

Protection gonadique contre les effets iatrogènes des traitements anticancéreux : données expérimentales

J.F. VELEZ DE LA CALLE*, M. BEN HASSEL**, B. JEGOU***

* *Clinique Pasteur, Unité F.I.V., 34, rue du Moulin à Poudre, 29200 Brest, France ;*

Centre de Lutte contre le Cancer Eugène Marquis, Rue de la Bataille Flandre-Dunkerque, BP 6279, 35062 Rennes Cedex, et* *GERM-INSERM U. 435, France ; GERM-INSERM U.*

435, Université de Rennes 1, Campuse Beaulieu, 35042 Rennes Cedex, France

RESUME

Les agents cytotoxiques utilisés dans les thérapies anticancéreuses induisent de graves et durables dysfonctionnements de la fonction de reproduction chez des individus jeunes. En dehors de mesures prophylactiques (cryopréservation des spermatozoïdes avant traitements, les écrans en cas d'irradiation et l'utilisation d'agents moins cytotoxiques pour la spermatogenèse), l'utilisation d'agents protecteurs s'avère nécessaire. Expérimentalement de nombreux agents anti-oxydants et des hormones de natures diverses ont été utilisés afin de tenter de préserver ou de limiter les effets délétères des agents antimitotiques. Parmi ceux-ci, certains analogues de la GnRH, la FSH et des stéroïdes, dont l'association d'acétate de médroxyprogestérone (MPA) et testostérone (T), ont fait l'objet d'un nombre important d'études chez l'animal, ces études ayant parfois produit des résultats très encourageants. Les progrès réalisés dans l'expérimentation animale devraient, dans un délai pas trop lointain, ouvrir la voie à des transferts à l'homme.

Mots Clés : traitements anticancéreux, protection testiculaire, stéroïdes, FSH, GnRH, anti-oxydants, cytotoxicité, génotoxicité, fertilité mâle.

INTRODUCTION

Dans le cadre de traitements anticancéreux chez des hommes jeunes à bon pronostic, des effets iatrogènes concernant la fonction de reproduction sont observés très fréquemment. En effet, le testicule présente une vulnérabilité très importante vis à vis des agents antimitotiques utilisés lors de ces traitements. Cette vulnérabilité s'explique par le caractère particulier des cellules germinales et par la faiblesse relative du stock de leurs cellules souches appelées spermatogonies. La diminution, voire la disparition des cellules germinales dans leur ensemble, se traduit également par un dysfonctionnement des cellules somatiques testiculaires (cellules de Sertoli). Ce dysfonctionnement concernera donc toute la régulation de la spermatogenèse et amplifiera le phénomène cytotoxique initial.

Chez le rat, notre groupe a démontré que les effets toxiques des thérapies anticancéreuses concernent non seulement le caractère quantitatif de la spermatogenèse (concentration en spermatozoïdes), mais aussi les aspects qualitatifs de la fonction de reproduction, en cas de maintien de la fertilité (taux de fécondation et nidation, mortalité embryonnaire et périnatale ...) [30, 31]. Ces effets délétères au niveau de la qualité du conceptus peuvent être transmis également à la progéniture [2, 3, 8, 24-26, 12, 32, 33, 35].

Chez l'homme, les effets néfastes de ces traitements se traduisent, dans 50% des cas, par une hypofertilité (modification de tous les paramètres spermatiques: concentration, mobilité, motilité et morphologie des spermatozoïdes) et par une stérilité irréversible pour les 50% restants [15, 21, 23]. En cas de maintien de la capacité fécondante, les données épidémiologiques semblent rassurantes en ce qui concerne les mutations dominantes létales transmissibles à la descendance [16, 19, 13, 22]. Toutefois, ces observations se sont limitées aux anomalies majeures (tumeurs, malformations, maladies génétiques) [12]. Les acquis de l'expérimentation animale devraient nous inciter à une grande vigilance dans ce domaine.

Compte-tenu de l'efficacité grandissante des thérapies anticancéreuses et de l'augmentation du pronostic de survie, les études au sujet de la protection de la fonction de reproduction avant et pendant ces thérapies se sont développées depuis 1981. Il faut noter, par ailleurs, le développement d'autres démarches visant à prévenir ou à minimiser les atteintes testiculaires dans le cadre des traitements anticancéreux : utilisation plus fréquente d'écrans contre les rayonnements, pharmacopée plus spécifique et moins toxique pour les cellules germinales et augmentation de la fréquence de cryoconservation du sperme (voir le chapitre consacré aux essais cliniques dans ce même numéro).

LES AGENTS PROTECTEURS

Plusieurs voies de recherche ont été étudiées dans le domaine de la protection de la spermatogenèse.

1. Les agents antioxydants :

Afin de diminuer l'apparition des radicaux libres oxygénés induits par les irradiations et certains médicaments anticancéreux et responsables de la dénaturation des acides

nucléiques puis de la mort cellulaire, certaines équipes ont étudié expérimentalement une protection de la spermatogenèse par le biais des agents antioxydants. Des composés tels que la cystéamine [4], le WR2721 [18, 19], la N-acétyl-cystéine [11], le glutathion [1], la cystéine [10] et l'ascorbate de sodium [19] offrent une protection partielle de l'épithélium séminifère, avec néanmoins une cytotoxicité relative intrinsèque.

2. Les hormones

La spermatogenèse est dépendante de façon cruciale de l'action des hormones hypophysaires telles que la FSH et la LH sécrétées sous l'action de la GnRH hypothalamique. Il a donc été envisagé par GLODE et coll. [9], que le blocage de la production de ces hormones puisse entraîner une "mise au repos" de la spermatogenèse. Dans le but de bloquer la production de LH et de FSH, des analogues de GnRH ont été utilisés dans un but protecteur. Nous avons recensé une douzaine d'études dans ce domaine. Ces études ont été réalisées chez l'homme, le rat, la souris, le chien et le singe [34]. Cependant, leurs résultats sont discordants, parfois même à l'intérieur de la même espèce et souvent critiquables sur le plan méthodologique. Elles ne permettent pas de conclure vraiment quant à l'existence d'une protection efficace par cette approche.

Chez le singe irradié, en revanche, des résultats de protection très encourageants ont été obtenus après l'administration de la FSH [27]. Comme nous le verrons par la suite, ici il n'est pas question de bloquer les mitoses spermatogoniales.

Avec l'utilisation des stéroïdes (androgènes seuls ou associés à des progestatifs) les études menées par différentes équipes ont répondu à des critères plus objectifs nous permettant au moins d'évaluer l'ampleur des effets des thérapies anticancéreuses. Les travaux de Delic et coll. [5, 7] ont prou-

vé l'intérêt des androgènes (œnanthate de testostérone) dans le domaine de la protection. Ces résultats d'ordre strictement quantitatif montrent qu'il existe une grande variabilité du degré de protection, en fonction de la dose et du mode d'administration du stéroïde, ainsi qu'en fonction de l'agent antimittotique impliqué.

Plus récemment, Meistrich et coll. ont montré chez le rat une protection contre les effets de la procarbazine [20] ou de l'irradiation [14] grâce à l'administration concomitante de la testostérone et des œstrogènes encapsulés dans des implants.

Toutefois, en dehors de notre groupe, aucune équipe n'a évalué la qualité des gamètes après protection, non seulement chez les animaux traités, mais aussi au niveau de leur descendance non traitée. Nous avons développé une approche originale pour la protection de la spermatogenèse chez le rat, en utilisant l'association d'un progestatif (acétate de médroxyprogestérone : MPA) et d'un androgène (testostérone : T). En effet, grâce à l'évaluation de paramètres quantitatifs et qualitatifs, nous avons pu démontrer qu'un prétraitement par le MPA (8mg/Kg/j/55j) et par la T (1 mg/kg/j155j) permet de protéger l'épithélium séminifère des animaux traités par la procarbazine [32], l'irradiation [33, 12] et le cyclophosphamide [35]. Cette protection concerne non seulement les animaux traités, mais aussi leur F1 [33, 12] et leur F2 [12]. Il faut remarquer que dans le cadre de l'irradiation, la protection est efficace à partir d'un pré-traitement de 15 jours seulement [12].

Les résultats obtenus par notre équipe ont incité un groupe de chercheurs et de cliniciens français à constituer un réseau intitulé "PROSPERM" (protection de la spermatogenèse) dont l'objectif est de développer une politique de prophylaxie dans ce domaine. Ce groupe pluridisciplinaire (biologistes, urologues, endocrinologues, cancérologues, épidémiologistes ...) est structuré

dans un réseau de recherche clinique INSERM (cf chapitre dans ce numéro consacré aux essais cliniques).

3. Les méthodes physiques

Actuellement, nous explorons d'autres voies de protection telles que l'hypothermie. Nous venons de démontrer qu'une hypothermie scrotale permet de protéger la spermatogenèse du rat, tant d'un point de vue qualitatif que quantitatif, vis à vis d'une irradiation stérilisante ((9 Gy ; 36). D'autres auteurs ont démontré qu'il était possible d'obtenir une protection quantitative partielle de la spermatogenèse chez le bélier exposé à une irradiation ou à l'adryamicine et à la mytomicine C, grâce à l'occlusion temporaire de l'artère testiculaire [28, 29].

MECANISME DE LA PROTECTION GONADIQUE

En ce qui concerne le mécanisme de protection, plusieurs hypothèses peuvent être envisagées.

La première, concernant une contraception par le biais d'une mise au repos des mitoses goniales avant l'administration des agents antimittotiques n'a pas été encore vraiment établie. En effet, la FSH qui est une hormone gonadotrope stimulant la spermatogenèse chez les primates non humains (augmentation de l'index mitotique de spermatogonies souches), semble protéger de façon efficace l'épithélium séminifère du singe irradié [27]. Finalement, le protocole proposé par Meistrich et ses collaborateurs [14, 20] et qui repose sur l'administration de la testostérone et des œstrogènes ne semble pas impliquer non plus une inhibition des mitoses spermatogoniales. A l'évidence, à ce niveau, des études complémentaires s'avèrent nécessaires pour établir la réalité au nom d'un phénomène de blocage de la phase mitotique de la spermatogenèse, lors des traitements hormonaux de protection.

Certains auteurs ont évoqué la possibilité d'une diminution de la bio-activation des agents anticancéreux au niveau gonadique [20]. Cependant, le pré-traitement par MPA + T protège l'épithélium séminifère contre plusieurs agents (rayons, alkylants, ...) ayant un mécanisme cytotoxique différent.

A notre avis, une des hypothèses les plus plausibles, même si elle n'est pas exclusive d'autres mécanismes, consiste à penser que les agents protecteurs stimulent les systèmes cellulaires de défense anti-oxydatifs. L'occlusion de l'artère testiculaire chez le bélier et l'hypothermie scrotale chez le rat, ces deux méthodes induisant une hypoxie localisée, plaident en faveur de cette possibilité.

Néanmoins, d'autres expériences sont nécessaires pour pouvoir élucider cette question et ainsi pouvoir progresser de façon décisive dans la mise au point des traitements protecteurs. Cependant, le problème le plus urgent est celui de l'extrapolation des données expérimentales vers l'homme et donc de savoir s'il est possible d'envisager la protection de la spermatogénèse des milliers d'hommes subissant des traitements cytotoxiques.

REFERENCES

1. ASHBY R., DAVIS L., DEWHURST B.B., ESPINAL R., PENN R.N., UPSHALL D.G. : Aspects of the teratology of cyclophosphamide (NSC-26271) *Cancer Treat. Rep.* 1976, 60 : 477.
2. AUROUX M., DULIOUST E. : Cylophosphamide in the male rat: behavioral effects in the adult offspring. *Behav. Brain. Res.*, 1985, 16 : 25-36.
3. AUROUX M., DULIOUST E., NAWAR N., YACOUB S. : Antimitotic drugs (Cyclophosphamide and Vinblastine) in the male rat : deaths and behavioral abnormalities in the offspring. *J. Androl.* 1986, 7 : 378.
4. CATTANACH B.M., RASBERRY C. : Genetic effects of combined chemical x-ray treatments in male mouse germ cells. *Int. J. Radiat.* 1987, 51 : 985.
5. DELIC J. I., BUSH, C., PECKHAM M.J. : Protection from procarbazine-induced damage of spermatogenesis in the rat by androgen. *Cancer Res.*, 1986, 46 : 1909.
6. DELIC J.L., HARWOOD J.R., STANLEY J.A. : Time dependence for the protective effect of androgen from procarbazine-induced damage to rat spermatogenesis. *Cancer Res.* 47 : 1344.
7. DELIC J.I. : Protection of spermatogenesis during cancer chemotherapy. *Arch. Androl.* 1987,18 : 211.
8. DULIOUST E., RADIGUE C., VELEZ DE LA CALLE J.F., JÉGOU B., SOUFIR J.C., AUROUX M. : Traitement cytotatique chez le mâle : conséquences sur la descendance et effet protecteur d'un traitement hormonal préalable. *C.R. Acad. Sci. France*, 1989, 111. 309, 137.
9. GLODE L.M., ROBINSON J., GOULD S.F. : Protection from cyclophosphamide-induced testicular damage with an analogue of Gn-RH. *Lancet* i, 1981, 1132.
10. HALES B.F. : Modification of the teratogenicity and mutagenicity of cyclophosphamide with thiol compounds. *Teratology*, 1981, 23 : 373.
11. HORSTMAN M.G., MEADOWS G.G., YOST G.S. : *Cancer Res.* 47 : 1547.
12. JÉGOU B., VELEZ DE LA CALLE J.F., BAUCHÉ F. : Protective effect of medroxyprogesterone acetate plus testosterone against radiation induced damage to the productive function of male rats and their offspring. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1991, 8710.
13. JOHNSON S.A., GOLDMAN J.M., HAWKINS D.F. : Pregnancy after chemotherapy for Hodgkin's disease. *Lancet*, 1979, 2 : 93.
14. KURDOGLU B., WILSON G., PARCHURI N., YE W.S., MEISTRICH M. : Protection from radiation-induced damage to spermatogenesis by hormone treatment. *Radiat. Res.* 1993, 139 : 97.
15. LE GRANDE C.E. : Relation effects. In: *The Testis*, eds Johnson A.D., Gomez W.R. and Vandemark N.L., vol III (Academic Press, New York, Chap 9, pp 333).
16. LI F.P., JAFFE N. : Progeny of childhood cancers survivors. *Lancet*, 1974, 2 : 704.
17. MARMOR D., JOYE N., TAILLEMITE J. : La qualité du conceptus après maladie oncologique, l'expérience humaine. *Bull. Salf*, 1989, 3 : 40.
18. MEISTRICH M.L., FINCH M.V., HUNTER N., MILAS L. : Protection of spermatogonial survival and testicular function by WR-2721 against high and low doses of radiation. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 1984, 10 : 2099.

19. MILAS L., HUNTER N., REID B.O., THAMES Jr H.D. : Protective effects of S-2-(3Aminopropylamino) ethyl-phosphorothioic acid against radiation damage of normal tissues and a fibrosarcoma in mice. *Cancer Res* 1982, 42, 1888.
20. PARCHURI N., WILSON G., MEISTRICH M. : Protection by gonadal steroid hormones against PZB-induced damage to spermatogenic function in LBNF1 hybrid rats. *J. Androl.*, 1993, 14, 257.
21. SCHILSKY R.L., LEWIS B.J., SHERINS R.J., YOUNG R.C. : Gonadal dysfunction in patients receiving chemotherapy for cancer. *Am. Intern. Med.*, 1980, 93 : 109.
22. SENTURIA Y.D., PECKHAM C.S., PECKHAM M.J. : Children fathered by man treated for testicular cancer. *Lancet*, 1985, 5 : 766.
23. SHERINS R.J., DE VITA V.T. : Effect of drug treatment for lymphoma on male reproductive capacity, *Ann. Intern. Med.* 1973, 79 : 216.
24. TRASLER J.M., HALES B.F., ROBAIRE B. : Chronic low-dose cyclophosphamide treatment of adult male rats effect on fertility, pregnancy outcome, and progeny. *Biol. Reprod.* 1986, 34, 275, 39.
25. TRASLER J.M., HALES B.F., ROBAIRE B. : Paternal cyclophosphamide treatment of rat causes fetal loss and malformations without affecting male fertility. *Nature*, 1985, 316 : 144.
26. TRASLER J.M., HALES B.F., ROBAIRE B. : A time-course study of chronic paternal cyclophosphamide treatment in rats: effects on pregnancy outcome and the male reproductive and hematologic systems. *Biol. Reprod.* 1987, 37 : 317.
27. Van ALPHEN M.M.A., van DE KANT H.J.G., de ROOIJ D.G. : Protection from radiation induced damage of spermatogenesis in the rhesus monkey (*Macaca mulata*) by FSH. *Cancer Res.* 1989, 49, 533.
28. Van VLIET J., BOOTSMA A.L., van PEPPERZEEL H.A., SCHIPPER J., WENSING C.J.G. : Protective effect of hypoxia in the ram testis during single and split-dose X-irradiation. *Radiother. Oncol.*, 1988, 13, 9.
29. Van VLIET J., de ROOIJ D., WENSING C., BOOTSMA A. : Protection of spermatogenesis against cytotoxic effects of two chemotherapeutic drugs by temporary testicular blood flow interruption in the ram. *Andrologia*, 1993, 25: 251.
30. VELEZ de la CALLE J.F., SOUFIR J.C., CHODORGE F., KERCRET H., BOISSEAU C., JÉGOU B. : Reproductive effects of anti-cancer drug procarbazine in male rats at different ages. *J. Reprod. Fertil.*, 1988, 84, 51.
31. VELEZ de la CALLE J.F., DE QUEIROZ F., GARNIER D.H., KERCRET H., FOLLIOT R., JÉGOU B. : Reproductive effects of anti-cancer drug cyclophosphamide in male rats at different ages. *Arch Androl.*, 1989, 22 : 101.
32. VELEZ de la CALLE J.F., BEN HASSEL M., JÉGOU B. : Radiation and testicular function: effects of x-rays and protection by a contraceptive regime. In : *IVth International Congress of Andrology*. Edited by Monduzi Editore Bologna, 1989, pp 235.
33. VELEZ de la CALLE J.F., JÉGOU B. : Prevention by a contraception of anti-cancer drug induced sterility and genotoxicity in male rats. *Cancer Res.* 1990, 50 : 1308.
34. VELEZ de la CALLE J.F., BAUCHÉ F., JÉGOU B. : Protection de la fertilité mâle lors des traitements anticancéreux: l'expérience animale. *Progress en Urol.* 1992, 2, 110.
35. VELEZ de la CALLE J.F., JÉGOU B. : Protection by steroids against cyclophosphamide-induced damage to the reproductive function of male rats. *Int. J. Androl.* 1995, sous presse.
36. VELEZ de la CALLE J.F., BEN HASSEL M., JÉGOU B. : Hypothermia protects rat spermatogenesis against a sterilizing dose of gamma rays. *85th Annual Meeting of the Am. Ass. Cancer Res.*, 1994, April 10-13, San Francisco.

REMERCIEMENTS : *Les études de notre groupe résumées ci-dessus ont reçu le soutien de l'ARC, du Comité d'Ille et Vilaine de la Ligue Nationale contre le Cancer, du GEFLUC, de la Fondation de France et de l'INSERM.*

ABSTRACT

Protection of the testis against side effects of cancer therapy : experimentation in animal

J.F. VELEZ DE LA CALLE, M. BEN HASSEL, B. JÉGOU

The cytotoxic agents used in cancer therapy cause serious and long lasting side effects on spermatogenesis in young male patients. In absence of prophylactic measures (cryoconservation of Spermatozoa prior to therapy ; lead shields during radiation therapy ; drugs less damaging to spermatogenesis), the use of protective agents is

necessary. Numerous antioxydants and a variety of hormones have been experimented in attempts to limit the deleterious effects of antimitotic drugs. Major animal studies have been conducted into certain GnRH analogs, FSH steroids, and in particular the combination of Medroxyprogesterone Acetate + Testosterone, leading to encouraging results.

Progress in animal experimentation should, within the near future, allow clinical trials in humans.

Key words : cancer treatment protection of spermatogenesis, steroids, FSH, GnRH, antioxydants, cytotoxicity, genotoxicity, male fertility.