3) n = 22	7,9 +/- 0,2 (7,7 – 8,3) n = 18	0,3766	Student non apparié
Mobilité (a+b)	34,7 +/- 13,9 (10 – 54) n = 21	30,5 +/- 18,1 (0 – 55) n = 16	0,4331	Student non apparié
Vitalité (%)	71,1 +/- 12,0 (38 – 87) n = 21	70,6 +/- 18,2 (24 – 92) n = 14	0,9116	Student non apparié
Concentration en spermatozoïdes (10 <sup>6</sup> )/mL	46,3 +/- 46,8 (0 – 148) n = 22	28,7 +/- 33,6 (0 – 114) n = 18	0,1919	Mann-Whitney
Nombre de spermatozoïdes (10 <sup>6</sup> ) par éjaculat	150,7 +/- 146,2 (0 – 430) n = 22	109,9 – 155,3 (0 – 533) n = 18	0,2479	Mann-Whitney

Tableau 64 - Comparaison des paramètres spermatiques de la « population BEP » et de la « population radiothérapie » à T<sub>> 24</sub> mois



Tableau 65 – Evolution des spermogrammes des deux populations « contrôle » à distance de la fin du traitement

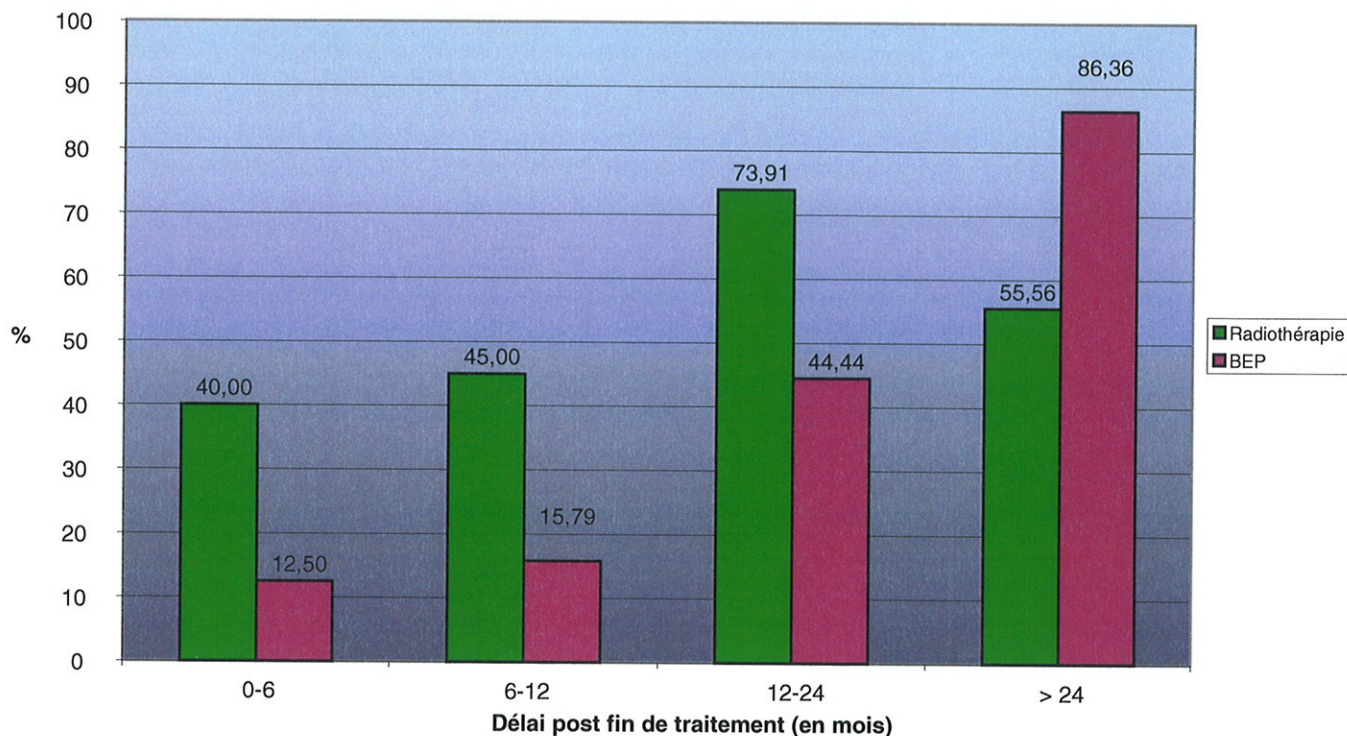
	Au moment des auto-conservations	Moins de 6 mois après la fin du traitement	6 à 12 mois après la fin du traitement	12 à 24 mois après la fin du traitement	Plus de 24 mois après la fin du traitement
Population « BFP contrôle »	<p>5 % 21 % 29 % 45 %</p>	<p>25 % 13 % 62 %</p>	<p>5 % 11 % 42 % 42 %</p>	<p>4 % 26 % 30 % 40 %</p>	<p>5 % 14 % 23 % 58 %</p>
Population « Radiothérapie contrôle »	<p>2 % 15 % 23 % 60 %</p>	<p>40 % 30 % 30 %</p>	<p>11 % 11 % 37 % 41 %</p>	<p>13 % 17 % 17 % 53 %</p>	<p>11 % 22 % 22 % 45 %</p>



### 2.5.5. CALCUL DU POURCENTAGE GLOBAL DE RECUPERATION DE LA SPERMATOGENESE :

Nous avons ici considéré qu'un patient avait une spermatogénèse après traitement adjuvant identique à celle observée au moment des auto-conservations, si le nombre total de spermatozoïdes dans l'éjaculat en post traitement était égale ou supérieur au nombre total de spermatozoïdes avant chimiothérapie ou radiothérapie, moins 10 % (graphe 8).

% de récupération de la spermatogénèse après traitement



Graphe 7 – Pourcentage global de récupération de la spermatogénèse après traitement cytotoxique

Cette analyse met en évidence une reprise progressive de la récupération de la spermatogénèse après chimiothérapie et après radiothérapie.

## V. DISCUSSION :

### 1. LIMITES DE NOTRE ETUDE :

Ce travail est une étude rétrospective. Nous nous sommes donc heurtés au problème du recueil des données. Les patients sont généralement adressés au CECOS par l'urologue qui va, ou qui a pratiqué l'orchidectomie. Au moment de la consultation pour auto-conservation, le diagnostic anatomopathologique n'est pas toujours clairement établi et le compte-rendu n'est pas toujours envoyé au médecin du CECOS. Les chimiothérapeutes et les radiothérapeutes correspondent plus souvent avec les urologues qui ont directement pris en charge le patient plutôt qu'avec les médecins du CECOS. Pour recueillir les renseignements nécessaires, nous avons donc été amenés à consulter les dossiers d'Urologie du CHU de Toulouse, et les dossiers de l'institut Claudius Regaud. Pour les patients soignés en clinique ou dans des hôpitaux périphériques, nous avons adressé des questionnaires aux différents médecins concernés. Malgré cela, les données récupérées ne nous ont pas toujours permis de compléter les dossiers en totalité.

Au-delà des renseignements cliniques et thérapeutiques, nous avons aussi rencontré quelques problèmes à la lecture des dossiers d'auto-conservation du CECOS. Ainsi, lors de la première consultation, la recherche de facteurs de risque pour la fertilité n'était pas toujours effectuée par l'examineur. De plus, dans certains dossiers, le délai d'abstinence n'était pas renseigné, et dans les dossiers les plus anciens, l'étude de la vitalité n'était pas exécutée de manière systématique.

Notre travail a surtout été limité par notre effectif. Certes sur les 306 patients de l'étude, 119 sont venus à distance de leur traitement réaliser un spermogramme, mais c'est trop peu pour permettre une étude fine de l'impact des traitements sur la fertilité. Dans l'idéal, il aurait fallu pouvoir créer des sous-groupes au sein du groupe chimiothérapie et radiothérapie en tenant compte de l'intensité des traitements.

Les chimiothérapies sont des traitements relativement standardisés puisque les doses délivrées sont calculées en fonction de la surface corporelle. On peut donc considérer que des patients traités par 2 BEP forment un groupe plus ou moins homogène<sup>27</sup>. Un effectif plus conséquent nous aurait permis de comparer la gonadotoxicité de 2 cures de BEP par rapport à 3 ou 4 cures de BEP. De plus, avant que le BEP ne s'impose comme le traitement de référence du cancer du testicule, de nombreux patients porteurs de TGNS étaient pris en charge par le protocole EP<sup>28</sup>. Nous aurions pu si nous avions eu suffisamment de spermogrammes de contrôle réalisés par des patients traités par EP, comparer l'impact de ces deux traitements sur la production de gamètes.

Pour la radiothérapie, le traitement des données des patients irradiés est plus complexe, car il existe de nombreux paramètres susceptibles de modifier la dose

---

<sup>27</sup> Pour pouvoir réellement considérer un groupe comme homogène, il faudrait calculer la cinétique d'élimination des médicaments pour chaque individu. Ce n'est pas parce que 2 patients reçoivent la même dose de cisplatine, que ce médicament aura les mêmes effets sur l'organisme. Tout dépend du temps qu'il restera dans le l'organisme de chaque patient.

<sup>28</sup> Protocole EP : étoposide + cisplatine

reçue par le testicule controlatéral. Alors que la chimiothérapie est un traitement systémique, la radiothérapie est un traitement loco-régional. Le positionnement du patient à chaque séance sur la table d'irradiation, l'épaisseur de la coquille (quand elle existe) sur le testicule controlatéral et son positionnement, ... tous ces facteurs devraient être pris en compte dans l'analyse. De plus, les radiothérapeutes n'utilisent pas tous le même matériel. L'étude des effets secondaires de la radiothérapie sur la spermatogenèse est donc tributaire d'une multitude de variables. Il est ainsi très difficile d'apprécier l'effet des radiations sur le testis controlatéral de manière rigoureuse. L'idéal aurait été de mesurer la dose reçue par le testicule controlatéral à chaque séance d'irradiation. De la même manière qu'il aurait été intéressant d'étudier les effets de la chimiothérapie en fonction du nombre de cures de BEP, nous aurions pu si notre effectif avait été suffisant créer des sous groupes en fonction du nombre de grays délivrés (moins de 24,4 Gy, plus de 24,4 Gy...).

Enfin, les patients qui sont venus faire un contrôle au CECOS, se sont généralement présentés après avoir été sollicités par les médecins du service, ou spontanément. Nous n'avons donc aucune homogénéité dans les délais de contrôle. Certains sont venus très tôt (dans les 6 mois suivant le traitement) et/ou très tard (plus de 2 ans après la fin du traitement). Ceci ne nous a pas permis pas d'envisager une étude précise de la cinétique de récupération de la spermatogenèse après le traitement. Dans l'idéal, il aurait fallu disposer de spermogrammes de contrôle à des temps précis, communs à tous les patients.

## 2. NOS RESULTATS

### 2.1. DISCUSSION SUR LA POPULATION ETUDIEE :

#### 2.1.1. ASPECT EPIDEMIOLOGIQUE :

Dans ce travail, nous avons répertorié tous les cas de cancers testiculaires germinaux adressés au CECOS Midi-Pyrénées entre Janvier 1997 et Décembre 2004, dans le cadre d'une prise en charge pluri-disciplinaire. Nous recensons ainsi 44,8 % de tumeurs séminomateuses, et 55,2 % de TGNS. L'âge moyen des hommes atteints dans les 2 sous-populations est respectivement de 32,70 +/- 6,4 ans et 26,71 +/- 5,5 ans.

#### 2.1.1.1. ASPECT HISTOLOGIQUE :

En étudiant les comptes-rendus anatomopathologiques, il apparaît que 3 entités histologiques prédominent : les séminomes (43,8 %), les TGNS mixtes (28,1 %) et les tumeurs composées d'un contingent carcino-embryonnaire  $\geq 80$  % (21,6 %). La plupart des diagnostics semble posée précocement puisque 67,2 % des tumeurs sont classées stade I.

Même si dans cette base, les patients nés en 1972 semblent particulièrement exposés au risque de cancer testiculaire par rapport aux années précédentes (graphe 3, page 78), une analyse plus fine et surtout sur un intervalle de temps beaucoup plus long est nécessaire pour éviter de tirer des conclusions hâtives

(suspicion de « Birth cohort »). En effet, entre 1997 et 2004, nous nous trouvons au pic d'incidence pour les patients nés dans les années 1970, 1971, 1972 (pour l'année 1970 par exemple, l'âge moyen des séminomes et des TGNS étant dans notre population de 32,7 ans et 26,7 ans respectivement, le pic d'incidence ces patients nés en 1970 est en 2002-2003 pour les séminomes, et en 1996-1997 pour les TGNS).

#### 2.1.1.2. DEVENIR DES PATIENTS :

Sur ces 306 hommes, seuls 5 sont décédés des suites de leur pathologie cancéreuse (1,6 %). Les décès sont survenus dans les 3 ans suivant l'annonce du diagnostic. Il s'agissait de TGNS de stade élevé, réfractaires d'emblée à la première ligne de chimiothérapie. Il nous est difficile de comparer ce résultat avec les données de la littérature car nous ne disposons pas d'un recul suffisant vis-à-vis des derniers patients inclus dans la base (un an de recul seulement). Une étude anglaise sur le devenir des patients suivis pour TGNS (diagnostic entre 1975 et 1990) fait état d'un taux de survie à 5 ans de 92 % pour les patients de bon pronostic, de 80 % pour les patients avec un pronostic intermédiaire, et de 50 % pour patients avec un mauvais pronostic [2].

Concernant les rechutes, il apparaît que moins de 5 % des hommes étudiés dans ce travail, ont rechuté. Dans une étude rétrospective néerlandaise reprenant 505 cas de cancer testiculaire germinale, les auteurs font état de 8,2 % de rechute à 5 ans et de 10,1 % à 10 ans [156]. Là encore, il est difficile de comparer nos résultats aux leurs du fait d'un délai de suivi trop court pour les derniers patients inclus dans notre base de données.

Plus de la moitié de nos patients en rechute (8 sur 15) avaient eu pour seul traitement une orchidectomie unilatérale. En raison du caractère « bon pronostic » de la tumeur (6 tumeurs de stade I, et 2 tumeurs de stade non précisé), une surveillance stricte leur avait été proposée. Le diagnostic de TGNS avait été retenu pour ces 8 patients, et la rechute était survenue dans les 14 mois suivant la chirurgie d'exérèse.

Sur nos 306 sujets, 14 n'avaient subi aucun traitement adjuvant à la chirurgie : 8 d'entre eux ont rechuté, soit près de 57 %. Pour 13 patients, la tumeur était de stade I (aucune information dans un dossier). Cette observation souligne l'existence de micro-métastases, non détectées au moment du bilan d'extension ; il paraît donc important d'expliquer les risques d'une surveillance, même étroite, aux patients. Il semble quant même que dans notre population traitée par simple orchidectomie, le pourcentage de rechute soit particulièrement élevé. En effet, Daugaard G et al. [157] relatent un taux de rechute de l'ordre de 22 % dans une population composée de 695 tumeurs germinales testiculaires de stade I, traitées par chirurgie seule (57 % dans notre travail).

Sur ces 14 patients traités par simple orchidectomie, le diagnostic de séminome testiculaire de stade I avait été posé pour 5 d'entre eux : aucun patient n'a rechuté. Plusieurs études se sont intéressées à cette population (tableau 66), rapportant toutes un taux de rechute entre 11,5 et 19 %. Les auteurs identifient plusieurs facteurs de risque (invasion du rete testis, taille de la tumeur, invasion vasculaire).

Dans sa revue de la littérature, Bauduceau et al. soulignent l'importance de la radiothérapie dans le devenir des patients, avec des taux de rechute bien inférieurs à ceux des études sur une surveillance simple (tableau 66) [61]. Malheureusement, nous ne pouvons comparer tous ces résultats aux nôtres, en raison du manque de recul vis-à-vis du devenir de nos patients (pour les dossiers les plus anciens, nous ne disposons que de 7 ans de suivi).

von der Maase et al. [158]	261	0	4	19	14 (2 – 37)
Francis et al. [159]	120	0	5,1	15	4 (1 – 50)
Duchesne et al. [160]	113	0	2,5	11,5	15 (6 – 36)
Warde et al. [161]	345	0	5	15,9	16 (3 – 108)
Fossa et al. [162]	365	36 à 40	9,8	4	11 (8 - 113)
Vallis et al. [163]	185	30	7	4,9	19 (5 – 37)
Bauman et al. [145]	169	30	7,5	3	(4 – 102)
Giacchetti et al. [164]	184	20	18	2,1	26 (12 – 35)
Bauduceau et al. [61]	63	20 à 25,2	2,5	0	Non précisé
Bamberg et al. [165]	483	26	4,6	3,7	Non précisé
Warde et al. [66]	194	25	8,1	5,6	Non précisé
Melchior et al. [166]	129	28 à 36	7,7	3	Non précisé

Tableau 66 – Résultats de diverses publications ayant étudié le devenir des patients traités par orchidectomie associée ou non à une radiothérapie adjuvante, pour un séminome de stade I (d'après Bauduceau [61])

### 2.1.1.3. LES FACTEURS DE RISQUE :

Nous avons retrouvé des facteurs de risque de cancer testiculaire pour 56 patients (18,3 %) : 53 avaient un antécédent de cryptorchidie ou de testicule(s) ascenseur(s), et 3 un facteur familial. Sur cette population, nous avons ainsi 17,3 % des hommes avec une anomalie de migration scrotale d'un ou des testicule(s). Cette observation est légèrement supérieure avec le résultat présenté par Mieusset R. [19]: en faisant la synthèse de 9 études cas/témoin entre 1979 et 1988, cet auteur retrouve 11,7 % des cancers testiculaires avec un antécédent de non descente des testicules (contre 2,1 % chez les témoins).

Certains patients (17,3 % de l'effectif) ont été exposés à des facteurs potentiellement cancérogènes : exposition à des produits toxiques (48 patients), à des radiations (5 patients).

La cryptorchidie est certes considérée comme un facteur de risque majeur de cancer testiculaire, mais c'est aussi un facteur de risque d'infertilité. Giwerzman et al. [21] ont mis en évidence chez 290 hommes avec un antécédent de cryptorchidie,

des altérations histologiques au niveau des testicules : les biopsies testiculaires réalisées à l'âge adulte ont montré que 15 % des hommes n'ont plus aucune cellule germinale, et 85 % ont tous les types de cellules germinales (48 % dans certains tubules séminifères uniquement, et 37 % dans tous les tubules examinés). Si l'on considère le nombre de cellules germinales dans les tubules séminifères (tous types confondus), il apparaît que moins de 10 % de l'effectif cryptorchide étudié a une spermatogenèse normale, sur le plan quantitatif.

Dans notre population de 299 patients ayant réussi au moins un éjaculat avant la chimiothérapie ou la radiothérapie, un défaut de migration d'un ou des deux testicule(s) est retrouvé dans 50 dossiers (16,7 %). Malgré le fait qu'aucun patient n'ait été traité avant l'âge de 2 ans, il semble que l'impact de la cryptorchidie chez ces patients soit très variable. En effet, dans cette population cryptorchide, nous recensons 32 % d'hommes avec une numération normale, 46 % d'oligospermes modérés, 18 % d'oligospermes sévères (dont 10 % très sévères), et seulement 4 % d'azoospermes. Neuf patients sur ces cinquante sujets, ont une histoire de cryptorchidie bilatérale, et aucun n'est azoosperme : un homme a plus de 20 millions de spermatozoïdes / mL, 5 sont oligospermes modérés, 3 oligospermes sévères, et un seul oligosperme très sévère. Ces résultats ne sont pas tout à fait comparables avec ceux présentés par Mieusset R. qui a analysé 37 publications entre 1935 et 1996 sur les caractères spermatiques des hommes ayant un antécédent d'orchidopexie [19] (tableau 67) : nous observons dans notre étude un pourcentage d'oligospermes beaucoup plus important, et moins d'azoospermes. Cependant, il est important de noter que notre population désignée comme cryptorchide n'est pas composée exclusivement de patients traités : nous avons inclus sous cette appellation, les hommes rapportant une histoire de testicule(s) ascenseur(s), de cryptorchidie.

	Mieusset R.		Notre étude
	Cryptorchidie unilatérale	Cryptorchidie bilatérale	
Effectif	392 à 539	228 à 311	50
Azoospermie	14 %	39 %	4 %
Oligospermie	29 %	32 %	64 %
Numération normale	57 %	26 %	32 %

Tableau 67 – Production spermatique et cryptorchidie: comparaison de nos résultats avec ceux de Mieusset R.

Dans deux études visant à apprécier l'état de la spermatogenèse dans la population générale en Suède et au Danemark [167, 168], le taux moyen de cryptorchidie était respectivement de 3,9 %, et de 12,6 %. Avec 16,7 % de patients décrivant un antécédent de cryptorchidie, nous nous trouvons au-dessus des observations de ces 2 publications. Le fait que nous observions plus de patients cryptorchides dans notre base de données que dans une population générale confirme la relation cryptorchidie/cancer du testicule.

## 2.1.2. ETAT DE LA SPERMATOGENESE AVANT INDUCTION DES TRAITEMENTS CYTOTOXIQUES:

Dans cette base de données, avant tout traitement adjuvant à la chirurgie, nous dénombrons 43,5 % de patients présentant une concentration spermatique supérieure à 20 millions par mL, 53,8 % d'oligospermes (34,1 % modérés et 19,7 % sévères), et 2,7 % d'azoospermes. Ces résultats diffèrent de ceux publiés par Pectasides D. [169] : cet auteur a fait la synthèse d'une dizaine de publications traitant de la spermatogenèse chez des patients atteints par un cancer testiculaire. Il estime à 46 % le pourcentage d'hommes oligospermes, et à 17 % le pourcentage d'hommes azoospermes, avant chimiothérapie ou radiothérapie. Certains papiers utilisés par Pectasides et al. font état de 41 cas d'azoospermie sur 170 cas de cancer testiculaire (24 %). Nous sommes bien loin d'une telle proportion d'hommes azoospermes (il est important de noter que nous ne remarquons aucune différence entre séminome et TGNS, le pourcentage d'azoospermes étant respectivement de 3 et 2 %). En revanche, nous recensons plus de patients avec une numération normale. A la lecture d'une autre revue de la littérature conduite par Pont et Albrecht [170], il apparaît là encore que notre effectif renferme une proportion d'azoospermes très inférieure à ce qui est normalement observé (tableau 68).

Premier auteur	Oligospermes	Azoospermes	FSH élevée	LH élevée
Fossa [3]	102/147	25/147	9/60	15/60
Scheiber [171]	32/42			
Carroll [172]	9/15	1/15	1/15	5/15
Jewett [173]	23/86			
Fritz [174]	6/36			
Horwich [175]	47/97	11/97		
Nijman [176]	18/25			
Hansen [177]	51/97		30/60	10/72
Drasga [178]	32/41	7/41		
Dearnaley [179]	38/75	4/75		
Total	358/661 (54 %)	48/375 (13 %)	40/135	30/147
Notre étude	161/299 (54 %)	8/299 (3 %)		

Tableau 68 – Etat de la fertilité des patients porteurs d'une tumeur testiculaire, avant induction de la chimiothérapie (d'après Pont et Albrecht).

D'une manière générale, il est admis que la qualité des spermogrammes des patients cancéreux est inférieure à celle de la population normale [180]. Il n'est pas aisé de trouver des publications traitant de l'état de la spermatogenèse dans une population témoin dite normale. Très souvent, les populations « contrôle » des études sont composées d'hommes donateurs de sperme [181] ou de patients désirant avoir recours à une vasectomie : il s'agit donc généralement, de patients ayant déjà fait preuve de leur fertilité. Deux publications nordiques [167, 168] ont étudié les paramètres spermatiques de conscrits, assimilables à une population



jeune et non sélectionnée, susceptible de donner un bon reflet de la production spermatique générale des hommes de ces 2 pays. Cet effectif ne représente pas pour autant le panel idéal, car de nombreux biais de recrutement doivent être évoqués : éviction des sujets suivis pour une pathologie chronique (exclus du service militaire), population jeune, taux de participation faible (16 % dans l'étude danoise, et 13,5 % dans l'étude suédoise)...

	Notre étude		Etude danoise 2000 [167]	Etude suédoise 2002 [168]
	TGNS	Séminome		
Année de recrutement	1997 - 2004		1996 -1998	2000
Effectif	166	133	708	305
Age moyen (ans)	26,8	32,7	19,4	18,2
Volume de l'éjaculat (mL)	3,6	3,5	2,8	3,2
Concentration de l'éjaculat ( $10^6$ spz/mL)	24,8	31,4	57,4	72,2
Nombre total de spz par éjaculat ( $\times 10^6$ )	86,9	98,1	159,0	208
Mobilité (a+b)	37,2	35,3	52	NR

Tableau 69 – Comparaison des paramètres spermatiques de nos patients cancéreux (avant chimiothérapie ou radiothérapie), avec ceux d'une population supposée normale

Même s'il est difficile de comparer les résultats de ces deux études avec ceux de notre population (différence d'âge, différence spatio-temporelle<sup>29</sup> ...), les paramètres spermatiques de nos patients cancéreux apparaissent inférieurs à ceux observés dans une population supposée « normale » (tableau 69). Cette observation est en accord avec plusieurs études qui rapportent des spermatozoïdes de médiocre qualité chez des patients cancéreux, avant que le traitement adjuvant n'ait débuté [181-183]. Jacobsen et al. rapportent une diminution de la concentration spermatique, une baisse de la mobilité, et une forte proportion de spermatozoïdes anormaux chez les patients avec un cancer testiculaire [32]. De la même manière, Petersen et al. [4] font état d'une concentration spermatique de l'ordre de  $15 \times 10^6$  / mL dans la population « cancer testiculaire » contre  $48 \times 10^6$  / mL dans leur population contrôle. Dans une publication de 2001, une équipe australienne [184] fait la synthèse des auto-conservations réalisées dans leur service entre 1980 et 2000. Trois cent vingt

<sup>29</sup> Il est difficile d'accoler les résultats de ces 2 analyses aux nôtres car les populations étudiées n'ont pas le même âge (on sait que de nombreuses publications font état d'une diminution de la qualité des spermatozoïdes dans le temps). De plus, les hommes étudiés dans ces travaux et les patients qui composent notre base de données ne sont pas dans la même zone géographique. Ce facteur peut jouer un rôle important. Alors que la Suède et le Danemark sont 2 pays relativement proches, l'analyse suédoise a conclu à une différence significative entre la qualité des spermatozoïdes des conscrits suédois et des appelés danois: les suédois auraient de meilleurs paramètres spermatiques que leurs voisins danois. Il est donc important de considérer l'aspect géographique, et l'échelle temporaire quand nous comparons des populations.

trois cas de cancer testiculaire sont rapportés : leurs résultats sont exposés dans le tableau 70. Les effectifs sont sensiblement les mêmes que les nôtres, et les résultats des spermogrammes réalisés avant tout traitement cytotoxique sont très proches de ceux que nous présentons. Les patients chez qui le diagnostic de séminome testiculaire est posé, semblent cependant avoir des spermés quantitativement meilleurs dans notre étude.

	Notre étude		Etude de Kelleher et al.	
	TGNS	Séminome	Tératome	Séminome
Année de recrutement	1997 - 2004		1980 - 2002	
Effectif	166	133	174	149
Age moyen (ans)	26,8	32,7	non précisé	30,8
Volume de l'éjaculat (mL)	3,6	3,5	3,0	3,2
Concentration de l'éjaculat ( $10^6$ spz/mL)	24,8	31,4	23,6	23,9
Nombre total de spz par éjaculat ( $\times 10^6$ )	86,9	98,1	72,6	78,5
Mobilité (a+b)	37,2	35,3	43,6	48,3

Tableau 70 – Comparaison des paramètres spermatiques de notre base de données avant chimiothérapie ou radiothérapie, avec ceux de la base de Kelleher et al.

Comment expliquer ce défaut de la spermatogenèse chez les patients cancéreux ? Aucune réponse claire n'est apportée à cette question, mais plusieurs théories sont avancées.

Certains scientifiques envisagent un défaut préexistant de la spermatogenèse. Cette anomalie serait à la fois une étiologie au cancer, et une étiologie à la dysgamétogenèse. En effet, il est admis que la cryptorchidie reconnue comme facteur de risque de mauvaise spermatogenèse, est aussi un facteur de risque de cancer testiculaire. Puisque l'on trouve plus de patients avec une histoire de testicule(s) non ou mal descendu(s) dans la population « cancer du testicule », il n'est pas étonnant de découvrir dans notre base, des hommes dont les paramètres spermatiques sont inférieurs à ceux de la population normale. De la même manière, Høie-Hansen et al. en réalisant des biopsies systématiques sur le testicule controlatéral de 218 patients atteints par un cancer testiculaire, ont mis en évidence de très nombreuses anomalies histologiques dans le testicule supposé sain : 25,2 % présentait des dysgénésies testiculaires, 8,7 % avait un TIN [185].

Pour Agarwal A. [186], les cellules tumorales (testiculaires, lymphomateuses) sont dans certains cas, directement responsables de ces anomalies de la spermatogenèse au moment des auto-conservations. Plusieurs hypothèses sont avancées pour expliquer ce dérèglement : effet local de la tumeur ou effet systémique via une modification hormonale ?

En examinant des testicules porteurs de tumeur non germinale, Ho et al. rapportent une spermatogenèse uniforme [187]. La seule présence des cellules tumorales n'explique donc pas selon eux, le dérèglement de la production des spermatozoïdes. Ils envisagent alors une sécrétion par les cellules germinales malignes de substances perturbatrices à effets paracrines. L'idée d'une production hormonale tumorale est reprise par Morrish D.W. [188] : cet auteur suggère une augmentation de la concentration intra-testiculaire de l'oestradiol liée à la sécrétion tumorale de  $\beta$  hCG. L'oestradiol produit dans le testicule tumoral pourrait bloquer le fonctionnement dans le testicule controlatéral, de certaines enzymes impliquées dans le processus de la spermatogenèse. En effet, plusieurs auteurs pensent qu'une forte concentration de  $\beta$  hCG stimulerait la synthèse d'oestradiol et de testostérone. Pourtant, les concentrations d'oestradiol et de testostérone restent généralement dans les limites de la normale (parfois dans les limites supérieures pour l'oestradiol) [189]. Pour expliquer l'absence d'augmentation de la testostéronémie, des scientifiques supposent que la  $\beta$  hCG sécrétée stimule l'activité aromatasase des cellules de Leydig [190] : ceci permettrait de conserver une concentration sérique en testostérone normale.

D'autres auteurs tels que Nakazumi et al., pensent que l'oestradiol pourrait être produit par le tissu testiculaire sain et non par la tumeur elle-même, mais sous l'influence de la  $\beta$  hCG d'origine tumorale [191]. Des chercheurs ont évoqué un possible rétrocontrôle négatif de la  $\beta$  hCG tumorale sur la sécrétion de LH (la  $\beta$  hCG et la LH ont un récepteur structurellement très proche). Ce retentissement sur l'axe hypothalamo-hypophysaire doit être minime car Tetsuo et al. ne retrouvent aucune variation de la sécrétion de LH et de FSH chez 59 patients porteurs d'une tumeur germinale testiculaire, ayant des taux de  $\beta$  hCG positifs au diagnostic [189].

D'autres auteurs tels que Foster R.S. [192] et Guazzieri S. [193], envisagent la présence d'anticorps anti-spermatozoïdes. Leur apparition serait secondaire à l'effraction de la barrière hémato-testiculaire par la tumeur. Les anticorps anti-spermatozoïdes peuvent être évoqués sur un spermogramme face à des agglutinats spontanés, mais leur présence peut aussi passer inaperçue si aucune technique spécifique de dépistage n'est appliquée. Ils peuvent être à l'origine de nécrospermie, d'une diminution du nombre de spermatozoïdes par destruction, d'anomalies de mobilité.

Pour expliquer ces spermatozoïdes de moins bonne qualité, d'autres scientifiques avancent les idées de fibrose des tubules séminifères [182], d'une hyperthermie locale ou du stress généré par l'annonce du diagnostic [194]. L'hypothèse d'une libération de cytokines à proximité de la tumeur à l'origine d'une inflammation locale, ou la sécrétion d'AFP pourrait aussi expliquer ces anomalies de la spermatogenèse.

Certains facteurs d'hypofertilité doivent cependant être propres aux tumeurs germinales testiculaires. Dans une étude de Bussen et al. [195], au moment des auto-conservations, la qualité des spermatozoïdes de 16 patients atteints par une tumeur germinale était inférieure à celle de 21 patients porteurs d'une tumeur autre (maladie de Hodgkin, leucémie, lymphome...). La concentration spermatique était significativement plus basse (18,7 +/- 22,3 versus 35,6 +/- 31,3 millions par mL), le pourcentage de spermatozoïdes progressifs rapides inférieur (1,1 +/- 2,0 versus 4,7

+/- 5,6), et le pourcentage de cellules de morphologie normale plus faible (16,2 +/- 6,0 versus 26,1 +/- 18,0).

Avant tout traitement adjuvant à la chirurgie, nous avons comparé les spermogrammes des patients avec un séminome testiculaire à ceux des patients atteints par un TGNS ; nous n'avons mis en évidence aucune différence significative entre ces deux populations, en ce qui concernent la concentration, le nombre total de spermatozoïdes, la mobilité (a+b), la vitalité, le pH et le volume moyens des éjaculats. Cette observation est en accord avec deux autres études dans lesquelles, le sperme des patients séminomateux n'était ni meilleur, ni moins bon que celui des patients du groupe TGNS [196, 197]. A contrario, une équipe rapporte une qualité de sperme nettement supérieure chez les hommes atteints par un séminome testiculaire [181] : cette publication se base sur l'étude de 66 cas de cancer testiculaire germinal recensés en Israël (répartition séminomes/TGNS non précisée, année de recrutement inconnue). Pour expliquer ceci, les auteurs avancent une hypothèse histologique : les cellules séminomateuses seraient plus proches des cellules germinales normales que les cellules composant les TGNS (similitudes morphologiques et fonctionnelles). La méthodologie de cette étude doit être discutée car l'effectif est petit et très mal décrit.

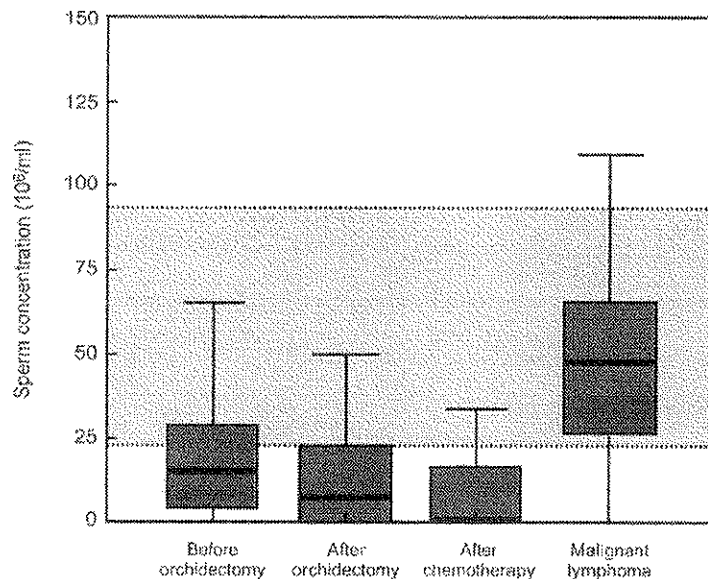
Pour comparer de manière plus rigoureuse les spermogrammes des deux groupes, il aurait fallu connaître le stade précis de chaque tumeur : en effet, dans notre population, 71,6 % des séminomes sont des tumeurs classées stade I, alors que seules 47,7 % des TGNS appartiennent à ce stade. Une invasion tumorale pourrait être responsable d'une diminution de la production des spermatozoïdes par le testicule atteint voire par le testicule controlatéral. Il serait intéressant d'étudier l'impact des tumeurs sur la spermatogenèse en fonction de leur type histologique, de leur stade, de l'imprégnation hormonale et des facteurs de risque propre à chaque patient. Pour cela, il aurait fallu disposer de l'ensemble des comptes-rendus anatomopathologiques, et connaître les concentrations de LH, FSH, testostérone, inhibine, AFP et  $\beta$  hCG, avant l'induction du traitement.

## 2.2. IMPACT DE L'ORCHIDECTOMIE SUR LA QUALITE DES EJACULATS :

Dans une partie de notre travail, nous avons essayé de discerner l'impact de la chirurgie d'exérèse sur les caractéristiques du sperme. Est-elle délétère sur la qualité des auto-conservations et donc sur la qualité des paillettes stockées ?

L'étude des 50 dossiers contenant au moins deux auto-conservations réalisées à cheval de la date d'orchidectomie, ne nous a pas permis de mettre en évidence un effet néfaste majeur, sur les paramètres spermatiques. Nous n'avons relevé qu'une différence significative pour le volume et le délai d'abstinence ( $p=0,0086$  et  $p < 0,001$  respectivement). Il est connu que le volume est corrélé au délai d'abstinence : plus ce délai est long et plus le volume est augmenté. Cette observation est en accord avec l'étude de Schwartz et al. menée sur 220 éjaculats recueillis après 0 à 7 jours d'abstinence [198]. Cette augmentation de volume n'est donc pas étonnante.

La comparaison des 2 groupes ayant respectivement conservé, avant ou après la chirurgie, ne nous a pas permis de mettre en évidence une différence significative sur l'un des paramètres spermatiques étudiés. Il semblerait donc que l'orchidectomie n'ait aucune incidence sur la qualité des recueils de sperme. Ces résultats vont à l'encontre de ceux présentés par Auger J. [199] qui rapporte une diminution de la concentration spermatique après orchidectomie (graphe 8).



Graphe 8 – Concentration spermatique chez des patients atteints par un cancer testiculaire (avant et après chirurgie, après chimiothérapie à base de cisplatine)

Une autre équipe française s'est intéressée aux conséquences de l'orchidectomie sur les paramètres spermatiques [200] et ses résultats sont comparables aux nôtres. Il s'agissait d'une étude menée sur 36 patients atteints par une tumeur germinale testiculaire : le groupe « avant » était composé d'hommes ayant conservé du sperme avant chirurgie exclusivement, et le groupe « après », d'hommes ayant réalisé leurs auto-conservations uniquement après l'opération. Cette équipe n'avait mis en évidence aucune différence significative pour les divers paramètres étudiés (volume, mobilité (a+b), et concentration).

L'étude des 50 cas d'auto-conservations réalisées à cheval de la date d'orchidectomie (4 à 67 jours après), nous laisse penser que chaque homme doit être considéré comme un cas particulier. En effet, 10 patients ont vu leur concentration s'améliorer en post-chirurgie, et 13 autres se sont retrouvés dans le cas inverse avec une diminution de leur concentration spermatique. Les paramètres spermatiques moyens de ce petit groupe n'ont pas ou peu été modifiés par le geste chirurgical cependant, l'orchidectomie a eu un impact positif ou négatif sur la qualité des spermatozoïdes de 44 % des patients.

Les 13 patients dont les paramètres spermatiques se sont altérés après la chirurgie étaient porteurs pour 5 d'entre eux d'un séminome de stade I, et pour 8 d'entre eux d'un TGNS (7 stades I et 1 stade II). La tumeur de 5 patients siégeait à droite, à gauche pour les 8 autres.

Parmi ces 13 hommes, un seul patient avait un antécédent de cryptorchidie bilatérale (traitée chirurgicalement à l'âge de 8 et 9 ans) : il présentait avant l'opération une oligospermie très sévère (50 000 spermatozoïdes/mL), et une azoospermie après la chirurgie. Les paillettes constituées à l'occasion des 3 premières auto-conservations, bien que de mauvaise qualité, sont susceptibles d'être utilisées en ICSI, puisque les spermatozoïdes observés étaient mobiles et vivants. Il est fort probable que le testicule atteint par la tumeur était l'unique siège de la spermatogenèse. Son exérèse a rendu le patient azoosperme. Ce patient est par ailleurs venu réaliser un spermogramme de contrôle 32 mois après la fin de sa radiothérapie, et nous n'avons retrouvé aucun spermatozoïde dans son éjaculat.

Un autre patient qui présentait avant la chirurgie une simple asthénospermie modérée, a réalisé 34 jours après l'opération un recueil de sperme mettant en évidence une nécro-oligo-asthénospermie sévère. Il était porteur d'un CE pur de stade I sur le testicule droit. A l'interrogatoire, il avait rapporté un traumatisme scrotal (côté ?) secondaire à un coup. Ce patient traité par chirurgie seule, n'est pas venu faire de contrôle à distance de l'orchidectomie. Nous ne savons donc pas si cette 3<sup>e</sup> auto-conservation de médiocre qualité était annonciatrice d'une oligospermie définitive ou transitoire.

Les 10 patients dont les paramètres spermatiques se sont améliorés après la chirurgie<sup>30</sup>, étaient pour 9 d'entre eux porteurs d'un séminome de stade I. Le dixième homme avait un TGNS de stade II. La tumeur résidait dans le testicule droit pour 4 patients, et à gauche pour les 6 autres. Parmi les 3 oligospermes très sévères avant la chirurgie, l'un d'entre eux avait un antécédent de cryptorchidie gauche, mais la tumeur était à droite. Nous avons identifié chez 3 patients oligospermes modérés avant l'orchidectomie des facteurs de risque de fertilité : l'un d'entre eux était cuisinier de formation et était donc exposé régulièrement à de fortes chaleurs ; un autre avait eu une torsion testiculaire et passait de longues heures en position assise (chauffeur routier) ; et un dernier avait plusieurs antécédents d'infections urinaires et prostatiques. Ces 3 patients avaient une numération normale après l'opération. Nous avons connaissance des marqueurs en pré-chirurgie pour 8 des 10 hommes : un seul patient avait une augmentation de l'AFP (1440 UI/mL) et de la  $\beta$ -hCG (13 UI/mL). Cet homme présentait une oligospermie modérée (8,5 millions de spermatozoïdes/mL) avec nécro-asthénospermie sévère avant la chirurgie, et il était normosperme 11 jours après la chirurgie (40 millions de spermatozoïdes, vitalité à 68 %, et mobilité à 45 %). Une sécrétion tumorale de  $\beta$ -hCG pourrait être responsable de la mauvaise qualité de la spermatogenèse avant la chirurgie.

Si l'on considère globalement les résultats statistiques de cette étude, il semblerait que les patients puissent être adressés indifféremment avant ou après la chirurgie, pour leurs auto-conservations. Pourtant, en pratique, il semble plus judicieux de programmer le maximum d'auto-conservations avant l'orchidectomie, pour éviter les cas de diminution de la qualité de certains spermes, ou des cas d'échecs de recueils en raison d'un problème psychologique secondaire à l'ablation d'un testicule. Face à des auto-conservations de médiocre qualité, une auto-conservation après la chirurgie pourrait être envisagée : en effet, la prise en charge des cancers testiculaires ne constitue pas une urgence thérapeutique, et il est en

---

<sup>30</sup> Les auto-conservations post-orchidectomie ont été réalisées 3 à 45 jours après la chirurgie (22 jours en moyenne).

général possible, de programmer une ou plusieurs auto-conservation(s) entre le geste chirurgical, la cicatrisation (environ 10 jours), le diagnostic anatomopathologique et l'initiation du traitement adjuvant.

En dehors de cet aspect très pratique, les résultats de cette petite étude nous ont permis de nous affranchir du paramètre « avant ou après orchidectomie » dans le choix des spermogrammes de référence T<sub>0</sub>.

### 2.3. ETUDE DE LA SPERMATOGENESE APRES TRAITEMENT CYTOTOXIQUE:

L'épithélium séminifère qui est en constant remodelage, est particulièrement concerné par les effets secondaires des traitements cytotoxiques. De nombreuses équipes se sont intéressées à la génotoxicité des protocoles de chimiothérapie et de radiothérapie, et il apparaît très clairement que ces traitements sont nocifs pour la production des spermatozoïdes. Toutes les études ont mis en évidence un dysfonctionnement testiculaire dans le groupe des patients traités, par rapport aux patients pris en charge par orchidectomie seule : Hansen et al par exemple, font état d'une diminution significative du volume et de la concentration spermatique dans un groupe composé de 22 patients traités pour cancer testiculaire par chimiothérapie (Cisplatine, Vinblastine et Bléomycine) versus 9 patients pris en charge par orchidectomie seule [201].

On sait que ces traitements cytotoxiques ont des effets secondaires sur la spermatogénèse, mais on ne sait finalement que peu de chose sur leur(s) mécanisme(s) d'action.

#### 2.3.1. LES EFFETS DE LA RADIOTHERAPIE SUR LA SPERMATOGENESE:

Le tissu testiculaire est un des tissus les plus radiosensibles de l'organisme. Les dommages cellulaires induits peuvent être liés à l'irradiation directe du testicule (malgré une protection adéquate, une certaine quantité de photons filtre à travers le matériau de protection), ou aux rayons diffusés dans l'organisme après interaction avec la matière. Ce sont surtout ces rayonnements secondaires, diffusés à partir du champ d'application du faisceau d'irradiation, qui sont en cause dans le cadre des radiothérapies pour cancer testiculaire (le champ d'irradiation ne doit pas intégrer le testicule controlatéral supposé sain).

Les premières publications traitant des effets des rayonnements sur la spermatogénèse remontent au début du XX<sup>e</sup> siècle (Albers-Schonberg en 1903, Bergonie et Tribondeau en 1904, Brown et Osgood en 1905, Regaud et Blanc en 1906). Ces différentes études animales ou humaines ont mis en évidence une forte sensibilité des spermatozoïdes aux radiations. Les travaux les plus intéressants furent menés par l'équipe de Rowley, pour le compte de la commission à l'énergie atomique américaine. Rowley muni d'un appareil d'irradiation portable, exposait les testicules de prisonniers « volontaires » dans les pénitenciers des Etats de l'Oregon et de Washington, à des doses variables de radiations. Il appréciait ensuite les effets

des rayonnements par des dosages hormonaux urinaires et sanguins (LH et FSH), et/ou par l'analyse de biopsies testiculaires. Même si les techniques de dosage disponibles dans les années 70 sont de sensibilité plus faible que les techniques actuelles, ces travaux sont à ce jour, les seuls à décrire les effets des rayonnements sur des testicules humains sains.

Il ressort des différentes études de Rowley et al. [202] que les dommages testiculaires sont dose-dépendants, et rythme d'administration-dépendants. Dans le cas d'une irradiation directe de seulement 0,1 Gy, des modifications qualitatives et quantitatives sont observables pour les spermatogonies : ce sont les cellules les plus radio-sensibles de la lignée germinale. Il existe cependant des différences selon les spermatogonies : 14 jours après une irradiation de 1 Gy, les biopsies réalisées chez un individu montraient que 83 % des spermatogonies Ad avaient résisté, contre 11 % des spermatogonies Ap et 1 % des spermatogonies B seulement. Plus les doses augmentent, et plus des cellules de plus en plus matures sont touchées : les spermatocytes seraient fonctionnellement lésés à partir de 200-300 cGy (morphologiquement à partir de 400-600 cGy), alors qu'il faudrait des doses de 400-600 cGy pour que des modifications fonctionnelles soient détectées sur les spermatides. Les spermatocytes préleptotènes et les spermatides sont respectivement 10 fois plus résistants et 40 fois plus résistantes que les spermatogonies B. De la même manière, plus la dose d'irradiation croit, et plus la reprise de la spermatogenèse se manifeste tardivement (schéma 19).

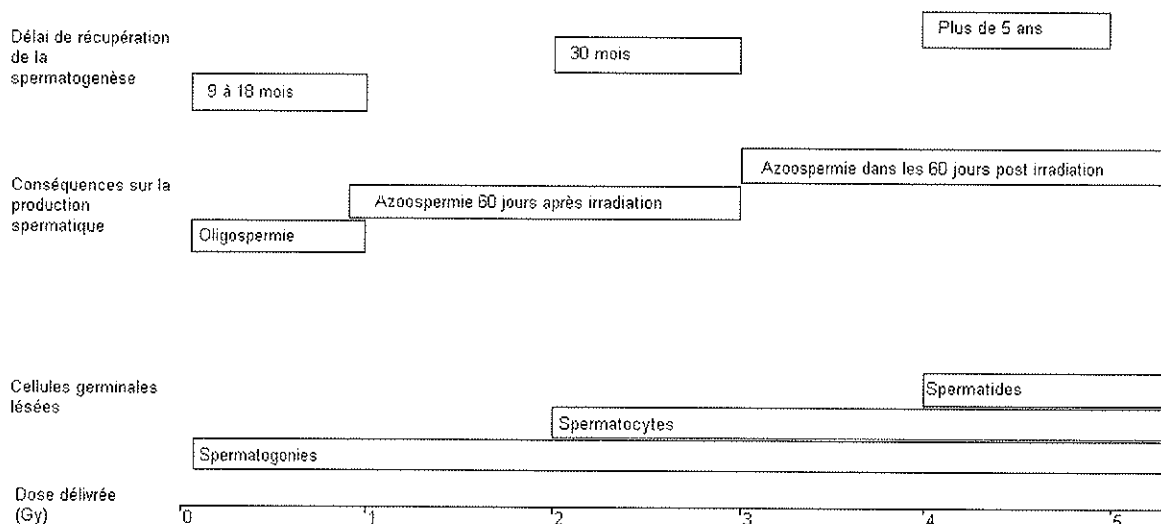


Schéma 19 – Effet des radiations (dose unique) sur la spermatogenèse (d'après Rowley et al. et Howell SJ) [202, 203]

Chez les êtres humains, des doses aussi faibles que 2 Gy inhibent la repopulation rapide des tubules séminifères par les cellules souches. En conséquence, pour ces doses, il est habituel d'observer une azoospermie secondaire dans les 50 semaines qui suivent l'irradiation [204]. En cancérologie, la dose totale est fractionnée car la dose totale à administrer est trop élevée pour pouvoir être délivrée en une fois ; de plus, le fractionnement de la dose majore l'effet de la radiothérapie sur la tumeur tout en réduisant ses effets sur les tissus sains adjacents [205]. Dans le cadre d'un séminogonisme de stade I par exemple, la dose totale est généralement de 20,4 Gy



répartie sur 14 séances, avec des doses journalières de 1,6 à 2 Gy. Malheureusement, ce fractionnement de la dose accentue la toxicité gonadique [203] (tableau 71).

Dose testiculaire (cGy)	Effet sur le spermogramme	Délai d'installation de l'azoospermie (mois post irradiation)	Début de la récupération (mois post-irradiation)	récupération
< 10	Aucun effet	-	-	-
10 – 30	Oligospermie transitoire	-	-	complète
30 – 50	azoospermie	4 – 12	8 – 26	complète
50 – 100	100 % d'azoospermie	3 – 10	11 – 26	parfois incomplète
100 – 200	100 % d'azoospermie	2 – 9	11 – 36	parfois incomplète
200 – 300	100 % d'azoospermie	2	2 à 14 ans	risque d'azoospermie définitive (?)
> 300	100 % d'azoospermie	2	-	azoospermie définitive (?)

Tableau 71 – Conséquences des irradiations en doses fractionnées sur la fonction germinale du testicule [205] (d'après [206])

D'autres équipes se sont préoccupées de l'impact de la radiothérapie sur la spermatogenèse. Elles ont étudié des enfants ou des adolescents atteints par une leucémie aigue lymphoblastique (LAL) avec infiltration testiculaire, ou des jeunes hommes avec une maladie de Hodgkin, ou des hommes ayant un cancer de la prostate. Toutes ces études ne permettent pas d'évaluer précisément les effets des radiations sur la spermatogenèse. En effet, en ce qui concerne les publications traitant des LAL, la population étudiée est en général pré- ou péri-pubère, et les irradiations testiculaires sont réalisées le plus souvent sur des testicules infiltrés par un contingent tumoral dont la seule présence pourrait avoir des conséquences sur la structure et sur le fonctionnement de l'épithélium séminifère [207]. Dans le cas des lymphomes hodgkiniens, le traitement repose sur l'association d'une polychimiothérapie et d'une radiothérapie [208]. Enfin, dans le cadre des cancers prostatiques, la population étudiée n'est pas la même que pour les cancers testiculaires, et les modalités d'irradiation ne sont pas identiques (radiothérapie externe avec de fortes doses, brachythérapie). Cette dernière technique consiste à insérer des implants d'iode radioactif au niveau de la tumeur : il n'y aurait aucune modification des paramètres spermatiques chez les hommes traités [209]. Il est donc difficile de s'appuyer sur ces papiers, pour appréhender la toxicité des radiations sur les cellules germinales, dans le cadre de traitement de cancer testiculaire.

De nombreuses études animales se sont aussi penchées sur les effets des radiations sur le tissu testiculaire : on apprend ainsi que les spermatogonies sont plus sensibles aux radicaux libres générés par les radiations que les spermatozoïdes [210], et que l'entrée en apoptose de ces cellules germinales est médiée par la protéine p53 [211]. Les expérimentations chez la souris, ont montré qu'une irradiation testiculaire à faible dose (2 à 6 Gy) provoque une azoospermie temporaire, tout comme chez l'homme. Cependant, le modèle animal ne peut pas

être appliqué en tous points à l'homme. Pour exemple, pour une dose de 2 Gy, dès l'irradiation terminée, les cellules germinales souches des souris recolonisent immédiatement les tubules séminifères [210]; chez les humains, il faudra attendre au minimum 50 semaines pour observer un tel phénomène, après une irradiation de même intensité [212]. D'autres expériences animales se sont basées sur l'étude de rats transgéniques (LBNF1) dont la sensibilité testiculaire aux radiations, semble très proche de celle des hommes : chez ces rats, une irradiation de 3,5 Gy conduit à une azoospermie persistante (au moins 60 semaines).

Pour étudier au mieux l'impact de la radiothérapie sur les cellules germinales dans le cadre des cancers testiculaires, il faudrait avoir une idée précise de la quantité de radiation résiduelle reçue par le testicule controlatéral. Jacobsen et al [213] considèrent que dans le cas d'une irradiation de type "dog-leg" de 30 Gy, le testicule controlatéral reçoit 1 % de la dose totale, soit environ 0,3 Gy. Si la radiothérapie est de type para-aortique, la dose résiduelle sur le testicule sain ne serait plus que de 0,1 Gy.

### 2.3.2. LES EFFETS DE LA CHIMIOThERAPIE SUR LA SPERMATOGÈNESE:

Comme pour la radiothérapie, les effets des agents cytotoxiques sur la spermatogénèse ont largement été étudiés, mais à ce jour, on ne sait toujours pas expliquer précisément la gonadotoxicité des traitements. Les études animales traitant du sujet sont nombreuses, mais les animaux sont généralement traités par un seul principe actif (busulfan, cyclophosphamide...). De plus, au-delà des différences physiologiques entre les espèces animales et l'espèce humaine, il est difficile d'extrapoler les résultats obtenus après monothérapie sur la spermatogénèse des animaux, à la spermatogénèse humaine après polychimiothérapie. Il est en effet possible que les effets génotoxiques du cisplatine et de l'étoposide soient additionnels, mais on ne peut exclure une synergie entre ces deux produits qui majorerait les effets secondaires.

Pour Pont J., rares sont les agents cytotoxiques anti-cancéreux qui auraient des effets secondaires durables sur la fonction testiculaire. Alors que les inhibiteurs des topoisomérases (Etoposide) et la bléomycine ne semblent pas impliqués dans une réduction à long terme de la production spermatique aux doses conventionnelles, un dose cumulée de cisplatine supérieure à 600 mg/m<sup>2</sup> causerait une infertilité irréversible [170].

Il est maintenant admis que la chimiothérapie à base de cisplatine est à l'origine d'une azoo-oligospermie transitoire. La récupération d'une spermatogénèse normale chez les patients normospermes au moment des auto-conservations, se produirait dans les 2 à 3 ans post traitement [214]. Cette récupération pourrait être retardée ou absente chez des patients recevant plus de 4 cures, ou chez les patients présentant initialement une altération de la spermatogénèse.

### 2.3.3. NOS RESULTATS :

#### 2.3.3.1. ANALYSE STATISTIQUE GLOBALE DE NOS RESULTATS :

Dans l'étude des paramètres spermatiques post-traitement, nous avons considéré les populations « contrôle » comme homogènes. Nous n'avons pas tenu compte du stade de la tumeur, ni de l'intensité des traitements administrés. Si nous considérons donc nos deux populations « contrôle » comme homogènes, nous constatons que la spermatogenèse du groupe BEP et du groupe radiothérapie est quantitativement moins productive au cours des 12 mois qui suivent la fin du traitement ( $p < 0,05$ ).

L'examen de la cinétique de récupération de la spermatogenèse (graphe 6, page 111) semble cependant nous indiquer que la décroissance de la production est plus précoce dans le groupe de BEP que dans le groupe radiothérapie. Cette observation est en accord avec les analyses statistiques : à  $T_{0-6\text{mois}}$ , il existe une différence significative pour la concentration spermatique et le nombre total de spermatozoïdes dans l'éjaculat, entre le groupe « BEP contrôle » et le groupe « radiothérapie contrôle » (tableau 37, page 112). La concentration est ainsi de  $1,8 \pm 3,5$  millions de spermatozoïdes par mL dans le groupe BEP, et de  $50,9 \pm 29,4$  millions de spermatozoïdes par mL dans le groupe irradié ( $p < 0,05$ ). Pour les temps suivants, les valeurs des différents paramètres étudiés sont statistiquement comparables dans les 2 populations étudiées.

Si l'on se réfère à la cinétique de récupération de la spermatogenèse chez les patients irradiés, la chute de la production des spermatozoïdes semble survenir toujours dans la première année (graphe 5, page 110), mais un peu plus tard : 6 à 12 mois après la dernière séance (différence significative pour numération totale à  $T_{6-12}$  et numération totale à  $T_0$  :  $p < 0,05$ ). Comme pour le groupe BEP, cette chute se traduit chez certains patients, par un effondrement de la production des spermatozoïdes : nous avons identifié 3 patients oligospermes très sévères (sans antécédent) dans le groupe radiothérapie, et 8 patients dans le groupe BEP. Cette chute de la production s'est manifestée pour le groupe « radiothérapie contrôle » entre 5 et 12 mois post traitement et, entre 0 et 7 mois pour le groupe « BEP contrôle ».

Si l'on considère globalement les deux populations « contrôle », plus d'un an après la l'irradiation, la spermatogenèse semble quantitativement meilleure que la production spermatique observée au moment des auto-conservations (tableau 72).

	Concentration ( $10^6$ spermatozoïdes / mL)			
	$T_0$	$T_{12-24}$	$T_0$	$T_{\text{sup } 24}$
BEP	22,1 +/- 33,6	29,1 +/- 79,9	19,2 +/- 28,9	46,3 +/- 46,8*
Radiothérapie	17,2 +/- 19,7	33,9 +/- 38,8*	27,9 +/- 30,1	28,7 +/- 33,6

\* significatif

Tableau 72 – Concentration spermatique moyenne dans les deux groupes, 12 à 24 mois et plus de 2 ans après la fin du traitement

Ce constat est flagrant pour le groupe « BEP contrôle » : plus de deux ans après la fin de la chimiothérapie, la concentration spermatique est de 19,2 millions de

spermatozoïdes par mL à  $T_0$  et 46,3 millions par mL, 24 mois plus tard ( $p < 0,001$ ). Pour le groupe radiothérapie, plus d'un an après l'irradiation, la concentration est significativement meilleure (concentration à  $T_0 = 17,2$  millions / mL et 33,9 millions /mL à  $T_{12-24}$   $p < 0,05$ ), mais au-delà de deux ans on ne retrouve pas de différence significative entre les concentrations de  $T_0$  et de  $T_{sup 24}$ .

Il faut considérer toutes ces analyses statistiques avec prudence car dans le meilleur des cas, notre effectif maximal est de 27 patients. De plus, nous n'avons pas intégré la variable « traitement » : ainsi, dans la population BEP, certains ont été traités par 2 cures, mais d'autres par 3, voire 4. Il semble évident qu'il faut s'attendre à une génotoxicité plus faible chez un patient traité par 2 cures, que chez un patient ayant 4 cures, et ce même si les mécanismes d'actions responsables des effets secondaires des cytotoxiques ne sont pas connus. Ceci est encore plus vrai dans le groupe radiothérapie : la grande majorité des patients ont été pris en charge par des protocoles dont la dose totale était de 20 à 30 Gy. Cependant, certains ont reçu jusqu'à 40 Gy ! Or les différents travaux menés sur les effets de la radiothérapie, ont montré l'extrême sensibilité de l'épithélium germinal à de très faibles doses de radiations [202]. Considérer une population d'hommes irradiés par 20,4 Gy et par 40 Gy comme homogène, n'est donc certainement pas opportun. Pour les deux groupes, une stratification en fonction de l'intensité du traitement aurait du être réalisée, mais il nous aurait fallu pour cela un effectif bien plus important. De plus, les techniques d'irradiation n'étaient pas toujours précisées dans les comptes-rendus : ce facteur aurait du être pris en compte car selon Fossa et al. [143], il existe des différences notables de récupération de la spermatogenèse en fonction du type d'irradiation : la production spermatique serait meilleure après une irradiation lombo-aortique seule, qu'après une irradiation lombo-aortique associée à une irradiation pelvienne homolatérale. Enfin, pour chaque temps, l'effectif n'était jamais composé des mêmes patients. Nous observons ainsi une concentration moyenne à  $T_0$  pour la population « radiothérapie contrôle » oscillant entre 17,2 et 43,3 millions de spermatozoïdes par mL !

Des études similaires ont été conduites par d'autres équipes à travers le monde. Ainsi, Pont et al [170] affirment qu'une azoospermie secondaire aux chimiothérapies cytotoxiques survient dans les 7 à 8 semaines suivant le début du traitement, après déplétion du contingent de spermatogonies B (cellules à index mitotique élevé). Dans notre étude, la chute de la production spermatique dans le groupe « BEP contrôle » semble plus tardive, avec un nadir très proche de l'azoospermie vers le 3<sup>e</sup> mois après la fin du traitement. En ce qui concerne la reprise de la spermatogenèse, nos observations concordent avec celles de Pont J. Selon lui, la récupération de la spermatogenèse se produirait dès la 12<sup>e</sup> semaine après le traitement si les spermatogonies A ont survécu. Si l'on se réfère au graphe 6 (page 111), nous avons l'impression que la reprise se manifeste entre le 3<sup>e</sup> et le 6<sup>e</sup> mois, même si pour certains, une oligospermie très sévère persiste au-delà.

Bölhen et al [215] ne retrouvent aucune altération de la fertilité chez 59 patients traités par 2 cycles de chimiothérapie à base de BEP pour TGNS de stade I. Dans notre base, les 10 patients avec TGNS de stade I traités par 2 cures de BEP ont tous récupéré leur spermatogenèse initiale plus de 24 mois après la fin de la chimiothérapie ; certains ont même vu la qualité de leur production s'améliorer. Au moment des auto-conservations, 3 avaient une production quantitativement normale,

3 étaient oligospermes modérés et 4 sévères. Plus de 2 ans après, 8 patients ont plus de 20 millions de spermatozoïdes par mL, et 2 patients seulement sont restés oligospermes sévères. Nos résultats sont donc superposables à ceux de Böhlen et al.

En ce qui concerne la radiothérapie, Fossa et al. [216] observent chez des patients sans altération de la spermatogenèse avant traitement, une azo-oligospermie dans les 6 à 12 mois après la radiothérapie, puis une récupération progressive. Nous faisons le même constat dans notre population « radiothérapie contrôle ».

Une équipe suédoise s'est intéressée à l'impact des traitements anti-cancéreux sur la spermatogenèse de patients traités pour tumeur germinale testiculaire. Les groupes étudiés ont été constitués en fonction du type de traitement reçu et en fonction du nombre de cure : par exemple, dans le groupe chimiothérapie (1 à 2 cures), on retrouve des patients qui ont suivi un protocole BEP, ou EB, ou CVB. Le découpage de la population de cette étude n'est donc pas tout à fait comparable au nôtre. Bien qu'une comparaison soit impossible, nous pouvons quand même accoler nos résultats aux leurs. Il apparaît clairement une reprise de la spermatogenèse dans le temps, avec une chute progressive du pourcentage d'oligo-azoospermes. Les résultats exposés par Stahl et al. ne détaillent pas précisément l'aspect quantitatif de la spermatogenèse, car le sujet central de l'étude était l'impact des traitements cytotoxiques sur l'intégrité de l'ADN des spermatozoïdes.

Temps (mois)	Chimiothérapie (1 à 2 cures)						Chimiothérapie (plus de 3 cures)						Radiothérapie					
	Olof Ståhl			Nous			Olof Ståhl			Nous			Olof Ståhl			Nous		
	T <sub>6</sub>	T <sub>12-24</sub>	T <sub>36-60</sub>	T <sub>6</sub>	T <sub>12-24</sub>	T <sub>&gt;24</sub>	T <sub>6</sub>	T <sub>12-24</sub>	T <sub>36-60</sub>	T <sub>6</sub>	T <sub>12-24</sub>	T <sub>&gt;24</sub>	T <sub>6</sub>	T <sub>12-24</sub>	T <sub>36-60</sub>	T <sub>6</sub>	T <sub>12-24</sub>	T <sub>&gt;24</sub>
%	75	30	25	100	70	34	-	89	44	100	71	58	100	80	30	70	48	55
N	12	20	12	4	28	11	0	9	9	4	10	7	4	10	10	7	11	10

Tableau 73 – Pourcentage d'oligo-azoospermes (concentration < 20 millions de spermatozoïdes par éjaculat) recensés dans l'étude de Olof Ståhl [217] et dans notre travail

### 2.3.3.2. ANALYSE DESCRIPTIVE DES NOS RESULTATS :

#### AMELIORATION DE CERTAINS SPERMOGRAMMES APRES TRAITEMENT :

Après traitement, nous avons mis en évidence chez certains patients, non seulement une récupération de la spermatogenèse, mais encore mieux une augmentation non négligeable du nombre total de spermatozoïdes dans l'éjaculat. Dans notre population « radiothérapie contrôle », plus de 12 mois après la fin du traitement, nous retrouvons dans le spermogramme de contrôle de 8 patients, plus de 20 millions de spermatozoïdes par mL. Deux patients<sup>31</sup> étaient oligospermes

<sup>31</sup> Un patient irradié par 24,4 Gy pour séminome testiculaire droit de stade I : aucun facteur de risque pour la fertilité retenu, mais β hCG élevé au diagnostic. L'autre patient a reçu 26 Gy pour TGNS

sévères avant la radiothérapie, et les 6 autres oligospermes modérés (l'un d'entre eux avait un antécédent de cryptorchidie sur le testicule orchidectomisé). L'un d'entre eux oligosperme sévère au moment du diagnostic est devenu oligosperme modéré après une irradiation de 25 Gy pour séminome testiculaire pT2N0M0S0.

Dans la population « BEP contrôle », ce sont 9 patients qui ont récupéré une numération normale plus d'un an après la dernière cure : 3 oligospermes sévères et 6 oligospermes modérés avant la chimiothérapie. De la même manière, nous avons constaté une amélioration de la numération chez 5 autres patients : 4 oligospermes sévères et un patient azoosperme avant la chimiothérapie sont devenus respectivement après traitement, oligospermes modérés et oligosperme sévère.

D'autres publications avant nous, avaient déjà relaté une mauvaise spermatogenèse au moment des autoconservations, chez des patients cancéreux. Le processus tumoral explique peut-être la mauvaise qualité des éjaculats recueillis au moment des auto-conservations : inflammation locale ? sécrétion hormonale tumorale ?

#### *DEGRADATION DE CERTAINS SPERMOGRAMMES APRES TRAITEMENT :*

A l'inverse, chez certains hommes une altération de la spermatogenèse est visible après traitement anti-cancéreux. Dans la population « radiothérapie contrôle », nous avons identifié 10 patients dont la spermatogenèse s'est fortement dégradée à la suite de l'irradiation. Plus de 12 mois après la dernière séance, nous dénombrons 5 hommes azoospermes (3 oligospermes sévères au moment des auto-conservations, et 2 oligospermes modérés), 2 oligospermes sévères (tous oligospermes modérés avant de débiter la radiothérapie), et 3 oligospermes modérés qui avaient initialement une numération normale. Les patients devenus azoospermes ont reçu une dose totale de 24,4 Gy (3 patients) et 27 Gy (2 patients), et aucun n'a subi de curage ganglionnaire associé.

Dans la population « BEP contrôle », plus d'un an après la dernière cure de chimiothérapie, nous ne recensons que 6 patients dont la numération apparaît nettement moins bonne comparée aux valeurs obtenues à l'occasion des auto-conservations :

- 2 patients avaient initialement plus de 20 millions de spermatozoïdes par mL, et étaient oligospermes modérés un an plus tard. Ils avaient été traités pour un TGNS de stade II par 2 et 3 BEP.
- 3 oligospermes modérés à T<sub>0</sub> étaient oligospermes sévères plus de 12 mois après. Deux avaient reçu 3 BEP pour TGNS de stade I et de II, et le troisième 4 BEP.
- et un dernier patient oligosperme modéré au moment du diagnostic était azoosperme 26 mois après 3 cures de BEP et un curage ganglionnaire associé.

---

composée avec contingent séminomateux majoritaire sur le testis gauche ; il n'avait aucun facteur de risque.

Il est possible que chez ces patients, la récupération de la spermatogenèse prenne un peu plus de temps ; dans le cas de la radiothérapie, sur les 5 patients azoospermes, 3 sont venus faire leur dernier spermogramme de contrôle au cours de la deuxième année suivant la rémission. Un contrôle un an plus tard, aurait peut-être pu objectiver une reprise de la production des spermatozoïdes. Il est en effet admis, que la récupération de la spermatogenèse se manifeste entre la seconde et la quatrième année post chimiothérapie conventionnelle [218].

Ces résultats bien que purement descriptifs en raison de notre petit effectif, semblent souligner une toxicité importante de la radiothérapie chez certains patients. Il aurait été intéressant de connaître les modalités d'irradiation des hommes dont la spermatogenèse s'est dégradée. Le radiothérapeute a-t-il eu recours à un cache protecteur sur le testicule controlatéral ? Quel matériel a été utilisé ? Quel schéma d'irradiation a été appliqué ? L'analyse de tous ces paramètres pourrait peut-être permettre d'expliquer cela, mais elle nécessiterait une étude spécifique et multifactorielle menée par des spécialistes de la radiothérapie.

La récupération de la spermatogenèse semble donc différente suivant les individus. Des résultats similaires ont été présentés par Pectasides et al. [169] : cette équipe a suivi 69 hommes traités pour séminome ou TGNS suivant le protocole BEC<sub>90</sub> (tableaux 74 et 75). Les auteurs n'ont mis en évidence aucune corrélation entre la qualité de la récupération et l'âge des patients, et le nombre de cures (2 et 4 cures dans l'étude). En revanche, il souligne une association étroite entre la qualité de la spermatogenèse avant et de la spermatogenèse après ( $p < 0,0001$ ). Dans cette publication, il est notamment question d'un patient ayant récupéré tardivement une spermatogenèse : il était azoosperme 18 mois après le traitement, et sa concentration spermatique était de 18,6 millions de spermatozoïdes 16 mois plus tard. Une récupération tardive semble donc toujours envisageable. Il est dommage que les auteurs n'aient pas précisé pas l'état de la spermatogenèse avant le traitement, le dosage éventuel d'hormones avant chimiothérapie, la nature histologique de la tumeur...

Avant traitement	Total	Après chimiothérapie					
		Azoospermie		Oligospermie		Normospermie	
		n	%	n	%	n	%
Azoospermie	3 (12%)	2	67	1	33	0	0
Oligospermie	8 (32%)	0	0	5	63	3	37
Normospermie	14 (56%)	0	0	1	7	13	93
Total	25	2	8	7	28	16	64

Tableau 74 – Patients suivis pour séminome de stade I et IM

Avant traitement	Total	Après chimiothérapie					
		Azoospermie		Oligospermie		Normospermie	
		n	%	n	%	n	%
Azoospermie	5 (11%)	3	60	1	20	1	20
Oligospermie	15 (34%)	1	7	9	60	5	33
Normospermie	24 (55%)	1	4	3	13	20	83
<b>Total</b>	<b>44</b>	<b>5</b>	<b>11</b>	<b>13</b>	<b>30</b>	<b>26</b>	<b>59</b>

Tableau 75 – Patients suivis pour TGNS

De la même manière, les biopsies testiculaires réalisées par Rowley chez un homme « sain » ont mis en évidence une reprise non uniforme de la spermatogenèse après irradiation. Dans certains tubules, Rowley trouvait des spermatogonies et des spermatozoïdes, alors que dans un tubule adjacent, la déplétion cellulaire était totale. Cette observation l'amena à conclure, que la récupération se faisait de manière aléatoire, et qu'elle était imprévisible [202].

L'intensité et la durée de l'altération de la spermatogenèse seraient fonction du nombre de spermatogonies A détruites [219]. Pour Aass et al., le défaut de spermatogenèse 3 ans après la fin du traitement cytotoxique, serait plus lié aux paramètres spermatiques avant l'induction du traitement, qu'au type de drogues administrées [220]. Pourtant, nous avons observé dans cette étude, une amélioration de la qualité du sperme dans une proportion non négligeable de notre effectif (8 patients dans le groupe radiothérapie contrôle et 9 dans le groupe BEP contrôle, soit 18 % de l'ensemble des 98 patients venus réaliser des spermogrammes de contrôle). Toujours selon ces auteurs, le type de chimiothérapie (renfermant du cisplatine) ne modulerait l'atteinte de la production spermatique que si les patients reçoivent plus de 4 cures. Nous n'avons pu vérifier cette affirmation, puisque nous n'avons inclus dans notre base, que des patients traités par BEP (pas de protocole PVB). De plus aucun patient n'a été traité par plus de 4 cycles de BEP.

## CONCLUSION

Si l'on se réfère à la répartition des deux populations en fonction de la concentration spermatique, des différences notables apparaissent : avant traitement, 29 % des patients porteurs d'un TGNS ont plus de 20 millions de spermatozoïdes par mL, contre 60 % pour les patients avec séminome testiculaire. Plus de 2 ans après la fin du traitement, le pourcentage de patients traités par BEP pour TGNS avec une concentration spermatique normale est largement supérieur à 29 % (60 % !). A l'inverse, dans la population séminomateuse traitée par radiothérapie, le pourcentage d'hommes avec plus de 20 millions de spermatozoïdes par mL, s'est étioilé : de 60 %, on est passé à 45 %.

Cependant, le tableau récapitulatif (page 130) est trompeur. Il est important de rappeler que ce ne sont pas les mêmes patients qui sont venus faire les spermogrammes de contrôle à des temps différents. Plus de deux ans après la fin du



traitement, l'effectif « BEP contrôle » était composé de 22 patients, et seuls 27 %<sup>32</sup> avaient une concentration normale à T<sub>0</sub>. L'augmentation du nombre de patients avec une concentration normale, 24 mois plus tard est donc réelle dans ce groupe. Pour la radiothérapie, ce n'est pas tout à fait le cas. Plus de 24 mois après la fin de l'irradiation, sur les 18 patients venus faire un contrôle, 45 %<sup>33</sup> avaient une concentration spermatique normale à T<sub>0</sub> et à T<sub>sup 24</sub>. Vue sous cet angle, la radiothérapie n'aurait aucun effet délétère sur la spermatogenèse : d'un point de vue quantitatif, la production apparaît inchangée.

A la lecture des résultats, il semble qu'un patient traité par BEP pour TGNS ait bon espoir de voir s'améliorer à distance du traitement, ses paramètres spermatiques. Dans le cas de patients traités par radiothérapie pour séminome, nous pouvons envisager une récupération de la spermatogenèse, mais une amélioration quantitative importante est moins probable.

Ce travail nous a surtout permis de mettre en évidence l'extrême hétérogénéité des patients porteurs de cancer germinal testiculaire, quant à la production spermatique. Comme décrit précédemment dans d'autres études, nous avons retrouvé dans cette population, une altération sous-jacente de la spermatogenèse avant tout traitement. La comparaison des spermogrammes réalisés au moment des autoconservations, par les patients atteints par un séminome ou par un TGNS, ne nous a pas permis de mettre en évidence de différence significative en ce qui concerne la qualité du sperme. La nature de la tumeur (séminomateuse ou non-séminomateuse) ne semble pas constituer par elle-même, un risque de dysfonctionnement testiculaire majeur. Il nous semble cependant, qu'un homme atteint par un TGNS est plus de chance d'être oligosperme modéré que normosperme.

L'analyse des spermogrammes de contrôle réalisés à distance de la fin du traitement par 98 patients suivis pour cancer germinal testiculaire, nous a permis de constater une chute précoce de la production spermatique après chimiothérapie (BEP). Alors que l'azoospermie ou l'oligospermie sévères secondaires se manifestent dans les 6 mois suivant les cures de BEP, l'altération de la spermatogenèse post-irradiation ne survient que 6 à 12 mois après la fin du traitement. Ceci pourrait s'expliquer par une différence de sensibilité des types de cellules germinales aux deux traitements. Les spermatozoïdes pourraient être les premières cellules détruites par la chimiothérapie de type BEP : la chute de la production serait ainsi précoce. Les cellules souches germinales seraient en revanche plus résistantes, ce qui expliquerait une bonne récupération des patients traités. Une expérimentation animale va dans ce sens. En basant son étude sur la technique TUNEL, Seaman et al. [221] rapporte chez des souris exposées à du cisplatine, une augmentation de l'apoptose des cellules germinales dès les premiers jours post injection conduisant à une chute du nombre de spermatozoïdes produits. Pour cette équipe, ceci s'explique par une forte sensibilité des spermatocytes de souris, à l'apoptose induite par le cisplatine. Si les spermatogonies avaient été les plus sensibles, cet effet secondaire

---

<sup>32</sup> A T<sub>0</sub>, ce taux était de 29 % si on considère l'ensemble des patients traités par BEP venus faire un contrôle.

<sup>33</sup> A T<sub>0</sub>, le pourcentage de patients avec numération normale était de 60 % si on considère l'ensemble des patients irradiés inclus dans le groupe radiothérapie contrôle.

se serait manifesté plus tardivement. Cette chute de la production perdure au delà de 12 jours : ce serait la preuve d'une altération durable de l'épithélium séminifère.

La radiothérapie aurait pour sa part, un effet retardé sur la spermatogenèse : elle pourrait altérer le stock de spermatogonies, et entraîner un dysfonctionnement testiculaire à long terme. De ce fait, la diminution de la production des spermatozoïdes se manifesterait plus tard, et la reprise pourrait ne pas être totale. Cette conclusion va dans le sens d'une étude menée par Huyghe et al. [222] en 2004 sur la fertilité de 451 patients traités pour cancer germinale testiculaire entre 1979 et 1999. En se basant sur le nombre de grossesses menées à terme avant ou après le traitement cytotoxique, il affirme que la radiothérapie a un effet plus délétère sur la fertilité que la chimiothérapie (BEP, EP, ou cisplatine + vinblastine + prednisolone) : le ratio de fécondité (CI 95 %) est de 1,00 pour les patients traités par chimiothérapie et de 0,35 pour les patients irradiés.

De plus, si l'on se réfère aux conclusions des spermogrammes, au moment des auto-conservations, 2 % de l'effectif étaient azoosperme dans la population « radiothérapie contrôle », et 5 % dans la population « BEP contrôle ». Plus de 2 ans après la fin du traitement, nous dénombrons une population azoosperme beaucoup plus importante après la radiothérapie (11 %) qu'après chimiothérapie (5%). Un bilan d'azoospermie (dosage de la testostérone, LH, FSH, des marqueurs du plasma séminal...) pourrait nous orienter sur la nature de cette azoospermie.

Il semble cependant difficile, à la vue de cette étude, de prédire dans chaque groupe, de la qualité de la récupération de la spermatogenèse : que ce soit après chimiothérapie ou après radiothérapie, certains patients récupèrent et d'autres voient leur production spermatique s'altérer.

Dans ce travail, nous ne nous sommes intéressés qu'aux paramètres spermatiques, et nous avons totalement occulté le versant endocrinien. Les concentrations de LH et FSH sont un reflet indirect de la physiologie de l'épithélium germinale, et de l'état fonctionnel des cellules de Leydig. Avant traitement, des taux élevés de LH et FSH sont rapportés chez certains hommes avec tumeur germinale testiculaire par Pectasides D. : 17 % de la population (69 patients) avaient une LH élevée et 14 % une FSH augmentée [169]. Après chimiothérapie, les concentrations de ces 2 hormones ont tendance à se normaliser dans la grande majorité des cas, parallèlement à la récupération de la spermatogenèse [169, 223]. Il aurait été intéressant d'analyser les valeurs de la LH, de la FSH et de la testostérone chez les patients qui ont vu leur spermatogenèse se dégrader après traitement. Ces dosages n'ayant pas été prescrits, nous n'avons pu aborder cette question.

Un bilan d'azoospermie (dosage de la testostérone, LH, FSH, des marqueurs du plasma séminal...) pourrait nous renseigner sur la nature de cette azoospermie.

### 3. AUTRES ANALYSES À DEVELOPPER POUR MIEUX APPRECIER LA GONADOTOXICITE DES TRAITEMENTS ANTI-CANCEREUX :

Dans ce travail, l'étude de la spermatogenèse s'est centrée sur l'analyse des paramètres spermatiques grâce à l'étude du spermogramme. La concentration spermatique, la numération totale des spermatozoïdes dans l'éjaculat, la mobilité et la vitalité sont les variables principales que nous avons retenues. Pour de nombreux auteurs, la mobilité et la concentration sont de très bons facteurs pronostiques de la fertilité in vivo et in vitro [224]. Cependant, ces deux facteurs ne reflètent pas à eux seuls, la qualité de la spermatogenèse d'un individu.

Une étude complète de la spermatogenèse nécessite d'aborder l'aspect quantitatif et l'aspect qualitatif de la production des spermatozoïdes. Le spermogramme ne permet d'apprécier que le versant quantitatif, et d'effleurer l'aspect qualitatif : par exemple, une mobilité normale est reflet d'un développement correct de l'axonème des spermatozoïdes dans le testicule, d'une maturation normale dans l'épididyme, et d'une composition normale du liquide séminal [225]. De plus, le spermogramme seul ne prédit en rien de la fertilité du patient. Pour analyser la spermatogenèse au mieux, il est donc important de s'attacher à son aspect qualitatif. L'analyse de paramètres spermatiques supplémentaires est donc nécessaire.

#### 3.1. LE SPERMOCYTOGRAMME :

Le spermocytogramme qui permet l'observation morphologique des spermatozoïdes constitue une première approche grossière de l'aspect qualitatif de la spermatogenèse. Plusieurs études accordent à ce test une place importante dans l'évaluation de la qualité des spermatozoïdes : un pourcentage correct de formes normales serait un marqueur de bon pronostic pour le potentiel fertilisant in vivo et in vitro [226].

Initialement, nous espérions pouvoir utiliser dans ce travail les spermocytogrammes des patients inclus dans la base de données, mais nous avons rencontré deux problèmes. Tout d'abord, le spermocytogramme est une analyse non automatisée qui nécessite l'œil de la technicienne ou du biologiste : tous les spermocytogrammes n'ont pas été lus par la même personne, et même si à première vue, il ne semble pas exister beaucoup de différence de lecture entre deux techniciennes du laboratoire, idéalement, il aurait fallu reprendre chaque lame et la refaire lire par une seule et même personne. Ensuite, il semblerait que l'œil des examinateurs se soit affiné avec les années : les IAM (indice d'anomalies multiples), qui témoignent du nombre moyen d'anomalies par cellule est bien plus faible en 1997 qu'en 2004. Est-ce le fait d'une diminution de la qualité des spermatozoïdes avec les ans, ou le fait d'un aguerrissement de l'œil des examinateurs. Là encore, il aurait fallu reprendre chaque lame et les faire relire par une seule et même personne. Or certaines lames ont mal vieilli, et leur relecture a été impossible. Nous avons donc exclu ce paramètre de notre étude.

### 3.2. ETUDES DE L'IMPACT DES TRAITEMENTS CYTOTOXIQUES SUR L'ENVIRONNEMENT TESTICULAIRE :

Pour étudier réellement et précisément, l'impact des traitements anti-cancéreux sur la spermatogenèse, il faut considérer l'ensemble des cellules impliquées dans la production des spermatozoïdes : les cellules germinales, mais aussi les cellules de Sertoli, les cellules de Leydig et l'ensemble des cellules présentes dans les testicules (cellules des parois vasculaires, cellules myoïdes...). La production des spermatozoïdes étant un processus extrêmement complexe et coordonné, un effet nocif du traitement sur une des nombreuses cellules constituant le testicule aura forcément une conséquence sur la qualité de la spermatogenèse.

#### 3.2.1. EFFET DE LA CHIMIOThERAPIE :

Les cellules de Sertoli sont essentielles au bon déroulement de la spermatogenèse. Elles « nourrissent » les cellules germinales et synchronisent leur développement. Leur nombre détermine la quantité de spermatozoïdes susceptibles d'être produits. Ces cellules ne se divisant plus après la puberté, elles semblent donc moins sensibles aux traitements anticancéreux qui agissent surtout sur les cellules à index mitotique élevé. Ce qui semble être un avantage, peut aussi être un inconvénient : si elles sont détruites, elles ne seront pas remplacées ! Le cisplatine dont le mécanisme d'action n'est pas clairement connu, pourrait ainsi provoquer une entrée en apoptose des cellules de Sertoli. Il pourrait aussi agir sur le métabolisme de ces dernières, en inhibant le fonctionnement de certaines enzymes composées de groupements thiols. L'élimination de ce principe actif semblant particulièrement longue (Gietema et al. a dosé du cisplatine circulant plus de 10 ans après la fin de la chimiothérapie chez certains patients) [78]. Son action toxique pourrait donc être durable. Une étude menée par Lee et al. [227], a permis de mettre en évidence un dysfonctionnement des cellules de Sertoli après exposition à des phtalates. L'altération du fonctionnement de ces cellules se traduit par diminution du nombre de cellules germinales par apoptose (les spermatocytes semblent plus touchés que les spermatogonies).

Céline Fiorini [228] a étudié *in vitro*, l'effet de produits toxiques pour la reproduction, dont le cisplatine. Elle a pour cela eu recours à une lignée de cellules de Sertoli (SerW3) très proches des cellules de Sertoli natives. Elle les a exposées à des concentrations de cisplatine non-cytotoxiques (10 à 100 fois plus faibles que la  $EC_{50}$ <sup>34</sup>). Elle a ainsi mis en évidence une modification des communications inter-Sertoli : diminution de l'expression des 3 isoformes de Cx43<sup>35</sup>, délocalisation de protéines membranaires (ZO-1<sup>36</sup> et N-cadhérine<sup>37</sup>) dans le compartiment intracellulaire. Le cisplatine, sans être directement toxique pour les cellules de Sertoli, pourrait donc être responsable de dommages membranaires, ou de modification de l'assemblage des tubulines, en augmentant la stabilité des microtubules (même mécanisme d'action que le taxol) [229]. Cette perte de contact entre cellules (entre cellules de Sertoli voisines et cellules de Sertoli/cellules germinales) pourrait contribuer à une perte de régulation de la spermatogenèse. L'action du cisplatine sur

<sup>34</sup> Concentration responsable de la mort de la moitié des cellules exposées au produit étudié.

<sup>35</sup> Les connexines sont des protéines qui composent les « gap jonction ».

<sup>36</sup> ZO-1 est une protéine constitutive des « tight junctions »

<sup>37</sup> Les N-cadhérines forment des jonctions adhérentes entre les cellules de Sertoli.

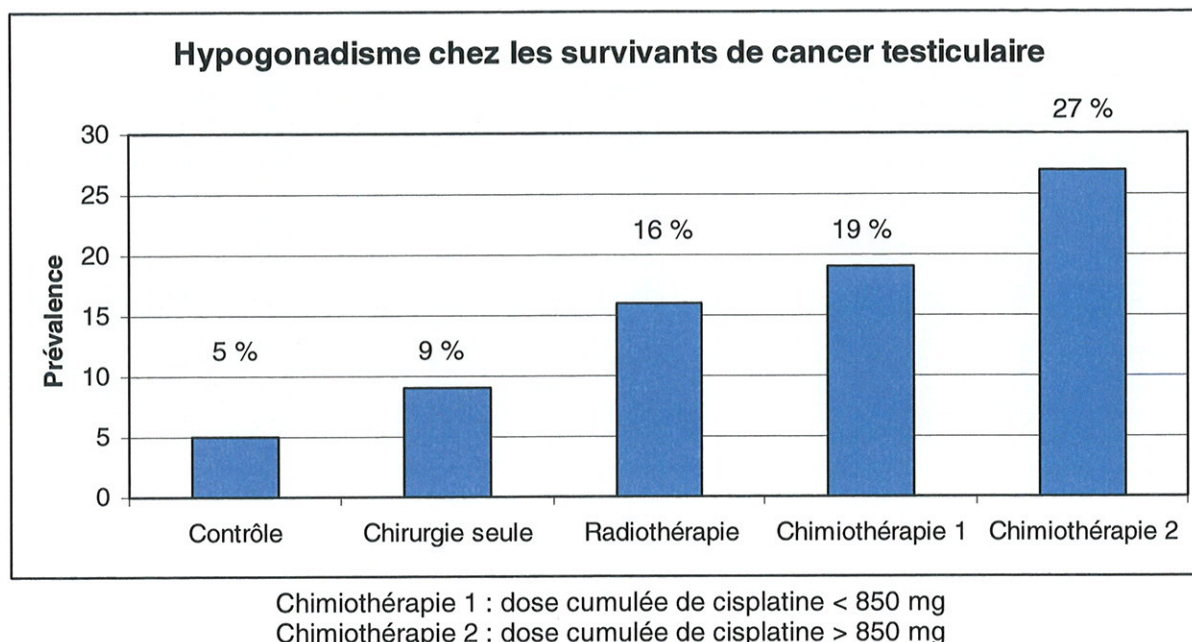
la barrière hémato-testiculaire se manifeste très tôt après l'injection intra-péritonéale (2 mg/kg/ jour pendant 5 jours) chez les rats (dans les 24 heures), et perdure pendant au moins 40 jours [230].

Autre rôle important des cellules germinales, et plus spécialement des spermatides âgées, un rôle de régulation paracrine des cellules de Sertoli. Ces spermatides stimuleraient la production d'ABP, d'inhibines, de fluide tubulaire, de transferrine et de récepteurs à la FSH par les cellules de Sertoli. De plus, elles diminueraient leur production de testostérone et les rendraient moins sensibles à FSH [231]. L'action nocive des traitements sur les cellules germinales a aussi des conséquences négatives sur les cellules voisines et déstabilise l'équilibre fragile de la spermatogenèse.

De la même manière, la régulation de la production de testostérone par les cellules de Leydig, semble être modulée en outre par la LH, mais aussi par un ensemble de facteurs paracrines sécrétés par les cellules de Sertoli et par les cellules germinales. La destruction des cellules germinales par les cytotoxiques provoque donc une rupture de l'homéostasie testiculaire.

Les cellules péri-tubulaires (ou cellules myoïdes) jouent un rôle déterminant dans le fonctionnement des cellules de Sertoli puisqu'elles sécrètent la protéine P-Mod-S après fixation de la testostérone sur des récepteurs spécifiques. Elles sont un intermédiaire indispensable entre les cellules de Leydig et les cellules de Sertoli : elles assurent ainsi un contrôle paracrine de ces dernières. Si les traitements anticancéreux ont une action délétère sur ce type de cellules, la spermatogenèse en pâtira de manière indirecte.

Dans le cas des cellules de Leydig, Bartlett et al [232] ont démontré l'effet nocif d'agent alkylant sur les cellules de Leydig de rats. L'exposition à l'agent cytotoxique provoque une diminution rapide de la concentration en testostérone, et la perte de cellules germinales. De la même manière, Maines M.D. [233] en injectant à des rats adultes du cisplatine par voie IV, a observé une diminution des concentrations sériques et intra-testiculaires de la testostérone dans les 7 jours suivant l'injection. Cette diminution hormonale ne s'accompagnait pas d'une élévation de LH et FSH. Le cisplatine pourrait agir en diminuant le nombre de récepteurs à la LH, et en inhibant certaines enzymes. Bien qu'il ne s'agisse que d'études animales, on ne peut exclure cependant, un effet toxique de ces principes actifs sur les cellules de Leydig humaines. L'étude de Nord et al [234] fait clairement apparaître un impact des traitements cytotoxiques sur la fonction gonadique (graphe 9) : à distance d'une chimiothérapie cytotoxique, un dysfonctionnement à long terme des cellules de Leydig conduit certains patients à un état d'hypogonadisme. Pour les auteurs, une diminution de la production de testostérone serait souvent compensée par une augmentation de la sécrétion de LH : la testostéronémie resterait ainsi chez de nombreux patients sub-normale.



Graph 9 – Pourcentage de patients traités pour un cancer testiculaire, présentant un hypogonadisme (moyenne de suivi 11 ans)

Plusieurs équipes ont étudié l'effet des traitements cytotoxiques sur la fonction gonadique, mais leurs résultats sont souvent contradictoires : certaines retrouvent une modification de la sécrétion hypophysaire, d'autres non (tableau 76). Pour des doses cumulées de cisplatine inférieures à 400 mg/m<sup>2</sup>, la chimiothérapie n'augmente pas de manière significative la concentration de FSH et LH. Au-delà de cette dose, le traitement cytotoxique pourrait avoir des conséquences négatives sur la fonction endocrine testiculaire.

Etude	Protocole	FSH	LH
Pont et al [235]	2 BEP	NS	NS
Aass et al [220]	3 à 4 BEP ou PVB	NS	NS
Nijman et al [176]	4 PVB	NS	NS
Aass et al [220]	> 4 PVB	Significatif	NS
Hansen et al [236]	6 PVB	Significatif	Significatif

Tableau 76 – Comparaison des valeurs de FSH et LH chez des patients traités par chimiothérapie ou par chirurgie seule, plus de 2 ans après la fin du traitement [237].

### 3.2.2. EFFETS DE LA RADIOTHERAPIE :

De la même manière que la chimiothérapie n'agit pas uniquement sur les cellules germinales, la radiothérapie pourrait modifier le fonctionnement du testicule controlatéral dans son ensemble. Les radicaux oxygénés générés par l'irradiation pourraient eux aussi endommager les cellules de Sertoli et entraîner leur apoptose. Les cellules de Sertoli jouant le rôle de « chef d'orchestre » de la spermatogenèse, il

serait intéressant de doser l'inhibine B pour évaluer et effleurer en partie seulement les effets des radiothérapies sur leur fonctionnement.

Plusieurs publications ont souligné une souffrance des cellules de Leydig après les irradiations. Pour Brauner et al. [238] et Shalet et al. [239], ces cellules seraient plus sensibles aux radiations en période pré- et péri-pubère : pendant cette phase, les cellules de Leydig se multiplient activement, alors qu'après la puberté, le nombre de mitoses diminue considérablement. En réalisant une revue de la littérature sur l'ensemble des papiers traitant des cellules de Leydig et des rayonnements, Izard M.A. [240] a mis en évidence de nombreuses contradictions entre les différentes équipes : pour Kinsella T.J. [241] et Sklar C.A. [242], des doses de 0,1 à 6 Gy, n'ont aucune conséquence sur le fonctionnement des cellules de Leydig. A l'inverse, Shapiro E. [243] affirme que l'on observe dès 0,2 Gy, une modification des concentrations hormonales.

Les cellules de Leydig sont radiosensibles. Chez le rat, après destruction de ces cellules par de l'EDS (Ethylène Diméthane Sulfonate), les cellules de Leydig repeuplent les espaces interstitiels en présence de LH ou hCG [244]. Leur morphologie et leur fonctionnement sont très liés à leur environnement, notamment au stade du cycle de l'épithélium séminifère voisin. La destruction ou l'altération des cellules germinales provoque ainsi des modifications structurelles et fonctionnelles des cellules de Leydig [245].

Il apparaît que 50 % environ des hommes qui reçoivent 14 Gy en doses fractionnées sur les testicules, continuent à avoir un taux de LH normal. Ce n'est que pour des doses supérieures à 33 Gy que le taux de testostérone diminue chez la moitié des patients. Pour appuyer ces affirmations, Izard M.A. [240] conclut en précisant qu'une étude prospective est en cours à l'Hôpital Princess Margaret de Toronto. Nous n'avons pas retrouvé de traces de cette étude dans pubmed.

Il semble cependant que dans le cadre de cancer testiculaire, les cellules de Leydig ne soient pas durablement endommagées par la radiothérapie. Rowley M.J. a décrit des augmentations significatives de LH après irradiation simple de 0,75 Gy [202], et Giwercman A. en s'intéressant à 20 patients orchidectomisés irradiés pour TIN controlatéral (20 Gy répartis sur 10 séances), a observé une augmentation significative du taux de LH plus de 3 ans après le traitement (testostéronémie dans les limites inférieures de la normale) [246]. Ces derniers résultats sont en accord avec ceux de Nord et al. qui font état de taux de LH significativement plus élevés 10 ans après traitement d'un cancer testiculaire (pas de diminution du taux de testostérone) (tableau 77) [234].

	Testostérone (nmol/L)	<i>p</i>	LH (UI/L)	<i>p</i>
Contrôle (n = 200)	17,1	-	3,5	-
Cancer testiculaire (tous) (n = 1183)	16,9	0,635	5,2	< 0,0001
<b>Traitement</b>				
Contrôle	17,1	-	3,5	-
Chirurgie seule	17,6	0,262	4,3	0,006
Radiothérapie	16,8	0,455	4,7	< 0,0001
Chimiothérapie 1	16,7	0,438	5,5	< 0,0001
Chimiothérapie 2	16,3	0,236	6,9	< 0,0001

*Radiothérapie : radiothérapie seule*

*Chimiothérapie 1 : dose totale de cisplatine ≤ 850 mg +/- radiothérapie +/- chirurgie*

*Chimiothérapie 2 : dose totale de cisplatine > 850 mg +/- radiothérapie +/- chirurgie*

Tableau 77 – Effet des traitements sur les dosages sériques de LH et de testostérone

Il serait intéressant de considérer l'impact de ces traitements sur les glandes annexes (prostate, vésicules séminales, glandes bulbo-uréthrales) responsables de la production du liquide qui véhicule les spermatozoïdes. Ce milieu est indispensable au bon fonctionnement des spermatozoïdes, et les protège. A l'occasion d'une radiothérapie scrotale, il est certain que la prostate et les vésicules séminales reçoivent un rayonnement partiel. Une dégénération ou une modification structurelle de la prostate pourrait engendrer une diminution du volume de l'éjaculat. Même si nous n'avons pas mis en évidence dans ce travail, de variation significative de ce paramètre après la chimiothérapie et la radiothérapie, nous ne pouvons exclure un impact négatif des traitements sur ces glandes. Pour étudier cette composante, il aurait fallu doser entre autres, les marqueurs du plasma séminal à chaque spermogramme de contrôle, et avant l'induction des traitements. Ceci impose de nouveaux recueils de sperme, car le dosage de ces marqueurs nécessitent un volume minimum de 1 mL : au moment des auto-conservations, il est difficilement envisageable de prélever un tel volume à des fins de recherche.

La vascularisation testiculaire pourrait être étudiée après traitement. Une modification locale du réseau capillaire pourrait altérer la qualité des échanges entre les cellules. Il est connu que la bléomycine est parfois à l'origine d'un syndrome de Raynaud plus ou moins réversible, en raison de lésions de l'endothélium vasculaire. Il est donc tout à fait possible que la bléomycine ait une action dommageable sur l'ensemble du réseau vasculaire des testicules. Van Basten J.P. rapporte un dysfonctionnement érectile associé à un syndrome de Raynaud, chez des patients traités pour cancer testiculaire par une chimiothérapie incluant de la bléomycine. Il envisage une angiopathie des artères du pénis secondaire au traitement [247]. Même si un trouble de l'érection peut avoir d'autres étiologies (séquelles de chirurgie, problème psychologique...) on ne peut écarter cette hypothèse. Si les parois des vaisseaux sanguins étaient réellement altérés, les échanges vasculaires (échanges de chaleur, communications entre les cellules) pourraient être modifiés : la spermatogenèse serait alors indirectement touchée.



### 3.3. ETUDE DE L'EFFET DES TRAITEMENTS ANTI-CANCEREUX SUR LE GENOME DES SPERMATOZOÏDES :

Le spermogramme et le spermocytogramme sont deux analyses du sperme qui ne reflètent que très partiellement la qualité du génome des spermatozoïdes (des anomalies génomiques peuvent se traduire par des anomalies phénotypiques). Une étude spécifique de l'ADN spermatique semble donc utile.

Les effets mutagènes de la radiothérapie et des chimiothérapies sur le génome des spermatozoïdes d'animaux, sont parfaitement connus [248], mais les résultats des études sur les humains sont plus évasifs. Le danger consiste en une mutation dans le génome des cellules germinales et en sa transmission à la descendance. Il est donc important de connaître les effets des traitements anti-cancéreux sur l'intégrité du génome, pour éviter de transmettre aux enfants des patients traités, des mutations suffisamment discrètes pour ne pas interférer avec le processus de fécondation, mais dont les conséquences cliniques pourraient être graves à la naissance. Une étude de Dubrova Y.E. [249] rapporte une augmentation de l'instabilité génétique chez les enfants nés de pères irradiés lors de l'accident de Tchernobyl, mais aucun effet mutagène (absence d'augmentation du taux de malformation, absence d'augmentation du taux de cancers induits). May C.A. [250] a étudié chez 3 patients traités par radiothérapie pour séminome testiculaire, 2 minisatellites identifiés par Dubrova Y.E. comme sièges de mutations spontanées chez les enfants biélorusses. Elle n'a mis en évidence aucune différence significative avant et après traitement, pour la fréquence des mutations de ces microsattellites. Pour expliquer cette absence de concordance entre ces 2 publications, l'auteur rapporte une différence dans les propriétés d'irradiation : durée d'exposition, rythme d'exposition, intensité de la dose fractionnée, exposition externe couplée à une exposition externe dans le cadre de Tchernobyl...

Une irradiation in vitro des spermatozoïdes a été réalisée par de nombreuses équipes. Kamiguchi Y. [251] dans sa revue de la littérature, fait état d'un effet dose-dépendant sur les aberrations chromosomiques observées (coupures de l'ADN plus que échanges de matériel génétique). Malgré ces anomalies génétiques, et même après de très fortes irradiations (4,23 Gy), les spermatozoïdes conservent leur pouvoir de fécondation pour la plupart. Dans une autre étude, Kamiguchi Y. et son équipe [252] ont mis en évidence in vitro, des aberrations chromosomiques après administration de bléomycine : aucun impact sur la mobilité ou la capacité de fécondation des spermatozoïdes étudiés.

Les maladies héréditaires par mutation de l'ADN mitochondrial ne semblent pas concernées par une mutation du génome paternel : ces maladies sont généralement transmises par la mère, car les spermatozoïdes ne renferment que très peu de cytoplasme.

Les effets secondaires des traitements anti-cancéreux semblent surtout porter sur les anomalies chromosomiques :

- modification du nombre de chromosomes (aneuploïdie) par non-disjonction des chromosomes homologues en méiose ou des chromatides sœurs en mitose

- mutations chromosomiques : duplications, inversions, délétions, translocations, ou isochromosomes

Ces anomalies chromosomiques peuvent être à l'origine de fausse-couche, d'infertilité, ou de malformations néo-natales.

### 3.3.1. ETUDE DE L'ANEUPLOÏDIE :

Les effets génétiques des drogues utilisées dans le protocole BEP sont peu connus, mais ils pourraient générer des anomalies numériques chromosomiques. Par exemple, on sait que la Bléomycine non seulement inhibe la croissance d'un champignon (*Aspergillus* diploïde), mais qu'elle inhibe aussi la ségrégation génétique de ses chromosomes : après exposition à de la bléomycine, 100 % des colonies sont aneuploïdes [253]. Chez la souris, des auteurs font état d'une augmentation significative du pourcentage d'oocytes en métaphase II aneuploïdes après injection de cisplatine [254]. De la même manière, après administration d'étoposide, chez la souris, il a été observé une augmentation significative des oocytes en métaphase II hyperploïdes [255].

Dans l'espèce humaine, les différentes études sur l'aneuploïdie sont contradictoires : certains papiers rapportent une augmentation de l'aneuploïdie des autosomes et des gonosomes, d'autres aucune incidence sur le nombre de chromosomes. Le problème récurrent de toutes ces publications réside dans l'effectif : absence d'homogénéité du groupe (les patients sont suivis pour cancer testiculaire, lymphome...), absence d'homogénéité du traitement (différents protocoles utilisés), et nombre de malades réduits.

L'étude des chromosomes spermatiques humains repose historiquement sur la fécondation d'oocytes de hamster par des gamètes humains [256]. Cette technique est maintenant abandonnée au profit de la technique FISH (Fluorescence in situ hybridization), moins coûteuse en temps : elle est basée sur l'utilisation de sondes d'ADN spécifiques de chromosomes. Martin R. [257] a utilisé cette technique pour étudier avant et après chimiothérapie (BEP), les chromosomes de spermatozoïdes de 4 patients traités par chimiothérapie, pour cancer testiculaire. Les fréquences de disomie pour les chromosomes 1, 2, 4, 9, 12, 15, 16, 18, 20, 21, X et Y étaient examinées et comparées aux résultats obtenus dans une population témoin composée de donneurs de sperme. L'auteur n'a mis en évidence aucune différence avant et après traitement (les données épidémiologiques de cette population cancéreuse étaient similaires à ceux de la population contrôle). Les spermés étudiés en post-chimiothérapie avaient été recueillis 2 à 13 ans après la fin du traitement. Ce résultat, même si l'effectif étudié est très petit, révèle une absence de dommages majeurs sur les spermatogonies souches.

Les études animales suggèrent que les cellules germinales les plus sensibles aux mutations sont les cellules en phase de méiose (spermatocytes) et en phase post-méiotique (spermatides et spermatozoïdes) [258]. Pourtant, dans une étude menée sur des hommes, Martin R. [257] rapporte une augmentation de la fréquence des spermatozoïdes 24,XY, et une augmentation de la fréquence de la diploïdie pendant et dans l'année qui suit la chimiothérapie (source non précisée dans le papier) .

En 2004, une équipe française [259] a étudié par FISH les chromosomes de 14 patients traités pour cancer testiculaire (10 séminomes et 4 TGNS) : 4 hommes avaient suivi 3 à 4 courses de BEP, 2 autres avaient été traités par EP, 7 par irradiation (25 à 35 Gy) et 1 par EP associé à une radiothérapie. L'analyse a porté sur des éjaculats recueillis 20 mois à 5 ans après la fin du traitement, et s'est centrée sur l'étude de la fréquence des disomies pour les chromosomes X, Y, XY, 13, 18 et 21. Pour 4 patients, les auteurs rapportent une augmentation de la fréquence de la disomie pour certains chromosomes (différents entre les patients). Dans cette même étude, les chercheurs se sont intéressés à 12 cas de lymphome traités par chimiothérapie et radiothérapie : pour un seul patient, une augmentation significative de la fréquence de disomie a été observée. Au final, en considérant ces 2 populations, l'équipe de recherche a conclu à une absence d'augmentation significative à long terme de l'aneuploïdie.

A l'inverse, une étude réalisée par le groupe de recherche du CECOS Midi-Pyrénées [260] a mis en évidence une augmentation significative de la diploïdie et de la disomie pour les chromosomes 16,18 et XY (rien pour les chromosomes 7, X et Y) chez 5 patients traités par BEP pour tumeur germinale testiculaire. L'analyse des spermatozoïdes par FISH recueillis après traitement (6 à 17 mois de délai), a montré une fréquence d'aneuploïdie 5 fois supérieure à celle observée chez 5 témoins volontaires sains et fertiles. Pour information, les paramètres spermatiques avant et après chimiothérapie étaient sensiblement les mêmes pour 4 des 5 hommes.

Aucune corrélation ne semble exister entre le taux d'aneuploïdie et des paramètres spermatiques anormaux. Le spermogramme et le spermocytogramme n'apportent donc pas une information complète sur la qualité des spermatozoïdes, et il est important d'avoir recours à des techniques plus récentes et plus spécifiques pour étudier l'impact des traitements sur la spermatogenèse.

### 3.3.2. LES MUTATIONS CHROMOSOMIQUES :

Elles pourraient expliquer l'effet leucémogène de l'étoposide, puisque des anomalies génétiques récurrentes ont été identifiées après l'utilisation de cette drogue : il s'agit majoritairement de phénomènes de translocation, tels que t(11q23), t(8 ;21), t(15 ;17)... Il faut là encore être très prudent, car la susceptibilité des cellules somatiques et des cellules germinales aux agents mutagènes est parfois très différentes. Le phénomène de translocation peut donc ne pas avoir lieu dans le noyau des spermatozoïdes.

### 3.3.3. EFFETS DES TRAITEMENTS ANTI-CANCEREUX SUR LA STRUCTURE NUCLEAIRE DES SPERMATOZOÏDES :

L'organisation nucléaire joue un rôle important dans la phase de fécondation et dans les premières étapes du développement de l'embryon. Même si des anomalies de la chromatine sont fréquemment identifiées chez des hommes présentant une production de spermatozoïdes anormale, on estime que 8 % des hommes avec des paramètres spermatiques corrects, ont aussi des altérations nucléaires. De nouvelles

techniques, telles que SCSA, TUNEL et COMET assay permettent d'étudier l'intégrité de l'ADN des spermatozoïdes. Leur utilisation pourrait nous aider à élucider l'impact réel des traitements anti-cancéreux sur la spermatogenèse.

#### *LA TECHNIQUE SCSA (Sperm Chromatin Structure Assay) :*

La technique SCSA développée par Evenson est basée sur la sensibilité de la chromatine à des détergents acides. Une chromatine avec de nombreuses cassures double-brin sur l'ADN est particulièrement sensible à ces produits chimiques et se dénature. A l'inverse, une chromatine normale reste stable en présence de ces détergents acides. L'acridine orange s'intercale entre les double-brins d'ADN et se fixe aux acides nucléiques simple-brin. Si l'on excite l'acridine orange avec une lumière de longueur d'onde spécifique, elle fluoresce en rouge si l'ADN est dénaturé ou si l'ADN est simple brin, et en vert si la chromatine est intacte. Cette analyse permet ainsi, après calcul du DFI (fluorescence rouge/ fluorescence (rouge + verte)) d'apprécier l'état de la chromatine. En dehors de l'information qu'apporte le DFI sur les dommages éventuels de la chromatine des spermatozoïdes, un taux élevé de DFI pourrait être associé à un risque accru d'arrêt précoce du développement de l'embryon.

Dans une étude récente basée sur cette technique, Ståhl O. [217] a étudié l'état de dénaturation de la chromatine de spermatozoïdes de patients pris en charge dans le cadre d'un cancer testiculaire germinal. Il a ainsi mis en évidence une augmentation du DFI chez les patients traités pour séminome stade I par radiothérapie (25,2 Gy). Cet effet secondaire apparaît comme transitoire et il semble persister au cours des 3 à 5 années qui suivent l'irradiation : alors que dans une population témoin composée de 278 conscrits suédois, le DFI moyen est de 11 % (1,7-62), 6 mois après la radiothérapie le DFI de 4 patients irradiés égale 18 % (8,0-58), entre 12 et 24 mois post irradiation, le DFI de 10 patients irradiés est encore à 18 % (9,5-39), et entre 36 et 60 mois post radiothérapie, le DFI moyen de 10 patients irradiés est de 13 % (5,4-64). Cette équipe a également étudié des spermatozoïdes de patients traités par chimiothérapie (BEP majoritairement) ou par orchidectomie seule. Il ressort de cette analyse que le DFI des patients en post-chirurgie (c'est à dire avant tout traitement) est identique à celui d'une population générale<sup>38</sup>. Enfin, Ståhl O. met en évidence une différence significative entre le DFI des patients pris en charge par chimiothérapie et ceux traités par radiothérapie. L'irradiation semble avoir l'effet le plus délétère sur l'intégrité de la chromatine. Les résultats de cette équipe reposent sur l'étude d'un petit effectif. Ils méritent d'être confortés par une étude à plus grande échelle : en effet, alors qu'il est conseillé de patienter 2 ans après traitement pour débiter une grossesse, peut-être serait-il plus judicieux d'attendre quelques années de plus, si l'on désire ne pas avoir recours aux paillettes de sperme conservées au moment du diagnostic.

Une étude animale menée sur des souris va dans le même sens : augmentation des dommages génétiques 14 jours après l'irradiation, et un retour à la normale 100 jours après [261].

---

<sup>38</sup> On peut en effet, considérer que la population témoin étudiée ici est un excellent reflet de l'état de la spermatogenèse des jeunes suédois, puisqu'il s'agit de 278 appelés. Il doit nécessairement exister dans cet échantillon des azoospermes, des oligospermes et des normospermes.

### *LA TECHNIQUE TUNEL<sup>39</sup> :*

Cette technique est basée sur l'incorporation de dUTP marqué par un fluorochrome au bout de chaque brin d'ADN coupés. L'intensité de la fluorescence reflète donc directement la densité de dUTP fixés, donc la quantité de coupures de l'ADN par cellule. Le résultat s'exprime en pourcentage de cellules positives, c'est-à-dire fluorescentes (un score supérieur à 10 % est péjoratif). C'est une analyse rapide et facile.

### *LA TECHNIQUE COMET ASSAY :*

Elle consiste en une électrophorèse en gel des spermatozoïdes, après traitement chimique pour libérer les protamines : la migration de l'ADN endommagé, sous l'effet du champ électrique, est fonction de son poids moléculaire. Un sperme normal contient des cellules dont le matériel génétique est de poids moléculaire élevé en raison de la forte compaction de l'ADN. La co-existence dans un éjaculat, de gamètes normaux et anormaux se traduit visuellement par un profil migratoire en forme de comète. La forme et la taille de cette comète sont les deux informations qui seront ensuite analysées. La première utilisation de cette technique remonte à 1989 [262].

Il a été montré qu'une irradiation in vitro des spermatozoïdes générait des dommages de l'ADN dose-dépendants, identifiables par la technique Comet [261] [263]. Cependant, les doses délivrées étaient très largement supérieures à celles habituellement observées dans les protocoles anti-cancéreux. L'analyse des spermatozoïdes d'un patient suivi pour une LLC traité par Fludarabine<sup>40</sup>, rapporte une absence de modification du profil électrophorétique 4 semaines après le début de la cure, et une augmentation des dommages de l'ADN à partir de la 8<sup>e</sup> semaine. Plus de 3 ans après la fin de la chimiothérapie, ce patient présentait encore une grande proportion de spermatozoïdes avec un ADN modifié. Les traitements cytotoxiques pourraient donc être responsables de dommages nucléaires permanents [264]. Cette analyse ne reflète le cas que d'un seul patient traité par monothérapie, par une drogue agissant sur un mode différent de celui de l'étoposide, du cisplatine et de la bléomycine. Nous ne pouvons donc pas en tirer de conclusions, mais nous pouvons souligner l'importance et la nécessité de mener une analyse à grande échelle sur une population cancéreuse traitée par un protocole bien défini.

### *AUTRES TECHNIQUES [265] :*

- Détection des coupures de l'ADN par des sondes marquées (technique du FISH) : la fluorescence mesurée est proportionnelle à la quantité d'ADN simple brin dans le spermatozoïde. Cette technique est en cours d'évaluation pour le sperme humain.
- Utilisation du bleu de toluidine et de l'aniline, deux colorants qui permettent une étude de la structure de la chromatine : ils se fixent sur les histones, des nucléoprotéines normalement absente du noyaux des spermatozoïdes

---

<sup>39</sup> Terminal Deoxynucleotidyl Transferases (TdT) dUTP End Labeling

<sup>40</sup> Fludarabine : analogue des bases purines.

normaux. Les cellules anormales sont colorées en bleu, les normales non. L'intensité de la coloration mesurée grâce à un cytomètre en flux permet d'apprécier l'intensité des dommages chromatinien.

- L'analyse des protamines (déficience en protamine 2, ratio protamine 1/protamine 2) est aussi envisageable. Elle se base actuellement sur l'utilisation de Chromomycine 3, mais cette technique n'en est qu'à ses premiers balbutiements.

Si l'on considère l'ensemble de ces études, il semble important de laisser un délai de 2 ans minimum entre la fin du traitement et le début d'une grossesse éventuelle. Il faut donc insister auprès des patients, sur la nécessité d'une contraception efficace tout au long de ces 2 années. Le risque maximum semble se situer juste après les traitements : les spermatozoïdes matures sont en effets très vulnérables à l'action des produits mutagènes. Ne renfermant que très peu de cytoplasme, ils ne disposent pas de système de réparation de l'ADN suffisant pour réparer les éventuels dommages causés à leur génome.

### 3.4. IMPACT DES TRAITEMENTS SUR LES ANTI-OXYDANTS CELLULAIRES :

Depuis quelques années, les espèces oxygénées réactives (ROS)<sup>41</sup> liées ou non au stress oxydatif, sont considérées comme une des étiologies possibles de l'infertilité masculine et de certains dysfonctionnements spermatiques. Les ROS sont des radicaux libres dérivant du métabolisme de l'oxygène. Physiologiquement, ils jouent un rôle important dans les phénomènes de phagocytose, dans certaines communications cellulaires... Dans les spermatozoïdes, les radicaux libres sont utiles à la capacitation et à la réaction acrosomique, et à des étapes-clé de la fusion membranaire oocyte/spermatozoïde.

Alors que les ROS semblent nécessaires à la capacité de fertilisation des gamètes mâles, ces composés hautement réactifs apparaissent nocifs pour les cellules quand ils sont en grande quantité. Pour se prémunir de ce danger, les cellules renferment des substances anti-oxydantes capables de les capturer. Une partie de ces anti-oxydants provient de notre alimentation : la vitamine C, la vitamine E, le  $\beta$  carotène, les caroténoïdes, les flavonoïdes... Les autres systèmes de protection sont propres à notre organisme : ce sont des substances antioxydantes endogènes (enzymes cellulaires telles que la superoxyde dismutase, la catalase, la glutathion peroxydase), la bilirubine, l'acide urique, les groupements thiols portés par les protéines, le coenzyme Q10...), les chélateurs d'ions métalliques (transferrine, haptoglobine, albumine, céruléoplasmine, métallothionéine, myoglobine), ou encore le sélénium. Les spermatozoïdes sont très sensibles à l'action des ROS car leur cytoplasme ne renferme que très peu de substances anti-oxydantes : ils sont donc incapables de réparer les dommages générés par les radicaux libres.

---

<sup>41</sup> Parmi les espèces oxygénées réactives, nous retrouvons différents radicaux tels que  $H_2O_2$  (peroxyde d'hydrogène),  $OH^\bullet$  (radical hydroxyle),  $O_2^{\bullet-}$  (radical superoxide), ... et des dérivés nitrogénés comme oxide nitreux, peroxydite...

Les ROS en concentration excessive, sont à l'origine de dysfonctionnements physiologiques [266] :

- modification du potentiel fertilisant des spermatozoïdes (perte de la capacité de fusion membranaire avec l'oocyte)
- diminution de la fluidité membranaire par peroxydation des phospholipides de la membrane cytoplasmique : altération de la mobilité, défaut de réaction acrosomique

Les ROS pourraient aussi initier l'entrée en apoptose des spermatozoïdes en activant des caspases cellulaires [267]. Ce phénomène se produirait naturellement dans les spermatozoïdes anormaux, mais en trop grande quantité, les ROS entraîneraient aussi des spermatozoïdes normaux sur la voie de la mort programmée.

Les traitements anti-cancéreux génèrent de nombreux radicaux libres. Weijl, N. I. et son équipe rapportent ainsi une diminution importante des concentrations en antioxydants avec les chimiothérapies à base de cisplatine et de bléomycine [268], sans que l'on ne sache réellement pourquoi leur taux s'effondre dès l'instauration du traitement. Plusieurs hypothèses sont avancées : consommation en réponse au stress oxydatif de la chimiothérapie ? Élimination rénale de ces composés de faible poids moléculaire ?

Il est établi que la plupart des effets secondaires du cisplatine et de la bléomycine sont dus à l'action de radicaux libres oxygénés. Il existe par exemple, un parallèle entre la neurotoxicité du cisplatine et un déficit en vitamine E. Cette hypovitaminose post thérapeutique se traduit notamment par des neuropathies sensorielles périphériques et une atteinte du ganglion de la racine dorsale [269]. Or, c'est dans ce ganglion que se concentre en grande partie le CDDP [98]. Pace et al [270] suppose ainsi que le cisplatine en s'accumulant dans ce ganglion, provoquerait une destruction de la vitamine E et sensibiliserait les cellules ganglionnaires aux attaques radicalaires. La neurotoxicité périphérique du cisplatine ne serait donc qu'une manifestation de l'hypovitaminose E. Cette hypothèse n'est pas encore tout à fait démontrée : en effet, une supplémentation en vitamine E chez des malades cancéreux traités par cisplatine, ne permet pas une diminution de ces effets secondaires neurologiques, juste une diminution de leur intensité [270].

Les traitements anti-cancéreux pourraient donc avoir un impact indirect sur la qualité de la spermatogenèse, via une production excessive de ROS. Les spermatozoïdes humains sont riches en acides gras polyinsaturés, des substances susceptibles d'être altérées par les radicaux libres oxygénés. Les traitements pourraient donc dégrader les membranes des spermatozoïdes et modifier ainsi leurs propriétés physiologiques. Autre hypothèse développée par Saleh R.A. [271] : une augmentation du stress oxydatif séminal corrélée à une augmentation de l'index de fragmentation de l'ADN des spermatozoïdes suite à la libération de nombreux radicaux libres par destruction des cellules.

Dans les états inflammatoires et les infections, on observe une production accrue de radicaux libres par les leucocytes et une augmentation importante de leur concentration. La pathologie cancéreuse pourrait, suite à une inflammation locale, être responsable d'un taux élevé de radicaux libres au moment des auto-

conservations : ceci pourrait expliquer la médiocre qualité de certains éjaculats (diminution de la mobilité, nécrospémie accrue, ou oligospermie secondaire à une augmentation de l'index apoptotique). A l'inverse, la présence des ROS pourrait ne pas être liée à la tumeur, mais elle pourrait expliquer l'apparition des cellules malignes. En effet, certains auteurs envisagent les ROS comme un facteur de risque de survenue de cancer testiculaire [272, 273]. D'où la question : les radicaux libres sont-ils une cause ou une conséquence de l'infertilité masculine ?

Pour étudier correctement cet aspect de la spermatogenèse, on aurait pu étudier avant et après traitement les concentrations des éjaculats en PNN. En pratique, la numération des polynucléaires n'est réalisée que dans les cas d'augmentation du nombre de cellules rondes (concentration supérieure à 1 million / mL, ou concentration  $\geq 10$  % de la concentration spermatique). Cette information n'était donc pas disponible dans tous les dossiers. Nous pourrions nous intéresser aussi à la concentration spermatique des différents ROS ou des différents anti-oxydants. Les dosages des radicaux libres reposent sur des techniques de chimioluminescence couplée à la cytométrie en flux, sur la technique TAC (thiobarbituric acid assay), mais aucune technique n'est retenue comme standard et appliquée en routine pour estimer le stress oxydatif [266].

Il serait aussi intéressant de considérer l'impact des ROS sur les spermatozoïdes. Pour quantifier ces dommages nucléaires oxydatifs, il est possible de mesurer la 8-hydroxydéoxyguanosine (8-OHdG), un biomarqueur considéré comme représentatif de l'agression oxydative de l'ADN. Plus le matériel génétique est dégradé et plus le taux de 8-OHdG est élevé. Kodama H. [274] retrouve une concentration de 8-OHdG significativement plus élevée dans les spermatozoïdes de 19 patients infertiles, que dans les spermatozoïdes de sa population contrôle. Le taux de 8-OHdG serait inversement corrélé à la concentration de l'acide ascorbique (anti-oxydant) contenu dans le liquide séminal [275]. Cet examen est difficilement applicable en routine car il nécessite un appareillage lourd et coûteux (HPLC avec détection électrochimique ou chromatographie gazeuse couplée à un spectromètre de masse).

Pour s'affranchir ou au moins diminuer les effets néfastes des radicaux libres oxygénés, un traitement adjuvant par des substances anti-oxydantes pourrait être proposé. En effet, tout comme la vitamine E pourrait diminuer la neurotoxicité liée à l'administration de cisplatine, les dommages chromosomiques dans les cellules non cancéreuses induits par la bléomycine semblent minimisés si on associe à la chimiothérapie des substances anti-oxydantes [97]. On pourrait donc envisager un traitement anti-oxydant (vitaminothérapie par exemple) en post chimiothérapie et en post radiothérapie : peut-être observerions nous une diminution de la durée de l'azoospermie transitoire.



## 4. COMMENT PRESERVER LA FERTILITE DES PATIENTS TRAITES PAR DES CYTOTOXIQUES :

Pour ces patients jeunes, qui au moment du diagnostic de leur cancer testiculaire, n'ont pas encore fondé leur famille, il est important de tout mettre en œuvre pour leur permettre d'accéder un jour à la paternité. Actuellement, l'autoconservation de sperme est au centre de ces mesures prophylactiques, mais les paillettes de sperme ne constituent pas une source inépuisable de spermatozoïdes et ne permettent pas une conception naturelle. De plus, le recueil de sperme à des fins de cryoconservation est difficilement applicable aux adolescents en âge pré-pubère. Le développement d'autres protocoles de prévention est donc nécessaire.

On peut ainsi moduler les protocoles anti-cancéreux dans le but de minimiser leur génotoxicité, ou agir après traitement en essayant de relancer la spermatogenèse par un traitement hormonal, ou en conservant des cellules souches germinales en vue de transplantations hypothétiques...

### 4.1. PROTECTION DE LA SPERMATOGENESE

Même si un patient possède un stock suffisant de paillettes, les médecins ont tout intérêt à minimiser les effets secondaires des traitements qui non seulement ont un coût pour la société, mais surtout altèrent la qualité de vie des patients. Des mesures simples ont montré leur valeur : par exemple, la protection gonadique.

Pour essayer de préserver au mieux la spermatogenèse dans le testicule controlatéral, l'usage d'un cache testiculaire (coque en plomb par exemple), semble efficace. Pour diminuer d'un facteur 10 la dose testiculaire, une épaisseur de plomb de 3 à 5 cm est nécessaire. Ce dispositif lourd et encombrant est efficace contre le rayonnement diffusé externe qui traverse le scrotum (provenant de la table de traitement par exemple), mais il ne peut empêcher le rayonnement diffusé interne qui atteint les testicules en passant par la racine des bourses [205]. Certains rechignent à utiliser les coquilles plombées car elles risquent de compromettre la géométrie des irradiations, en gênant la reproductibilité du positionnement des patients.

Dans une étude menée par Bieri et al. sur 27 patients porteurs d'un séminome de stade I et sur 2 patients atteints par un séminome de stade II [276], il apparaît que la dose reçue par le testicule sain protégé est plus de 2 fois inférieure à celle mesurée sans protection (tableau 78). Bien que ce travail porte sur un petit effectif, les résultats obtenus méritent toute notre attention, car d'autres équipes sont arrivées à la même conclusion (à citer). Les recommandations de l'EGCCCG vont d'ailleurs dans le sens de ces travaux, et préconisent une protection du testicule controlatéral au cours des séances d'irradiation.

La notion de protection du testicule controlatéral n'était pas toujours présente dans les dossiers et dans les courrier-réponses des médecins, bien que la question leur ait été ouvertement posée. Nous n'avons pas pu ainsi, étudier l'effet d'une protection testiculaire sur la spermatogenèse à distance de la radiothérapie.

	Avec protection gonadique	Sans protection gonadique	p
Irradiation des ganglions para-aortiques	1,86 +/- 0,86 cGy	0,65 +/- 0,35 cGy	< 0,001
Irradiation des ganglions para-aortiques et iliaques	3,89 +/- 1,44 cGy	1,48 +/- 0,50 cGy	< 0,001

Tableau 78 – Dose résiduelle reçue par le testicule controlatéral, et par séance, à l'occasion d'une irradiation testiculaire (1,8 Gy délivrés par séance) [276]

Une autre voie de recherche réside dans un blocage hormonal de la spermatogenèse pendant les traitements. Les drogues anti-cancéreuses agissent essentiellement sur les cellules à fort index mitotique : si l'on inhibe la multiplication des spermatogonies, on peut espérer les protéger.

Enfin, une équipe turque [277] s'est intéressée à l'effet cytoprotecteur de l'amifostine sur l'épithélium testiculaire de rats irradiés par 6 Gy. Les auteurs rapportent un effet radioprotecteur sur les cellules spermatogéniques : la diminution du nombre de spermatocytes I est 1,28 fois plus faible que chez les rats non traités. Non seulement cette étude est une étude purement animale, mais les résultats demandent à être confirmés par une étude à plus grande échelle (expérimentation sur 8 rats, dont 2 seulement irradiés et traités par amifostine). De plus, dans le cas de la prise en charge d'un cancer testiculaire, il est important d'examiner l'effet de l'amifostine sur les cellules cancéreuses : à vouloir protéger les cellules germinales, il ne faudrait pas diminuer l'effet de la radiothérapie sur les éventuels embols tumoraux.

#### 4.2. LA PONCTION TESTICULAIRE OU EPIDIDYMAIRE

Dans le cas de patients azoospermes au moment de l'auto-conservation, et si le temps le permet, un bilan d'azoospermie pourrait être réalisé. Face à une azoospermie supposée excrétoire, une ponction épидидymaire sur le testicule controlatéral pourrait alors être envisagée. Cette opération consiste à prélever du liquide épидидymaire, et à en conserver les spermatozoïdes éventuels. Face à une azoospermie sécrétoire, une ponction testiculaire pourrait permettre d'extraire d'éventuels spermatozoïdes de la pulpe testiculaire biopsiée. Dans le cadre de l'auto-conservation avant traitement anti-cancéreux, cette technique pourrait ainsi permettre à certains patients de mettre en réserve de précieuses gamètes utilisables en ICSI.

Il faut cependant rester extrêmement prudents. Cette chirurgie, bien que légère, impose au chirurgien de franchir la barrière hémato-testiculaire. La structure et les propriétés du testicule controlatéral sont donc modifiées, et on s'expose à l'apparition d'Ac anti-spermatozoïdes secondaires, si le testicule restant n'était pas totalement improductif. En effet, une azoospermie relevée au moment des auto-conservations n'est peut-être pas définitive. Pour preuve, l'histoire d'un patient de 30 ans, atteint par une tumeur mixte (choriocarcinome (35%) + tératome immature (25%) + CE (40%)) de stade II sur le testicule droit pour qui nous n'avions mis en réserve aucune

paillette. Il était venu 3 fois au CECOS, avait réalisé un éjaculat avant l'orchidectomie, et deux après, mais aucun spermatozoïde n'avait été observé dans les différents échantillons : il n'avait été vu que des cellules rondes en petite concentration (de l'ordre de 20 000 / mL). Sept mois après 3 courses de BEP, il était toujours azoosperme, 12 mois plus tard, une production spermatique certes minime, mais réelle était observée : entre 80 000 et 500 000 spermatozoïdes / mL (mobilité et vitalité correctes). Son azoospermie transitoire pourrait être liée à un défaut sous-jacent de la spermatogenèse, aggravé par une production hormonale paracrine par la tumeur ( $\beta$  hCG = 97 UI/ mL et AFP = 30 UI / mL en pré-opératoire). Cette petite production aurait-elle subsisté après une ponction épидидymaire ? Les rares tubules séminifères encore fonctionnels n'auraient-ils pas été lésés ?

Dans notre base de données, un autre patient azoosperme avant l'induction du traitement est venu faire un contrôle de sa spermatogenèse 12 mois après 2 BEP pour TGNS mixte: il était alors toujours azoosperme. Au moment du diagnostic, comme pour le patient précédent, les  $\beta$  hCG étaient élevées (100 UI / mL). Il est important de noter que cet homme n'est venu qu'une seule fois au CECOS pour un spermogramme de contrôle. On ne peut donc exclure une reprise de la spermatogenèse, même minime, plus de 8 après la fin de son traitement.

Cette observation est en accord avec une étude allemande [278] qui a pratiqué une extraction testiculaire de spermatozoïdes chez 14 hommes azoospermes avant l'induction d'un traitement cytotoxique pour cancer testiculaire. Des spermatozoïdes ont été retrouvés chez 6 patients,

Cette alternative à l'auto-conservation est donc envisageable, mais elle doit être très largement discutée avec le patient, et en équipe multi-disciplinaire.

### 4.3. LES TRAITEMENTS HORMONAUX :

Dans le but de préserver la fertilité des patients cancéreux, des scientifiques s'intéressent à des traitements hormonaux : ils s'agit surtout d'études animales, mais les travaux de Meistrich menés sur des rats LBNF1 sont encourageants. Les rats LBNF1 sont des animaux dont la sensibilité testiculaire aux radiations est très proche de celle observée chez les hommes [279]. Meistrich et al. observent une reprise précoce de la spermatogenèse des rongeurs, s'il injecte avant ou juste après l'exposition aux drogues ou aux rayons, différentes hormones : testostérone, testostérone et 17  $\beta$  oestradiol, ou analogues de GnRH. Dans les expériences, pour étudier la qualité de la spermatogenèse des rats, il s'appuie sur l'index de repopulation des tubules séminifères (pourcentage de tubules renfermant au moins 3 cellules germinales en cours de différenciation), sur le poids d'un testicule, sur la concentration spermatique, et sur la fertilité des mammifères (chaque rat étant enfermé avec plusieurs femelles, à différents temps) [280].

Dans une de ses nombreuses études [281], Meistrich M.L. irradie des rats LBNF1 avec 3,5 Gy, et les traite ou non, avec un analogue de la GnRH après l'irradiation. Le nombre moyen de spermatozoïdes décompté (en millions) chez des rats irradiés est de 0,65 +/- 0,24 et de 83 +/- 10 chez les rats irradiés et traités par l'analogue de la

GnRH ( $p < 0,03$ )<sup>42</sup> [281]. Dans une autre publication, Meistrich et al. [282] rapportent chez des rats LBNF1, l'effet bénéfique d'une thérapie de 10 semaines par le Lupron (analogue de GnRH) après traitement par 250 mg/kg de procarbazine<sup>43</sup>, ou après une irradiation de 3,5 Gy (une seule séance). Pour les quatre paramètres étudiés (index de repopulation, masse testiculaire...), les différences sont significatives dans tous les cas. Il est intéressant de noter, que dans cette expérience, Meistrich et al. observent une récupération de la spermatogenèse, même si le traitement hormonal est débuté 20 semaines après l'irradiation.

Initialement, les auteurs pensaient que ce traitement hormonal donné avant les cures de radiothérapie ou de chimiothérapie, supprimait in vivo la production de testostérone et/ou de gonadotrophines, et protégeait ainsi les spermatogonies souches des dommages induits par le traitement ; aucune expérience n'a permis de confirmer cette hypothèse. En 1996, Kangasniemi et al. [279] en irradiant des rats LBNF1 avec une dose unique de 3,5 Gy, ont observé une absence de reprise de la spermatogenèse dans les 60 semaines qui suivaient l'irradiation, mais il a remarqué dans les tubules séminifères de ces rats, la présence de spermatogonies A résiduelles. Ces cellules germinales semblaient incapables de se différencier et de donner naissance à des spermatozoïdes matures. Cette découverte a permis d'envisager un autre mécanisme d'action des traitements hormonaux : la stimulation de la différenciation des cellules souches ayant résisté au traitement cytotoxique. Malheureusement, une fois encore, aucune équipe n'est parvenue à ce jour à identifier précisément le mode d'action de ces traitements hormonaux.

Tous ces résultats obtenus chez les animaux, permettent d'envisager un traitement hormonal pour les humains. Même s'il est important d'observer une période de sécurité de 2 ans en post traitement pour s'affranchir des dommages génétiques potentiels des cytotoxiques, le recours aux traitements hormonaux pourrait être envisagé chez des hommes en rémission, mais azoospermes. Même si les différents travaux rapportés chez les rats sont encourageants, il faut rester prudent quant aux effets sur l'homme. Si nous prenons pour exemple les analogues de la GnRH, leur mode d'action chez le rat n'est pas comparable à celui observé chez l'homme: chez les rongeurs, ils agissent directement sur les cellules de Leydig en diminuant la concentration intra-testiculaire en testostérone, alors que chez les humains, ils exercent aussi indirectement, via un rétrocontrôle négatif sur la sécrétion de LH. Autre différence, la cinétique de décroissance des taux de testostérone chez les humains après une exposition aux analogues de GnRH est plus lente que chez le rat [283]. L'utilisation en médecine humaine des agonistes de la GnRH semble envisageable pourtant, même s'ils exposent les hommes des effets secondaires (le plus fréquent consiste en une perte transitoire de la libido). Cet effet indésirable peut être contrebalancé par l'administration de testostérone exogène. Attention cependant ! Le mécanisme d'action supposé des analogues de la GnRH étant basé sur une diminution de la concentration de la testostérone intra-testiculaire ou de ses métabolites tels que l'oestradiol [280], on risque en administrant de la testostérone, d'aller à l'encontre des effets escomptés sur la reprise de la spermatogenèse !

---

<sup>42</sup> la concentration spermatique chez les rats « contrôle » non irradiés est de 173 +/- 21.

<sup>43</sup> 400 mg/kg de procarbazine pour un rat LBNF1 correspond à une dose de 3 g/m<sup>2</sup> pour l'homme [265]

#### 4.4. LA CRYOPRESERVATION TISSULAIRE :

Dans le but de préserver la fertilité des patients jeunes, hommes ou femmes, certains scientifiques envisagent la congélation de tissu ovarien et de tissu testiculaire en vue de transplantations ultérieures. Ceci pourrait permettre à des patients devenus azoospermes après une thérapie cytotoxique, de récupérer une spermatogenèse. Les hommes traités par des protocoles anti-cancéreux responsables d'une élimination totale des cellules souches seraient les candidats désignés à cette nouvelle technique : les cellules germinales prélevées avant l'induction du traitement, seraient cryoconservées, puis retransplantées une fois la guérison prononcée. C'est à Brinster et al. [284, 285] que l'on doit les premières transplantations de spermatogonies chez des souris stériles, ou rendues stériles après traitement par le busulfan. Par la suite, d'autres équipes sont parvenues à conserver des cellules germinales en suspension [286] et à réaliser des transplantations xénogéniques (le transfert de cellules germinales de rats fertiles, dans le testicules de souris immuno-déficientes aboutit à une spermatogenèse en tout point identique à celle du rat [287]). La technique de transfert du greffon semble maintenant bien maîtrisée : les cellules germinales sont injectées par échoguidage dans le rete testis. Cette technique a déjà été appliquée avec succès sur des testicules isolés d'homme ou d'animaux, et in vivo sur des singes [288].

A l'heure actuelle, on ne sait pas si les traitements utilisés en cancérologie sont responsables d'une déplétion du stock des spermatogonies à l'origine d'une aplasie germinale, ou d'un arrêt de la différenciation des cellules souches ayant résisté au traitement. Kangasniemi et al a en effet retrouvé dans les tubules séminifères de rats irradiés ou traités par des cytotoxiques, des spermatogonies A, mais aucune spermatides allongées [279]. Cette observation serait en faveur d'un arrêt de différenciation ; dans ce cas, la greffe de cellules souches germinales n'aurait que peu d'intérêt.

En revanche, si les traitements anti-cancéreux provoquent une diminution du stock de spermatogonies, alors la transplantation (autologue ou avec donneur) pourrait être envisageable. Dans le cas du cancer testiculaire, le greffon devrait être prélevé sur le testicule controlatéral pour éviter tout risque de rechute, car il est prouvé chez l'animal, qu'une rechute cancéreuse est possible à partir du greffon [289]. Pour éviter ce type de rechute, des équipes étudient déjà des moyens de trier les cellules pour ne conserver dans le greffon, que les spermatogonies (technique magnétique utilisant des Ac spécifiques de c-kit [290] Pour les cancers non testiculaires, le prélèvement sur un testicule ne pose pas de problème, mais dans le cas de cancers testiculaires, cette opération risque d'endommager le seul testicule restant fonctionnel.

Cette technique semble donc plutôt s'adresser à des patients jeunes pré-pubères et à des hommes dont le traitement nécessite le recours à des protocoles cytotoxiques très lourds.

#### 4.5. AUTRES VOIES DE RECHERCHE :

La transplantation de cellules germinales, le recours à des agonistes de la GnRH sont autant de voies de recherche développées pour essayer de relancer une spermatogenèse in vivo. Cependant, d'ores et déjà, se dessine une nouvelle perspective thérapeutique : la culture in vitro de cellules germinales, du stade spermatogonies, jusqu'au stade le plus différencié, le spermatozoïde. Les résultats de plusieurs équipes laissent supposer que la spermatogenèse in vitro est maintenant réalisable. L'équipe de Jan Tesarik a réussi à partir de biopsie de testicule normal ou pathologique, à poursuivre le développement de cellules préméiotiques en présence de FSH recombinante [291] [292].

Certaines expérimentations animales vont encore plus loin. L'équipe dirigée par John Parks a extrait des spermatogonies de taureaux nouveaux-nés, les a mis en culture avec des cellules de Sertoli et a obtenu en quelques semaines, des spermatides [293]. Une autre équipe japonaise est arrivée au même constat chez les souris : les ovocytes fécondés par les spermatides ont donné naissance à une portée [294]. Au Japon, Noce et al. ont obtenu des cellules primordiales à l'origine de spermatogonies, à partir de cellules embryonnaires. Après avoir subi leur maturation dans des testicules de souris adultes, les spermatozoïdes obtenus ont permis de féconder des ovocytes.

Enfin, pour permettre à ces patients traités par des cytotoxiques de devenir père, certains scientifiques proposent maintenant la fécondation d'un ovocyte sans l'intervention d'un spermatozoïde ! Des équipes rapportent avec succès, la fécondation d'ovocytes in vitro par micro-injection intra-cytoplasmique de spermatides allongées matures [295], de jeunes spermatides rondes [296], voire des spermatocytes II [297]. Pour certains, le recours aux spermatocytes I (cellules diploïdes) n'est pas exclu : il semble en effet, que ces cellules soient capables de réaliser dans l'ovocyte, les deux méioses nécessaires [298]. Même si après ICSI, on observe un zygote à 2N chromosome, les chances de développement normal de l'embryon semblent faibles : le taux de fécondation d'un oocyte à partir d'une spermatide mature allongée ou en cours d'élongation est estimé à 54 %, et il n'est que de 17 % pour une spermatide ronde [299]. Quelques grossesses après micro-injection intra-ovocytaire de spermatocyte II [297], et la naissance d'enfants viables après fécondation par une spermatide ronde [300] sont rapportées (en 2000, il était question de 3 enfants nés après utilisation d'une spermatide ronde, et 9 grâce à une spermatides en cours d'élongation). Cependant, « enfant viable » ne signifie pas pour autant « enfant en bonne santé ou normal » : Zech et al. [301] font état dans son service, de 4 grossesses après utilisation d'une spermatide en cours d'élongation, mais deux bébés étaient porteurs de malformations majeures (le premier présentait une trisomie 9 et une hydroencéphalie, et le second un syndrome de Arnold Chiari type II<sup>44</sup>).

Toutes ces expériences nous renvoient l'image de l'apprenti sorcier ! En dehors de toute considération éthique, la culture in vitro des gamètes mâles n'est pas sans risque pour la reproduction humaine. Même si de gros progrès ont été réalisés et même si les méthodes de culture se sont améliorées, les spermatozoïdes générés

---

<sup>44</sup> Syndrome associant une spina bifida et des lésions cérébrales

seront-ils de « bonne qualité », et seront-ils capables de féconder et surtout de donner naissance à des embryons viables et en bonne santé ? De plus, sommes-nous prêts à accepter le prélèvement de tissus embryonnaires à des fins de procréation ? Les mêmes questions se posent avec les techniques d'ICSI basées sur l'utilisation de précurseurs des spermatozoïdes. Les cellules utilisées pour féconder les ovocytes ne sont pas matures : qu'en est-il de la qualité de leur matériel génétique ? Les cellules précurseurs des spermatozoïdes matures n'ont pas la même structure nucléaire : elles ne renferment donc pas les informations épigénétiques, informations primordiales pour le fonctionnement du spermatozoïde, mais peut-être aussi pour le développement de l'embryon.

Ces différentes expériences permettront peut-être de mieux comprendre la spermatogenèse in vivo, mais est-il sage de poursuivre ces travaux en vue d'applications thérapeutiques...

## V. CONCLUSION :

L'étude de la fertilité des patients atteints par un cancer germinifère testiculaire est importante, non seulement parce que ces patients sont jeunes, mais aussi parce qu'il existe pour ce type de tumeur un risque de sur-traitement. Comme ces patients présentent généralement une altération de la spermatogenèse au moment des auto-conservations, il est nécessaire de diminuer autant que possible les posologies des cytotoxiques, et de protéger au maximum la fonction gonadique du testicule controlatéral.

Le protocole BEP est aujourd'hui considéré comme le traitement de référence des TGNS. Avant lui, les oncologues utilisaient le protocole PVB (Cisplatine, Vinblastine, Bléomycine). Même si chez la souris, l'étoposide et la vinblastine ont des effets comparables sur la spermatogenèse, Hartlapp et al. [302] considèrent le traitement par PVB comme moins toxique à long terme pour la production spermatique, que le protocole BEP (à l'inverse, deux autres études ont conclu à une toxicité gonadique comparable [179, 303]). Aujourd'hui, d'autres protocoles sont proposés pour la prise en charge de tumeurs germinales de bon pronostic et certains seraient moins gonadotoxiques que le BEP : l'utilisation du carboplatine est une alternative intéressante au BEP. Les équipes qui se sont intéressées aux effets gonadiques du carboplatine considèrent le carboplatine comme moins génotoxique que le cisplatine [201, 304]<sup>45</sup>. Une autre équipe grecque a étudié la spermatogenèse de 173 patients (52 séminomes et 121 TGNS) entre 9 et 36 mois après traitement par BEC<sub>90</sub> (Bléomycine, Etoposide et Carboplatine) et ses conclusions vont dans ce sens [169] : effet mineur de ce protocole sur la spermatogenèse (90 % des patients ont récupéré une production spermatique, même si certains ont vu leur concentration diminuer), et absence de toxicité à long terme sur les cellules de Leydig. Certaines équipes ne sont pas favorables à l'utilisation du carboplatine à la place du cisplatine en systématique, car à dose équivalente, une perte d'efficacité serait observée [175].

Nos résultats et ceux relevés dans la littérature sont rassurants : la plupart des hommes traités récupèrent une spermatogenèse totale ou partielle, à distance de leur thérapie. Il semble que même traités avec de fortes doses de cisplatine ou de carboplatine, les patients peuvent espérer recouvrer une production spermatique résiduelle : une équipe japonaise [305] a étudié la fertilité de 10 patients dont la prise en charge nécessitait le recours à une chimiothérapie intensive associée à une greffe de cellules souches hématopoïétiques : plus de deux ans après le traitement, 50 % était azoospermes (les paramètres spermatiques moyens du groupe non azoosperme étaient normaux). Cependant, nous l'avons vu, cette récupération n'est pas homogène : certains récupèrent leur spermatogenèse initiale, d'autres ont une production quantitativement meilleure après traitement et d'autres malheureusement voient une diminution de leur numération.

Puisque aujourd'hui, nous sommes incapables d'identifier les patients susceptibles de présenter une altération durable de la spermatogenèse, il est important d'insister auprès des médecins sur l'importance de l'auto-conservation de sperme. Pour quelques patients devenus azoospermes après le traitement, les

---

<sup>45</sup> Hansen et al. ont analysé la fertilité de patients traités pour séminome de stade I par carboplatine seul, et Lampe et al. ont comparé la spermatogenèse de 170 hommes traités par chimiothérapie à base de cisplatine ou de carboplatine.



paillettes stockées seront leur seul moyen d'être père sans avoir recours aux inséminations avec donneurs.

Ce travail, comme la majorité des études traitant des conséquences des traitements cytotoxiques sur la gamétogenèse, est rétrospectif. Les hommes inclus dans les deux groupes « contrôle » sont venus faire leur(s) spermogramme(s) à des temps différents. Notre étude a été limitée par un suivi non homogène des patients.

C'est pourquoi l'étude prospective GAMATOX (PHRC national) est porteuse de nombreux espoirs. Ce travail réalisé dans 10 CECOS, associant étroitement biologistes, urologues, radiothérapeutes et chimiothérapeutes, a pour objectif d'apprécier l'impact des différents traitements cytotoxiques sur la production spermatique. Pour cela, les patients qui ont accepté de participer à ce protocole de recherche viennent réaliser des spermogrammes de contrôle à des temps bien définis ( $T_0$ ,  $T_6$ ,  $T_{12}$ ,  $T_{24 \text{ mois}}$ ). Tous les médecins et les biologistes qui s'intéressent à la fertilité des patients cancéreux attendent beaucoup de cette étude dont la période d'inclusions vient juste de se clôturer.

# ANNEXES

## Annexe 1 – Liste des gènes décrits en relation avec le génome des tumeurs germinales testiculaires [54]

SYMBOLE DU GENE <sup>46</sup>	PROTEINE	NOM DU GENE	LOCUS <sup>47</sup>
<i>AFP</i>		α-foetoprotein	4q13.3
<i>ALPP</i>	PLAP	Alkaline phosphatase, placental	2q37.1
<i>ALPPL2</i>	GCAP	Alkaline phosphatase, placental-like 2	2q37.1
<i>CCND2</i>		Cyclin D2	12p13.32
<i>CCNE1</i>		Cyclin E1	19q12
<i>CDKN2A</i>	p16 <sup>INK4A</sup> /p14 <sup>ARF</sup>	Cyclin-dependant kinase inhibitor 2A	9p21.3
<i>CDKN2C</i>	p18 <sup>INK4C</sup>	Cyclin-dependant kinase inhibitor 2C	1p32.3
<i>CDKN2D</i>	p19 <sup>INK4D</sup>	Cyclin-dependant kinase inhibitor 2D	19p13.2
<i>CGB</i>	β-hCG	Chorionic gonadotropin, β polypeptide	19q13.33
<i>CTAG1</i>	NY-ESO-1	Cancer/testis antigen 1	Xq28
<i>DAD-R<sup>3</sup></i>		DAD1-related gene	12p12.1
<i>DCC</i>		Deleted in colo-rectal carcinoma	18q21.2
<i>DDX4</i>	VASA	DEAD/H (Asp-Glu-Ala-Asp/His) box polypeptide 4	5q11.2
<i>DNMT2</i>		DNA(cytosine-5)-methyltransferase 2	10p13
<i>FHIT</i>		Fragile histidine triad gene	3p14.2
<i>GRB7</i>		Growth factor receptor-bound protein 7	17q12
<i>HRAS</i>	Ha-RAS	v-Ha-ras Harvey rat sarcoma viral oncogene homolog	11p15.5
<i>JUP</i>	γ-catenine	Junction plakoglobin	17q21.2
<i>KIT</i>	c-KIT	v-kit Hardy-Zuckerman 4 feline sarcoma viral oncogene homolog	4q12
<i>KITLG</i>	MGF, SCF	KIT ligand	12q21.32
<i>KLK10</i>	NES1	Kallikrein 10	19q13.33
<i>KLK13</i>	KLK-L4	Kallikrein 13	19q13.33
<i>KRAS</i>	K-RAS	v-K-ras2 Kristen rat sarcoma 2 viral oncogene homolog	12p12.1
<i>LLGL2</i>	HGL	Lethal giant larvae (Drosophila) homolog 2	17q25.1
<i>MADH4</i>	SMAD4	MAD, mothers against decapentaplegic homolog 4	18q21.1
<i>MAGEA4</i>		Melanoma antigen family A, 4	Xq28
<i>MGMT</i>		O <sup>6</sup> -methylguanine-DNA methyltransferase	10q26.3
<i>MXI1</i>	MAD2	MAX interacting protein 1	10q25.2
<i>MYBL2</i>	B-MYB	v-myb myeloblastosis viral oncogene homolog (avian)-like 2	20q13.12
<i>MYCL1</i>	L-MYC	v-myc myelocytomatosis viral oncogene homolog 1, lung carcinoma derived	1p34.2
<i>MYCN</i>	N-MYC	v-myc myelocytomatosis viral related oncogene, neuroblastoma derived	2p24.3
<i>NRAS</i>	N-RAS	v-ras neuroblastoma RAS viral oncogene homolog	1p13.2
<i>PDGFRA</i>		Platelet-derived growth factor receptor, α	4q12
<i>PIWIL1</i>	HIWI	Piwi-like 1 (Drosophila)	12q24.33
<i>POU5F1</i>	OCT-4	POU domain, class 5, transcription factor 1	6p21.33
<i>POV1</i>	PB39	Prostate cancer overexpressed gene 1	11q12.1
<i>RB1</i>		Retinoblastoma 1	13q14.2
<i>TNFRSF6</i>	FAS	Tumour necrosis factor receptor superfamily, member 6	10q23.31
<i>RNFSF6</i>	FAS ligand	Tumour necrosis factor (ligand) superfamily, member 6	1q24.3
<i>TP53</i>	p53	Tumour protein 53	17p13.1

<sup>46</sup> Dénomination approuvée par le HUGO Gene Nomenclature Committee

<sup>47</sup> Localisation approuvée par l'UCSC à l'assemblée sur le génome humain, en Juin 2002

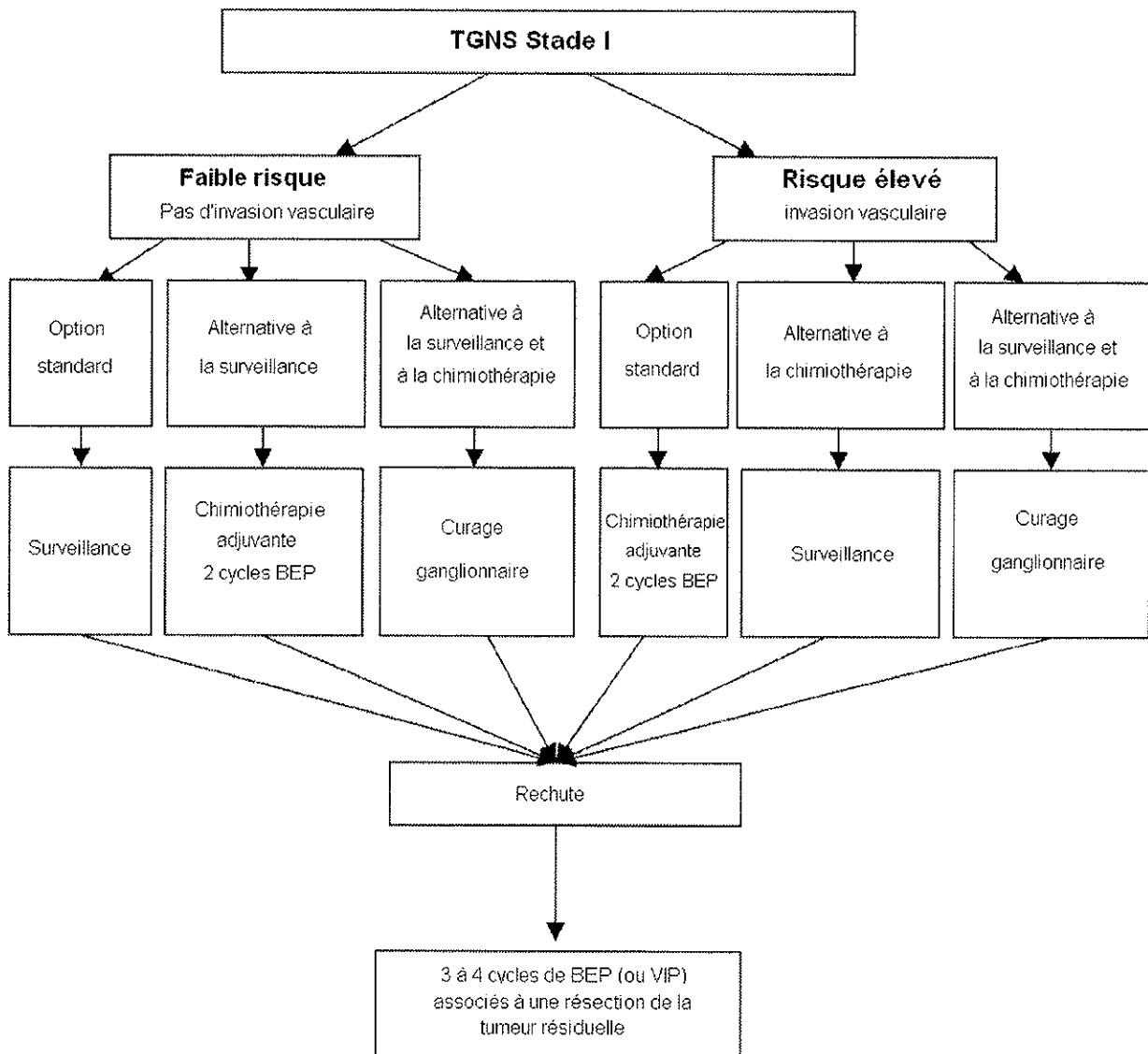
## Annexe 2 - Protocole de surveillance des séminomes

Séminome de stade I non irradié	Scanographie abdomino-pelvienne tous les 3 mois pendant 2 ans, puis tous les 6 mois pendant 5 ans
Séminome de stade I irradié	Marqueurs tumoraux et scanographie abdomino-pelvienne tous les ans
Séminome de stade IIa ou IIb irradié	Scanographie abdomino-pelvienne à 6 mois, puis tous les ans
Séminome de stade IIc irradié	Scanographie abdomino-pelvienne tous les 4 mois la première année, puis tous les 6 mois la seconde, et tous les ans au-delà.

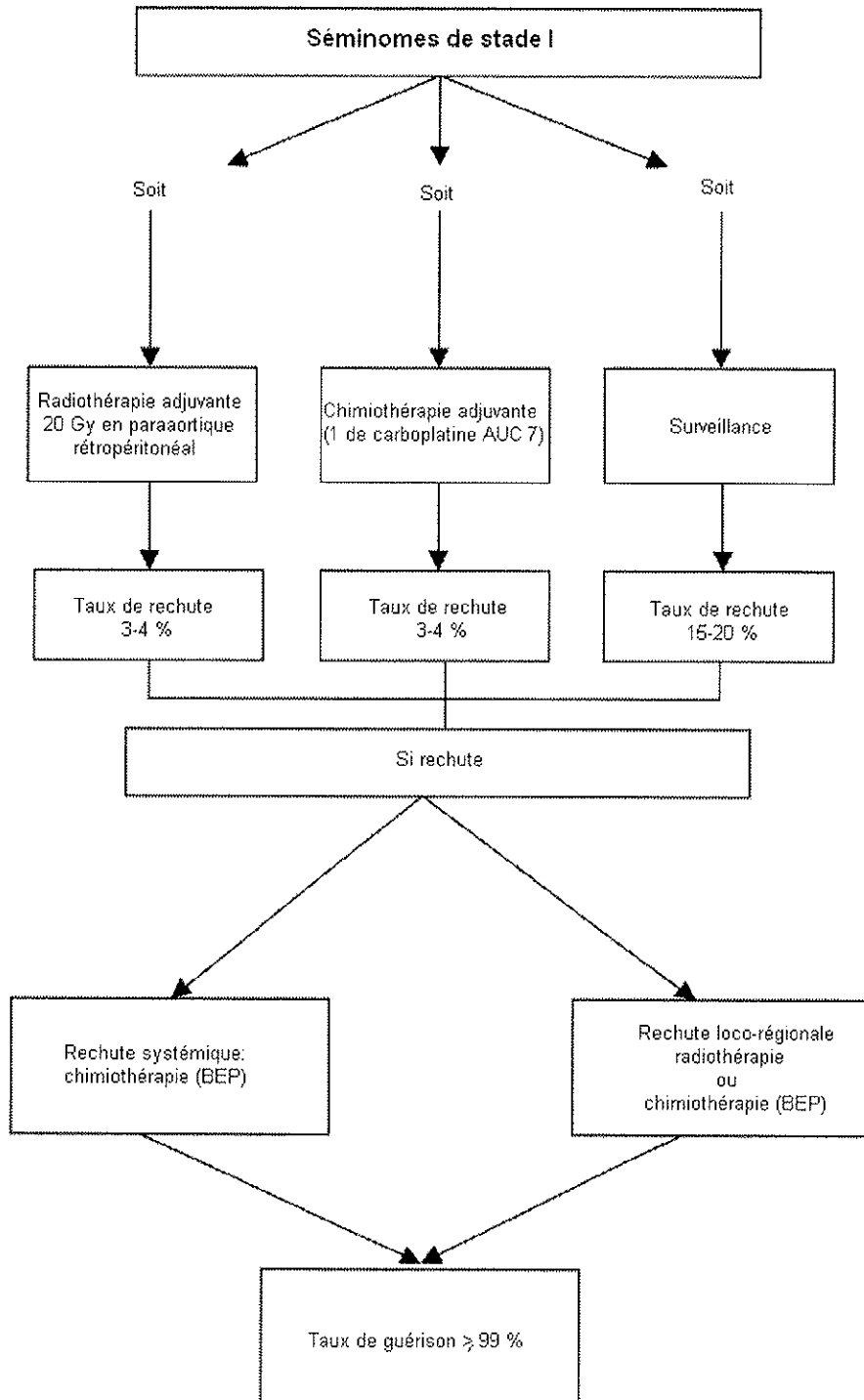
## Annexe 3 – Protocole de surveillance des TGNS

Stade I clinique (après orchidectomie seule)	Radiographie pulmonaire et dosages des marqueurs tumoraux	1° année : tous les mois 2° année : tous les 2 mois 3° année : tous les 3 mois 4° année : tous les 4 mois 5° année : tous les 6 mois annuellement jusqu'à la 7° année
	Scanographie abdomino-pelvienne	1° année : tous les 3 mois 2° et 3° année : tous les 6 mois annuellement jusqu'à la 7° année
Stade I clinique (après curage ganglionnaire et/ou chimiothérapie)	Radiographie pulmonaire et dosages des marqueurs tumoraux	1° et 2° année : tous les 3 mois 3°, 4° et 5° année : tous les 6 mois 6° et 7° année : tous les ans
	Scanographie abdomino-pelvienne	au 6° mois puis annuellement jusqu'à la 7° année
Stade II et III Pronostic favorable ou intermédiaire	Radiographie pulmonaire et dosages des marqueurs tumoraux	1° année : tous les 4 mois 2° année : tous les 6 mois annuellement jusqu'à la 7° année
	Scanographie abdomino-pelvienne +/- thoracique si atteinte sus-diafragmatique	1° et 2° année : tous les 4 mois annuellement jusqu'à la 7° année
Stade II et III Pronostic défavorable	Radiographie pulmonaire et dosages des marqueurs tumoraux	1° année : tous les mois 2° année : tous les 2 mois 3°, 4° et 5° année : tous les 4 mois annuellement jusqu'à la 7° année
	Scanographie abdomino-pelvienne +/- thoracique si atteinte sus-diafragmatique +/- IRM cérébrale si cerveau atteint	1° année : tous les 3 mois 2° année : tous les 6 mois annuellement jusqu'à la 7° année

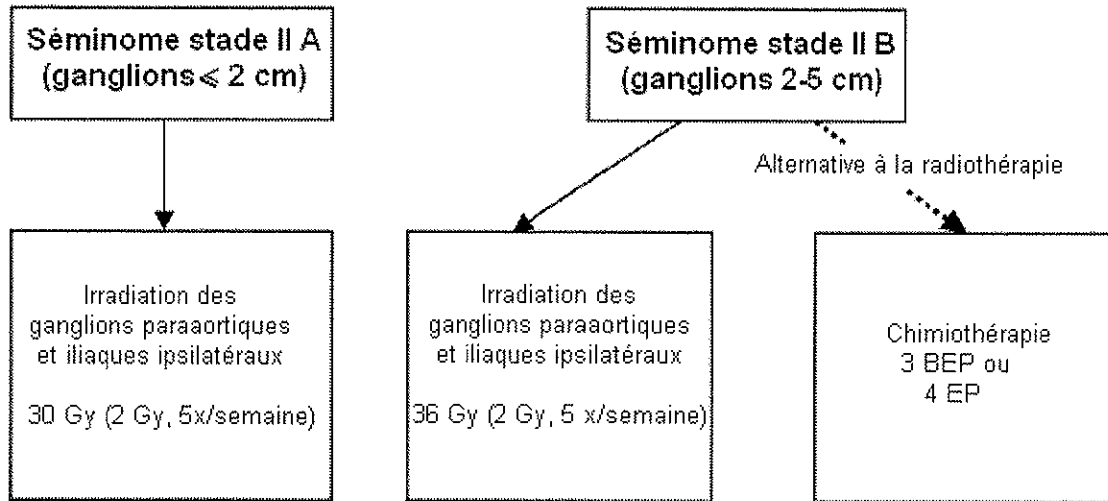
Annexe 4 – Algorithme de traitement des TGNS de stade I, après orchidectomie, en fonction des facteurs de risque individuels [49]



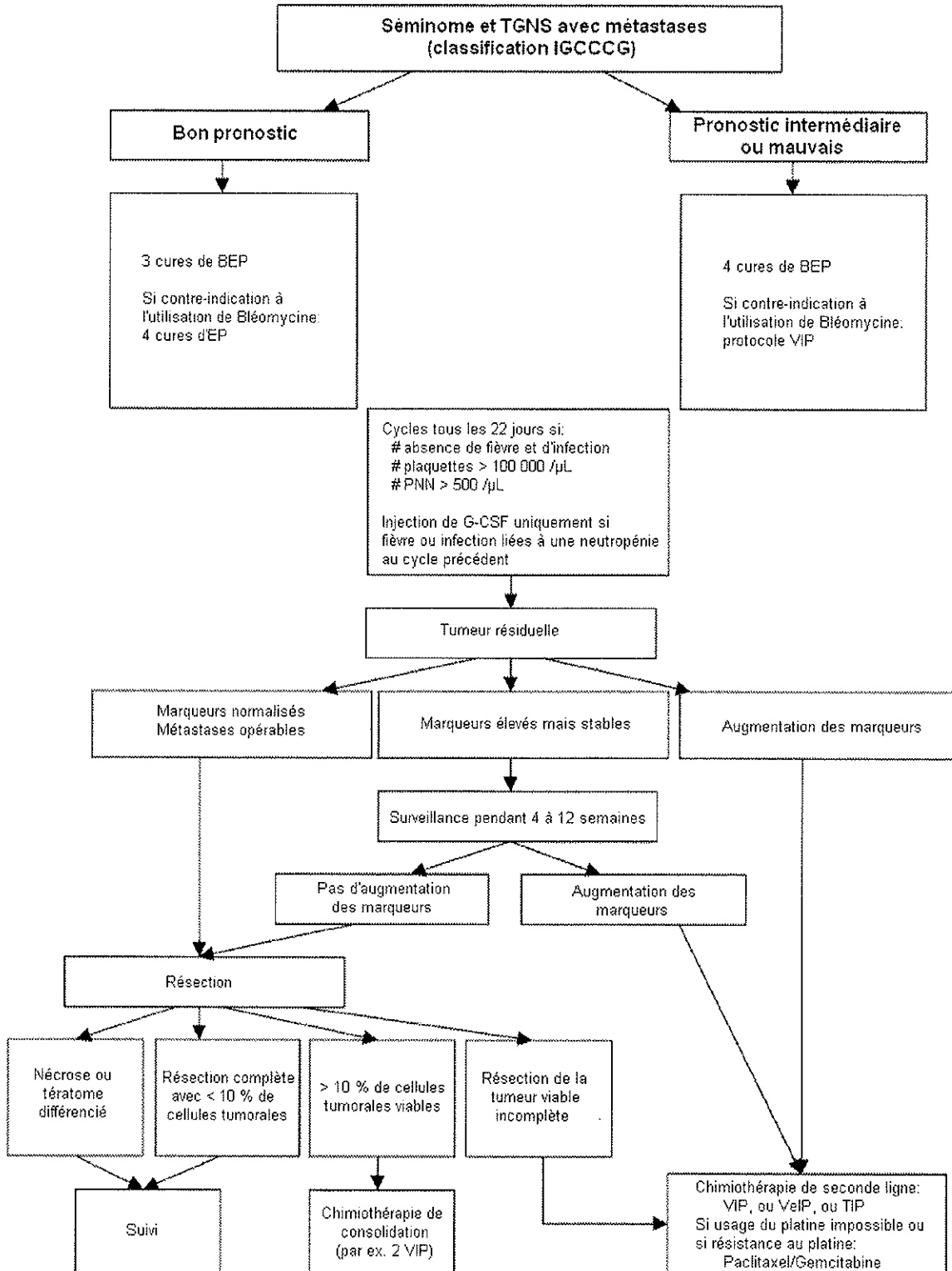
## Annexe 5 - Prise en charge des séminomes stade I [49]



Annexe 6 – Prise en charge des séminomes de stade II [49]



Annexe 7 – Prise en charge des tumeurs germinales métastatiques [49]



Annexe 8 – Marqueurs biochimiques du plasma séminal

Marqueurs	Unités de concentration	Unités par éjaculat		Origine	Rôles
<b>Acide citrique</b>	mmol / L	μmol	35 - 165	Prostate	
<b>Fructose</b>	mmol / L	μmol	16 - 105	Vésicules séminales	
<b>Carnitine libre</b>	μmol / L	nmol	425 - 2000	Epididyme	Substrat énergétique
<b>Acyl-carinitine</b>	μmol / L	nmol	200 - 1500	Canal déférent	
<b>Carnitine totale</b>	μmol / L	nmol	750 - 3500		
<b>Glycéro-phosphocholine</b>	μmol / mL	μmol	1,9 – 13,6	Epididyme	
<b>Zinc</b>	mmol / L	μmol	2,5 – 12,6	Prostate	
<b>Choline</b>	μmol / mL	μmol	30 - 170		Respiration et mobilité des spermatozoïdes
<b>Protéines</b>	g / L	mg	50 -290		
<b>Activité de l'α glucosidase</b>	mU / mL	mU	34 – 165	Epididyme	Hydrolyse du maltose en glucose. Maturation et mobilité des spermatozoïdes



Annexe 9 – Liste des patients exclus de la base de données

	ANNÉE DU DIAGNOSTIC	DIAGNOSTIC ANATOMOPATHOLOGIQUE	AGE AU DIAGNOSTIC	TRAITEMENT	DEVENIR
1	1997	CE	34 ans	Aucun (évolution trop rapide)	Décès (1997)
2	1997	Séminome	40 ans	4 BEP	Rémission
3	1998	Tumeur germinale	44 ans	4 CISCA II + Velbe	Rémission
4	1998	Séminome	40 ans	6 BEP	Rechute (2001) puis perdu de vue
5	1999	TGNS	18 ans	4 CISCA VB + 4 VIP + 6 ADRIADETICENE + Radiothérapie	Décès (2001)
6	2000	CE	25 ans	4 BEP	Rechute (2004)
7	2000	Tératome	39 ans	Chirurgie seule	Rémission
8	2002	CE	29 ans	EP puis EP + Ifosfamide	Rémission
9	2002	Tumeur vitelline	20 ans	4 BEP + 2 EP	Rémission
10	2002	Choriocarcinome	34 ans	4 BEP	Rémission
11	2003	Tumeur germinale	24 ans	4 BEP	Rémission
12	2003	Tumeur vitelline	24 ans	4 BEP puis polychimiothérapie	Décès (2004)
13	2004	Séminome	47 ans		Rémission

Tumeurs germinales extra-gonadiques de 1997 à 2004

	ANNEE DU DIAGNOSTIC	DIAGNOSTIC ANATOMOPATHOLOGIQUE	TESTICULE ATTEINT	AGE AU DIAGNOSTIC	DEVENIR
1	1997	Leydigome	Gauche	31 ans	Rémission
2	1997	Leydigome	Droit	25 ans	Rémission
3	1998	Tumeur bénigne	Droit	33 ans	Rémission
4	1999	Tumeur à cellules de Sertoli	Gauche	34 ans	Rémission
5	2001	Leydigome	Droit	21 ans	Rémission
6	2002	Leydigome	Droit	30 ans	Rémission
7	2002	Cancer adénomatoïde bénin	Droit	38 ans	Rémission
8	2003	Leydigome	Droit	27 ans	Rémission
9	2003	Leydigome	Bilatéral	19 ans	Rémission
10	2003	Leydigome	Gauche	27 ans	Rémission
11	2004	Séminome spermatocytaire	Gauche	48 ans	Rémission
12	2004	Mésothéliome bénin	Droit	28 ans	Rémission

Tumeurs testiculaires exclues de la base de 1997 à 2004  
(Tumeurs non germinales et séminome spermatocytaire)

	<b>ANNEE DU DIAGNOSTIC</b>	<b>DIAGNOSTIC ANATOMOPATHOLOGIQUE</b>	<b>AGE AU DIAGNOSTIC</b>	<b>DEVENIR</b>
<b>1</b>	2000	Tumeur desmoplasique rétro-péritonéale	17ans	Décès
<b>2</b>	2001	Adénocarcinome médiastinal	22 ans	Décès
<b>3</b>	2003	Anomalies multifocales du testicule gauche	49 ans	En vie
<b>4</b>	2004	Tissu scléreux hyalin – Absence de tubules séminifères	17 ans	En vie
<b>5</b>	2004	Lésions de congestion et suffusions hémorragiques + nécrose épидidyme	16 ans	En vie
<b>6</b>	2004	Involution sertolienne presque totale	18 ans	En vie

Autres diagnostics

# BIBLIOGRAPHIE

1. Liu, S., et al., *Birth cohort effects underlying the increasing testicular cancer incidence in Canada*. Can J Public Health, 1999. **90**(3): p. 176-80.
2. van Dijk, M.R., et al., *Survival estimates of a prognostic classification depended more on year of treatment than on imputation of missing values*. J Clin Epidemiol, 2006. **59**(3): p. 246-53.
3. Fossa, S.D., N. Aass, and K. Molne, *Is routine pre-treatment cryopreservation of semen worthwhile in the management of patients with testicular cancer?* Br J Urol, 1989. **64**(5): p. 524-9.
4. Petersen, P.M., et al., *Semen quality and reproductive hormones before orchiectomy in men with testicular cancer*. J Clin Oncol, 1999. **17**(3): p. 941-7.
5. Houlgatte, A., et al., *Tumeurs du testicule*. Progrès en Urologie, 2002. **5**, supplément 2: p. 69-78.
6. Carver, B.S. and J. Sheinfeld, *Germ Cell Tumors of the Testis*. Ann Surg Oncol, 2005.
7. Polednak, A.P., *Trends in cancer incidence in Connecticut, 1935-1991*. Cancer, 1994. **74**(10): p. 2863-72.
8. Wanderas, E.H., S. Tretli, and S.D. Fossa, *Trends in incidence of testicular cancer in Norway 1955-1992*. Eur J Cancer, 1995. **31A**(12): p. 2044-8.
9. Huyghe, E., T. Matsuda, and P. Thonneau, *Increasing incidence of testicular cancer worldwide: a review*. J Urol, 2003. **170**(1): p. 5-11.
10. Fénichel, P., et al., *Le cancer du testicule: aspects épidémiologiques et physiologiques récents et conséquences pratiques*. Feuilles de biologie, 2005. **XXXXVI**(267): p. 35-41.
11. Albers, P., et al., *Guidelines on Testicular Cancer*. Eur Urol, 2005.
12. Ekbo, A., *Growing evidence that several human cancers may originate in utero*. Semin Cancer Biol, 1998. **8**(4): p. 237-44.
13. Parkin, D.M. and C.S. Muir, *Cancer Incidence in Five Continents. Comparability and quality of data*. IARC Sci Publ, 1992(120): p. 45-173.
14. Daniels, J.L., Jr., R.E. Stutzman, and D.G. McLeod, *A comparison of testicular tumors in black and white patients*. J Urol, 1981. **125**(3): p. 341-2.
15. McGlynn, K.A., et al., *Increasing incidence of testicular germ cell tumors among black men in the United States*. J Clin Oncol, 2005. **23**(24): p. 5757-61.
16. Bergstrom, R., et al., *Increase in testicular cancer incidence in six European countries: a birth cohort phenomenon*. J Natl Cancer Inst, 1996. **88**(11): p. 727-33.
17. Richiardi, L., et al., *Testicular cancer incidence in eight northern European countries: secular and recent trends*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2004. **13**(12): p. 2157-66.
18. Dieckmann, K.P. and U. Pichlmeier, *Clinical epidemiology of testicular germ cell tumors*. World J Urol, 2004. **22**(1): p. 2-14.
19. Mieusset, R., *Anomalies de position des testicules dans l'enfance: conséquences à l'âge adulte*. Andrologie, 1999. **9**: p. 272-285.
20. Moller, H., et al., *Risk of testicular cancer with cryptorchidism and with testicular biopsy: cohort study*. Bmj, 1998. **317**(7160): p. 729.
21. Giwercman, A., et al., *Prevalence of carcinoma in situ and other histopathological abnormalities in testes of men with a history of cryptorchidism*. J Urol, 1989. **142**(4): p. 998-1001: discussion 1001-2.
22. Dieckmann, K.P. and U. Pichlmeier, *The prevalence of familial testicular cancer: an analysis of two patient populations and a review of the literature*. Cancer, 1997. **80**(10): p. 1954-60.
23. Rapley, E.A., et al., *Localization to Xq27 of a susceptibility gene for testicular germ-cell tumours*. Nat Genet, 2000. **24**(2): p. 197-200.
24. Dieckmann, K.P. and N.E. Skakkebaek, *Carcinoma in situ of the testis: review of biological and clinical features*. Int J Cancer, 1999. **83**(6): p. 815-22.
25. Montironi, R., *Intratubular germ cell neoplasia of the testis: testicular intraepithelial neoplasia*. Eur Urol, 2002. **41**(6): p. 651-4.
26. Haughey, B.P., et al., *The epidemiology of testicular cancer in upstate New York*. Am J Epidemiol, 1989. **130**(1): p. 25-36.
27. Moller, H., A. Prener, and N.E. Skakkebaek, *Testicular cancer, cryptorchidism, inguinal hernia, testicular atrophy, and genital malformations: case-control studies in Denmark*. Cancer Causes Control, 1996. **7**(2): p. 264-74.

28. Stader, C.H., N.S. Weiss, and J.R. Daling, *Vasectomy and incidence of testicular cancer*. Am. J. Epidemiol., 1988. **128**(1): p. 56-63.
29. Rosenberg, L., et al., *The relation of vasectomy to the risk of cancer*. Am. J. Epidemiol., 1994. **140**(5): p. 431-8.
30. Hill, D.A., et al., *Mortality and cancer incidence among individuals with Down syndrome*. Arch Intern Med, 2003. **163**(6): p. 705-11.
31. Hasle, H., et al., *Cancer incidence in men with Klinefelter syndrome*. Br J Cancer, 1995. **71**(2): p. 416-20.
32. Jacobsen, R., et al., *Risk of testicular cancer in men with abnormal semen characteristics: cohort study*. Bmj, 2000. **321**(7264): p. 789-92.
33. Carlsen, E., et al., *Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years*. Bmj, 1992. **305**(6854): p. 609-13.
34. Schrager, S. and B.E. Potter, *Diethylstilbestrol exposure*. Am Fam Physician, 2004. **69**(10): p. 2395-400.
35. Pettersson, A., et al., *Women smoking and testicular cancer: one epidemic causing another?* Int J Cancer, 2004. **109**(6): p. 941-4.
36. Weir, H.K., et al., *Pre-natal and peri-natal exposures and risk of testicular germ-cell cancer*. Int J Cancer, 2000. **87**(3): p. 438-43.
37. Martin, N.G., et al., *Gonadotropin levels in mothers who have had two sets of DZ twins*. Acta Genet Med Gemellol (Roma), 1984. **33**(1): p. 131-9.
38. Henderson, B.E., et al., *Risk factors for cancer of the testis in young men*. Int J Cancer, 1979. **23**(5): p. 598-602.
39. Westergaard, T., et al., *Testicular cancer risk and maternal parity: a population-based cohort study*. Br J Cancer, 1998. **77**(7): p. 1180-5.
40. Sharpe, R.M., *Hormones and testis development and the possible adverse effects of environmental chemicals*. Toxicol Lett, 2001. **120**(1-3): p. 221-32.
41. Gallagher, R.P., et al., *Physical activity, medical history, and risk of testicular cancer (Alberta and British Columbia, Canada)*. Cancer Causes Control, 1995. **6**(5): p. 398-406.
42. Dieckmann, K.P. and U. Pichlmeier, *Is risk of testicular cancer related to body size?* Eur Urol, 2002. **42**(6): p. 564-9.
43. Pearce, N., et al., *Time trends and occupational differences in cancer of the testis in New Zealand*. Cancer, 1987. **59**(9): p. 1677-82.
44. Ganmaa, D., et al., *Incidence and mortality of testicular and prostatic cancers in relation to world dietary practices*. Int J Cancer, 2002. **98**(2): p. 262-7.
45. Garner, M.J., et al., *Dietary risk factors for testicular carcinoma*. Int J Cancer, 2003. **106**(6): p. 934-41.
46. Knight, J.A. and L.D. Marrett, *Parental occupational exposure and the risk of testicular cancer in Ontario*. J Occup Environ Med, 1997. **39**(4): p. 333-8.
47. Swerdlow, A.J., S.R. Huttly, and P.G. Smith, *Testis cancer: post-natal hormonal factors, sexual behaviour and fertility*. Int J Cancer, 1989. **43**(4): p. 549-53.
48. Jorgensen, N., et al., *Expression of immunohistochemical markers for testicular carcinoma in situ by normal human fetal germ cells*. Lab Invest, 1995. **72**(2): p. 223-31.
49. Schmoll, H.J., et al., *European consensus on diagnosis and treatment of germ cell cancer: a report of the European Germ Cell Cancer Consensus Group (EGCCCG)*. Ann Oncol, 2004. **15**(9): p. 1377-99.
50. Peckham, M.J., *The management of testicular tumors*. 1981, London: Edward Arnold LTD. p. 89-101.
51. Grigor, K.M. and M. Rorth, *Should the contralateral testis be biopsied? Round table discussion*. Eur Urol, 1993. **23**(1): p. 129-35.
52. Harland, S.J., et al., *Risk factors for carcinoma in situ of the contralateral testis in patients with testicular cancer. An interim report*. Eur Urol, 1993. **23**(1): p. 115-8; discussion 119.
53. Huyghe, E., *Etude de la pulpe testiculaire pérítumorale en cas de tumeur germinale du testicule*. 2002.
54. Skotheim, R.I. and R.A. Lothe, *The testicular germ cell tumour genome*. Apmis, 2003. **111**(1): p. 136-50; discussion 50-1.
55. von der Maase, H., et al., *Carcinoma in situ of contralateral testis in patients with testicular germ cell cancer: study of 27 cases in 500 patients*. Br Med J (Clin Res Ed), 1986. **293**(6559): p. 1398-401.
56. Giwercman, A., H. von der Maase, and N.E. Skakkebaek, *Epidemiological and clinical aspects of carcinoma in situ of the testis*. Eur Urol, 1993. **23**(1): p. 104-10; discussion 111-4.

57. Sharpe, R.M., *The 'oestrogen hypothesis'- where do we stand now?* Int J Androl, 2003. **26**(1): p. 2-15.
58. Oosterhuis, J.W. and L.H. Looijenga, *Current views on the pathogenesis of testicular germ cell tumours and perspectives for future research: highlights of the 5th Copenhagen Workshop on Carcinoma in situ and Cancer of the Testis*. Apms, 2003. **111**(1): p. 280-9.
59. Chaganti, R.S. and J. Houldsworth, *Genetics and biology of adult human male germ cell tumors*. Cancer Res, 2000. **60**(6): p. 1475-82.
60. *Drainage lymphatique rétro-péritonéal*.
61. Bauduceau, O., et al., *[Radiotherapy in stage I testicular seminoma: retrospective study and review of literature]*. Cancer Radiother, 2003. **7**(6): p. 386-94.
62. Sant, M., et al., *Cancer survival increases in Europe, but international differences remain wide*. Eur J Cancer, 2001. **37**(13): p. 1659-67.
63. Coleman, M.P., et al., *Trends in cancer incidence and mortality*. IARC Sci Publ, 1993(121): p. 1-806.
64. Warde, P., et al., *Prognostic factors for relapse in stage I seminoma managed by surveillance: a pooled analysis*. J Clin Oncol, 2002. **20**(22): p. 4448-52.
65. Warde, P.R., et al., *Results of a policy of surveillance in stage I testicular seminoma*. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 1993. **27**(1): p. 11-5.
66. Warde, P., et al., *Stage I testicular seminoma: results of adjuvant irradiation and surveillance*. J Clin Oncol, 1995. **13**(9): p. 2255-62.
67. Klepp, O., et al., *Risk-adapted treatment of clinical stage 1 non-seminoma testis cancer*. Eur J Cancer, 1997. **33**(7): p. 1038-44.
68. Kratzik, C., W. Hörtl, and W. Albrecht, *Risk adapted management for NSGCT stage 1: long-term results of a multicenter study*. J Urol, 1996; p. 157: 547A.
69. Ondrus, D., et al., *Prognostic factors in clinical stage I nonseminomatous germ cell testicular tumors: rationale for different risk-adapted treatment*. Eur Urol, 1998. **33**(6): p. 562-6.
70. *Les anticancéreux*, in *Les Médicaments*, 2nd, Editor, Le Moniteur Internat.
71. Dorosz, P., *Guide pratique des médicaments*. 21th ed. 2001: Maloine.
72. Allain, P., *Les Médicaments*. 3rd ed. 2001: CdM Editions.
73. Goodman and Gilman, *Les bases pharmacologiques de l'utilisation des médicaments*. 9th ed. 1998: McGraw-Hill.
74. Katzung, B., *Pharmacologie fondamentale et clinique*. 7th ed. 2000: Piccin.
75. Peckham, M.J., et al., *The treatment of metastatic germ-cell testicular tumours with bleomycin, etoposide and cis-platin (BEP)*. Br J Cancer, 1983. **47**(5): p. 613-9.
76. Rowland, R.G., *Radiotherapy versus single-dose carboplatin in adjuvant treatment of stage I seminoma: a randomised trial*. Urol Oncol, 2006. **24**(2): p. 175.
77. Bose, R.N., *Biomolecular targets for platinum antitumor drugs*. Mini Rev Med Chem, 2002. **2**(2): p. 103-11.
78. Gietema, J.A., et al., *Circulating plasma platinum more than 10 years after cisplatin treatment for testicular cancer*. Lancet, 2000. **355**(9209): p. 1075-6.
79. Gelevert, T., et al., *Adsorptive voltametry to determine platinum levels in plasma from testicular cancer patients treated with cisplatin*. Ther Drug Monit, 2001. **23**(2): p. 169-73.
80. LeRoy, A.F., *Interactions of platinum metals and their complexes in biological systems*. Environ Health Perspect, 1975. **10**: p. 73-83.
81. Ohndorf, U.M., et al., *Binding to tsHMG, a mouse testis-specific HMG-domain protein, to cisplatin-DNA adducts*. Biochemistry, 1997. **36**(48): p. 14807-15.
82. Zlatanova, J., J. Yaneva, and S.H. Leuba, *Proteins that specifically recognize cisplatin-damaged DNA: a clue to anticancer activity of cisplatin*. Faseb J, 1998. **12**(10): p. 791-9.
83. Jordan, P. and M. Carmo-Fonseca, *Molecular mechanisms involved in cisplatin cytotoxicity*. Cell Mol Life Sci, 2000. **57**(8-9): p. 1229-35.
84. Rose, P.G., et al., *Concurrent cisplatin-based radiotherapy and chemotherapy for locally advanced cervical cancer*. New Engl J Med, 1999. **340**: p. 1144-1153.
85. Vichi, P., et al., *Cisplatin- and UV-damaged DNA lure the basal transcription factor TFIID/TBP*. Embo J, 1997. **16**(24): p. 7444-56.
86. Cece, R., et al., *An ultrastructural study of neuronal changes in dorsal root ganglia (DRG) of rats after chronic cisplatin administrations*. Histol Histopathol, 1995. **10**(4): p. 837-45.
87. Gallagher, W.M., et al., *Identification of p53 genetic suppressor elements which confer resistance to cisplatin*. Oncogene, 1997. **14**(2): p. 185-93.
88. Gong, J.G., et al., *The tyrosine kinase c-Abl regulates p73 in apoptotic response to cisplatin-induced DNA damage*. Nature, 1999. **399**(6738): p. 806-9.

89. Strasser, A., et al., *DNA damage can induce apoptosis in proliferating lymphoid cells via p53-independent mechanisms inhibitable by Bcl-2*. Cell, 1994. **79**(2): p. 329-39.
90. Sanchez-Perez, I., J.R. Murguia, and R. Perona, *Cisplatin induces a persistent activation of JNK that is related to cell death*. Oncogene, 1998. **16**(4): p. 533-40.
91. Ishibashi, T. and S.J. Lippard, *Telomere loss in cells treated with cisplatin*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1998. **95**(8): p. 4219-23.
92. Hollis, L.S., A.R. Amundsen, and E.W. Stern, *Chemical and biological properties of a new series of cis-diammineplatinum(II) antitumor agents containing three nitrogen donors: cis-[Pt(NH3)2(N-donor)Cl]+*. J Med Chem, 1989. **32**(1): p. 128-36.
93. Gill, I., et al., *Dose-escalation study of carboplatin (day 1) and cisplatin (day 3): tolerance and relation to leukocyte and buccal cell platinum--DNA adducts*. Ann Oncol, 1991. **2**(2): p. 115-21.
94. Blommaert, F.A., et al., *Drug-induced DNA modification in buccal cells of cancer patients receiving carboplatin and cisplatin combination chemotherapy, as determined by an immunocytochemical method: interindividual variation and correlation with disease response*. Cancer Res, 1993. **53**(23): p. 5669-75.
95. Duman, R.K., R.T. Heath, and R.N. Bose, *Inhibition of Escherichia coli DNA polymerase-I by the anti-cancer drug cis-diaminedichloroplatinum(II): what roles do polymerases play in cisplatin-induced cytotoxicity?* FEBS Lett, 1999. **455**(1-2): p. 49-54.
96. Wells, W.W., et al., *Interactions of platinum complexes with thioltransferase(glutaredoxin), in vitro*. Biochem Biophys Res Commun, 1991. **180**(2): p. 735-41.
97. Weijl, N.I., F.J. Cleton, and S. Osanto, *Free radicals and antioxidants in chemotherapy-induced toxicity*. Cancer Treat Rev, 1997. **23**(4): p. 209-40.
98. Gregg, R.W., et al., *Cisplatin neurotoxicity: the relationship between dosage, time, and platinum concentration in neurologic tissues, and morphologic evidence of toxicity*. J Clin Oncol, 1992. **10**(5): p. 795-803.
99. Bokemeyer, C., et al., *Analysis of risk factors for cisplatin-induced ototoxicity in patients with testicular cancer*. Br J Cancer, 1998. **77**(8): p. 1355-62.
100. van der Hulst, R.J., W.A. Dreschler, and N.A. Urbanus, *High frequency audiometry in prospective clinical research of ototoxicity due to platinum derivatives*. Ann Otol Rhinol Laryngol, 1988. **97**(2 Pt 1): p. 133-7.
101. Fjeldborg, P., J. Sorensen, and P.E. Helkjaer, *The long-term effect of cisplatin on renal function*. Cancer, 1986. **58**: p. 2214-2217.
102. Daugaard, G., N. Rossing, and M. Rorth, *Effects of cisplatin on different measures of glomerular function in the human kidney with special emphasis on high-dose*. Cancer Chemoth. Pharmacol., 1988. **21**: p. 163-167.
103. Hansen, S.W., et al., *Long-term effects on renal function and blood pressure of treatment with cisplatin, vinblastin, and bleomycin in patients with germ cell cancer*. J. clin. Oncol. , 1988. **6**: p. 1728-1731.
104. Hamilton, C.R., J.M. Bliss, and A. Horwich, *The late effects of cis-platinum on renal function*. Europ. J. Cancer clin. Oncol. , 1989. **25**: p. 185-189.
105. Macleod, P.M., C.J. Tyrell, and D.H. Keeling, *The effect of cisplatin on renal function in patients with testicular tumours*. Clin. Radiol., 1988. **39**(190-192).
106. Groth, S., et al., *Acute and long-term nephrotoxicity of cis-platinum in man*. Cancer Chemoth. Pharmacol., 1986. **17**(191-196).
107. Bisset, D., et al., *Long-term sequelae of treatment for testicular germ cell tumours*. Brit. J. Cancer, 1990. **62**: p. 655-659.
108. Osanto, S., et al., *Long-term effects of chemotherapy in patients with testicular cancer*. J. clin. Oncol., 1992. **10**(574-579).
109. Hartmann, J.T., et al., *Platinum organ toxicity and possible prevention in patients with testicular cancer*. Int J Cancer, 1999. **83**(6): p. 866-9.
110. Nichols, C.R., et al., *No evidence of acute cardiovascular complications of chemotherapy for testicular cancer: an analysis of the Testicular Cancer Intergroup Study*. J Clin Oncol, 1992. **10**(5): p. 760-5.
111. Meinardi, M.T., et al., *Long-term chemotherapy-related cardiovascular morbidity*. Cancer Treat Rev, 2000. **26**(6): p. 429-47.
112. Bokemeyer, C., et al., *Amifostine protects against early cisplatin-induced renal damage and enhances CD34+-cell numbers for PBSC*. Proc. Amer. Soc. clin. Oncol., 1997. **16**.
113. Moa, C., *Les anticancéreux*, in *Le moniteur internat Les médicaments*. 2002, Groupe Liaison SA.

114. Wang, J.C., *Interaction between DNA and an Escherichia coli protein omega*. J Mol Biol, 1971. **55**(3): p. 523-33.
115. *Mécanisme d'action des topoisomérases II*.
116. Liu, S.Y., et al., *Podophyllotoxin analogs: effects on DNA topoisomerase II, tubulin polymerization, human tumor KB cells, and their VP-16-resistant variants*. Mol Pharmacol, 1989. **36**(1): p. 78-82.
117. Pommier, Y., et al., *Sister chromatid exchanges, chromosomal aberrations, and cytotoxicity produced by antitumor topoisomerase II inhibitors in sensitive (DC3F) and resistant (DC3F/OHE) Chinese hamster cells*. Cancer Res, 1988. **48**(3): p. 512-6.
118. Zechiedrich, E.L., et al., *Double-stranded DNA cleavage/religation reaction of eukaryotic topoisomerase II: evidence for a nicked DNA intermediate*. Biochemistry, 1989. **28**(15): p. 6229-36.
119. Caporossi, D., et al., *Hypersensitivity of lymphoblastoid lines derived from ataxia telangiectasia patients to the induction of chromosomal aberrations by etoposide (VP-16)*. Mutat Res, 1993. **290**(2): p. 265-72.
120. Andersen, A.H., et al., *Strand specificity of the topoisomerase II mediated double-stranded DNA cleavage reaction*. Biochemistry, 1989. **28**(15): p. 6237-44.
121. Andoh, T. and R. Ishida, *Catalytic inhibitors of DNA topoisomerase II*. Biochim Biophys Acta, 1998. **1400**(1-3): p. 155-71.
122. Felix, C.A., et al., *Common region of ALL-1 gene disrupted in epipodophyllotoxin-related secondary acute myeloid leukemia*. Cancer Res., 1993. **53**(13): p. 2954-6.
123. Umezawa, H., *Bleomycin and other antitumor antibiotics of high molecular weight*. Antimicrobial Agents Chemother (Bethesda), 1965. **5**: p. 1079-85.
124. Sebt, S.M., J.C. DeLeon, and J.S. Lazo, *Purification, characterization, and amino acid composition of rabbit pulmonary bleomycin hydrolase*. Biochemistry, 1987. **26**(14): p. 4213-9.
125. Sebt, S.M. and J.S. Lazo, *Separation of the protective enzyme bleomycin hydrolase from rabbit pulmonary aminopeptidases*. Biochemistry, 1987. **26**(2): p. 432-7.
126. Du, M., et al., *H2-Ea deficiency is a risk factor for bleomycin-induced lung fibrosis in mice*. Cancer Res., 2004. **64**(19): p. 6835-9.
127. Adamson, I.Y. and D.H. Bowden, *The pathogenesis of bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice*. Am J Pathol, 1974. **77**(2): p. 185-97.
128. Bellmunt, J., et al., *Naifold capillary microscopy and bleomycin-induced vascular toxicity*. Cancer Invest, 1990. **8**(6): p. 641.
129. Mayer, F., et al., *Towards an understanding of the biological basis of response to cisplatin-based chemotherapy in germ-cell tumors*. Ann Oncol, 2003. **14**(6): p. 825-32.
130. Raghavan, D., et al., *Multiple atypical nevi: a cutaneous marker of germ cell tumors*. J Clin Oncol, 1994. **12**(11): p. 2284-7.
131. Logothetis, C.J., et al., *Cyclic chemotherapy with cyclophosphamide, doxorubicin and cisplatin plus vinblastine and bleomycin in advanced germinal tumors: results with 100 patients*. Am. J. Med., 1986. **81**(2): p. 219-228.
132. Bosl, G.J., et al., *Alternating cycles of etoposide plus cisplatin and VAB-6 in the treatment of poor-risk patients with germ cell tumors*. J. clin. Oncol., 1987. **5**(3): p. 436-440.
133. Yudkin, J.S., R.D. Forrest, and C.A. Jackson, *Microalbuminuria as a predictor of vascular disease in non-diabetic subjects. Islington diabetes survey*. Lancet, 1988. **2**(8610): p. 530-538.
134. Fossa, S.D., *Long-term sequelae after cancer therapy--survivorship after treatment for testicular cancer*. Acta Oncol, 2004. **43**(2): p. 134-41.
135. Travis, L.B., et al., *Treatment-associated leukemia following testicular cancer*. J Natl Cancer Inst, 2000. **92**(14): p. 1165-71.
136. de Wit, R., et al., *Importance of bleomycin in combination chemotherapy for good-prognosis testicular nonseminoma: a randomized study of the European Organization for Research and Treatment of Cancer Genitourinary Tract Cancer Cooperative Group*. J Clin Oncol, 1997. **15**(5): p. 1837-43.
137. Toner, G.C., et al., *Comparison of two standard chemotherapy regimens for good-prognosis germ-cell tumours: a randomised trial*. Australian and New Zealand Germ Cell Trial Group. Lancet, 2001. **357**(9258): p. 739-45.
138. Culine, S., et al., *The optimal chemotherapy regimen for good-risk metastatic non seminomatous germ cell tumors (MNSGCT) is 3 cycles of bleomycin, etoposide and cisplatin: Mature results of a randomized trial*. Proc Am Soc Clin Oncol 22: page 382, 2003 (abstr 1536), 2003. **22**: p. 382.

139. Kodagunta, G.V., et al., *Etoposide and cisplatin chemotherapy for metastatic good-risk germ cell tumors*. J Clin Oncol, 2005. **23**(36): p. 9290-4.
140. Courrière, P., *Physique et biophysique pharmaceutiques Biophysique sensorielle, biophysique de la matière, physique nucléaire*, ed. Abrégés. Vol. 2. 1990: Masson. 300.
141. Mazon, J.-J., T. Locoche, and A. Maugis, *Techniques d'irradiation des cancers*. 1992: Vigot. 332.
142. Michel-Langlet, P., Y. Raoul, and D. Martin, *Oncologie radiothérapique*. 1996: Masson.
143. Fossa, S.D., et al., *Optimal planning target volume for stage I testicular seminoma: A Medical Research Council randomized trial. Medical Research Council Testicular Tumor Working Group*. J Clin Oncol, 1999. **17**(4): p. 1146.
144. Sultanem, K., et al., *Para-aortic irradiation only appears to be adequate treatment for patients with Stage I seminoma of the testis*. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 1998. **40**(2): p. 455-9.
145. Bauman, G.S., et al., *Postoperative radiotherapy for Stage I/II seminoma: results for 212 patients*. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 1998. **42**(2): p. 313-7.
146. Bokemeyer, C. and H.J. Schmoll, *Treatment of testicular cancer and the development of secondary malignancies*. J Clin Oncol, 1995. **13**(1): p. 283-92.
147. Mieusset, R. and J. Parinaud, *Facteurs de régulation de la spermatogenèse*. Certificat de médecine et biologie de la reproduction. 2002-2003: Faculté de Médecine Toulouse-Purpan.
148. Luciano, V.S., et al., *Physiologie humaine Les mécanismes du fonctionnement de l'organisme*. 4th ed. 2004: Maloine.
149. Saez, J., et al., *Le contrôle des fonctions différenciées de la cellule de Leydig*. Médecine/sciences, 1995. **11**: p. 547-54.
150. Jouannet, P., *Cours de DESS - Biologie de la reproduction*. 2006.
151. Fuentes-Mascorro, G., H. Serrano, and A. Rosado, *Sperm chromatin*. Arch Androl, 2000. **45**(3): p. 215-25.
152. Gatewood, J.M., et al., *Sequence-specific packaging of DNA in human sperm chromatin*. Science, 1987. **236**(4804): p. 962-4.
153. Brewer, L., M. Corzett, and R. Balhorn, *Condensation of DNA by spermatid basic nuclear proteins*. J Biol Chem, 2002. **277**(41): p. 38895-900.
154. Laberge, R.M. and G. Boissonneault, *Chromatin remodeling in spermatids: a sensitive step for the genetic integrity of the male gamete*. Arch Androl, 2005. **51**(2): p. 125-33.
155. Balhorn, R., L. Brewer, and M. Corzett, *DNA condensation by protamine and arginine-rich peptides: analysis of toroid stability using single DNA molecules*. Mol Reprod Dev, 2000. **56**(2 Suppl): p. 230-4.
156. Spermon, J.R., J.A. Witjes, and L.A. Kiemeny, *Efficacy of routine follow-up after first-line treatment for testicular cancer*. World J Urol, 2004. **22**(4): p. 235-43.
157. Daugaard, G., P.M. Petersen, and M. Rorth, *Surveillance in stage I testicular cancer*. Apmis, 2003. **111**(1): p. 76-83; discussion 83-5.
158. von der Maase, H., et al., *Surveillance following orchidectomy for stage I seminoma of the testis*. Eur J Urol, 1993. **29 A**(14): p. 1931-4.
159. Francis, R., et al., *Surveillance for stage I testicular germ cell tumours: results and cost benefit analysis of management options*. Eur J Urol, 2000. **36**(15): p. 1925-32.
160. Duchesne, G.M., et al., *Orchidectomy alone for stage I seminoma of the testis*. Cancer, 1990. **65**(5): p. 115-8.
161. Warde, P. and M.A. Jewett, *Surveillance for stage I testicular seminoma. Is it a good option ?* Urol Clin Nort Am, 1998. **25**(3): p. 425-33.
162. Fossa, S.D., N. Aass, and O. Kaalhus, *Radiotherapy for testicular seminoma stage I: treatment results and long-term post-irradiation morbidity in 365 patients*. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 1989. **16**(2): p. 383-8.
163. Vallis, K.A., et al., *Radiotherapy for stages I and II testicular seminoma: results and morbidity in 238 patients*. Br J Radiol, 1995. **68**(808): p. 400-5.
164. Giacchetti, S., et al., *Treatment of stage I testis seminoma by radiotherapy: long-term results--a 30-year experience*. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 1993. **27**(1): p. 3-9.
165. Bamberg, M., et al., *Radiotherapy for stages I and IIA/B testicular seminoma*. Int J Cancer, 1999. **83**(6): p. 823-7.
166. Melchior, D., et al., *Long term results and morbidity of paraaortic compared with paraaortic and iliac adjuvant radiation in clinical stage I seminoma*. Anticancer Res, 2001. **21**(4B): p. 2989-93.



167. Andersen, A.G., et al., *High frequency of sub-optimal semen quality in an unselected population of young men.* Hum Reprod, 2000. **15**(2): p. 366-72.
168. Richthoff, J., et al., *Higher sperm counts in Southern Sweden compared with Denmark.* Hum Reprod, 2002. **17**(9): p. 2468-73.
169. Pectasides, D., et al., *Testicular function in patients with testicular cancer treated with bleomycin-etoposide-carboplatin (BEC(90)) combination chemotherapy.* Eur Urol, 2004. **45**(2): p. 187-93.
170. Pont, J. and W. Albrecht, *Fertility after chemotherapy for testicular germ cell cancer.* Fertil Steril, 1997. **68**(1): p. 1-5.
171. Scheiber, K. and G. Bartsch, *Exocrine and endocrine functions in patients with testicular tumors.* Prog Clin Biol Res, 1985. **203**: p. 715-24.
172. Carroll, P.R., et al., *Endocrine and exocrine profiles of men with testicular tumors before orchiectomy.* J Urol, 1987. **137**(3): p. 420-3.
173. Jewett, M.A., J.V. Thachil, and J.F. Harris, *Exocrine function of testis with germinal testicular tumour.* Br Med J (Clin Res Ed), 1983. **286**(6381): p. 1849-50.
174. Fritz, K. and L. Weissbach, *Sperm parameters and ejaculation before and after operative treatment of patients with germ-cell testicular cancer.* Fertil Steril, 1985. **43**(3): p. 451-4.
175. Horwich, A., et al., *Randomized trial of bleomycin, etoposide, and cisplatin compared with bleomycin, etoposide, and carboplatin in good-prognosis metastatic nonseminomatous germ cell cancer: a Multiinstitutional Medical Research Council/European Organization for Research and Treatment of Cancer Trial.* J Clin Oncol, 1997. **15**(5): p. 1844-52.
176. Nijman, J.M., et al., *Fertility and hormonal function in patients with a nonseminomatous tumor of the testis.* Arch Androl, 1985. **14**(2-3): p. 239-46.
177. Hansen, P.V., et al., *Germ cell function and hormonal status in patients with testicular cancer.* Cancer, 1989. **64**(4): p. 956-61.
178. Drasga, R.E., et al., *Fertility after chemotherapy for testicular cancer.* J Clin Oncol, 1983. **1**(3): p. 179-83.
179. Dearnaley, D.P., et al., *Combination chemotherapy with bleomycin, etoposide and cisplatin (BEP) for metastatic testicular teratoma: long-term follow-up.* Eur J Cancer, 1991. **27**(6): p. 684-91.
180. Petersen, P.M., et al., *Gonadal function in men with testicular cancer.* Semin Oncol, 1998. **25**(2): p. 224-33.
181. Botchan, A., et al., *Testicular cancer and spermatogenesis.* Hum Reprod, 1997. **12**(4): p. 755-8.
182. Berthelsen, J.G. and N.E. Skakkebaek, *Gonadal function in men with testis cancer.* Fertil Steril, 1983. **39**(1): p. 68-75.
183. Hallak, J., et al., *Sperm cryopreservation in patients with testicular cancer.* Urology, 1999. **54**(5): p. 894-9.
184. Kelleher, S., et al., *Long-term outcomes of elective human sperm cryostorage.* Hum Reprod, 2001. **16**(12): p. 2632-9.
185. Hoei-Hansen, C.E., et al., *Histological evidence of testicular dysgenesis in contralateral biopsies from 218 patients with testicular germ cell cancer.* J Pathol, 2003. **200**(3): p. 370-4.
186. Agarwal, A. and S.S. Allamaneni, *Disruption of spermatogenesis by the cancer disease process.* J Natl Cancer Inst Monogr, 2005(34): p. 9-12.
187. Ho, G.T., et al., *The effect of testicular nongerm cell tumors on local spermatogenesis.* Fertil Steril, 1994. **62**(1): p. 162-6.
188. Morrish, D.W., et al., *Mechanisms of endocrine dysfunction in patients with testicular cancer.* J Natl Cancer Inst, 1990. **82**(5): p. 412-8.
189. Hayashi, T., et al., *Suppression of spermatogenesis in ipsilateral and contralateral testicular tissues in patients with seminoma by human chorionic gonadotropin beta subunit.* Urology, 2001. **58**(2): p. 251-7.
190. Fox, H. and N.L. Reeve, *Endocrine effects of testicular neoplasms.* Invest Cell Pathol, 1979. **2**(2): p. 63-73.
191. Nakazumi, H., et al., *Estrogen metabolism and impaired spermatogenesis in germ cell tumors of the testis.* J Clin Endocrinol Metab, 1996. **81**(3): p. 1289-95.
192. Foster, R.S., et al., *Detection of antisperm-antibodies in patients with primary testicular cancer.* Int J Androl, 1991. **14**(3): p. 179-85.
193. Guazzieri, S., et al., *Sperm antibodies and infertility in patients with testicular cancer.* Urology, 1985. **26**(2): p. 139-42.

194. Meirow, D. and J.G. Schenker, *Cancer and male infertility*. Hum Reprod, 1995. **10**(8): p. 2017-22.
195. Bussen, S., et al., *Semen parameters in patients with unilateral testicular cancer compared to patients with other malignancies*. Arch Gynecol Obstet, 2004. **269**(3): p. 196-8.
196. Hendry, W.F., et al., *Semen analysis in testicular cancer and Hodgkin's disease: pre- and post-treatment findings and implications for cryopreservation*. Br J Urol, 1983. **55**(6): p. 769-73.
197. Fossa, S.D., T. Abylhom, and A. Aakvaag, *Spermatogenesis and hormonal status after orchidectomy for cancer and before supplementary treatment*. Eur Urol, 1984. **10**(3): p. 173-7.
198. Schwartz, D. and A. Laplanche, *Within-subject variability of human semen in regard to sperm count, volume, total number of spermatozoa and length of abstinence*. J Reprod Fertil, 1979. **57**(2): p. 391-5.
199. Auger, J., et al., *Conservation du sperme avant traitement anticancéreux. Une mesure efficace pour préserver les chances de conception future*. Contraception, Fertilité et Sex., 1993. **21**: p. 749-752.
200. Sibert, L., et al., *Semen cryopreservation after orchidectomy in men with testicular cancer*. BJU Int, 1999. **84**(9): p. 1038-42.
201. Hansen, S.W., J.G. Berthelsen, and H. von der Maase, *Long-term fertility and Leydig cell function in patients treated for germ cell cancer with cisplatin, vinblastine, and bleomycin versus surveillance*. J Clin Oncol, 1990. **8**(10): p. 1695-8.
202. Rowley, M.J., et al., *Effect of graded doses of ionizing radiation on the human testis*. Radiat Res, 1974. **59**(3): p. 665-78.
203. Howell, S.J. and S.M. Shalet, *Spermatogenesis after cancer treatment: damage and recovery*. J Natl Cancer Inst Monogr, 2005(34): p. 12-7.
204. Clifton, D.K. and W.J. Bremner, *The effect of testicular x-irradiation on spermatogenesis in man. A comparison with the mouse*. J Androl, 1983. **4**(6): p. 387-92.
205. Bachaud, J.M., C. Alzieu, and L. Bujan, *Effet de la radiothérapie sur la fonction testiculaire de l'adulte*. Andrologie, 1995. **5**(4): p. 476-485.
206. Meistrich, M.L. and M.E. van Beek, *Radiation sensitivity of the human testis*. Advances Radiat. Biol., 1990. **14**: p. 227-268.
207. Castillo, L.A., et al., *Gonadal function after 12-Gy testicular irradiation in childhood acute lymphoblastic leukemia*. Med. Pediatr Oncol., 1990. **18**(3): p. 185-9.
208. Dubey, P., et al., *Recovery of sperm production following radiation therapy for Hodgkin's disease after induction chemotherapy with mitoxantrone, vincristine, vinblastine, and prednisolone (NOVP)*. Int J Radiat Oncol Bio Biophys, 2000. **46**(3): p. 609-17.
209. Mydlo, J.H. and B. Lebed, *Does brachytherapy of the prostate affect sperm quality and/or fertility in younger men?* Scand J Urol Nephrol, 2004. **38**(3): p. 221-4.
210. Dym, M. and Y. Clermont, *Role of spermatogonia in the repair of the seminiferous epithelium following x-irradiation of the rat testis*. Am J Anat, 1970. **128**(3): p. 265-82.
211. Boekelheide, K., *Mechanisms of toxic damage to spermatogenesis*. J Natl Cancer Inst Monogr, 2005(34): p. 6-8.
212. Shetty, G., et al., *Gonadotropin-releasing hormone analogs stimulate and testosterone inhibits the recovery of spermatogenesis in irradiated rats*. Endocrinology, 2000. **141**(5): p. 1735-45.
213. Jacobsen, K.D., et al., *External beam abdominal radiotherapy in patients with seminoma stage I: field type, testicular dose, and spermatogenesis*. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 1997. **38**(1): p. 95-102.
214. Petersen, P.M., et al., *Dose-dependent impairment of testicular function in patients treated with cisplatin-based chemotherapy for germ cell cancer*. Ann Oncol, 1994. **5**(4): p. 355-8.
215. Bohlen, D., et al., *Fertility and sexual function following orchidectomy and 2 cycles of chemotherapy for stage I high risk nonseminomatous germ cell cancer*. J Urol, 2001. **165**(2): p. 441-4.
216. Fossa, S.D., et al., *Post-treatment fertility in patients with testicular cancer. III. Influence of radiotherapy in seminoma patients*. Br J Urol, 1986. **58**(3): p. 315-9.
217. Stahl, O., et al., *The impact of testicular carcinoma and its treatment on sperm DNA integrity*. Cancer, 2004. **100**(6): p. 1137-44.
218. Leitner, S.P., G.J. Bosl, and D. Bajorunas, *Gonadal dysfunction in patients treated for metastatic germ-cell tumors*. J Clin Oncol, 1986. **4**(10): p. 1500-5.
219. Meistrich, M.L., *Relationship between spermatogonial stem cell survival and testis function after cytotoxic therapy*. Br J Cancer Suppl, 1986. **7**: p. 89-101.

220. Aass, N., et al., *Prediction of long-term gonadal toxicity after standard treatment for testicular cancer*. Eur J Cancer, 1991. **27**(9): p. 1087-91.
221. Seaman, F., et al., *Cisplatin-induced pulse of germ cell apoptosis precedes long-term elevated apoptotic rates in C57/BL/6 mouse testis*. Apoptosis, 2003. **8**(1): p. 101-8.
222. Huyghe, E., et al., *Fertility after testicular cancer treatments: results of a large multicenter study*. Cancer, 2004. **100**(4): p. 732-7.
223. Reiter, W.J., et al., *Sperm analysis and serum follicle-stimulating hormone levels before and after adjuvant single-agent carboplatin therapy for clinical stage I seminoma*. Urology, 1998. **52**(1): p. 117-9.
224. Krause, W., *The significance of computer-assisted semen analysis (CASA) for diagnosis in andrology and fertility prognosis*. Int J Androl, 1995. **18 Suppl 2**: p. 32-5.
225. Nallella, K.P., et al., *Significance of sperm characteristics in the evaluation of male infertility*. Fertil Steril, 2006. **85**(3): p. 629-34.
226. Coetzee, K., T.F. Kruger, and C.J. Lombard, *Predictive value of normal sperm morphology: a structured literature review*. Hum Reprod Update, 1998. **4**(1): p. 73-82.
227. Lee, J., et al., *The Fas system is a key regulator of germ cell apoptosis in the testis*. Endocrinology, 1997. **138**(5): p. 2081-8.
228. Fiorini, C., et al., *Sertoli cell junctional proteins as early targets for different classes of reproductive toxicants*. Reprod Toxicol, 2004. **18**(3): p. 413-21.
229. Boekelheide, K., M.E. Arcila, and J. Eveleth, *cis-diamminedichloroplatinum (II) (cisplatin) alters microtubule assembly dynamics*. Toxicol Appl Pharmacol, 1992. **116**(1): p. 146-51.
230. Pogach, L.M., et al., *Characterization of cis-platinum-induced Sertoli cell dysfunction in rodents*. Toxicol Appl Pharmacol, 1989. **98**(2): p. 350-61.
231. Jegou, B., *The Sertoli-germ cell communication network in mammals*. Int Rev Cytol, 1993. **147**: p. 25-96.
232. Bartlett, J.M., J.B. Kerr, and R.M. Sharpe, *The effect of selective destruction and regeneration of rat Leydig cells on the intratesticular distribution of testosterone and morphology of the seminiferous epithelium*. J Androl, 1986. **7**(4): p. 240-53.
233. Maines, M.D., P.M. Sluss, and M. Iscan, *cis-platinum-mediated decrease in serum testosterone is associated with depression of luteinizing hormone receptors and cytochrome P-450scc in rat testis*. Endocrinology, 1990. **126**(5): p. 2398-406.
234. Nord, C., et al., *Gonadal hormones in long-term survivors 10 years after treatment for unilateral testicular cancer*. Eur Urol, 2003. **44**(3): p. 322-8.
235. Pont, J., et al., *Adjuvant chemotherapy for high-risk clinical stage I nonseminomatous testicular germ cell cancer: long-term results of a prospective trial*. J Clin Oncol, 1996. **14**(2): p. 441-8.
236. Hansen, P.V. and S.W. Hansen, *Gonadal function in men with testicular germ cell cancer: the influence of cisplatin-based chemotherapy*. Eur Urol, 1993. **23**(1): p. 153-6.
237. DeSantis, M., et al., *Impact of cytotoxic treatment on long-term fertility in patients with germ-cell cancer*. Int J Cancer, 1999. **83**(6): p. 864-5.
238. Brauner, R., et al., *Leydig-cell function in children after direct testicular irradiation for acute lymphoblastic leukemia*. N Engl J Med, 1983. **309**(1): p. 25-8.
239. Shalet, S.M., et al., *Vulnerability of the human Leydig cell to radiation damage is dependent upon age*. J Endocrinol, 1989. **120**(1): p. 161-5.
240. Izard, M.A., *Leydig cell function and radiation: a review of the literature*. Radiother Oncol, 1995. **34**(1): p. 1-8.
241. Kinsella, T.J., *Effects of radiation therapy and chemotherapy on testicular function*. Prog Clin Biol Res, 1989. **302**: p. 157-71; discussion 172-7.
242. Sklar, C.A., et al., *Effects of radiation on testicular function in long-term survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: a report from the Children Cancer Study Group*. J Clin Oncol, 1990. **8**(12): p. 1981-7.
243. Shapiro, E., et al., *Effects of fractionated irradiation of endocrine aspects of testicular function*. J Clin Oncol, 1985. **3**(9): p. 1232-9.
244. Teerds, K.J., et al., *Proliferation and differentiation of possible Leydig cell precursors after destruction of the existing Leydig cells with ethane dimethyl sulphonate: the role of LH/human chorionic gonadotrophin*. J Endocrinol, 1989. **122**(3): p. 689-96.
245. Huhtaniemi, I. and L.J. Pelliniemi, *Fetal Leydig cells: cellular origin, morphology, life span, and special functional features*. Proc Soc Exp Biol Med, 1992. **201**(2): p. 125-40.

246. Giwercman, A., et al., *Localized irradiation of testes with carcinoma in situ: effects on Leydig cell function and eradication of malignant germ cells in 20 patients.* J Clin Endocrinol Metab, 1991. **73**(3): p. 596-603.
247. van Basten, J.P., et al., *Sexual dysfunction in nonseminoma testicular cancer patients is related to chemotherapy-induced angiopathy.* J Clin Oncol, 1997. **15**(6): p. 2442-8.
248. Witt, K.L. and J.B. Bishop, *Mutagenicity of anticancer drugs in mammalian germ cells.* Mutat Res, 1996. **355**(1-2): p. 209-34.
249. Dubrova, Y.E., et al., *Human minisatellite mutation rate after the Chernobyl accident.* Nature, 1996. **380**(6576): p. 683-6.
250. May, C.A., et al., *Minisatellite mutation frequency in human sperm following radiotherapy.* Mutat Res, 2000. **453**(1): p. 67-75.
251. Kamiguchi, Y. and H. Tateno, *Radiation- and chemical-induced structural chromosome aberrations in human spermatozoa.* Mutat Res, 2002. **504**(1-2): p. 183-91.
252. Kamiguchi, Y., et al., *Chromosome analysis of human spermatozoa exposed to antineoplastic agents in vitro.* Mutat Res, 1995. **326**(2): p. 185-92.
253. Kafer, E., *Botran and bleomycin induce crossing-over, and bleomycin also increases aneuploidy in diploid strains of Aspergillus.* Mutat Res, 1990. **241**(1): p. 49-66.
254. Higdon, R.E., et al., *The effects of cisplatin on murine metaphase II oocytes.* Gynecol Oncol, 1992. **47**(3): p. 348-52.
255. Mailhes, J.B., et al., *Preferential pericentric lesions and aneuploidy induced in mouse oocytes by the topoisomerase II inhibitor etoposide.* Teratog Carcinog Mutagen, 1994. **14**(1): p. 39-51.
256. Rudak, E., P.A. Jacobs, and R. Yanagimachi, *Direct analysis of the chromosome constitution of human spermatozoa.* Nature, 1978. **274**(5674): p. 911-3.
257. Martin, R., *Human sperm chromosome complements in chemotherapy patients and infertile men.* Chromosoma, 1998. **107**(6-7): p. 523-7.
258. Adler, I.D. and A. el Tarras, *Clastogenic effects of cis-diamminedichloroplatinum. II. Induction of chromosomal aberrations in primary spermatocytes and spermatogonial stem cells of mice.* Mutat Res, 1990. **243**(3): p. 173-8.
259. Thomas, C., et al., *No long-term increase in sperm aneuploidy rates after anticancer therapy: sperm fluorescence in situ hybridization analysis in 26 patients treated for testicular cancer or lymphoma.* Clin Cancer Res, 2004. **10**(19): p. 6535-43.
260. De Mas, P., et al., *Increased aneuploidy in spermatozoa from testicular tumour patients after chemotherapy with cisplatin, etoposide and bleomycin.* Hum Reprod, 2001. **16**(6): p. 1204-8.
261. Haines, G.A., et al., *Germ cell and dose-dependent DNA damage measured by the comet assay in murine spermatozoa after testicular X-irradiation.* Biol Reprod, 2002. **67**(3): p. 854-61.
262. Singh, N.P., et al., *Abundant alkali-sensitive sites in DNA of human and mouse sperm.* Exp Cell Res, 1989. **184**(2): p. 461-70.
263. Hughes, C.M., V.J. McKelvey-Martin, and S.E. Lewis, *Human sperm DNA integrity assessed by the Comet and ELISA assays.* Mutagenesis, 1999. **14**(1): p. 71-5.
264. Chatterjee, R., et al., *Testicular and sperm DNA damage after treatment with fludarabine for chronic lymphocytic leukaemia.* Hum Reprod, 2000. **15**(4): p. 762-6.
265. Schlegel, P.N. and D.A. Paduch, *Yet another test of sperm chromatin structure.* Fertil Steril, 2005. **84**(4): p. 854-9.
266. Agarwal, A., S. Prabakaran, and S. Allamaneni, *What an andrologist/urologist should know about free radicals and why.* Urology, 2006. **67**(1): p. 2-8.
267. Said, T.M., et al., *Role of caspases in male infertility.* Hum Reprod Update, 2004. **10**(1): p. 39-51.
268. Weijl, N.I., et al., *Supplementation with antioxidant micronutrients and chemotherapy-induced toxicity in cancer patients treated with cisplatin-based chemotherapy: a randomised, double-blind, placebo-controlled study.* Eur J Cancer, 2004. **40**(11): p. 1713-23.
269. Muller, D.P., J.K. Lloyd, and O.H. Wolff, *Vitamin E and neurological function.* Lancet, 1983. **1**(8318): p. 225-8.
270. Pace, A., et al., *Neuroprotective effect of vitamin E supplementation in patients treated with cisplatin chemotherapy.* J Clin Oncol, 2003. **21**(5): p. 927-31.
271. Saleh, R.A., et al., *Negative effects of increased sperm DNA damage in relation to seminal oxidative stress in men with idiopathic and male factor infertility.* Fertil Steril, 2003. **79** Suppl 3: p. 1597-605.
272. Agarwal, A. and T.M. Said, *Role of sperm chromatin abnormalities and DNA damage in male infertility.* Hum Reprod Update, 2003. **9**(4): p. 331-45.

273. Koizumi, T. and Z.G. Li, *Role of oxidative stress in single-dose, cadmium-induced testicular cancer*. J Toxicol Environ Health, 1992. **37**(1): p. 25-36.
274. Kodama, H., et al., *Increased oxidative deoxyribonucleic acid damage in the spermatozoa of infertile male patients*. Fertil Steril, 1997. **68**(3): p. 519-24.
275. Fraga, C.G., et al., *Ascorbic acid protects against endogenous oxidative DNA damage in human sperm*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1991. **88**(24): p. 11003-6.
276. Bieri, S., M. Rouzaud, and R. Miralbell, *Seminoma of the testis: is scrotal shielding necessary when radiotherapy is limited to the para-aortic nodes?* Radiother Oncol, 1999. **50**(3): p. 349-53.
277. Andrieu, M.N., et al., *In vivo study to evaluate the protective effects of amifostine on radiation-induced damage of testis tissue*. Oncology, 2005. **69**(1): p. 44-51.
278. Schrader, M., et al., *"Onco-tese": testicular sperm extraction in azoospermic cancer patients before chemotherapy-new guidelines?* Urology, 2003. **61**(2): p. 421-5.
279. Kangasniemi, M., I. Huhtaniemi, and M.L. Meistrich, *Failure of spermatogenesis to recover despite the presence of a spermatogonia in the irradiated LBNF1 rat*. Biol Reprod, 1996. **54**(6): p. 1200-8.
280. Meistrich, M.L., *Restoration of spermatogenesis by hormone treatment after cytotoxic therapy*. Acta Paediatr Suppl, 1999. **88**(433): p. 19-22.
281. Meistrich, M.L. and M. Kangasniemi, *Hormone treatment after irradiation stimulates recovery of rat spermatogenesis from surviving spermatogonia*. J Androl, 1997. **18**(1): p. 80-7.
282. Meistrich, M.L., G. Wilson, and I. Huhtaniemi, *Hormonal treatment after cytotoxic therapy stimulates recovery of spermatogenesis*. Cancer Res, 1999. **59**(15): p. 3557-60.
283. Schurmeyer, T., et al., *Suppression of pituitary and testicular function in normal men by constant gonadotropin-releasing hormone agonist infusion*. J Clin Endocrinol Metab, 1984. **59**(1): p. 19-24.
284. Brinster, R.L. and M.R. Avarbock, *Germline transmission of donor haplotype following spermatogonial transplantation*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1994. **91**(24): p. 11303-7.
285. Brinster, R.L. and J.W. Zimmermann, *Spermatogenesis following male germ-cell transplantation*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1994. **91**(24): p. 11298-302.
286. Nagano, M., et al., *Culture of mouse spermatogonial stem cells*. Tissue Cell, 1998. **30**(4): p. 389-97.
287. Clouthier, D.E., et al., *Rat spermatogenesis in mouse testis*. Nature, 1996. **381**(6581): p. 418-21.
288. Schlatt, S., et al., *Germ cell transfer into rat, bovine, monkey and human testes*. Hum Reprod, 1999. **14**(1): p. 144-50.
289. Jahnukainen, K., et al., *Intratesticular transplantation of testicular cells from leukemic rats causes transmission of leukemia*. Cancer Res, 2001. **61**(2): p. 706-10.
290. von Schonfeldt, V., et al., *Magnetic cell sorting is a fast and effective method of enriching viable spermatogonia from Djungarian hamster, mouse, and marmoset monkey testes*. Biol Reprod, 1999. **61**(3): p. 582-9.
291. Tesarik, J., et al., *Differentiation of spermatogenic cells during in-vitro culture of testicular biopsy samples from patients with obstructive azoospermia: effect of recombinant follicle stimulating hormone*. Hum Reprod, 1998. **13**(10): p. 2772-81.
292. Tesarik, J., et al., *Restoration of fertility by in-vitro spermatogenesis*. Lancet, 1999. **353**(9152): p. 555-6.
293. Lee, D.R., M.T. Kaproth, and J.E. Parks, *In vitro production of haploid germ cells from fresh or frozen-thawed testicular cells of neonatal bulls*. Biol Reprod, 2001. **65**(3): p. 873-8.
294. Ogura, A., K. Inoue, and J. Matsuda, *Mouse spermatid nuclei can support full term development after premature chromosome condensation within mature oocytes*. Hum Reprod, 1999. **14**(5): p. 1294-8.
295. Fishel, S., et al., *Pregnancy after intracytoplasmic injection of spermatid*. Lancet, 1995. **345**(8965): p. 1641-2.
296. Tesarik, J., C. Mendoza, and J. Testart, *Viable embryos from injection of round spermatids into oocytes*. N Engl J Med, 1995. **333**(8): p. 525.
297. Sofikitis, N., et al., *Ooplasmic injections of secondary spermatocytes for non-obstructive azoospermia*. Lancet, 1998. **351**(9110): p. 1177-8.
298. Sasagawa, I., et al., *Mouse primary spermatocytes can complete two meiotic divisions within the oocyte cytoplasm*. Biol Reprod, 1998. **58**(1): p. 248-54.
299. Schoysman, R., et al., *Oocyte insemination with spermatozoa precursors*. Curr Opin Urol, 1999. **9**(6): p. 541-5.

300. Vanderzwalmen, P., et al., *Is there a future for spermatid injections?* Hum Reprod, 1998. **13 Suppl 4**: p. 71-84.
301. Zech, H., et al., *Congenital malformations after intracytoplasmic injection of spermatids.* Hum Reprod, 2000. **15**(4): p. 969-71.
302. Hartlapp, J.M., K.M. Bensing, and R. Voss, *Long-term impairments of the gonadal function after cisplatin-based chemotherapy in 140 patients with testicular cancer.* Proc Am Soc Clin Oncol 1990. **9**(133).
303. Aass, N. and S.D. Fossa, *Late side effects in patients treated for testicular cancer.* Adv Biosciences, 1994. **91**: p. 337-43.
304. Lampe, H., et al., *Fertility after chemotherapy for testicular germ cell cancers.* J Clin Oncol, 1997. **15**(1): p. 239-45.
305. Ishikawa, T., S. Kamidono, and M. Fujisawa, *Fertility after high-dose chemotherapy for testicular cancer.* Urology, 2004. **63**(1): p. 137-40.

# TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION .....	page 13
<b>I. GENERALITES SUR LE CANCER GERMINAL DU TESTICULE</b> .....	page 15
1. Données épidémiologiques.....	page 15
2. Caractères histologiques des tumeurs germinales testiculaires.....	page 19
2.1. Les tumeurs germinales non séminomateuses.....	page 20
2.2. Le séminome gonio.....	page 21
3. Diagnostic.....	page 21
3.1. Présentation clinique.....	page 21
3.1.1. La forme typique.....	page 21
3.1.2. Les bourses aiguës.....	page 21
3.1.3. Autres formes cliniques.....	page 22
3.2. Le diagnostic échographique.....	page 22
3.3. L'exploration chirurgicale.....	page 22
3.4. Le diagnostic biologique.....	page 22
3.4.1. $\alpha$ foeto-protéine (AFP).....	page 23
3.4.2. L'hormone chorio-gonadotrophine humaine (hCG).....	page 23
3.4.3. Les lactico-déshydrogénases.....	page 24
3.4.4. Les autres marqueurs biologiques.....	page 24
3.4.4.1. La phosphatase alcaline placentaire.....	page 24
3.4.4.2. La neurone spécifique éolase.....	page 24
3.4.5. Intérêt du dosage des marqueurs tumoraux.....	page 24
3.5. Autres examens à visée diagnostique.....	page 25
4. Classification des tumeurs germinales du testicule.....	page 25
4.1. Classification de WHO.....	page 25
4.2. Classification RMH.....	page 26
4.3. Système TNM.....	page 27
4.4. Classification AJCC/UICC.....	page 28
4.5. Classification IGCCCG pour les tumeurs métastatiques.....	page 28
5. Histoire naturelle du cancer germinale testiculaire.....	page 29
5.1. La néoplasie intra-épithéliale du testicule (TIN).....	page 29
5.2. Hypothèses carcino-génétiques.....	page 29
5.3. Le développement de la tumeur.....	page 30
<b>II. MODALITES DE TRAITEMENT DES TUMEURS GERMINALES TESTICULAIRES</b> .....	page 32
1. Arsenal thérapeutique.....	page 32

1.1. La chirurgie.....	page 32
1.1.1. L'orchidectomie.....	page 32
1.1.2. Le curage ganglionnaire.....	page 33
1.2. La surveillance exclusive.....	page 33
1.3. La chimiothérapie.....	page 33
1.4. La radiothérapie .....	page 34
1.5. Autres traitements .....	page 34
2. La chimiothérapie.....	page 34
2.1. Le cisplatine.....	page 35
2.1.1. Historique.....	page 35
2.1.2. Structure.....	page 35
2.1.3. Données pharmacocinétiques.....	page 36
2.1.4. Mécanisme d'action.....	page 37
2.1.4.1. Interactions du cisplatine dans la cellule.....	page 37
2.1.4.2. Le mécanisme d'action du cisplatine.....	page 40
2.1.5. Les effets secondaires.....	page 42
2.1.5.1. Les effets à court terme.....	page 42
2.1.5.2. Les effets à long terme .....	page 43
2.1.6. Les indications.....	page 43
2.1.7. Les précautions d'emploi.....	page 44
2.1.8. Les spécialités.....	page 44
2.2. L'étoposide.....	page 44
2.2.1. Structure .....	page 44
2.2.2. Données pharmacocinétiques.....	page 45
2.2.3. Les ADN topoisomérases II.....	page 45
2.2.4. Mécanisme d'action .....	page 46
2.2.5. Les effets secondaires.....	page 47
2.2.5.1. Les effets secondaires précoces.....	page 47
2.2.5.2. Les effets secondaires tardifs.....	page 47
2.2.6. Les Indications.....	page 48
2.2.7. Spécialités.....	page 48
2.3. La bléomycine.....	page 48
2.3.1. Structure et origine.....	page 48
2.3.2. Données pharmacocinétiques.....	page 49
2.3.3. Mécanisme d'action.....	page 50
2.3.4. Effets secondaires.....	page 50
2.3.5. Précautions d'emploi.....	page 51
2.3.6. Indications.....	page 51
2.3.7. Posologie.....	page 51
2.4. Le protocole BEP.....	page 51
3. La radiothérapie.....	page 54
3.1. Généralités sur les ondes.....	page 54
3.1.1. Propriétés des photons.....	page 54
3.1.2. Origine des photons de haute énergie.....	page 54
3.1.2.1. Les photons $\gamma$ .....	page 54



3.1.2.2. Les photons X .....	page 55
3.2. Mode d'action des photons de haute énergie.....	page 55
3.2.1. Etape physique.....	page 56
3.2.1.1. Production des électrons.....	page 56
3.2.1.2. Interactions des électrons avec la matière.....	page 57
3.2.2. Etape chimique.....	page 57
3.2.2.1. Mécanismes biochimiques.....	page 57
3.2.2.2. Conséquences biologiques.....	page 58
3.2.2.2.1. Au niveau membranaire.....	page 58
3.2.2.2.2. Au niveau de l'ADN.....	page 58
3.2.2.2.3. Au niveau des chromosomes.....	page 59
3.2.2.2.4. Au niveau cellulaire.....	page 59
3.3. Les effets secondaires.....	page 59
3.3.1. Les effets précoces.....	page 60
3.3.2. Les effets retardés.....	page 60
3.4. Protocole d'irradiation des séminomes.....	page 61
3.4.1. Séminome de stade I.....	page 61
3.4.2. Séminome de stade IIa et IIb.....	page 61
3.4.3. Technique d'irradiation.....	page 61

### III. PHYSIOLOGIE DE LA SPERMATOGENESE .....

1. Rappels anatomiques.....	page 61
2. Localisation de la spermatogenèse.....	page 62
2.1. Les testicules.....	page 62
2.2. Les tubules séminifères.....	page 64
2.2.1. La paroi des tubules.....	page 64
2.2.2. L'épithélium séminifère.....	page 64
2.2.2.1. Les cellules de Sertoli.....	page 64
2.2.2.2. Les cellules germinales.....	page 66
2.3. Les cellules de Leydig.....	page 66
3. La production des spermatozoïdes.....	page 67
3.1. La spermatogenèse.....	page 67
3.1.1. La prolifération mitotique.....	page 67
3.1.1.1. Les cellules germinales souches.....	page 67
3.1.1.2. Les spermatogonies.....	page 67
3.1.2. La division méiotique.....	page 68
3.1.2.1. Les spermatocytes primaires.....	page 68
3.1.2.2. Les spermatocytes secondaires.....	page 70
3.1.3. La spermiogenèse.....	page 70
3.2. La spermiation.....	page 71
3.3. Notion de cycle de l'épithélium séminifère.....	page 72
4. La maturation des spermatozoïdes.....	page 73

5. La régulation de la spermatogenèse.....	page 74
5.1. La régulation endocrine.....	page 74
5.2. La régulation paracrine.....	page 76
5.2.1. La régulation paracrine du tubule séminifère.....	page 76
5.2.2. La régulation paracrine des cellules de Leydig.....	page 76
5.3. La régulation vasculaire.....	page 76
5.4. La régulation thermique.....	page 76
6. Le spermatozoïde, une organisation nucléaire spécifique.....	page 77

#### IV. NOTRE ETUDE.....page 79

1. Matériel et méthode.....	page 79
1.1. Population étudiée.....	page 80
1.2. Les facteurs de risque.....	page 81
1.2.1. Les facteurs de risque de cancer testiculaire.....	page 81
1.2.2. Les facteurs de risque d'infertilité.....	page 81
1.2.2.1. Les facteurs de risque direct.....	page 81
1.2.2.2. Les facteurs de risque indirect.....	page 82
1.3. Les spermogrammes.....	page 83
1.4. Analyses statistiques.....	page 83
2. Nos résultats.....	page 84
2.1. Descriptif de la population.....	page 84
2.1.1. Propriétés générales.....	page 84
2.1.2. Facteurs de risque de cancer testiculaire.....	page 86
2.1.3. Traitement.....	page 87
2.1.3.1. Groupe des séminomes.....	page 87
2.1.3.2. Groupes des TGNS.....	page 88
2.1.4. Devenir des patients.....	page 89
2.1.5. Les spermogrammes.....	page 91
2.2. Etude de la qualité de l'éjaculat de la première et de la seconde autoconservation.....	page 91
2.3. Comparaison des spermogrammes avant et après orchidectomie.....	page 92
2.3.1. Etude des spermogrammes réalisés exclusivement avant et après orchidectomie.....	page 92
2.3.2. Etude des spermogrammes des 51 patients venus avant et après orchidectomie.....	page 94
2.4. Comparaison de la qualité des spermogrammes des patients atteints par un TGNS ou par un séminome avant traitement cytotoxique.....	page 97
2.4.1. Description de la population « séminome ».....	page 97
2.4.1.1. Population avec une numération normale.....	page 97

2.4.1.2.	Population oligosperme modérée.....	page 98
2.4.1.3.	Population oligosperme sévère.....	page 99
2.4.1.4.	Population azoosperme.....	page 100
2.4.2.	Description de la population « TGNS ».....	page 100
2.4.2.1.	Population avec une numération normale.....	page 100
2.4.2.2.	Population oligosperme modérée.....	page 101
2.4.2.3.	Population oligosperme sévère.....	page 102
2.4.2.4.	Population azoosperme.....	page 103
2.4.3.	Comparaison des spermogrammes TGNS/Séminomes.....	page 103
2.5.	Etude de la récupération spermatique après chimiothérapie ou radiothérapie.....	page 104
2.5.1.	Description de la population contrôle.....	page 105
2.5.1.1.	Population « chimiothérapie contrôle ».....	page 105
2.5.1.2.	Population « radiothérapie contrôle ».....	page 107
2.5.2.	Cinétique de la récupération de la spermatogenèse.....	page 109
2.5.2.1.	Population « radiothérapie contrôle ».....	page 110
2.5.2.2.	Population « chimiothérapie contrôle ».....	page 111
2.5.3.	Comparaison des spermogrammes dans chaque population, en fonction du délai post traitement.....	page 112
2.5.3.1.	De 0 à 6 mois post-traitement.....	page 112
2.5.3.2.	De 6 à 12 mois post-traitement.....	page 114
2.5.3.3.	De 12 à 24 mois post-traitement.....	page 116
2.5.3.4.	Plus de 24 mois après la fin du traitement.....	page 119
2.5.4.	Comparaison des spermogrammes des deux populations, en fonction du délai post-traitement.....	page 121
2.5.4.1.	De 0 à 6 mois post-traitement.....	page 121
2.5.4.2.	De 6 à 12 mois post-traitement.....	page 123
2.5.4.3.	De 12 à 24 mois post-traitement.....	page 125
2.5.4.4.	Plus de 24 mois après la fin du traitement.....	page 127
2.6.	Calcul du pourcentage global de récupération de la spermatogenèse.....	page 131

V.	DISCUSSION.....	page 132
1.	Limites de notre étude.....	page 132
2.	Nos résultats.....	page 133
2.1.	Discussion sur la population étudiée.....	page 133
2.1.1.	Aspect épidémiologique.....	page 133
2.1.1.1.	Aspect histologique.....	page 133
2.1.1.2.	Devenir des patients.....	page 134
2.1.1.3.	Les facteurs de risque.....	page 135
2.1.2.	Etat de la spermatogenèse avant induction des traitements cytotoxiques.....	page 137
2.2.	Impact de l'orchidectomie sur la qualité des éjaculats.....	page 141

2.3.	Etude de la spermatogenèse après traitement cytotoxique.....	page 144
2.3.1.	Les effets de la radiothérapie sur la spermatogenèse.....	page 144
2.3.2.	Les effets de la chimiothérapie sur la spermatogenèse.....	page 147
2.3.3.	Nos résultats.....	page 148
2.3.3.1.	Analyse statistique globale de nos résultats.....	page 148
2.3.3.2.	Analyse descriptive de nos résultats.....	page 150
2.3.3.2.1.	Amélioration de certains spermogrammes après traitement.....	page 150
2.3.3.2.2.	Dégradation de certains spermogrammes après traitement.....	page 151
2.3.3.2.3.	Conclusion.....	page 153
3.	Autres analyses à développer pour améliorer les connaissances sur les effets secondaires gonadiques des traitements anti-cancéreux.....	page 156
3.1.	Le spermocytogramme.....	page 156
3.2.	Etude de l'impact des traitements cytotoxiques sur l'environnement testiculaire.....	page 157
3.2.1.	Effets de la chimiothérapie.....	page 157
3.2.2.	Effets de la radiothérapie.....	page 159
3.3.	Etude de l'effet des traitements anti-cancéreux sur le génome des spermatozoïdes.....	page 162
3.3.1.	Etude de l'aneuploïdie.....	page 163
3.3.2.	Les mutations chromosomiques.....	page 164
3.3.3.	Effets des traitements anti-cancéreux sur la structure du génome des spermatozoïdes.....	page 164
3.3.3.1.	Technique SCSA.....	page 165
3.3.3.2.	Technique TUNEL.....	page 166
3.3.3.3.	Technique Comet Assay.....	page 166
3.3.3.4.	Autres techniques.....	page 166
3.4.	Impact des traitements sur les anti-oxydants cellulaires.....	page 167
4.	Comment préserver la fertilité des patients traités par des cytotoxiques.....	page 170
4.1.	Protection de la spermatogenèse.....	page 170
4.2.	La ponction testiculaire et épидидymaire.....	page 171
4.3.	Les traitements hormonaux.....	page 172
4.4.	La cryopréservation tissulaire.....	page 174
4.5.	Autres voies de recherche.....	page 175

V.	CONCLUSION.....	page 177
----	-----------------	----------

ANNEXES.....	page 179
--------------	----------

BIBLIOGRAPHIE.....	page 188
--------------------	----------

## SERMENT DE GALIEN

Je jure en présence de mes Maîtres de la Faculté et de mes condisciples :

- d'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;
- d'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;
- de ne jamais oublier ma responsabilité, mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères, si j'y manque.

BON A IMPRIMER N° 308

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE

Vu, le Doyen de la Faculté

VU et PERMIS D'IMPRIMER

LE PRÉSIDENT DE L'UNIVERSITÉ

## RESUME

En six ans, 306 patients avec tumeur germinale testiculaire sont venus au CECOS Midi-Pyrénées, pour auto-conservation de sperme avant chimiothérapie ou radiothérapie. Ces traitements sont susceptibles d'endommager durablement la spermatogenèse de ces patients jeunes, en âge d'être pères. Nous nous sommes intéressés à la production des spermatozoïdes, avant et après thérapie cytotoxique, grâce à l'étude des spermogrammes. Au moment du diagnostic, nous avons remarqué une altération de la spermatogenèse, quelle que soit la nature histologique de la tumeur, quel que soit le moment de la conservation par rapport à la date de l'orchidectomie. Toutefois, après chirurgie, la qualité spermatique s'améliore ou se dégrade chez certains patients. Pour apprécier l'impact des radiations et du protocole BEP sur la gamétogenèse, nous avons étudié après thérapie, les paramètres spermatiques de 44 hommes traités pour TGNS et 52 traités pour séminome. La concentration spermatique s'effondre dans la première année (chute plus précoce si BEP), puis réaugmente progressivement. Plus de 2 ans après la fin du traitement, dans les 2 groupes, la qualité des éjaculats est égale ou supérieure à celle des auto-conservations ; les patients traités pour TGNS ont des spermatozoïdes quantitativement meilleurs 2 ans après la chimiothérapie. Il faut cependant remarquer que dans chaque groupe, des hommes voient leur numération spermatique baisser. Il est important d'inciter à la cryo-conservation de sperme avant traitement. Dans l'avenir, d'autres analyses devront être envisagées pour étudier l'impact gonadotoxique des traitements, notamment leurs effets sur le génome.

**MOTS CLES:** tumeur germinale testiculaire, radiothérapie, BEP, gonadotoxicité, spermatogenèse

### TITRE EN ANGLAIS:

Reproductive biology and testicular germinal cancer : review of 306 cases at CECOS Midi-Pyrenees between 1997 and 2004

Directeur de thèse: Docteur Myriam DAUDIN, CECOS Midi-Pyrénées, Service d'Urologie-Andrologie, CHU Paule de Viguié, 330 avenue de Grande Bretagne, 31059 Toulouse CEDEX 9