

*COLLÈGE NATIONAL
DES GYNÉCOLOGUES ET OBSTÉTRICIENS FRANÇAIS
Président : Professeur J. Lansac*

Extrait des Mises à jour en Gynécologie Médicale

—

**Volume 2008
publié le 3.12.2008**



*TRENTE-DEUXIÈMES JOURNÉES NATIONALES
Paris, 2008*

Statut folliculaire ovarien et chimiothérapie

R. FANCHIN, C. BASILE, A. TORRE, R. FRYDMAN *
(Clamart)

INTRODUCTION

Les femmes jeunes traitées par chimiothérapie présentent souvent un risque de diminution de leur fertilité, essentiellement par altération de leur fonction ovarienne. La diminution du potentiel de grossesse peut d'ailleurs constituer l'unique manifestation clinique de l'épuisement iatrogène des follicules ovariens, reproduisant ainsi le tableau physiologique de la majorité des femmes qui avancent dans la quarantaine. Hélas, la majorité des études disponibles se limite à répertorier la survenue d'altérations du cycle menstruel comme l'aménorrhée, ou même d'une défaillance ovarienne précoce, conséquence connue bien qu'extrême, de l'exposition de la gonade féminine aux drogues de chimiothérapie (voir revues [1-3]).

Nombreuses sont les circonstances, malignes ou non, pour lesquelles une femme en âge d'avoir des enfants recevra une chimiothérapie gonado-toxique. Chez les adolescentes traitées par chimiothérapie, le risque d'extinction ovarienne précoce est augmenté par un

* Service de Gynécologie Obstétrique et Médecine de la Reproduction - Hôpital A. Bécclère -
157 rue de la Porte de Trivaux - 92141 Clamart cedex

facteur 4 tandis qu'il est augmenté d'un facteur 27 chez des femmes âgées de 21 et 25 ans [4]. Plusieurs études ont montré que, chez des femmes de moins de 20 ans, le taux d'aménorrhée après chimiothérapie était de l'ordre de 20 % à 50 %, et que ces femmes étaient statistiquement plus à risque de ménopause précoce. Parmi toutes les femmes traitées pour un cancer (tous âges confondus), 17 % auront une extinction ovarienne précoce (souvent vers 26 ans) [5] et 42 % l'auront dans la troisième décennie [6] avec un risque global approximatif d'extinction ovarienne précoce de l'ordre de 60 %. Des grossesses spontanées ont pu se produire chez 28 % de jeunes femmes traitées pour cancer, malgré l'altération documentée de leur fonction ovarienne [5, 7]. Chez les femmes de plus de 25 ans traitées pour cancer, le taux d'aménorrhée peut atteindre 80 à 90 % ; toutes ces patientes subiront potentiellement une extinction ovarienne précoce et seules 5 % obtiendront une grossesse spontanée [8]. La greffe de moelle osseuse et ses traitements associés représentent sans doute le contexte thérapeutique au pronostic le plus sombre en matière de fertilité [9], même lorsqu'ils sont pratiqués chez l'enfant. En effet, seulement 19 % des enfants ainsi traités auront une fonction ovarienne normale [10]. Chez les patientes plus âgées, l'extinction ovarienne est quasi systématique [11], probablement parce que le capital folliculaire restant est déjà réduit, bien que des cas isolés de récupération spontanée de la fonction ovarienne aient été rapportés [12].

L'ensemble de ces chiffres indiquent que les dégâts possibles de certaines chimiothérapies sur la fonction ovarienne sont un problème majeur de santé publique, malheureusement peu connu. Il est indispensable que les traitements portant atteinte à la fertilité soient répertoriés de façon exhaustive. Actuellement, des indicateurs précis et peu invasifs du fonctionnement ovarien, en particulier le compte folliculaire antral à l'échographie et le dosage des taux sériques d'hormone anti-Müllérienne (AMH), ont été validés. Ils ont ouvert de nouvelles perspectives dans l'étude de toxicité infra-clinique des chimiothérapies et doivent contribuer à bien poser l'indication de l'approche de préservation de la fertilité chez les femmes candidates, qu'elle soit par cryoconservation ovocytaire ou embryonnaire ou encore de tissu ovarien. Le but de cette mise au point est essentiellement de faire l'état des lieux des méthodes actuelles de dépistage des altérations de la fonction ovarienne suite à une chimiothérapie.

MÉCANISME DE GONADO-TOXICITÉ DES CHIMIOTHÉRAPIES

La toxicité gonadique des chimiothérapies serait presque toujours irréversible. Sur les coupes histologiques d'ovaires exposés à ces traitements, les lésions peuvent aller d'une simple diminution en densité de follicules jusqu'à leur disparition complète et la fibrose ovarienne [13]. La part d'une chimiothérapie précise dans l'extinction ovarienne précoce est difficile à évaluer puisque ces femmes reçoivent souvent plusieurs traitements à la fois et que beaucoup d'autres facteurs, comme la maladie elle-même, peuvent contribuer à ce dysfonctionnement ovarien. Les paramètres pronostiques les plus importants de l'altération de la fonction ovarienne sont : l'âge de la patiente, la classe de chimiothérapie utilisée, et la dose cumulative [14-17]. Le risque d'atteinte gonadique augmente avec l'âge, l'impact d'une diminution du nombre de follicules étant sans doute plus néfaste lorsque la réserve ovarienne est initialement déjà diminuée.

Contrairement aux effets sur la fertilité masculine, les femmes pourraient être initialement moins sensibles aux effets gonadotoxiques de la chimiothérapie, mais cette toxicité serait différée et aboutirait à une extinction ovarienne précoce, tout aussi handicapante sur le plan fonctionnel [18]. Ces drogues peuvent altérer la maturation folliculaire ou épuiser le pool de follicules primordiaux [13]. Les manifestations de cette toxicité pourront classiquement prendre deux formes. D'un côté, l'aménorrhée provisoire, vraisemblablement lorsque le capital folliculaire est très altéré mais suffisant pour une reprise des cycles menstruels ; de l'autre, l'aménorrhée permanente (ou extinction ovarienne précoce) lorsque le nombre de follicules primordiaux n'est plus suffisant pour reprendre des cycles menstruels (tous sont détruits).

Une baisse du capital folliculaire chez des rates traitées par Taxanes et sel de platines a été rapportée [19]. Aucune étude, à notre connaissance, n'a été plus loin dans le mécanisme moléculaire de l'altération de fonctionnement ovarien induite par chimiothérapie. Pourtant, ces traitements ne sont, en principe, actifs que sur les cellules en régénération rapide (muqueuse intestinale, phanères, moelle osseuse, cancer...), ce qui n'est pas le cas des cellules reproductrices féminines, encore que ce dogme ait été récemment revisité [20].

Les stratégies de protection de la fonction ovarienne

Certaines études anciennes sur l'animal suggèrent que le blocage de l'axe hypothalamo-hypophysaire par des analogues de la GnRH pourrait préserver les cellules germinales en cas de traitement gonadotoxique. Chez la femme, deux études non randomisées et deux études non contrôlées sur des faibles effectifs (respectivement 120, 21, 125 et 5 patientes) suggèrent que cette pratique pourrait protéger la fertilité [6, 21-23], encore que l'efficacité de cette approche reste extrêmement controversée.

LES CANCERS À RISQUE

Cancer du sein

Le cancer du sein est certainement la pathologie maligne la plus fréquente de la femme en âge d'avoir des enfants et son traitement peut compromettre la fertilité [24]. On estime que 15 % de tous les cas de cancer du sein se produisent avant 40 ans [25]. La fréquence de l'aménorrhée après traitement dépend du protocole utilisé [26], de l'âge et de l'utilisation du Tamoxifène [27]. Les multiples protocoles de poly-chimiothérapie rendent difficile l'incrimination d'un médicament précis. Récemment, une étude sur la réserve ovarienne de 50 patientes non ménopausées traitées pour un cancer du sein a montré une toxicité gonadique des chimiothérapies par une diminution du taux d'AMH et du nombre de follicules antraux. Il semble que l'ajout des taxanes aux sels de platine aggrave cette toxicité [28].

Cancer du col

Le cancer du col atteint lui aussi les femmes en âge de procréer et motiverait dans ce cas une préservation de la fertilité. On estime que 50 % des 13 000 nouveaux cas de cancer du col diagnostiqués aux États-Unis avaient moins de 35 ans, encore que la plupart d'entre eux ne relèvent pas d'un traitement potentiellement stérilisant [29]. Le problème est différent de celui du cancer du sein puisque, dans certains cas invasifs, les traitements du cancer du col comprennent une radiothérapie localisée au pelvis, sans doute en grande partie responsable de l'infertilité.

Cancer de l'ovaire

Plusieurs articles ont rapporté l'efficacité de la chirurgie conservatrice dans la préservation de la fertilité des patientes atteintes d'un cancer de l'ovaire limité. Ainsi, sur 86 patientes avec tumeur germinale de l'ovaire et traitées par chirurgie conservatrice \pm chimiothérapie, une grossesse a pu être obtenue dans 76 % des cas et les auteurs ont conclu que les traitements n'avaient pas altéré la fertilité. Les multiples protocoles de chimiothérapie et une gravité initiale variable rendent difficile une interprétation plus fine [30]. Une autre étude sur 28 femmes souffrant de la même pathologie conclut à 18 % d'infertilité induite, avec les mêmes difficultés d'interprétation [31]. Le cancer épithélial de l'ovaire, plus agressif, est souvent traité de manière plus radicale.

Cancers hématologiques

Le traitement des lymphomes semble toujours pourvoyeur d'infertilité induite. Pourtant, une étude récente a évalué la fertilité de 13 patientes traitées par intensification de CHOP. En 70 mois, une patiente a présenté une extinction ovarienne précoce alors que 8 ont conçu spontanément [32]. Malheureusement, peu d'études récentes utilisant des protocoles modernes de chimiothérapie se sont intéressées à la fertilité féminine.

Ostéosarcome

Le suivi de 54 femmes traitées pour cette maladie, de façon conservatrice et avec multiple chimiothérapie (Methotrexate, Cisplatine, Doxorubicine, Isophosphamide) n'a pas conclu en un effet néfaste pour la fertilité [33].

LES TRAITEMENTS À RISQUE

Bien qu'un certain nombre d'agents aient été identifiés comme gonado-toxiques, il faut noter que toutes les chimiothérapies n'altèrent pas la gonade de façon permanente [1]. En outre, il est souvent difficile de déterminer la contribution individuelle relative de chaque drogue, la plupart des protocoles anticancéreux ayant recours à des associations de chimiothérapies. Toutes les chimiothérapies n'ont pas les mêmes effets gonado-toxiques. Byrne a répertorié les femmes traitées pour cancer avant l'âge de 20 ans et a constaté que 42 % de ces femmes traitées par radiothérapie et la chimiothérapie à base

d'alkylants étaient ménopausées à l'âge de 31 ans, comparées à 5 % dans le groupe contrôle. L'emploi des agents alkylants augmenterait donc le risque d'extinction ovarienne précoce par un facteur de 9 [34]. Dans une autre étude plus générale, Meirou a estimé ce sur-risque à 4 [35]. D'autres chimiothérapies comme la procarbazine ont aussi été incriminées [1].

Les nouveaux marqueurs d'altération de la fonction ovarienne

La réserve folliculaire ovarienne correspond à la totalité de follicules présents dans les ovaires à un âge donné de la femme. Elle est caractérisée par la présence de follicules à différentes phases de développement allant du stade primordial jusqu'au stade antral [36]. La notion de réserve folliculaire est d'autant plus importante qu'elle est associée à la fertilité ovarienne [37].

Du point de vue clinique, la quantification précise de la réserve ovarienne est une tâche pratiquement impossible qui devrait faire appel au comptage histologique de la totalité des follicules. Afin de pallier cette limite, l'évaluation du rapport entre certaines hormones hypophysaires (FSH et LH) et ovariennes (œstradiol, inhibine B) a été initialement proposée. Ces tests se focalisent sur certains aspects fonctionnels et morphologiques d'une petite fraction de la réserve totale de follicules, les follicules antraux de petite taille. Il s'agit de cette cohorte de follicules qui répondra aussi bien à l'élévation inter-cycle de FSH lors de la transition lutéo-folliculaire dans le cycle menstruel qu'à l'administration de FSH lors de cycles de stimulation ovarienne afin de permettre la croissance folliculaire unique ou multiple jusqu'à l'ovulation.

Le compte folliculaire antral

En début de phase folliculaire, les follicules dotés d'un antrum et mesurant de 2 à 9 mm sont aisément visibles par échographie vaginale [37, 38]. Leur quantité semble être directement corrélée au nombre de follicules aptes à répondre à la FSH lors de la stimulation ovarienne et décline avec le vieillissement de la femme [36-38]. De nos jours, le compte folliculaire antral est utilisé comme un des examens de référence pour l'évaluation du degré de vieillissement ovarien.

L'AMH

D'un point de vue clinique, il existe au moins trois raisons pour considérer l'AMH comme un marqueur différent des paramètres hormonaux mentionnés précédemment.

1. La première résulte du fait que cette hormone est produite par les follicules depuis le stade primaire [39, 40] jusqu'au stade antral

débutant chez la souris et la rate [41, 42] ou jusqu'à une taille comprise entre 2 et 4 mm chez la femme [43]. Donc, le nombre de follicules qui synthétisent de l'AMH est plus important que celui qui produit de l'inhibine B.

2. La seconde raison repose sur des observations suggérant que cette molécule n'est pas régulée par FSH chez la femme. La production d'AMH par les follicules au stade de croissance basale (< 2 mm), dont le développement est peu dépendant de FSH, peut en effet suggérer que la production de cette molécule n'est pas stimulée par FSH [41]. En outre, chez un groupe de femmes ayant reçu, en début de phase folliculaire, de la FSH exogène, aucune variation significative des concentrations d'AMH n'a été observée [44, 45].

3. Enfin, comme nous l'avons montré, les concentrations d'AMH au 3^e jour du cycle ne sont pas soumises aux variations inter-cycliques observées avec l'œstradiol, l'inhibine B et la FSH [46].

En raison de la faible production d'AMH chez la femme adulte [47], la mesure précise des concentrations de cette hormone dans le sang périphérique n'a été possible qu'après la mise au point d'une technique de dosage ELISA ultrasensible [48, 49]. Ce nouveau dosage ELISA, qui utilise deux anticorps monoclonaux, s'est montré plus performant que les dosages préexistants, avec une limite de détection d'AMH 20 fois inférieure. Il a donc permis la réalisation d'un nombre croissant d'études cliniques visant à évaluer la relation entre les concentrations sanguines d'AMH et le fonctionnement ovarien, en particulier l'appréciation du statut folliculaire.

Probablement parce que l'AMH est produite par plusieurs stades folliculaires à la fois, ses concentrations sanguines restent relativement stables au cours du cycle menstruel [50-52]. Il est donc possible que la production d'AMH par les follicules non dominants masque la diminution des concentrations circulantes d'AMH que l'on devrait observer pendant la phase finale de la folliculogénèse, ce qui n'est pas le cas de la stimulation ovarienne [53].

Les premières démonstrations de l'intérêt clinique de l'AMH en tant que marqueur du statut folliculaire ovarien sont relativement récentes. De Vet et al. [54] ont suivi, de manière longitudinale, une cohorte de 41 femmes normo-ovulantes pour mettre en évidence d'éventuelles variations des marqueurs hormonaux (AMH, FSH, œstradiol, et inhibine B) et échographiques (nombre de follicules sélectionnables) évalués le 3^e jour du cycle et leur association avec le vieillissement ovarien. Cette étude a montré une diminution significative des concentrations d'AMH entre les deux visites médicales effectuées à $2,6 \pm 1,8$ ans d'intervalle, qui contraste avec la stabilité des

autres marqueurs analysés. Ces résultats renforcent la place de l'AMH en tant que marqueur de choix dans l'évaluation du vieillissement ovarien. Simultanément, Seifer et al. [55], van Rooij et al. [56] ont montré qu'il existe une corrélation entre les concentrations sanguines d'AMH mesurées en début de phase folliculaire et l'intensité de la réponse ovarienne à une stimulation. De plus, le nombre de follicules sélectionnables est étroitement associé aux concentrations sanguines d'AMH [54]. Nous avons montré que cette association était significativement plus intense que celle entre la FSH, l'inhibine B et l'oestradiol et le nombre de follicules sélectionnables le 3^e jour du cycle [57].

Par ailleurs, van Rooij et al. [56] ont montré que, pour l'évaluation du statut folliculaire ovarien, la valeur prédictive des concentrations d'AMH est comparable à celle du compte folliculaire antral. Cette même équipe a par la suite mis en évidence que, associée à l'inhibine B, l'AMH est également un marqueur fiable de l'apparition des troubles du cycle menstruel révélateurs de la préménopause [58]. Des données plus récentes montrent que les dosages d'AMH peuvent même prédire l'âge d'occurrence de la ménopause [59, 60], ce qui confirme la bonne fiabilité de ce marqueur dans le monitoring des altérations ovariennes fonctionnelles liées au vieillissement. De plus, chez des femmes ayant subi une chimiothérapie pendant l'enfance, l'AMH, en association avec la mesure du volume ovarien présente une excellente sensibilité pour la détection d'éventuelles altérations ovariennes [44].

LE MONITORAGE DES CONSÉQUENCES DES CHIMIOTHÉRAPIES SUR LA FONCTION OVARIENNE

Longtemps, le monitoring des conséquences des chimiothérapies sur la fonction ovarienne s'est cantonné à l'observation d'une défaillance ovarienne profonde, traduite cliniquement par la survenue d'une aménorrhée plus au moins réversible [61, 62]. Certaines études ont d'ailleurs utilisé cet événement clinique comme indicateur de l'efficacité thérapeutique dans le cancer du sein [63], bien que cette question reste controversée (voir revue [64]). Pendant ces dernières décennies, le peu d'intérêt consacré par les publications oncologiques, en particulier celles centrées sur les cancers de la femme jeune, aux conséquences des chimiothérapies sur la fertilité féminine est remarquable. Force est de consta-

ter que, même lorsqu'elle est transitoire, l'aménorrhée signe la survenue d'altérations ovariennes irréversibles. En effet, l'âge de la ménopause est plus précoce parmi les femmes ayant subi un arrêt iatrogène plus ou moins prolongé des règles [65].

Avec le développement de techniques performantes de préservation de la fertilité, comme la cryoconservation embryonnaire, ovocytaire, ou de tissu ovarien (voir revue [66]), le besoin d'un diagnostic précoce et précis des altérations précliniques de la fonction ovarienne liées aux chimiothérapies s'est fait sentir. Anderson et al. [28] ont montré que, par rapport aux dosages d'œstradiol et de FSH, ceux d'AMH chutent de façon plus constante et rapide après chimiothérapie chez des patientes atteintes d'un cancer du sein. En outre, la diminution des taux d'AMH a eu lieu sans une correspondante diminution des taux d'inhibine B ou élévation des taux de FSH [28]. Ce phénomène peut indiquer que les follicules primordiaux et préantraux seraient, plutôt que les follicules cycliques, le site primaire de toxicité des chimiothérapies. Ces résultats soutiennent l'hypothèse selon laquelle, même sans altération notable des cycles menstruels, des dégâts ovariens liés aux chimiothérapies sont possibles et peuvent rester sous-diagnostiqués [67]. Une étude précédente focalisée sur le suivi de la fonction ovarienne chez 8 patientes traitées pour cancer du sein a observé chez toutes une reprise de la fonction cyclique après chimiothérapie, mais 3 d'entre elles ont présenté des cycles irréguliers et les 5 autres un effondrement de l'inhibine B et une élévation nette de la FSH, ce qui suggère un degré d'altération de la réserve folliculaire sous-jacente [69]. Plus récemment, la meilleure sensibilité de l'AMH par rapport à la FSH ou l'inhibine B dans le monitoring des altérations ovariennes post-chimiothérapie a été confirmée par une étude de suivi de certaines patientes traitées par lymphome de Hodgkin pendant l'enfance [68]. Pour d'autres auteurs [70], c'est plutôt la combinaison entre le compte folliculaire antral et les dosages d'AMH qui donne la meilleure valeur prédictive de la réserve folliculaire chez des patientes ayant bénéficié d'une chimiothérapie pour lymphome de Hodgkin, avec une sensibilité de 83 % et une spécificité de 88 %. Le même risque d'altération ovarienne semble exister lors des chimiothérapies pour cancers hématologiques, comme le démontrent les modifications des taux d'AMH et du compte folliculaire antral [71]. Par ailleurs, les taux préthérapeutiques d'AMH semblent contributifs dans la prédiction du risque d'aménorrhée post-chimiothérapie, cette éventualité étant significativement plus fréquente parmi les patientes dotées de taux d'AMH bas.

CONCLUSION

Des statistiques américaines récentes font état de 680 000 femmes atteintes de cancer en 2007 [25]. Vers l'année 2010, on estime qu'une personne sur 250 aura survécu à des cancers pédiatriques [25]. De plus, 2 % de la population de moins de 40 ans va développer un cancer et la moitié nécessitera un traitement potentiellement stérilisant. Les progrès notables réalisés en termes de taux de guérison après chimiothérapie chez la femme en âge de procréer renforcent la nécessité d'affiner les indications des techniques de préservation de la fertilité. Hélas de nos jours, le potentiel néfaste sur le statut folliculaire ovarien des différents traitements anticancéreux reste insuffisamment connu et peut-être sous-estimé, puisque basé sur l'observation d'une aménorrhée ou d'une ménopause. L'utilisation de marqueurs modernes et fiables du fonctionnement des ovaires, comme l'AMH ou le compte folliculaire antral, qui peuvent s'altérer avant toute modification cyclique perceptible, permettra dans l'avenir de mieux identifier les chimiothérapies causant une perte importante et irréversible de la fertilité ovarienne.

Résumé

De nos jours, des indicateurs précis et peu invasifs du fonctionnement ovarien, en particulier le compte folliculaire antral à l'échographie et le dosage des taux sériques d'hormone anti-Müllérienne (AMH), ont été validés. Ceci a ouvert de nouvelles perspectives dans l'étude de toxicité infra-clinique des chimiothérapies. Les femmes jeunes traitées par chimiothérapie présentent un fort risque de diminution de leur fertilité, essentiellement par altération de leur fonction ovarienne. La majorité des études disponibles se limite à répertorier la survenue d'une aménorrhée ou même d'une défaillance ovarienne précoce, conséquence connue, bien qu'extrême, de l'exposition de la gonade féminine aux drogues de chimiothérapie. Il est toutefois possible que des altérations plus subtiles du statut folliculaire ovarien aient lieu bien avant l'installation des altérations cycliques. L'obtention de données précises à ce sujet pourra non seulement favoriser l'information adéquate des patientes, mais aussi orienter le type et les posologies de certains médicaments et l'indication d'une technique de préservation de la fertilité.

Mots clés : chimiothérapie, réserve ovarienne, fertilité, cancer

Bibliographie

- [1] Brougham MF, Wallace WH. Subfertility in children and young people treated for solid and haematological malignancies. *Br J Haematol* 2005;131:143-55.
- [2] Oktay K, Sönmezer M. Chemotherapy and amenorrhea: risks and treatment options. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2008;20:408-15.
- [3] This P. Breast cancer and fertility: critical review, considerations and perspectives. *Bull Cancer* 2008;95:17-25.
- [4] Larsen EC, Muller J, Schmiegelow K, Rechnitzer C, Andersen AN. Reduced ovarian function in long-term survivors of radiation- and chemotherapy-treated childhood cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:5307-14.
- [5] Larsen EC, Müller J, Rechnitzer C, Schmiegelow K, Andersen AN. Diminished ovarian reserve in female childhood cancer survivors with regular menstrual cycles and basal FSH <10 IU/l. *Hum Reprod* 2003;18:417-22.
- [6] Franke HR, Smit WM, Vermes I. Gonadal protection by a gonadotropin-releasing hormone agonist depot in young women with Hodgkin's disease undergoing chemotherapy. *Gynecol Endocrinol* 2005;20:274-8.
- [7] Mackie EJ, Radford M, Shalet SM. Gonadal function following chemotherapy for childhood Hodgkin's disease. *Med Pediatr Oncol* 1996;27:74-8.
- [8] Schilsky RL, Sherins RJ, Hubbard SM, Wesley MN, Young RC, DeVita VT. Long-term follow up of ovarian function in women treated with MOPP chemotherapy for Hodgkin's disease. *Am J Med* 1981;71:552-6.
- [9] Clark ST, Radford JA, Crowther D, Swindell R, Shalet SM. Gonadal function following chemotherapy for Hodgkin's disease: a comparative study of MVPP and a seven-drug hybrid regimen. *J Clin Oncol* 1995;13:134-9.
- [10] Thibaud E, Rodriguez-Macias K, Trivin C, Espérou H, Michon J, Brauner R. Ovarian function after bone marrow transplantation during childhood. *Bone Marrow Transplant* 1998;21:287-90.
- [11] Meirow D. Reproduction post-chemotherapy in young cancer patients. *Mol Cell Endocrinol* 2000;169:123-31.
- [12] Rahhal SN, Eugster EA. Unexpected recovery of ovarian function many years after bone marrow transplantation. *J Pediatr* 2008;152:289-90.
- [13] Falcone T, Bedaiwy MA. Fertility preservation and pregnancy outcome after malignancy. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2005;17:21-6.
- [14] Whitehead E, Shalet SM, Jones PH, Beardwell CG, Deakin DP. Gonadal function after combination chemotherapy for Hodgkin's disease in childhood. *Arch Dis Child* 1982;57:287-91.
- [15] Wallace WH, Shalet SM, Crowne EC, Morris-Jones PH, Gattamaneni HR, Price DA. Gonadal dysfunction due to cis-platinum. *Med Pediatr Oncol* 1989;17:409-13.
- [16] Wallace WH, Shalet SM, Lendon M, Morris-Jones PH. Male fertility in long-term survivors of childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Int J Androl* 1991;14:312-9.
- [17] Whitehead E, Shalet SM, Blackledge G, Todd I, Crowther D, Beardwell CG. The effect of combination chemotherapy on ovarian function in women treated for Hodgkin's disease. *Cancer* 1983;52:988-93.
- [18] Chiarelli AM, Marrett LD, Darlington G. Early menopause and infertility in females after treatment for childhood cancer diagnosed in 1964-1988 in Ontario, Canada. *Am J Epidemiol* 1999;150:245-54.
- [19] Yucebilgin MS, Terek MC, Ozsaran A, Akercan F, Zekioglu O, Isik E, Erhan Y. Effect of chemotherapy on primordial follicular reserve of rat: an animal model of premature ovarian failure and infertility. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2004;44:6-9.
- [20] Johnson J, Canning J, Kaneko T, Pru JK, Tilly JL. Germline stem cells and follicular renewal in the postnatal mammalian ovary. *Nature* 2004;428:145-50.
- [21] Blumenfeld Z, Dann E, Avivi I, Epelbaum R, Rowe JM. Fertility after treatment for Hodgkin's disease. *Ann Oncol* 2002;13 Suppl 1:138-47.
- [22] Pereyra Pacheco B, Méndez Ribas JM, Milone G, Fernández I, Kvicala R, Mila T, Di Noto A, Contreras Ortiz O, Pavlovsky S. Use of GnRH analogs for functional protection of the ovary and preservation of fertility during cancer treatment in adolescents: a preliminary report. *Gynecol Oncol* 2001;81:391-7.

- [23] Recchia F, Saggio G, Amiconi G, Di Blasio A, Cesta A, Candeloro G, Rea S. Gonadotropin-releasing hormone analogues added to adjuvant chemotherapy protect ovarian function and improve clinical outcomes in young women with early breast carcinoma. *Cancer* 2006;106:514-23.
- [24] Weir HK, Thun MJ, Hankey BF, Ries LA, Howe HL, Wingo PA, Jemal A, Ward E, Anderson RN, Edwards BK. Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2000, featuring the uses of surveillance data for cancer prevention and control. *J Natl Cancer Inst* 2003;95:1276-99.
- [25] Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2007. *CA Cancer J Clin* 2007;57:43-66.
- [26] Minton SE, Munster PN. Chemotherapy-induced amenorrhea and fertility in women undergoing adjuvant treatment for breast cancer. *Cancer Control* 2002;9:466-72.
- [27] 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;24:1045-51.
- [28] Anderson RA, Themmen AP, Al-Qahatani A, Groome NP, Cameron DA. The effects of chemotherapy and long-term gonadotrophin suppression on the ovarian reserve in premenopausal women with breast cancer. *Hum Reprod* 2006;21:2583-92.
- [29] Waggoner SE. Cervical cancer. *Lancet* 2003;361:2217-25.
- [30] Tangir J, Zelterman D, Ma W, Schwartz PE. Reproductive function after conservative surgery and chemotherapy for malignant germ cell tumors of the ovary. *Obstet Gynecol* 2003;101:251-7.
- [31] Gaffan J, Holden L, Newlands ES, Short D, Fuller S, Begent RH, Rustin GJ, Seckl MJ. Infertility rates following POMB/ACE chemotherapy for male and female germ cell tumours - a retrospective long-term follow-up study. *Br J Cancer* 2003;89:1849-54.
- [32] Dann EJ, Epelbaum R, Avivi I, Ben Shahr M, Haim N, Rowe JM, Blumenfeld Z. Fertility and ovarian function are preserved in women treated with an intensified regimen of cyclophosphamide, adriamycin, vincristine and prednisone (Mega-CHOP) for non-Hodgkin lymphoma. *Hum Reprod* 2005;20:2247-9.
- [33] Bacci G, Ferrari S, Bertoni F, Ruggieri P, Picci P, Longhi A, Casadei R, Fabbri N, Forni C, Versari M, Campanacci M. Long-term outcome for patients with nonmetastatic osteosarcoma of the extremity treated at the istituto ortopedico rizzoli according to the istituto ortopedico rizzoli/osteosarcoma-2 protocol: an updated report. *J Clin Oncol* 2000;18:4016-27.
- [34] Byrne J. Infertility and premature menopause in childhood cancer survivors. *Med Pediatr Oncol* 1999;33:24-8.
- [35] Meirou D. Ovarian injury and modern options to preserve fertility in female cancer patients treated with high dose radio-chemotherapy for hemato-oncological neoplasias and other cancers. *Leuk Lymphoma* 1999;33:65-76.
- [36] Gougeon A. Regulation of ovarian follicular development in primates: facts and hypotheses. *Endocr Rev* 1996;17:121-55.
- [37] Reuss ML, Kline J, Santos R, Levin B, Timor-Tritsch I. Age and the ovarian follicle pool assessed with transvaginal ultrasonography. *Am J Obstet Gynecol* 1996;174:624-7.
- [38] Chang MY, Chiang CH, Hsieh TT, Soong YK, Hsu KH. Use of the antral follicle count to predict the outcome of assisted reproductive technologies. *Fertil Steril* 1998;69:505-10.
- [39] Bancsi LF, Broekmans FJ, Eijkemans MJ, de Jong FH, Habbema JD, te Velde ER. Predictors of poor ovarian response in in vitro fertilization: a prospective study comparing basal markers of ovarian reserve. *Fertil Steril* 2002;77:328-36.
- [40] Beckers NG, Macklon NS, Eijkemans MJ, Fauser BC. Women with regular menstrual cycles and a poor response to ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization exhibit follicular phase characteristics suggestive of ovarian aging. *Fertil Steril* 2002;78:291-7.
- [41] Münsterberg A, Lovell-Badge R. Expression of the mouse anti-müllerian hormone gene suggests a role in both male and female sexual differentiation. *Development* 1991;113:613-24.
- [42] Taketo T, Saeed J, Manganaro T, Takahashi M, Donahoe PK. Müllerian inhibiting substance production associated with loss of oocytes and testicular differentiation in the transplanted mouse XX gonadal primordium. *Biol Reprod* 1993;49:13-23.
- [43] Baarends WM, Uilenbroek JT, Kramer P, Hoogerbrugge JW, van Leeuwen EC, Themmen AP, Grootegoed JA. Anti-müllerian hormone and anti-müllerian hormone type II receptor

messenger ribonucleic acid expression in rat ovaries during postnatal development, the estrous cycle, and gonadotropin-induced follicle growth. *Endocrinology* 1995;136:4951-62.

[44] Durlinger AL, Gruijters MJ, Kramer P, Karels B, Ingraham HA, Nachtigal MW, Uilenbroek JT, Grootegoed JA, Themmen AP. Anti-Müllerian hormone inhibits initiation of primordial follicle growth in the mouse ovary. *Endocrinology* 2002;143:1076-84.

[45] Weenen C, Laven JS, Von Bergh AR, Cranfield M, Groome NP, Visser JA, Kramer P, Fauser BC, Themmen AP. Anti-Müllerian hormone expression pattern in the human ovary: potential implications for initial and cyclic follicle recruitment. *Mol Hum Reprod* 2004;10:77-83.

[46] Bath LE, Wallace WH, Shaw MP, Fitzpatrick C, Anderson RA. Depletion of ovarian reserve in young women after treatment for cancer in childhood: detection by anti-Müllerian hormone, inhibin B and ovarian ultrasound. *Hum Reprod* 2003;18:2368-74.

[47] Wachs DS, Coffler MS, Malcom PJ, Chang RJ. Serum anti-müllerian hormone concentrations are not altered by acute administration of follicle stimulating hormone in polycystic ovary syndrome and normal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:1871-4.

[48] Fanchin R, Taieb J, H Mendez Lozano D, Ducot B, Frydman R, Bouyer J. High reproducibility of serum anti-Müllerian hormone measurements suggests a multi-staged follicular secretion and strengthens its role in the assessment of ovarian follicular status. *Hum Reprod* 2005;20:923-7.

[49] Lee MM, Donahoe PK, Hasegawa T, Silverman B, Crist GB, Best S, Hasegawa Y, Noto RA, Schoenfeld D, MacLaughlin DT. Müllerian inhibiting substance in humans: normal levels from infancy to adulthood. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:571-6.

[50] Rey RA, Belville C, Nihoul-Fekete C, Michel-Calemard L, Forest MG, Lahlou N, Jaubert F, Mowszowicz I, David M, Saka N, et al. Evaluation of gonadal function in 107 intersex patients by means of serum anti-Müllerian hormone measurement. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84: 627-31.

[51] Long WQ, Ranchin V, Pautier P, Belville C, Denizot P, Cailla H, Lhomme C, Picard JY, Bidart JM, Rey R. Detection of minimal levels of serum anti-Müllerian hormone during follow-up of patients with ovarian granulosa cell tumor by

means of a highly sensitive enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:540-4.

[52] La Marca A, Malmusi S, Giulini S, Tamaro LF, Orvieto R, Levratti P, Volpe A. Anti-Müllerian hormone plasma levels in spontaneous menstrual cycle and during treatment with FSH to induce ovulation. *Hum Reprod* 2004;19:2738-41.

[53] Hehenkamp WJ, Looman CW, Themmen AP, de Jong FH, Te Velde ER, Broekmans FJ. Anti-Müllerian hormone levels in the spontaneous menstrual cycle do not show substantial fluctuation. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:4057-63.

[54] La Marca A, Stabile G, Artenisio AC, Volpe A. Serum anti-Müllerian hormone throughout the human menstrual cycle. *Hum Reprod* 2006;21:3103-7.

[55] Fanchin R, Schonauer LM, Righini C, Frydman N, Frydman R, Taieb J. Serum anti-Müllerian hormone dynamics during controlled ovarian hyperstimulation. *Hum Reprod* 2003;18:328-32.

[56] de Vet, A, Laven, JS, de Jong, FH, Themmen, AP, Fauser, BC. Antimüllerian hormone serum levels: a putative marker for ovarian aging. *Fertil Steril* 2002;77:357-62.

[57] Seifer DB, MacLaughlin DT, Christian BP, Feng B, Shelden RM. Early follicular serum müllerian-inhibiting substance levels are associated with ovarian response during assisted reproductive technology cycles. *Fertil Steril* 2002;77:468-71.

[58] Van Rooij IA, Broekmans FJ, te Velde ER, Fauser BC, Bancsi LF, de Jong FH, Themmen AP. Serum anti-Müllerian hormone levels: a novel measure of ovarian reserve. *Hum Reprod* 2002;17:3065-71.

[59] Fanchin R, Schonauer LM, Righini C, Guibourdenche J, Frydman R, Taieb J. Serum anti-Müllerian hormone is more strongly related to ovarian follicular status than serum inhibin B, estradiol, FSH and LH on day 3. *Hum Reprod* 2003;18:323-7.

[60] Van Rooij IA, Tonkelaar I, Broekmans FJ, Looman CW, Scheffer GJ, de Jong FH, Themmen AP, Te Velde ER. Anti-müllerian hormone is a promising predictor for the occurrence of the menopausal transition. *Menopause* 2004;11:601-6.

[61] Van Disseldorp J, Faddy MJ, Themmen AP, de Jong FH, Peeters PH, van der Schouw YT, Broekmans FJ. Relationship of serum antimüllerian hormone concentration to age at menopause. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:2129-34.

- [62] Sowers MR, Eyvazzadeh AD, McConnell D, Yosef M, Jannausch ML, Zhang D, Harlow S, Randolph JF Jr. Anti-mullerian hormone and inhibin B in the definition of ovarian aging and the menopause transition. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:3478-83.
- [63] Brincker H, Rose C, Rank F, Mouridsen HT, Jakobsen A, Dombrowsky P, Panduro J, Andersen KW. Evidence of a castration-mediated effect of adjuvant cytotoxic chemotherapy in premenopausal breast cancer. *J Clin Oncol* 1987; 5:1771-8.
- [64] Ataya K, Moghissi K. Chemotherapy-induced premature ovarian failure: mechanisms and prevention. *Steroids* 1989;54:607-26.
- [65] Bianco AR, Del Mastro L, Gallo C, Perrone F, Matano E, Pagliarulo C, De Placido S. Prognostic role of amenorrhea induced by adjuvant chemotherapy in premenopausal patients with early breast cancer. *Br J Cancer* 1991; 63:799-803.
- [66] Walshe JM, Denduluri N, Swain SM. Amenorrhea in premenopausal women after adjuvant chemotherapy for breast cancer. *J Clin Oncol* 2006;24:5769-79.
- [67] 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;43:1646-53.
- [68] Oktay K, Sönmezer M. Chemotherapy and amenorrhea: risks and treatment options. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2008;20:408-15.
- [69] Oktay K, Oktem O, Reh A, Vahdat L. Measuring the impact of chemotherapy on fertility in women with breast cancer. *J Clin Oncol* 2006;24:4044-6.
- [70] Schmidt KL, Andersen CY, Loft A, Byskov AG, Ernst E, Andersen AN. Follow-up of ovarian function post-chemotherapy following ovarian cryopreservation and transplantation. *Hum Reprod* 2005;20:3539-46.
- [71] Van Beek RD, van den Heuvel-Eibrink MM, Laven JS, de Jong FH, Themmen AP, Hakvoort-Cammel FG, van den Bos C, van den Berg H, Pieters R, de Muinck Keizer-Schrama SM. Anti-Mullerian hormone is a sensitive serum marker for gonadal function in women treated for Hodgkin's lymphoma during childhood. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92:3869-74.
- [72] Giuseppe L, Attilio G, Edoardo DN, Loredana G, Cristina L, Vincenzo L. Ovarian function after cancer treatment in young women affected by Hodgkin disease (HD). *Hematology* 2007;12:141-7.
- [73] Lie Fong S, Lugtenburg PJ, Schipper I, Themmen AP, de Jong FH, Sonneveld P, Laven JS. Anti-müllerian hormone as a marker of ovarian function in women after chemotherapy and radiotherapy for haematological malignancies. *Hum Reprod* 2008;23:674-8.