

*COLLÈGE NATIONAL  
DES GYNÉCOLOGUES ET OBSTÉTRICIENS FRANÇAIS  
Président : Professeur B. Hédon*

Quatrième partie  
**Préservation de la fertilité**



*38<sup>es</sup> JOURNÉES NATIONALES  
Paris, 2014*

# Préservation de la fertilité et cancer du sein

M. COMTET <sup>1a</sup>, C. SONIGO <sup>1a, 2</sup>, N. SERMONDADE <sup>1b</sup>, C. SIFER <sup>1b</sup>,  
M. GRYNBERG <sup>1a, 2, 3, \*</sup>  
(Bondy, Saint-Denis, Paris)

## Résumé

*Le cancer du sein est la tumeur maligne la plus fréquente chez la femme en âge de procréer, et se caractérise par un très fort taux de guérison, tenant en particulier aux progrès diagnostiques et thérapeutiques. Cependant, les jeunes patientes ayant survécu à un cancer du sein voient souvent leur fertilité altérée, notamment du fait de la gonadotoxicité des traitements chimiothérapeutiques reçus. Ainsi, nombreuses d'entre elles sont désormais adressées en consultation d'oncofertilité, afin de discuter la mise en place de mesures de préservation de la fertilité avant tout traitement. La cryopréservation embryonnaire et/ou ovocytaire après stimulation ovarienne constitue actuellement la meilleure méthode de préservation de la fertilité féminine. Cependant, les patientes atteintes de cancers du sein ont une contre-indication théorique à l'administration de gonadotrophines exogènes du fait de l'hormono-dépendance de leur pathologie, et n'ont*

1 - Hôpital Jean Verdier - AP-HP - Avenue du 14 juillet - 93140 Bondy

a - Service de médecine de la reproduction

b - Service de biologie de la reproduction

2 - Université Paris XIII - 2 rue de la Liberté - 93200 Saint-Denis

3 - Université Paris Diderot - INSERM U1133 - CNRS UMR 8251 - Paris

\* Correspondance : michael.grynberg@jvr.aphp.fr

*par ailleurs parfois pas le temps de se voir proposer une stimulation ovarienne lorsque la chimiothérapie est urgente et néoadjuvante. D'autres options sont de ce fait venues s'intégrer dans la stratégie de préservation de la fertilité de ces patientes, telles que les stimulations avec létrozole, la maturation ovocytaire in vitro et la cryopréservation de tissu ovarien. L'ensemble de ces techniques et la stratégie de prise en charge en oncofertilité seront discutés dans ce chapitre.*

*Mots clés : préservation de la fertilité, cancer du sein, MIV, cryopréservation de tissu ovarien*

### **Déclaration publique d'intérêt**

Les auteurs ne déclarent aucun conflit d'intérêt avec le sujet présenté.

## **INTRODUCTION**

Le cancer du sein représente environ 30 % des tumeurs malignes survenant chez la femme en âge de procréer [1]. Par ailleurs, environ 10 à 15 % des cancers du sein sont diagnostiqués chez des femmes préménopausiques [2, 3]. L'amélioration des outils diagnostiques et la généralisation du dépistage du cancer du sein par mammographie permet désormais de diagnostiquer les pathologies mammaires malignes à des stades précoces. Les traitements locorégionaux, la chimiothérapie, les modulateurs hormonaux (tamoxifène, agonistes de la GnRH) et les anti-récepteurs de l'*Epidermal Growth Factor 2* ont permis de significativement améliorer les taux de survie qui atteignent jusqu'à 98 % en cas de tumeurs localisées [4-6]. Cependant, l'ensemble de ces traitements systémiques va impacter négativement le potentiel de fertilité féminin, principalement par deux mécanismes : i) la réduction du stock de follicules primordiaux en rapport avec l'action directe de la chimiothérapie [7] ; ii) le vieillissement ovarien physiologique des femmes pour qui le projet de grossesse va devoir être différé d'au moins 2 à 5 ans selon l'hormono-sensibilité de la tumeur [8]. Ce dernier point est loin d'être négligeable quand on sait que la

moyenne d'âge au diagnostic chez les femmes de moins de 40 ans est de 32,9 ans [9], et qu'avec le recul de l'âge de la première grossesse, nombreuses sont les femmes qui n'auront alors pas encore accompli ou totalement réalisé leur projet de grossesse [10]. En conséquence, le cancer du sein de la femme jeune va soulever la problématique de la fertilité post-traitement. En effet, un questionnaire adressé par email à 657 femmes de moins de 40 ans, ayant survécu à un cancer du sein, a permis de montrer que 57 % d'entre elles se sentaient inquiètes par rapport à leur fertilité. Vingt-neuf pour cent auraient accepté de recevoir un traitement moins gonadotoxique, au prix d'une augmentation du risque de récurrence. Enfin, seulement 51 % des ces patientes estimaient que les problématiques relatives à la fertilité au moment du diagnostic et du traitement avaient été correctement discutées [11].

Ainsi, les sociétés savantes internationales, notamment l'*American Society of Clinical Oncology* (ASCO) et l'*International Society for Fertility Preservation* (ISFP) ont émis des recommandations quant à l'importance, pour toute femme en âge de procréer, devant recevoir un traitement possiblement gonadotoxique, d'être adressée à un spécialiste en oncofertilité, qui pourra l'informer sur l'impact des traitements sur la fonction de reproduction ainsi que sur les techniques de préservation de la fertilité [12-14].

## I. FERTILITÉ APRÈS CHIMIOTHÉRAPIE, HORMONOTHÉRAPIE ET RADIOTHÉRAPIE

Le risque d'insuffisance ovarienne prématurée chez les femmes atteintes de cancers du sein dépend d'une part du type de chimiothérapie administrée (types de molécules, durée et doses cumulatives), de l'âge de la patiente et de son statut folliculaire basal pré-traitement [13, 15].

Les agents chimiothérapeutiques provoquent une toxicité ovarienne directe, par atteinte à la fois des cellules somatiques (cellules de la *granulosa*) et des cellules germinales, responsable d'une apoptose folliculaire et de dommages vasculaires ovariens [15]. Plus récemment, l'hypothèse d'une activation folliculaire ou « burn-out » a émergé pour expliquer la gonadotoxicité des drogues utilisées. En effet, la chimiothérapie, en détruisant les follicules en croissance, provoquerait une levée des mécanismes d'inhibition permettant au pool de follicules primordiaux de rester quiescents. Ce phénomène va provoquer l'entrée

en croissance brutale de ces follicules, conduisant à une accélération de l'atréisie et une perte du stock de follicules primordiaux [16].

Parmi les drogues utilisées en chimiothérapie pour cancer du sein, les agents alkylants tels que le cyclophosphamide sont considérés comme hautement gonadotoxiques, tandis que les anthracyclines (doxorubicine) et les anti-métabolites (5-fluorouracil) sont associés à des risques respectivement intermédiaires et bas. Les études concernant les taxanes ont conduit à des résultats discordants [17]. Les taux d'insuffisance ovarienne prématurée après chimiothérapie pour cancer du sein varient de 0 à 70 %, et sont dépendants de l'âge des patientes, du protocole utilisé. Les protocoles CMF (cyclophosphamide, méthotrexate, 5-fluorouracil), CEF (cyclophosphamide, épirubicin, 5-fluorouracil) et CAF (cyclophosphamide, adriamycin, 5-fluorouracil) induisent des aménorrhées et des insuffisances ovariennes prématurées dans moins de 20 % chez les femmes de moins de 30 ans, 30 % à 70 % chez celles âgées de 30 à 39 ans, et plus de 80 % après 40 ans [12, 14-17]. Par ailleurs, 4 cycles d'AC (adriamycin, cyclophosphamide) ou 4 cycles de docétaxel ont montré une moindre gonadotoxicité avec des aménorrhées chez 6 % des femmes de moins de 31 ans, 12 % de celles comprises entre 31 et 39 ans et 35 % de celles de plus de 40 ans [18].

Bien que l'irradiation pelvienne ait un impact négatif sur la fonction ovarienne, le type de radiothérapie classiquement utilisé en cas de cancer du sein ne semble pas être gonadotoxique. En effet, sur les 50 Gy habituellement délivrés, seuls 2,2 à 2,6 centigrays atteignent le pelvis et les ovaires, ce qui constitue une dose relativement éloignée de celle induisant des insuffisances ovariennes prématurées (15 Gy) [16, 19].

De plus, si le tamoxifène peut causer des aménorrhées réversibles dans 25 à 30 % des cas, il n'altère pas directement la fonction ovarienne [20]. Cependant, sa durée d'administration, classiquement de 5 ans et peut-être même plus si l'on en croit une étude récente [21], va impacter sur la fertilité via le déclin physiologique de la fonction ovarienne, particulièrement après l'âge de 35 ans [22].

## II. MARQUEURS DU STATUT FOLLICULAIRE OVARIEN

L'aménorrhée chimio-induite a historiquement été utilisée comme le principal marqueur de réduction de la fonction ovarienne. Cependant, de nombreux travaux ont montré une réduction significative

de la réserve ovarienne après chimiothérapie, y compris après récupération de cycles menstruels réguliers [23]. De plus, le retour d'une activité menstruelle n'empêche pas nécessairement la survenue d'une ménopause précoce chez certaines patientes [24]. Ainsi, des études plus récentes se sont focalisées sur l'utilisation des marqueurs du statut folliculaire ovarien pour tenter de prédire la fertilité post-traitement des femmes atteintes de cancers du sein. En particulier la mesure du compte folliculaire antral et le dosage sérique de l'hormone anti-müllérienne (AMH) ont fait l'objet d'une attention particulière [25]. Il a ainsi été démontré une baisse extrêmement importante de ces 2 paramètres au décours de la chimiothérapie [26-28]. De plus, les valeurs d'AMH sérique chez les femmes ayant récupéré des cycles réguliers après le traitement sont moindres que celles retrouvées chez des femmes contrôles indemnes de pathologie cancéreuse [29]. Par ailleurs, Anderson *et al.* ont montré, sur une cohorte prospective de patientes atteintes de cancers du sein, que l'AMH sérique pré-traitement pouvait prédire la fonction ovarienne à long terme après chimiothérapie [30]. Ainsi, mesurer les concentrations sériques d'AMH avant un traitement gonadotoxique pourrait prédire la récupération d'une fonction ovarienne après traitement [31]. Cependant, ces données nécessitent d'être validées sur de plus amples cohortes. Ce point est d'autant plus crucial que ni l'AMH, ni le compte folliculaire antral n'ont à ce jour été en mesure de prédire les taux de grossesses. En effet, si ces marqueurs sont étroitement corrélés à la réponse à la stimulation ovarienne chez des patientes devant recevoir une administration de gonadotrophines exogènes [25], ils ne sont pas prédictifs des taux de grossesse, et des naissances ont été rapportées chez des patientes avec des valeurs d'AMH indétectables [32].

### III. STRATÉGIES DE PRÉSERVATION DE LA FERTILITÉ CHEZ LES PATIENTES ATTEINTES DE CANCER DU SEIN

L'incapacité à prédire de manière fiable la fertilité post-traitement d'une patiente donnée a conduit au développement de multiples techniques de préservation de la fertilité. Actuellement, plusieurs options peuvent être envisagées chez les patientes atteintes de cancer du sein, idéalement avant l'initiation de toute chimiothérapie [12-14]. Le choix de la stratégie dépendra de l'âge de la patiente, de sa réserve ovarienne, du type de cancer (hormono-dépendant ou non), du

type et de la durée du traitement, du temps avant le début de la chimiothérapie, de la présence d'un partenaire stable et de la décision de la patiente. En France, ce choix n'est pas dicté par l'aspect financier dans la mesure où l'ensemble de ces techniques font l'objet d'une prise en charge à 100 % par l'assurance maladie.

### III.1. Analogue de la GnRH (GnRHa)

La suppression ovarienne par administration d'un GnRHa, en cours de chimiothérapie, a été proposée comme une des modalités de préservation de la fonction ovarienne [33]. Le rationnel est de considérer que la destruction, par les agents chimiothérapeutiques, des follicules engagés dans le processus de maturation est à l'origine d'une augmentation de la sécrétion de FSH à travers une perte du rétro-contrôle négatif. L'augmentation de cette hormone induirait, à son tour, l'entrée en croissance d'un certain nombre de follicules, alors exposés aux effets des traitements gonadotoxiques, à l'origine d'une déplétion folliculaire. Par conséquent, le fait d'administrer un GnRHa en effondrant les sécrétions sériques de FSH pourrait contrecarrer ce processus [34].

Cependant, il est à noter que la FSH n'est active que sur les follicules à partir du stade antral et que les mécanismes impliqués dans l'entrée en croissance des follicules primordiaux sont pour le moment inconnus mais ne semblent pas impliquer cette hormone. De plus, il est bien établi que chez les jeunes filles prépubères dont les sécrétions de FSH par l'hypophyse sont extrêmement basses, la chimiothérapie est à l'origine d'un certain degré d'altération du stock folliculaire. Par conséquent, ces données rendent caduques la théorie d'un possible effet des GnRHa dans le but de préserver la fonction ovarienne.

D'autres hypothèses ont été avancées pour justifier le possible effet protecteur du blocage ovarien : i) diminution de l'exposition des ovaires aux produits toxiques de par l'hypo-estrogénie et l'hypo-perfusion utéro-ovarienne qui en découle ; ii) *up-regulation* par la GnRH de la sphingosine 1 phosphate, molécule dont les effets anti-apoptotiques ovariens sont prouvés en cas de chimiothérapie et/ou de radiothérapie. Cette dernière hypothèse semble la seule valable à l'heure actuelle [35].

Dans une méta-analyse colligeant les données de 11 études prospectives, Kim *et al.* ont montré que la co-administration d'un GnRHa en cours de chimiothérapie s'associait à une augmentation du maintien de la fonction ovarienne post-chimiothérapie. Cependant, l'analyse séparée

de 3 des études prospectives incluses dans la méta-analyse ne montrait aucune efficacité des GnRHa. De plus, une autre méta-analyse portant sur 5 études et plus de 500 patientes préménopausées atteintes de cancers du sein n'a pas permis de démontrer d'effet bénéfique des GnRHa sur les taux d'aménorrhée et de grossesse post-chimiothérapie [36]. Cependant, un moindre taux d'insuffisance ovarienne était rapporté chez les femmes ayant reçu des GnRHa [37]. Récemment, deux travaux sont encore venus relancer l'intérêt de ces molécules dans la stratégie de préservation de la fertilité féminine [38, 39].

L'utilisation de GnRHa expose à des effets indésirables notables tels que des bouffées de chaleur, une sécheresse vaginale ainsi qu'une perte osseuse en rapport avec l'hypo-estrogénie induite.

À ce jour, l'utilisation des GnRHa, en cours de chimiothérapie, est considérée comme expérimentale, peu efficace et à ne pas pratiquer en dehors d'essais thérapeutiques [40].

### III.2. Cryopréservation ovocytaire et/ou embryonnaire après stimulation ovarienne

Pendant longtemps, la seule stratégie de préservation de la fertilité considérée comme non expérimentale d'un point de vue scientifique était la cryopréservation embryonnaire après stimulation ovarienne [12-14]. En effet, la congélation embryonnaire est utilisée depuis plus de 30 ans en assistance médicale à la procréation, avec des protocoles en constante modification dans le but d'améliorer leur efficacité [41]. Il existe 2 méthodes de cryopréservation : la congélation lente et la vitrification. La congélation lente combine des descentes lentes et contrôlées en température avec de faibles concentrations en cryoprotectants. Au cours des dernières années, elle a été supplantée par la vitrification, qui fait appel à de fortes concentrations d'agents cryoprotectants et un refroidissement ultra-rapide sans formation de cristaux de glace [42, 43].

La fécondation des ovocytes matures recueillis à l'issue de la stimulation ovarienne peut se faire par fécondation *in vitro* conventionnelle (FIV) ou *intracytoplasmic sperm injection* (ICSI). Les embryons obtenus sont congelés au stade zygote, ou après 2-3 jours de culture en fonction de la politique de centre.

L'utilisation des embryons congelés fera l'objet d'une discussion multidisciplinaire, nécessitant notamment l'accord de l'oncologue. Elle nécessitera une préparation endométriale basée sur l'administration d'estrogènes et de progestérone. Un ou 2 embryons ayant résisté à la



décongélation pourront ensuite être transférés dans l'utérus. Les données les plus récentes montrent des résultats similaires que la méthode de congélation ait été lente ou en vitrification. Cependant, cette dernière tend à se généraliser [42, 43]. Les taux de grossesse après transferts d'embryons congelés peuvent atteindre 40-50 %, soit des résultats identiques à ceux obtenus avec des embryons frais [42, 43].

Depuis janvier 2013, la cryopréservation ovocytaire n'est plus considérée comme expérimentale [44]. Elle constitue une alternative à la congélation embryonnaire, en particulier pour les femmes n'ayant pas de partenaire stable. La technique nécessite classiquement une stimulation ovarienne et un recueil ovocytaire [13, 14, 44]. La vitrification, contrairement à ce qui a été observé avec les embryons, a permis une nette amélioration de la survie ovocytaire, des taux de fécondation et des taux de grossesse comparativement à la congélation lente [45]. Ainsi, les résultats les plus récents rapportent des taux de survie ovocytaires de 90-95 %, et des taux de fécondation et de grossesse identiques à ceux obtenus avec des ovocytes frais [44-47]. De plus, les données concernant l'état de santé des enfants issus de congélation ovocytaire sont tout à fait rassurantes, même si elles restent limitées dans le cadre de l'oncofertilité [44, 48, 49].

La principale limite des protocoles de stimulation ovarienne réside dans le fait de se trouver, en cas de cancer du sein, dans une pathologie hormono-dépendante. En effet, l'administration de gonadotrophines exogènes conduit à des concentrations sériques d'estradiol supra-physiologiques qui atteignent 10 à 20 fois les taux obtenus au cours d'un cycle naturel [50]. Les patientes sont, par conséquent, exposées au risque théorique de stimuler des cellules malignes porteuses de récepteurs aux estrogènes. Un certain nombre de données suggère par ailleurs que les estrogènes peuvent également avoir un effet mitogénique indirect sur les tumeurs n'exprimant pas de récepteurs hormonaux, rendant la stimulation ovarienne potentiellement contre-indiquée pour les patientes dans cette situation [51].

À ce jour, l'influence ponctuelle, chez les femmes ayant un cancer du sein, de concentrations sériques élevées en estrogènes reste mal déterminée. Cependant, le principe de précaution prévaut et il est non recommandé au moins dans les situations de chimiothérapie néoadjuvantes, lorsque la tumeur est encore en place, d'envisager une stimulation ovarienne conventionnelle.

D'une manière plus générale, dans les situations de cancers du sein, quel que soit le statut hormonal de la tumeur, oncologues et médecins de la reproduction restent relativement prudents vis-à-vis de la stimulation ovarienne, en raison des valeurs d'estradiol sériques qui

pourront être atteintes. C'est pourquoi des protocoles de stimulations spécifiques ont été proposés associant l'administration de gonadotrophines exogènes à des molécules anti-estrogènes telles que le tamoxifène ou les inhibiteurs de l'aromatase, dans le but de réduire les concentrations d'estrogènes sériques ou l'effet direct de ces stéroïdes sur ses tissus cibles [46, 47]. Oktay *et al.* ont ainsi été les premiers à proposer l'association de létrozole, un anti-aromatase, aux gonadotrophines exogènes, pour des patientes atteintes de cancers du sein [52]. À la dose de 5 mg/j, le létrozole permet l'inhibition de la conversion des androgènes en estrogènes. Il est généralement démarré au 2<sup>e</sup> ou 3<sup>e</sup> jour du cycle menstruel et la patiente initie 2 jours plus tard la FSH exogène à une dose variant de 150 à 300 IU par jour, en fonction de son âge et de ses paramètres de réserve ovarienne. Un antagoniste de la GnRH est ajouté au bout de 5 à 6 jours de stimulation ovarienne afin de prévenir les pics de LH prématurés. L'ovulation est ensuite déclenchée par un GnRHa, dans le but d'éviter les syndromes d'hyperstimulation ovarienne, et de réduire les concentrations sériques d'estrogènes en phase lutéale, comparativement au déclenchement conventionnel par hCG [53].

Les protocoles avec anti-aromatases permettent de récupérer un nombre identique d'ovocytes à celui obtenu en stimulation conventionnelle, en maintenant des concentrations d'estradiol sériques significativement plus basses ( $483 \pm 278,9$  pg/ml *versus*  $1\,464,6 \pm 644,9$  pg/ml,  $p < 0,001$ ) [54]. Initialement, le groupe new-yorkais avait proposé des stimulations ovariennes associant FSH et tamoxifène, avec des résultats comparables, en termes d'ovocytes recueillis, à ceux obtenus avec le létrozole. Cependant, les valeurs d'estradiol sériques étaient bien plus élevées avec le tamoxifène qu'avec les anti-aromatases [52]. Bien que les effets de estrogènes sur le tissu mammaire soient bloqués par le tamoxifène, la majorité des équipes privilégient les inhibiteurs de l'aromatase du fait des moindres valeurs d'estradiol sériques atteintes [52].

Une étude prospective a récemment montré que les stimulations avec anti-aromatases n'avaient pas d'influence sur la survie sans récurrence à 2 ans [55]. Enfin, aucune augmentation du risque d'anomalie chromosomique ou de malformation n'a été identifiée après utilisation de létrozole en cours de stimulation ovarienne [56].

Récemment, il a été proposé un nouveau protocole de stimulation visant à maintenir les concentrations sériques d'estradiol [57]. Il est en effet possible d'inhiber la production d'estradiol par de fortes doses d'antagonistes de la GnRH, débutées concomitamment à la stimulation ovarienne. En effet, en utilisant 1,5 à 3 mg/j d'acétate de

cétrorelix, il est possible d'inhiber la synthèse des androgènes, LH-dépendante, et de fait la production d'estradiol obtenue à partir de la conversion de la testostérone et de la delta-4-androstènedione. Aucune série n'est actuellement publiée et il faudra attendre les résultats de plus amples travaux afin de connaître le véritable intérêt de ce protocole NATOS (*NATural Ovarian Stimulation*) par rapport aux stimulations avec anti-aromatases.

La stimulation ovarienne, quel que soit le protocole utilisé, pourrait, dans le cadre de l'oncofertilité, s'associer à une augmentation du risque de mauvaise réponse [58], bien que les données soient controversées. Ce phénomène s'expliquerait par l'état d'hypercatabolisme généré par la maladie systémique. Cette mauvaise réponse ne semble pouvoir se corriger par l'augmentation des doses de FSH exogène administrées [59].

Enfin, nombreuses sont les études qui ont rapporté la possibilité d'initier la stimulation ovarienne à n'importe quel moment du cycle. En effet, le démarrage en phase folliculaire ou en phase lutéale ne semble pas impacter sur le nombre d'ovocytes matures finalement récupérés [60, 61]. Ces « random-start protocols » sont basés sur le concept de multiples vagues de recrutement folliculaire au cours d'un même cycle menstruel [60-62]. Cakmak *et al.* ont récemment comparé les résultats d'un « random-start protocol » à ceux d'une stimulation conventionnelle débutée en phase folliculaire précoce chez 128 patientes atteintes de cancers [63]. Le nombre total d'ovocytes recueillis, les taux de maturité ovocytaire et de fécondation étaient similaires dans les 2 groupes. De plus, à l'intérieur même du groupe « random-start », aucune différence n'était constatée chez les femmes ayant débuté leur stimulation en phase folliculaire ou en phase lutéale [63]. Cependant, aucune donnée n'est actuellement disponible sur les taux d'implantation et de grossesse chez les patientes ayant utilisé ces nouveaux protocoles de stimulation.

Il est également possible d'enchaîner 2 cycles de stimulation ovarienne afin d'augmenter le nombre d'ovocytes et/ou d'embryons récupérés [64]. Cette double stimulation ne s'associe par ailleurs pas à un sur-risque de récurrence chez les 17 patientes ayant bénéficié de cette prise en charge.

Plusieurs études ont montré que le délai nécessaire à la consultation d'oncofertilité et la cryopréservation ovocytaire et/ou embryonnaire après stimulation ovarienne était tout à fait compatible avec l'intervalle de temps laissé entre la chirurgie et le début du traitement gonadotoxique [65-67].

### III.3. Cryopréservation de tissu ovarien

Bien que la cryopréservation de tissu ovarien soit encore considérée comme expérimentale [13], elle représente la seule technique offrant la possibilité d'une restitution ovarienne endocrine et exocrine. De plus, le cortex ovarien étant riche en follicules primordiaux, la congélation de fragments de corticale permet de préserver un grand nombre d'ovocytes, permettant d'envisager plusieurs grossesses chez les patientes candidates à une greffe dans les suites du cancer [64]. Cette technique est actuellement en plein essor à travers le monde.

La cryopréservation de tissu ovarien requiert le prélèvement de tout ou partie d'un ovaire, le plus souvent par coelioscopie. La quantité de tissu ovarien prélevée doit être suffisamment importante dans la mesure où un grand nombre de follicules sera perdu au moment de la congélation, de la décongélation et de la transplantation. La greffe peut se faire en site orthotopique, dans le pelvis, ou hétérotopique (tissu sous-cutané de l'avant bras, de la paroi abdominale...) [68, 69].

Il y a actuellement plus d'une trentaine d'enfants nés après transplantation de tissu ovarien congelé, la majorité après greffe orthotopique. Une seule de ces naissances l'a été chez une femme traitée pour un cancer du sein [49, 68]. Un des intérêts de la cryopréservation de tissu ovarien est de pouvoir se combiner à un recueil d'ovocytes immatures en vue de maturation *in vitro* (MIV) et vitrification ovocytaire ou embryonnaire. Le prélèvement peut se pratiquer *in vivo*, avant la coelioscopie, ou *ex vivo*, sur la pièce d'ovariectomie [70-72]. Cette combinaison des techniques peut s'avérer particulièrement utile lorsque la transplantation du cortex cryopréserve ne peut être encore envisagée, notamment dans les contextes de pathologies à fort risque d'invasion ovarienne par les cellules malignes, comme certaines hémopathies. En effet, un des principaux problèmes liés à la cryopréservation de tissu ovarien réside dans la possibilité de réintroduire des cellules malignes au moment de la greffe, ce qui a bien été démontré dans les maladies hématologiques et les stades avancés de cancers du sein [68, 69]. Cependant, en cas de pathologie mammaire localisée, ce risque semble relativement faible [74-77]. De nouvelles techniques sont en cours de recherche pour éviter la transmission de cellules malignes lors de la greffe, en partie la culture de follicules isolés et la folliculogenèse *in vitro* [68].

La place de la cryopréservation de fragments de corticale ovarienne chez la femme jeune atteinte de cancer du sein est actuellement extrêmement discutée. En effet, il existe encore peu de données sur la fertilité des femmes jeunes ayant reçu un protocole

FEC-Taxotère®. Par conséquent l'amputation du stock de follicules en rapport avec la cryopréservation de tissu ovarien doit être bénéfique et ne pas nuire aux chances de récupération spontanée de la fonction ovarienne après la chimiothérapie. Ce risque est à mettre en balance avec les chances de grossesse après greffe, encore difficiles à définir.

### III.4. Maturation ovocytaire *in vitro*

La MIV consiste en un recueil d'ovocytes au stade de vésicule germinative à partir des follicules antraux, puis à leur mise en culture dans des milieux spécifiques, en vue d'obtenir des ovocytes matures. Seuls les ovocytes ayant mûri *in vitro* seront aptes à être fécondés. Les premières recherches sur la maturation ovocytaire ont été rapportées en 1935 par Gregory Pincus [78] et se sont poursuivies par Edwards dans les années 1960 [79, 80]. Si une grossesse avait été rapportée dès le début des années 80 après MIV d'ovocytes recueillis immatures dans les suites d'une stimulation ovarienne (« rescue-IVM »), il a fallu environ treize ans après la première naissance post-FIV pour que la première grossesse après MIV sans administration de gonadotrophines exogènes soit rapportée chez la femme en 1991 [81]. Par la suite, de nombreux progrès ont été réalisés permettant d'inclure la technique de MIV comme une option thérapeutique pour le traitement de l'infertilité. Jusqu'à récemment, la MIV était principalement utilisée chez les patientes ayant un excès folliculaire en particulier dans le cadre d'un syndrome des ovaires polykystiques. L'intérêt de la MIV est d'éviter une stimulation ovarienne chez ces patientes à risque de syndrome d'hyperstimulation ovarienne, potentiellement sévère. La grande majorité des données concernant la MIV provient par conséquent de patientes présentant cette pathologie ovarienne [82]. Depuis, d'autres indications ont également été proposées comme les donneuses d'ovocytes, le syndrome de résistance à la FSH [84] ou la préservation de la fertilité. On considère qu'environ 5 000 enfants sont issus de MIV, avec pour le moment un devenir comparable à celui des enfants nés après FIV.

L'intérêt de la MIV chez la femme jeune, porteuse d'une pathologie estrogéno-dépendante, réside dans l'absence de nécessité d'une administration de gonadotrophines exogènes. Par conséquent, les concentrations d'estradiol sériques obtenues au cours d'un cycle de MIV correspondent à une phase folliculaire d'un cycle menstruel naturel [61]. Cette technique permet ainsi une cryopréservation

ovocytaire et/ou embryonnaire sans favoriser le risque de prolifération de cellules tumorales [84, 85].

L'absence de délai, avant de mettre en place le recueil d'ovocytes immatures, permet de considérer cette technique à la fois dans le cadre de l'urgence en cas de nécessité de chimiothérapie néoadjuvante ou entre la chirurgie et la chimiothérapie, lorsque l'oncologue contre-indique la stimulation ovarienne ou que la patiente la refuse.

La MIV peut en effet être pratiquée quelle que soit la période du cycle avec des résultats similaires [85, 86]. Typiquement, le recueil ovocytaire est pratiqué 36 heures après l'administration d'une activité LH. Une des discussions qui subsiste reste l'intérêt de cette administration d'hCG, bien démontrée chez les patientes présentant un syndrome des ovaires polykystiques, en termes de taux de maturation *in vitro* et de fécondation, chez des candidates à une préservation de la fertilité. Cette question est d'autant plus importante qu'il a été montré que les cellules tumorales mammaires exprimaient le récepteur à la LHCG [87].

Cette stratégie étant relativement récente en préservation de la fertilité, peu d'études sont disponibles pour estimer les résultats de la MIV dans le cadre de l'oncofertilité. Le nombre moyen d'ovocytes recueillis varie entre 8 et 17. Les écarts types, particulièrement élevés, sont probablement liés à la difficulté potentielle du geste opératoire. Les taux de maturation *in vitro* varient entre 48 et 79 %, ce qui semble être équivalent à ceux rapportés chez des femmes infertiles sans pathologie cancéreuse. Enfin, la moyenne du nombre total d'ovocytes matures vitrifiés varie entre 6 et 12, ce qui est par exemple similaire aux résultats obtenus en stimulation ovarienne avec un protocole utilisant les inhibiteurs de l'aromatase.

#### IV. CANCER DU SEIN ET SUSCEPTIBILITÉ GÉNÉTIQUE

La plupart des cancers du sein héréditaires sont attribuables à des mutations autosomiques dominantes au niveau de gènes de susceptibilité du cancer du sein nommées *BRCA1* et *BRCA2*. Les patientes présentant de telles mutations représenteraient environ 10 % de l'ensemble des jeunes femmes atteintes de cancer du sein. Il est estimé que, dans la population générale, une femme sur 1 000 serait porteuse d'une mutation d'un gène *BRCA* avec une incidence plus importante, jusqu'à 2,5 %, dans certains groupes ethniques tels que les

populations d'origine juive ashkénaze. Les patientes présentant une mutation du gène *BRCA1* ont un risque estimé entre 50 et 80 % de développer un cancer du sein avec possiblement des atteintes bilatérales survenant à un âge relativement jeune.

Les mutations de ce gène *BRCA1* sont également liées à un risque de cancer ovarien estimé entre 40 et 60 %. En conséquence, ces patientes se voient offrir la possibilité de bénéficier d'une mastectomie bilatérale pour réduire le risque de cancer du sein contro-latéral ainsi qu'une annexectomie bilatérale prophylactique autour de l'âge de 40 ans afin de réduire le risque de cancer ovarien mais également parfois dans le but de réduire le risque de cancer du sein. Les patientes présentant une mutation du gène *BRCA2* présentent les mêmes caractéristiques avec, toutefois, un risque moindre de cancer de l'ovaire, plus volontiers à des âges plus avancés que les patientes avec une mutation du gène *BRCA1*. L'hystérectomie n'est habituellement pas pratiquée chez ces patientes mutées pour l'un des 2 gènes, ce qui leur permet d'envisager la possibilité de mener à bien un projet de grossesse par l'intermédiaire du programme de don d'ovocytes.

La présence d'une mutation d'un gène BRCA chez des patientes présentant un cancer du sein, désireuses de préserver leur fertilité, constitue un enjeu majeur. En effet, les données sur les traitements de l'infertilité dans de larges séries de patientes porteuses de mutations de ces gènes BRCA n'ont pas montré de sur-risques de survenue de cancer du sein chez les femmes traitées [88]. Des études ont même récemment montré que les patientes mutées pour BRCA présentaient des paramètres de réserve ovarienne diminués et un âge plus précoce de survenue de la ménopause comparativement à des femmes non mutées [89, 90]. Chez les patientes candidates à une préservation de la fertilité avec un protocole létrozle-FSH, un plus faible nombre d'ovocytes était finalement récupéré en cas de mutation de *BRCA1* par rapport à des femmes contrôles non mutées. En revanche aucune différence n'était retrouvée en cas de mutation de *BRCA2* [91]. De plus larges travaux sont nécessaires pour confirmer cette possible insuffisance ovarienne occulte des femmes mutées pour les gènes BRCA. Malheureusement, chez les jeunes femmes candidates à une préservation de la fertilité pour cancer du sein, le statut BRCA n'est le plus souvent pas connu au moment de la prise en charge et ne sera obtenu que plusieurs semaines ou mois plus tard [92]. Cependant, en cas de mutation avérée, il y a un risque potentiel de transmission de l'anomalie génétique à la descendance. Les patientes doivent par conséquent en être informées. Un des moyens d'éviter cette transmission pourrait être le recours au diagnostic pré-implantatoire [93] qui

reste toutefois interdit dans cette indication en France mais autorisé dans un grand nombre d'autres pays.

## CONCLUSION

La préservation de la fertilité est parfaitement envisageable pour la plupart des patientes présentant un cancer du sein. Il semblerait que des protocoles de stimulation ovarienne spécifiques combinant gonadotrophine exogène et molécules anti-estrogènes puissent être utilisés chez ces patientes.

Toutefois, leur utilisation est parfaitement expérimentale tout comme la cryopréservation de fragments de tissu ovarien.

L'utilisation d'agoniste de la suppression ovarienne par GnRHa ne semble pas efficace. La MIV avec cryopréservation ovocytaire et/ou embryonnaire pourrait être une option intéressante dans la stratégie de préservation de la fertilité de ces patientes.



## Bibliographie

- [1] Jemal A, Tiwari RC, Murray T, Ghafoor A, Samuels A, Ward E *et al.* Cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2004;54(1):8-29.
- [2] Bines J, Oleske DM, Cobleigh MA. Ovarian function in premenopausal women treated with adjuvant chemotherapy for breast cancer. *J Clin Oncol* 1996;14(5):1718-29.
- [3] Hankey BF, Miller B, Curtis R, Kosary C. Trends in breast cancer in younger women in contrast to older women. *J Natl Cancer Inst Monogr* 1994;16(7):14.
- [4] Hortobagyi GN. Trastuzumab in the treatment of breast cancer. *N Engl J Med* 2005;353(16):1734-6.
- [5] Goldhirsch A, Glick JH, Gelber RD, Coates AS, Thurlimann B, Senn HJ. Meeting highlights: international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer. *Ann Oncol* 2005;16(10):1569-83.
- [6] Goldhirsch A, Wood WC, Gelber RD, Coates AS, Thurlimann B, Senn HJ. Progress and promise: highlights of the international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer. *Ann Oncol* 2007;18(7):1133-44.
- [7] Falcone T, Bedaiwy MA. Fertility preservation and pregnancy outcome after malignancy. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2005;17(1):21-6.
- [8] Gougeon A. Regulation of ovarian follicular development in primates: facts and hypotheses. *Endocr Rev* 1996;17(2):121-55.
- [9] Partridge AH, Winer EP. Long-term complications of adjuvant chemotherapy for early stage breast cancer. *Breast Dis* 2004;21:55-64.
- [10] Hayat MJ, Howlader N, Reichman ME, Edwards BK. Cancer statistics, trends, and multiple primary cancer analyses from the Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Program. *Oncologist* 2007;12(1):20-37.
- [11] Partridge AH, Gelber S, Peppercorn J, Sampson E, Knudsen K, Laufer M, Rosenberg R, Przypyszny M, Rein A, Winer EP. Web-based survey of fertility issues in young women with breast cancer. *J Clin Oncol* 2004;22(20):4174-83.
- [12] Lee SJ, Schover LR, Partridge AH, Patrizio P, Wallace WH, Hagerty K, Beck LN, Brennan LV, Oktay K; American Society of Clinical Oncology. American Society of Clinical Oncology recommendations on fertility preservation in cancer patients. *J Clin Oncol* 2006;24(18):2917-31.
- [13] Loren AW, Mangu PB, Beck LN, Brennan L, Magdalinski AJ, Partridge AH, Quinn G, Wallace WH, Oktay K; American Society of Clinical Oncology. Fertility preservation for patients with cancer: American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline update. *J Clin Oncol* 2013;31(19):2500-10.
- [14] ISFP Practice Committee, Kim SS, Donnez J, Barri P, Pellicer A, Patrizio P, Rosenwaks Z, Nagy P, Falcone T, Andersen C, Hovatta O, Wallace H, Meirou D, Gook D, Kim SH, Tzeng CR, Suzuki S, Ishizuka B, Dolmans MM. Recommendations for fertility preservation in patients with lymphoma, leukemia, and breast cancer. *J Assist Reprod Genet* 2012;29(6):465-8.
- [15] Ben-Aharon I, Shalgi R. What lies behind chemotherapy-induced ovarian toxicity? *Reproduction* 2012;144(2):153-63.
- [16] Meirou D, Biederman H, Anderson RA, Wallace WH. Toxicity of chemotherapy and radiation on female reproduction. *Clin Obstet Gynecol* 2010;53(4):727-39.
- [17] Sonmezer M, Oktay K. Fertility preservation in female patients. *Hum Reprod Update* 2004;10(3):251-66.
- [18] Swain SM, Land SR, Ritter MW, Costantino JP, Cecchini RS, Mamounas EP, Wolmark N, Ganz PA. Amenorrhea in premenopausal women on the doxorubicin-and-cyclophosphamide-followed-by-docetaxel arm of NSABP B-30 trial. *Breast Cancer Res Treat* 2009;113(2):315-20.
- [19] Mazonakis M, Varveris H, Damilakis J, Theoharopoulos N, Gourtsoyiannis N. Radiation dose to oculus resulting from tangential breast irradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2003;55(2):386-91.
- [20] Petrek JA, Naughton MJ, Case LD, Paskett ED, Naftalis EZ, Singletary SE, Sukumvanich P. Incidence, time course, and determinants of menstrual bleeding after breast cancer treatment: a prospective study. *J Clin Oncol* 2006;24(7):1045-51.
- [21] Burstein HJ, Temin S, Anderson H,

- Buchholz TA, Davidson NE, Gelmon KE, Giordano SH, Hudis CA, Rowden D, Solky AJ, Stearns V, Winer EP, Griggs JJ. Adjuvant endocrine therapy for women with hormone receptor-positive breast cancer: american society of clinical oncology clinical practice guideline focused update. *J Clin Oncol* 2014;32(21):2255-69.
- [22] Broekmans FJ, Soules MR, Fauser BC. Ovarian aging: mechanisms and clinical consequences. *Endocr Rev* 2009;30(5):465-93.
- [23] Letourneau JM, Ebbel EE, Katz PP, Oktay KH, McCulloch CE, Ai WZ, Chien AJ, Melisko ME, Cedars MI, Rosen MP. Acute ovarian failure underestimates age-specific reproductive impairment for young women undergoing chemotherapy for cancer. *Cancer* 2012;118(7):1933-9.
- [24] Partridge A, Gelber S, Gelber RD, Castiglione-Gertsch M, Goldhirsch A, Winer E. Age of menopause among women who remain premenopausal following treatment for early breast cancer: long-term results from International Breast Cancer Study Group Trials V and VI. *Eur J Cancer* 2007;43(11):1646-53.
- [25] Nelson SM. Biomarkers of ovarian response: current and future applications. *Fertil Steril* 2013;99(4):963-9.
- [26] Lutchman Singh K, Muttukrishna S, Stein RC, McGarrigle HH, Patel A, Parikh B, Groome NP, Davies MC, Chatterjee R. Predictors of ovarian reserve in young women with breast cancer. *Br J Cancer* 2007;96(12):1808-16.
- [27] Anders C, Marcom PK, Peterson B, Gu L, Unruhe S, Welch R, Lyons P, Behera M, Copland S, Kimmick G, Shaw H, Snyder S, Antenos M, Woodruff T, Blackwell K. A pilot study of predictive markers of chemotherapy-related amenorrhea among premenopausal women with early stage breast cancer. *Cancer Invest* 2008;26(3):286-95.
- [28] Yu B, Douglas N, Ferin MJ, Nakhuda GS, Crew K, Lobo RA, Hershman DL. Changes in markers of ovarian reserve and endocrine function in young women with breast cancer undergoing adjuvant chemotherapy. *Cancer* 2010;116(9):2099-105.
- [29] Partridge AH, Ruddy KJ, Gelber S, Schapira L, Abusief M, Meyer M, Ginsburg E. Ovarian reserve in women who remain premenopausal after chemotherapy for early stage breast cancer. *Fertil Steril* 2010;94(2):638-44.
- [30] Anderson RA, Cameron DA. Pretreatment serum anti-müllerian hormone predicts long-term ovarian function and bone mass after chemotherapy for early breast cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96(5):1336-43.
- [31] Dillon KE, Sammel MD, Prewitt M, Ginsberg JP, Walker D, Mersereau JE, Gosiengfiao Y, Gracia CR. Pretreatment antimüllerian hormone levels determine rate of posttherapy ovarian reserve recovery: acute changes in ovarian reserve during and after chemotherapy. *Fertil Steril* 2013;99(2):477-83.
- [32] Weghofer A, Dietrich W, Barad DH, Gleicher N. Live birth chances in women with extremely low-serum anti-Müllerian hormone levels. *Hum Reprod* 2011;26(7):1905-9.
- [33] Partridge AH, Ruddy KJ. Fertility and adjuvant treatment in young women with breast cancer. *Breast* 2007;16(2):S175-81.
- [34] Lobo RA. Potential options for preservation of fertility in women. *N Engl J Med* 2005;353(1):64-73.
- [35] Oktay K, Sonmez M, Oktem O, Fox K, Emons G, Bang H. Absence of conclusive evidence for the safety and efficacy of gonadotropin-releasing hormone analogue treatment in protecting against chemotherapy-induced gonadal injury. *Oncologist* 2007;12(9):1055-66.
- [36] Kim SS, Lee JR, Jee BC, Suh CS, Kim SH, Ting A, Petroff B. Use of hormonal protection for chemotherapy-induced gonadotoxicity. *Clin Obstet Gynecol* 2010;53(4):740-52.
- [37] Yang B, Shi W, Yang J, Liu H, Zhao H, Li X, Jiao S. Concurrent treatment with gonadotropin-releasing hormone agonists for chemotherapy-induced ovarian damage in premenopausal women with breast cancer: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Breast* 2013;22(2):150-7.
- [38] Del Mastro L, Boni L, Michelotti A, Gamucci T, Olmeo N, Gori S, Giordano M, Garrone O, Pronzato P, Bighin C, Levaggi A, Giraudi S, Cresti N, Magnolfi E, Scotto T, Vecchio C, Venturini M. Effect of the gonadotropin-releasing hormone analogue triptorelin on the occurrence of chemotherapy-induced early menopause in premenopausal women with breast cancer: a randomized trial. *JAMA* 2011;306(3):269-76.
- [39] Moore HCF, Unger JM, Phillips KA *et al*. Phase III trial [Prevention of Early Menopause Study [POEMS]-SWOG S0230] of LHRH analog

- during chemotherapy [CT] to reduce ovarian failure in early-stage, hormone receptor-negative breast cancer: An international Intergroup trial of SWOG, IBCSG, ECOG, and CALGB [Alliance] 2014 ASCO Annual Meeting. Oral communication (2014).
- [40] Lee MC, Gray J, Han HS, Plosker S. Fertility and reproductive considerations in premenopausal patients with breast cancer. *Cancer Control* 2010;17(3):162-72.
- [41] First baby born of frozen embryo. *N Y Times Web*. 1984 Apr 11:A16.
- [42] Herrero L, Martínez M, Garcia-Velasco JA. Current status of human oocyte and embryo cryopreservation. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2011;23(4):245-50.
- [43] Edgar DH, Gook DA. A critical appraisal of cryopreservation (slow cooling *versus* vitrification) of human oocytes and embryos. *Hum Reprod Update* 2012;18(5):536-54.
- [44] Practice Committees of American Society for Reproductive Medicine; Society for Assisted Reproductive Technology. Mature oocyte cryopreservation: a guideline. *Fertil Steril* 2013; 99(1):37-43.
- [45] Cobo A, Diaz C. Clinical application of oocyte vitrification: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Fertil Steril* 2011;96(2):277-85.
- [46] Smith GD, Serafini PC, Fioravanti J, Yadid I, Coslovsky M, Hassun P, Alegretti JR, Motta EL. Prospective randomized comparison of human oocyte cryopreservation with slow-rate freezing or vitrification. *Fertil Steril* 2010; 94(6):2088-95.
- [47] Rienzi L, Romano S, Albricci L, Maggiulli R, Capalbo A, Baroni E, Colamaria S, Sapienza F, Ubaldi F. Embryo development of fresh *versus* vitrified metaphase II oocytes after ICSI: a prospective randomized sibling-oocyte study. *Hum Reprod* 2010;25(1):66-73.
- [48] Noyes N, Porcu E, Borini A. Over 900 oocyte cryopreservation babies born with no apparent increase in congenital anomalies. *Reprod Biomed Online* 2009;18(6):769-76.
- [49] Sánchez-Serrano M, Crespo J, Mirabet V, Cobo AC, Escribá MJ, Simón C, Pellicer A. Twins born after transplantation of ovarian cortical tissue and oocyte vitrification. *Fertil Steril* 2010; 93(1):268.e11-3.
- [50] Cahill DJ, Wardle PG, Harlow CR, Hunt LP, Hull MG. Expected contribution to serum oestradiol from individual ovarian follicles in unstimulated cycles. *Hum Reprod* 2000;15(9): 1909-12.
- [51] Gupta PB, Kuperwasser C. Contributions of estrogen to ER-negative breast tumor growth. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2006;102(1-5):71-8.
- [52] Oktay K, Buyuk E, Libertella N, Akar M, Rosenwaks Z. Fertility preservation in breast cancer patients: a prospective controlled comparison of ovarian stimulation with tamoxifen and letrozole for embryo cryopreservation. *J Clin Oncol* 2005;23(19):4347-53.
- [53] Oktay K, [55] Türkçüoğlu I, Rodriguez-Wallberg KA. GnRH agonist trigger for women with breast cancer undergoing fertility preservation by aromatase inhibitor/FSH stimulation. *Reprod Biomed Online* 2010;20(6):783-8.
- [54] Oktay K, Hourvitz A, Sahin G, Oktem O, Saforo B, Cil A, Bang H. Letrozole reduces estrogen and gonadotropin exposure in women with breast cancer undergoing ovarian stimulation before chemotherapy. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91(10):3885-90.
- [55] Azim AA, Costantini-Ferrando M, Oktay K. Safety of fertility preservation by ovarian stimulation with letrozole and gonadotropins in patients with breast cancer: a prospective controlled study. *J Clin Oncol* 2008;26(16): 2630-5.
- [56] Tulandi T, Martin J, Al-Fadhli R, Kabli N, Forman R, Hitkari J, Librach C, Greenblatt E, Casper RF. Congenital malformations among 911 newborns conceived after infertility treatment with letrozole or clomiphene citrate. *Fertil Steril* 2006;85(6):1761-5.
- [57] Adda-Herzog E, Grynberg M, Le Parco S, Sebag-Peyrelevede S, Poulain M, Fanchin R. Natural ovarian stimulation (NATOS): an innovative controlled ovarian hyperstimulation (COH) protocol that combines large oocyte availability and physiologic estrogenic environment. Poster communication. ASRM annual meeting 2013, Boston.
- [58] Friedler S, Koc O, Gidoni Y, Raziell A, Ron-El R. Ovarian response to stimulation for fertility preservation in women with malignant disease: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril* 2012;97(1):125-33.
- [59] Lee S, Oktay K. Does higher starting dose of FSH stimulation with letrozole improve fertility preservation outcomes in women with breast cancer? *Fertil Steril* 2012;98(4):961-4.
- [60] Von Wolff M, Thaler CJ, Frambach T,

Zeeb C, Lawrenz B, Popovici RM, Strowitzki T. Ovarian stimulation to cryopreserve fertilized oocytes in cancer patients can be started in the luteal phase. *Fertil Steril* 2009;92(4):1360-5.

[61] Sönmezer M, Türkçüoğlu I, Coskun U, Oktay K. Random-start controlled ovarian hyperstimulation for emergency fertility preservation in letrozole cycles. *Fertil Steril* 2011;95(6):2125.e9-11.

[62] Baerwald AR, Adams GP, Pierson RA. Ovarian antral folliculogenesis during the human menstrual cycle: a review. *Hum Reprod Update* 2012;18(1):73-91.

[63] Cakmak H, Katz A, Cedars MI, Rosen MP. Effective method for emergency fertility preservation: random-start controlled ovarian stimulation. *Fertil Steril* 2013;100(6):1673-80.

[64] Turan V, Bedoschi G, Moy F, Oktay K. Safety and feasibility of performing two consecutive ovarian stimulation cycles with the use of letrozole-gonadotropin protocol for fertility preservation in breast cancer patients. *Fertil Steril* 2013;100(6):1681-5.

[65] Lawrenz B, Jauckus J, Kupka M, Strowitzki T, von Wolff M. Efficacy and safety of ovarian stimulation before chemotherapy in 205 cases. *Fertil Steril* 2010;94(7):2871-3.

[66] Madrigano A, Westphal L, Wapnir I. Egg retrieval with cryopreservation does not delay breast cancer treatment. *Am J Surg* 2007;194(4):477-81.

[67] Baynosa J, Westphal LM, Madrigano A, Wapnir I. Timing of breast cancer treatments with oocyte retrieval and embryo cryopreservation. *J Am Coll Surg* 2009;209(5):603-7.

[68] Grynberg M, Poulain M, Sebag-Peyrelevede S, le Parco S, Fanchin R, Frydman N. Ovarian tissue and follicle transplantation as an option for fertility preservation. *Fertil Steril* 2012;97(6):1260-8.

[69] Donnez J, Dolmans MM, Pellicer A, Diaz-Garcia C, Sanchez Serrano M, Schmidt KT, Ernst E, Luyckx V, Andersen CY. Restoration of ovarian activity and pregnancy after transplantation of cryopreserved ovarian tissue: a review of 60 cases of reimplantation. *Fertil Steril* 2013;99(6):1503-13.

[70] Huang JY, Buckett WM, Gilbert L, Tan SL, Chian RC. Retrieval of immature oocytes followed by *in vitro* maturation and vitrification: a case report on a new strategy of fertility preservation in women with borderline ovarian

malignancy. *Gynecol Oncol* 2007;105(2):542-4.

[71] Fasano G, Moffa F, Dechène J, Englert Y, Demeestere I. Vitrification of *in vitro* matured oocytes collected from antral follicles at the time of ovarian tissue cryopreservation. *Reprod Biol Endocrinol* 2011;9:150.

[72] Prasath EB, Chan ML, Wong WH, Lim CJ, Tharmalingam MD, Hendricks M, Loh SF, Chia YN. First pregnancy and live birth resulting from cryopreserved embryos obtained from *in vitro* matured oocytes after oophorectomy in an ovarian cancer patient. *Hum Reprod* 2014;29(2):276-8.

[73] Dolmans M-M, Luyckx V, Donnez J, Andersen CY, Greve T. Risk of transferring malignant cells with transplanted frozen-thawed ovarian tissue. *Fertil Steril* 2013;99:1514-22.

[74] Sánchez-Serrano M, Novella-Maestre E, Roselló-Sastre E, Camarasa N, Teruel J, Pellicer A. Malignant cells are not found in ovarian cortex from breast cancer patients undergoing ovarian cortex cryopreservation. *Hum Reprod* 2009;24(9):2238-43.

[75] Rosendahl M, Timmermans Wielenga V, Nedergaard L, Kristensen SG, Ernst E, Rasmussen PE, Anderson M, Schmidt KT, Andersen CY. Cryopreservation of ovarian tissue for fertility preservation: no evidence of malignant cell contamination in ovarian tissue from patients with breast cancer. *Fertil Steril* 2011;95(6):2158-61.

[76] Chung K, Donnez J, Ginsburg E, Meirou D. Emergency IVF *versus* ovarian tissue cryopreservation: decision making in fertility preservation for female cancer patients. *Fertil Steril* 2013 May;99(6):1534-42.

[77] Imbert R, Moffa F, Tsepelidis S, Simon P, Delbaere A, Devreker F, Dechene J, Ferster A, Veys I, Fastrez M, Englert Y, Demeestere I. Safety and usefulness of cryopreservation of ovarian tissue to preserve fertility: a 12-year retrospective analysis. *Hum Reprod* 2014;29(9):1931-40.

[78] Pincus G, Enzmann EV. The comparative behaviour of mammalian eggs *in vivo* and *in vitro*. I. the activation of ovarian eggs. *J Exp Med* 1935;62:665-75.

[79] Edwards RG. Maturation *in vitro* of human ovarian oocytes. *Lancet* 1965;2:926-9.

[80] Edwards RG, Bavister BD, Steptoe PC. Early stages of fertilization *in vitro* of human oocytes matured *in vitro*. *Nature* 1969;221:632-5.

[81] Cha KY, Koo JJ, Ko JJ, Choi DH, Han SY, Yoon TK. Pregnancy after *in vitro* fertilization of human follicular oocytes collected from

nonstimulated cycles, their culture *in vitro* and their transfer in a donor oocyte program. *Fertil Steril* 1991;55:109-13.

[82] Siristatidis CS, Vrachnis N, Creatsa M, Maheshwari A, Bhattacharya S. In vitro maturation in subfertile women with polycystic ovarian syndrome undergoing assisted reproduction. *Cochrane Database Syst Rev* 2013;10:CD006606.

[83] Grynberg M, El Hachem H, de Bantel A, Benard J, le Parco S, Fanchin R. In vitro maturation of oocytes: uncommon indications. *Fertil Steril* 2013;99:1182-8.

[84] Elizur SE, Chian RC, Pineau CA, Son WY, Holzer HE, Huang JY *et al.* Fertility preservation treatment for young women with autoimmune diseases facing treatment with gonadotoxic agents. *Rheumatology [Oxford]* 2008;47(10):1506-9.

[85] Maman E, Meirou D, Brengauz M, Raanani H, Dor J, Hourvitz A. Luteal phase oocyte retrieval and *in vitro* maturation is an optional procedure for urgent fertility preservation. *Fertil Steril* 2011;95(1):64-7.

[86] Grynberg M, Even M, Hesters L, Trèves R, Fanchin R, Frydman N. Similar *in vitro* maturation outcome of oocytes retrieved either at the follicular or the luteal phase of the cycle offers flexible options for urgent fertility preservation. Oral presentation. ASRM annual meeting, San Diego, 2012.

[87] Meduri G, Charnaux N, Spyrtos F, Hacene K, Loosfelt H, Milgrom E. Luteinizing hormone receptor status and clinical, pathologic,

and prognostic features in patients with breast carcinomas. *Cancer* 2003;97(7):1810-6.

[88] Kotsopoulos J, Shen H, Rao AV, Poll A, Ainsworth P, Fleshner N *et al.* A *BRCA1* mutation is not associated with increased indicators of oxidative stress. *Clin Breast Cancer* 2008; 8(6):506-10.

[89] Rzepka-Górska I, Tarnowski B, Chudecka-Glaz A, Górski B, Zielinska D, Toloczko-Grabarek A. Premature menopause in patients with *BRCA1* gene mutation. *Breast Cancer Res Treat* 2006; 100(1):59-63.

[90] Lin WT, Beattie M, Chen LM, Oktay K, Crawford SL, Gold EB, Cedars M, Rosen M. Comparison of age at natural menopause in *BRCA1/2* mutation carriers with a non-clinic-based sample of women in northern California. *Cancer* 2013;119(9):1652-9.

[91] Oktay K, Kim JY, Barad D, Babayev SN. Association of *BRCA1* mutations with occult primary ovarian insufficiency: a possible explanation for the link between infertility and breast/ovarian cancer risks. *J Clin Oncol* 2010;28(2):240-4.

[92] Gerhardus A, Schleberger H, Schlegelberger B, Gadzicki D. Diagnostic accuracy of methods for the detection of *BRCA1* and *BRCA2* mutations: a systematic review. *Eur J Hum Genet* 2007;15(6):619-627.

[93] Sagi M, Weinberg N, Eilat A, Aizenman E, Werner M, Girsh E, Siminovsky Y, Abeliovich D, Peretz T, Simon A, Laufer N. Preimplantation genetic diagnosis for *BRCA1/2*-a novel clinical experience. *Prenat Diagn* 2009;29(5):508-13.