

## COMMUNICATION

### Cryoconservation du tissu ovarien chez l'enfant

MOTS-CLÉS : PRÉSERVATION DE LA FERTILITÉ. OVAIRE. CRYOCONSERVATION. ENFANT

#### *Ovarian tissue cryopreservation in girls*

KEY-WORDS (Index medicus): FERTILITY PRESERVATION. OVARY. CRYOPRESERVATION. CHILD

Catherine POIROT \*, Florent GUERIN \*\*, Karima YAKOUBEN \*\*\*, Marie PRADES \*, Hélène MARTELLI \*\*, Laurence BRUGIERES \*\*\*\*

**Les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêt en relation avec le contenu de cet article.**

#### RÉSUMÉ

*Les petites filles traitées pour un cancer sont à risque de développer une dysfonction hormonale ovarienne ou une infertilité du fait de la gonadotoxicité de certaines molécules de chimiothérapie et/ou de la radiothérapie. En conséquence, la préservation de la fertilité doit être évoquée avant la mise en route de traitements gonadotoxiques. La cryoconservation de cortex ovarien est la seule technique existante de préservation de la fertilité pour les petites filles prépubères et doit être proposée si le risque d'insuffisance ovarienne prématurée est important. Cette approche prometteuse permet le stockage d'un grand nombre de follicules, qui pourront être, dans l'avenir, soit transplantés soit cultivés pour obtenir des ovocytes matures. Les résultats de la cryoconservation de cortex ovarien chez l'adulte sont encourageants car au moins une vingtaine d'enfants sont nés après autogreffe orthotopique de cortex ovarien préalablement congelé. Il a été aussi montré par deux fois que la greffe de cortex ovarien prélevé chez des enfants prépubères a permis d'induire une puberté spontanée confirmant la capacité fonctionnelle du tissu ovarien congelé avant la puberté.*

\* Histologie à orientation Biologie de la Reproduction — CECOS. Hôpital Tenon, 4 rue de la Chine, 75020 Paris. Université Pierre de Marie Curie, 75006 Paris.

\*\* Chirurgie Pédiatrique, Hôpital du Kremlin Bicêtre, 78 rue du Général Leclerc — 94270 Le Kremlin Bicêtre, Université Paris XI.

\*\*\* Hématologie Immunologie Pédiatrique, CHU Robert Debré, 48 Bd Sérurier — 75019 Paris.

\*\*\*\* Oncologie Pédiatrique, Institut Gustave Roussy, 39 rue Camille Desmoulins — 94805 Villejuif Cedex.

*Tirés à part* : Professeur Catherine POIROT, même adresse.

*Article reçu le 17 avril 2013, accepté le 27 mai 2013*

## SUMMARY

*Girls who undergo treatment for cancer are at risk of ovarian hormonal dysfunction and subfertility due to the detrimental effects of some chemotherapeutic agents and/or radiotherapy on the gonads. Consequently, fertility-preserving techniques should be discussed before starting gonadotoxic therapy. Ovarian tissue cryopreservation is currently the only option to preserve fertility in prepubertal girls and should be considered if the risk of premature ovarian failure is high. This promising approach involves the storage of a large number of follicles, which may subsequently be transplanted or cultured to obtain mature ovocytes. The results of ovarian tissue cryopreservation in adults are encouraging: at least twenty children have been born after orthotopic autografting of frozen-thawed ovarian cortex. It has been shown twice that transplanted prepubertal ovarian tissue can induce puberty, confirming the functional capacity of frozen-thawed prepubertal ovarian tissue.*

## INTRODUCTION

Les cancers de l'enfant sont des affections rares. En France, en 2005, 1 583 cas de nouveaux cancers ont été diagnostiqués pour des patients de 0 à 14 ans alors qu'ils étaient de 1 327 en 1975. Par contre, la mortalité a été de 247 cas en 2005 contre 893 en 1975 pour cette même tranche d'âge (Données InVS). Ainsi, il a été estimé qu'en 2010, un adulte sur 715 aura été traité pour un cancer durant son enfance. Leur traitement est devenu, durant les deux dernières décennies, de plus en plus performant avec un taux de guérison moyen de 75 %. Pour certains cancers pédiatriques fréquents comme les tumeurs de Wilm's ou la maladie de Hodgkin, les taux de guérison approchent les 90 %. Les protocoles thérapeutiques des cancers de l'enfant associent de façon variable chirurgie, radiothérapie, chimiothérapie et parfois, greffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH). Donc, les divers traitements, seuls ou en association, permettent d'obtenir fréquemment la guérison mais souvent encore au prix de séquelles qui altèrent la qualité de vie de l'enfant devenu adulte. Parmi ces séquelles, il y a les effets sur la fonction gonadique. Elles n'apparaissent évidentes qu'au moment de la puberté et la subfertilité et l'infertilité sont responsables d'un impact psychologique particulièrement péjoratif. Il peut ainsi être douloureux pour les patientes d'accepter l'impossibilité d'être mère du fait des traitements reçus, car la maternité est une des étapes majeures de la vie affective d'une femme. Ainsi, préserver la fertilité des patients doit être une préoccupation du thérapeute.

La préservation de la fertilité féminine est un domaine d'investigation récent et prometteur. Parmi les différentes options possibles (cryoconservation d'embryons, la cryoconservation d'ovocytes matures, la cryoconservation de cortex ovarien), la cryoconservation de cortex ovarien est la principale technique de préservation de la fertilité faisable chez la petite fille prépubère [1].

La cryoconservation d'ovaire est proposée depuis plus de 15 ans. À ce jour, plus d'une vingtaine d'enfants sont nés au travers le monde après autogreffe de cortex ovarien préalablement congelé chez une femme à l'âge adulte [2]. Ces résultats

laissent penser que la cryoconservation d'ovaire pourra aussi restaurer la fertilité des patientes qui ont bénéficié d'une conservation d'ovaire dans l'enfance.

Cependant, proposer une cryoconservation de cortex ovarien à une petite fille soulève de nombreuses interrogations, comme notamment, l'identification des patientes pour lesquelles une cryoconservation d'ovaire est indiquée, l'obtention du consentement car l'enfant n'a pas toujours l'âge de comprendre ce qu'on lui propose et l'efficacité de la conservation d'ovaire d'une petite fille prépubère n'est pas encore prouvée car il reste à démontrer que le tissu ovarien prélevé chez une petite fille prépubère peut permettre une grossesse quand il sera réimplanté après la puberté.

## **LES INDICATIONS DE LA CRYOCONSERVATION D'OVAIRE**

L'ampleur du retentissement du traitement sur la fonction gonadique dépend de l'âge de la patiente, des agents chimiothérapeutiques utilisés et de l'association éventuelle chimiothérapie/radiothérapie. La dose cumulative des produits gonadotoxiques est un facteur déterminant pour la perte de la fonction ovarienne. Les ovaires de petites filles contenant un plus grand nombre d'ovocytes que les ovaires de femmes plus âgées, l'impact de la chimiothérapie est moindre.

Pour traiter les cancers de l'enfant, la chimiothérapie est utilisée dans 90 % des cas. Toutes les classes de chimiothérapie n'ont pas la même toxicité sur les ovaires. Certains traitements se sont montrés extrêmement délétères pour la fonction ovarienne, comme les agents alkylants qui détruisent les follicules primordiaux de la réserve folliculaire, quel que soit l'âge de la patiente. Les conditionnements avant autogreffes de cellules souches hématopoïétiques en cas de tumeurs malignes solides ou allogreffes en cas de leucémie aigüe comportent toujours une chimiothérapie à haute dose. Elles sont quasiment toujours à base d'alkylants : Busulfan 600 g/m<sup>2</sup>, Melphalan  $\geq$  140 mg/m<sup>2</sup>, Thiotepa  $\geq$  600 mg/m<sup>2</sup>. En 2010, 146 enfants et adolescents < 18 ans ont reçu une autogreffe de CSH. Il a été montré, que pour des jeunes filles dont l'âge était compris entre 4,7 ans et 17,3 ans au moment de la greffe de cellules souches hématopoïétiques et qui avaient bénéficié d'un conditionnement contenant du Busulfan, toutes ces patientes ont présenté une insuffisance ovarienne prématurée persistante [3].

De même certaines doses de radiothérapie s'avèrent très toxiques pour des ovaires prépubères. Ainsi Thibaud et *al.* ont précisé qu'une simple dose inférieure ou égale à 10 Gy avant la puberté était la cause d'un taux d'insuffisance ovarienne entre 55 et 88 % alors qu'en cas de doses fractionnées égales ou supérieures à 15 Gy, l'insuffisance ovarienne était constante [4]. Plus récemment, en 2005, il a été rapporté pour la première fois, qu'en tenant compte de l'appréciation précise des doses reçues par les ovaires lors d'une radiothérapie et de la radiosensibilité des ovocytes humains, il était possible de prédire l'âge de survenue d'une insuffisance ovarienne. Ainsi la dose induisant une insuffisance ovarienne prématurée dès la fin du traitement est à la naissance de 20,3 Gy, à 10 ans de 18,4 Gy, à 20 ans de 16,5 Gy et à 30 ans de

14,3 Gy [5]. Elle peut également être réalisée comme conditionnement d'une greffe de cellules souches hématopoïétiques, il s'agit alors d'une irradiation corporelle totale.

Le conditionnement avant une greffe de cellules souches hématopoïétiques peut aussi induire un retard pubertaire voire un impubérisme. Ceci a été rapporté comme pouvant survenir dans 57 % des cas chez les filles prépubères [6].

Le médecin référent se doit d'informer les parents des risques des traitements pour la fonction ovarienne et de proposer systématiquement une consultation avec une équipe de biologie de la reproduction pour évoquer les techniques de préservation de la fertilité. Il s'agit souvent d'un moment douloureux lors des consultations. Cela concerne au moins toutes les fillettes et jeunes filles qui vont recevoir une chimiothérapie à haute dose comportant des alkylants, une autogreffe ou une allogreffe de CSH, une irradiation abdominopelvienne. Pour les autres traitements, une discussion au cas par cas devra être entreprise pour évaluer la balance bénéfice-risque pour la fonction ovarienne.

Sur un plan médical, certaines circonstances, comme une thrombopénie profonde contre indique le prélèvement d'ovaire. Une rencontre avec les psychologues cliniciens rattachés aux services d'onco-hématologie pédiatrique est également proposée.

## **LA CRYOCONSERVATION DU TISSU OVARIEN**

La grande taille de l'ovocyte mature, son important contenu en eau, la présence du fuseau de division de la métaphase 2, faisaient que sa congélation présentait des résultats limités. Les auteurs se sont alors tournés vers la congélation de l'ovocyte immature, bloqué en fin de prophase de la première division méiotique, en s'appuyant sur des études qui portaient sur la cryoconservation d'ovaire, publiées dans les années 50 chez les rongeurs. Dans l'espèce humaine, il a été montré que la congélation de fragments ovariens était une technique fiable en termes de survie des ovocytes immatures, permettant, ainsi, de conserver un grand nombre d'ovocytes [7]. Il est devenu possible, depuis une quinzaine d'années, de proposer la cryoconservation de fragments d'ovaire à des patientes devant subir un traitement fortement gonadotoxique et, même, en conséquence à des petites filles où la stimulation de l'ovulation n'est pas réalisable.

### **Données de la littérature sur la cryoconservation d'ovaire chez les enfants prépubères**

Plusieurs séries de patientes ayant bénéficié d'une cryoconservation de cortex ovarien ont été publiées, dont une partie ou la totalité des patientes étaient prépubères.

La première étude publiée en 2002 rapporte une série de 31 patientes ayant bénéficié d'une cryoconservation d'ovaire dont 45 % avaient moins de 15 ans et 19 % avaient moins de 10 ans. Parmi les 6 patientes de moins de 10 ans, 3 présentaient un

neuroblastome, 2 un médulloblastome et 1 une leucémie aigüe. Elles devaient toutes bénéficier d'un conditionnement prégreffe de CSH. Le suivi des patientes était inconnu pour 2 patientes et les 4 autres étaient décédées. La densité folliculaire était de  $20,36 \pm 19,03/\text{mm}^2$  pour les patientes de moins de 7 ans, densité folliculaire très supérieure aux densités observées pour les patientes plus âgées. C'était la première fois qu'un nombre important de patientes prépubères ayant bénéficié d'une cryoconservation d'ovaire était décrite [8]. Six ans plus tard, Andersen *et al.*, dans une population de 36 patientes, avait 25 % patientes de moins de 15 ans et moins de 1 % de moins de 10 ans [9]. Les autres publications ne rapportent pas de façon précise, le nombre de patientes prépubères de leur population. Schmidt *et al.* ont eu 24 % de patientes de moins de 18 ans [10] et Oktay *et al.*, en ont eu 19 % [11]. Une étude très récente présente l'expérience de 15 ans de conservation d'ovaire en vue de préservation de la fertilité, portant sur 476 patientes. Quatre-vingt-deux patientes (17,2 %) étaient âgées de 9 mois à 14 ans. C'est la plus grosse série de jeunes patientes publiée à ce jour [12].

D'autres études sont plus particulièrement centrées sur les enfants prépubères. La première a été publiée en 2007, présentant une série de 47 patientes âgées de 10 mois à 15 ans, dont 38 avait moins de 10 ans [1]. Jadoul *et al.* ont rapporté une série de 58 patientes âgées de 10 mois à 15,8 ans dont 21 avaient moins de 10 ans [13]. Les pathologies dont souffraient les patientes étaient principalement des leucémies, des neuroblastomes, des maladies de Hodgkin mais aussi des pathologies non malignes comme le syndrome de Turner ou des kystes ovariens à répétition. Deux publications très récentes ont montré deux nouvelles séries de patientes jeunes ayant bénéficié d'une cryoconservation d'ovaire, l'une de 20 patientes dont l'âge était compris entre 3 et 15 ans dont la pathologie la plus fréquemment rencontrée était le sarcome d'Ewing [14] et l'autre de 28 patientes dont 75 % présentaient une pathologie cancéreuse [15].

Fabbri *et al.* a montré, chez des patientes de moins de 18 ans, que la densité folliculaire est la même, que les patientes aient eu ou non une chimiothérapie avant la cryoconservation d'ovaire [16].

En conclusion, plusieurs équipes ont relaté la pratique de cryoconservation de cortex ovarien chez la petite fille et ce, pour de très jeunes enfants. Cette technique ne semble pas présenter pas d'âge limite inférieur, cependant, certains auteurs, recommandent de ne proposer de cryoconservation d'ovaire qu'après l'âge de un an mais les auteurs précisent que cette limite pourrait évoluer dans l'avenir [14].

Devant cette possibilité, l'avenir ovarien après des traitements gonadotoxiques, doit être évoqué même chez la petite fille pour leur proposer une cryoconservation d'ovaire si nécessaire. Mais est-elle toujours proposée aux patientes ?

En 2000, une enquête dans 110 centres d'Onco pédiatrie d'Amérique du Nord a montré que sur les 69 centres qui avaient répondu au questionnaire (63 %) seulement 3 % offraient la possibilité d'une cryoconservation d'ovaire pour les petites filles pré-pubères [17].

En 2006, une enquête adressée à 13 centres d'Onco pédiatrie Australien et Néo-Zélandais ont mis en évidence que sur les 12 centres qui avaient répondu, 42 % des centres proposaient une cryoconservation d'ovaire pour les enfants pré-pubères [18].

En Grande-Bretagne, une enquête faite sur une période de 12 mois a montré chez 68 % des patients enregistrés dans un centre d'Onco pédiatrie dont les données étaient exploitables (1 030 patients), que les effets des traitements anti cancéreux sur la fertilité avaient été discutés avec 63 % des patients, 61 % étant traités par un protocole à haut risque et à risque intermédiaire d'infertilité. Cette discussion avait lieu moins fréquemment chez les filles que chez les garçons. Si le sujet n'était pas abordé, une des raisons le plus souvent évoquées était le jeune âge des patients. Seulement 1 % des filles étaient adressées dans un centre d'assistance médicale à la procréation dont un quart étaient prépubères. L'attitude la plus courante était de ne pas évoquer cette problématique avec les petites filles pré-pubères [19].

Une revue récente de la littérature sur la prise de décision de préservation de la fertilité chez les patientes adolescentes a montré qu'elles souhaitent participer à la prise de décision concernant le traitement de leur cancer et que beaucoup avaient des inquiétudes concernant leur fertilité future et qu'il était difficile d'en parler [20].

En France, où la loi indique que la cryoconservation d'ovaire est possible quel que soit l'âge de la patiente, avec le consentement des parents, est pratiquée dans une vingtaine de centres d'Assistance Médicale à la Procréation, dans le cadre du soin. De 1995 à janvier 2013, 1 459 patientes ont pu bénéficier d'une cryoconservation de cortex ovarien dont 365 avaient moins de 12 ans au moment du prélèvement, soit 25 % des patientes (Bilan du Groupe d'Étude de Recherche sur la Cryoconservation de l'Ovaire et du Testicule, Docteur Jean Christophe PECH « GRECOT »).

### **Aspects pratiques de la congélation de cortex ovarien**

En France, cette technique est faisable dans les établissements ayant une autorisation d'activité délivrée par l'ARS (Agence Régionale de Santé). La cryoconservation de cortex ovarien présente l'avantage de pouvoir s'organiser rapidement ce qui permet de ne pas décaler le début du traitement. Elle est aussi possible si la patiente a déjà débuté son traitement et ce, sans altérer les résultats de restauration de la fertilité [21].

#### *Consultation de préservation de la fertilité et signature du consentement*

Le prélèvement de tissu ovarien s'organise après une consultation au cours de laquelle sont données les informations sur la technique, sa faisabilité et ses limites. Les enfants représentent une population vulnérable, ils ont une autonomie limitée, une capacité diminuée pour comprendre les risques et bénéfices de ce que l'on propose et manquent de maturité pour être clairement éclairés. En conséquence, comme l'indique la loi française le consentement est signé par l'un ou les deux parents ou la personne ayant l'autorité parentale. C'est, pour eux, très difficile de consentir à une technique pour leurs enfants tant sur le point physique que sur

le point psychique. Très peu de parents refusent la cryoconservation d'ovaire et parfois, elle est refusée par la patiente elle-même. Cette décision est prise en compte si la patiente est jugée en âge de comprendre ce qu'on lui a proposé [1]. Dans notre expérience, il y a peu de refus. Les principales causes de refus sont plutôt d'ordre culturel avec des parents qui nous expliquent qu'il ne faut pas amputer le corps d'un organe donné par la nature.

#### *Le prélèvement du tissu ovarien*

Il se fait avant la mise en place du traitement fortement gonadotoxique.

Lorsqu'une laparotomie est prévue pour l'exérèse d'une tumeur primitive (neuroblastome par exemple), l'ovariectomie est pratiquée durant le geste chirurgical. En dehors de cette situation, le prélèvement de tissu ovarien impose un geste chirurgical qui vient s'ajouter aux explorations et aux traitements déjà lourdement contraignants de la maladie. Il est effectué par laparoscopie et une anesthésie générale est nécessaire. Le prélèvement est parfois associé à d'autres gestes comme la pose d'un cathéter central, une biopsie de moelle, etc.

L'ovariectomie est effectuée en évitant la coagulation monopolaire, susceptible de léser les follicules ovariens. Chez les très jeunes enfants, une technique utilisant 2 trocarts placés dans le pli abdominal inférieur est utilisable, l'ovariectomie étant faite à l'extérieur de l'abdomen [1].

La quantité de tissu prélevé doit tenir compte du risque d'insuffisance ovarienne après le traitement [22] avec au maximum le prélèvement d'un ovaire.

#### *Congélation du cortex ovarien proprement dite*

Le bloc opératoire étant très rarement à côté du laboratoire où vont se faire la congélation puis la conservation du tissu ovarien, l'ovaire, dès son prélèvement, doit être transporté dans les meilleures conditions vers son lieu de congélation. Le transport se fait dans un milieu adapté à la température de la glace fondante. La majorité des auteurs préconise une durée de transport la plus courte possible. Cependant, il a été publié une série de 5 grossesses obtenues après autogreffe de cortex ovarien congelé-décongelé dont 2 avec des fragments dont la congélation avait été précédée d'un transport d'une durée de 4-5 heures [9].

Les cryoprotecteurs ayant un degré de pénétration limité dans les tissus et notamment dans le tissu ovarien, la présence de la médullaire ovarienne altère la survie des follicules. Isoler le cortex ovarien en retirant la médullaire est une étape importante pour réduire l'épaisseur du tissu ovarien et ainsi obtenir un taux de survie folliculaire optimum.

La pénétration des agents cryoprotecteurs dans les cellules isolées est relativement rapide, mais leur diffusion dans un tissu avec de nombreux types cellulaires est plus lente. Le temps de contact ou d'équilibration avec les cryoprotecteurs doit être prolongée afin d'obtenir des concentrations en cryoprotecteurs adéquates au centre du tissu et ce, sans exposer les cellules périphériques à un risque de toxicité. Pour la

cryoconservation d'ovaire, les 4 cryoprotecteurs étudiés ont été le PROH, le DMSO, l'éthylène glycol et le glycérol, le plus largement utilisé étant le DMSO. La survie des follicules primordiaux humains est la même qu'il ait été utilisé du DMSO et du PROH [7]. Par contre la survie est significativement diminuée lorsque le glycérol est utilisé comme cryoprotecteur ( $p < 0,0001$ ) [23].

Après ce temps d'équilibration, les tubes sont placés dans un appareil programmable de descente en température. Une descente lente en température, dérivé du protocole décrit par Gosden *et al.*, est le plus souvent utilisée [24].

À chaque congélation ovarienne et pour chaque patiente, un examen anatomopathologique est effectué sur un fragment de cortex ovarien pris au hasard ainsi que sur la médullaire ovarienne. Il permet d'effectuer un compte et une classification des follicules présents et de détecter une éventuelle localisation secondaire de la pathologie dans la limite des prélèvements examinés. Pour certaines pathologies, comme les leucémies, une étude par PCR a permis la mise en évidence de cellules malignes dans du tissu ovarien alors que l'examen histologique était normal [25].

### **Les utilisations du tissu ovarien**

Les ovocytes contenus dans le cortex ovarien étant immatures, pour pouvoir aider la patiente à avoir des enfants il faut assurer la maturation de ses ovocytes. Cette maturation ovocytaire peut se faire soit *in vivo* (autogreffe de cortex ovarien) soit *in vitro* (culture de follicule ovarien).

#### ***L'autogreffe de cortex ovarien***

La première greffe de cortex ovarien dans l'espèce humaine a été décrite en 2000 par Oktay et Karlikaya [26]. La naissance du premier enfant a été publiée en 2004 par l'équipe de Donnez, après une greffe orthotopique. Depuis, au moins, une vingtaine d'enfants sont nés après autogreffe de cortex ovarien [2]. Toutes ces greffes ont concerné du tissu prélevé alors que la patiente était adulte.

Le risque majeur de la greffe de cortex ovarien est la réintroduction possible de la maladie initiale par le biais de cellules tumorales présentes dans les fragments ovariens. Les pathologies ont été classées selon le risque de présence d'une localisation ovarienne de la pathologie. Notamment, en ce qui concerne les pathologies fréquentes chez l'enfant, il y a le neuroblastome et les leucémies.

En conséquence, l'autogreffe ne sera pas toujours envisageable d'où la nécessité de développer d'autres techniques d'utilisation comme notamment, la croissance de follicules ovariens *in vitro*.

#### ***Croissance de follicules ovariens in vitro***

Elle consiste à effectuer une maturation folliculaire et ovocytaire *in vitro*, afin d'obtenir des ovocytes matures permettant une fécondation et un développement embryonnaire complet. Après congélation, seuls les follicules primordiaux et



primaires résistent aux processus de congélation et de décongélation, il est donc indispensable de mettre au point une technique de culture assurant toute la folliculogénèse, du follicule primordial au follicule préovulatoire. Actuellement, après croissance de follicules ovariens, il a été obtenu des ovocytes matures et des naissances seulement dans l'espèce murine [27]. Dans l'espèce humaine, il n'a pas encore été obtenu d'ovocytes matures.

### **Compétence du tissu ovarien prépubère à devenir fonctionnel**

Un ovaire prélevé avant la puberté sera-t-il fonctionnel pour restaurer la fertilité lorsqu'il sera utilisé par la patiente à l'âge adulte ?

Plusieurs éléments font penser que la restauration de la fertilité sera aussi possible même si le tissu ovarien a été prélevé avant la puberté. En effet, bien que l'on ne connaisse pas de façon précise le nombre de follicules nécessaire à la restauration de la fertilité, la probabilité de succès devrait être plus importante du fait du plus grand nombre d'ovocytes présents dans les ovaires de petites filles que dans les ovaires adultes.

Dès 1993, Carroll et Gosden en greffant des follicules primordiaux congelés-décongelés provenant de souris prépubères chez des souris adultes, ont obtenu des souriceaux normaux [28]. En 1996, Cortvindt *et al.* ont obtenu après culture de follicules ovariens de souris de 12 jours des ovocytes matures et des embryons après fécondation *in vitro* [29]. O'Brien et collaborateurs ont obtenu des jeunes à partir de follicules primordiaux de souris nouveaux nés [27].

Plus récemment, toujours dans l'espèce murine, il a été possible de restaurer d'une part la puberté mais aussi une fertilité spontanée chez la souris après une greffe d'ovaire immature et ce, sans entraîner une différence dans la méthylation de certains gènes soumis à empreinte dans la descendance [30].

Dans l'espèce humaine, en 2012, une induction de la puberté a été obtenue pour la première fois, chez une patiente de 13 ans, après une autogreffe hétérotopique en sous cutanée de trois fragments d'ovaire congelés alors que la patiente avait 10 ans [31]. Ce résultat est très intéressant car c'est la première description de greffe de tissu congelé avant la puberté et confirme que même dans l'espèce humaine ce tissu était capable de reprendre une fonctionnalité. Un an plus tard en mars 2013, l'équipe de Ernst, a publié aussi une induction de puberté après greffe de cortex ovarien prélevé chez une fillette de 9 ans, souffrant d'un sarcome d'Ewing, avant un traitement gonadotoxique [32].

Tous ces résultats sont très encourageants et permettent de penser qu'une restauration de la fertilité sera possible même si le tissu a été prélevé avant la puberté.

## CONCLUSION

L'amélioration de la survie de patiente traitée pour un cancer dans l'enfance doit faire prendre en compte les effets secondaires à long terme des traitements des cancers. Parmi ces effets, la gonadotoxicité est connue. Depuis une quinzaine d'années, il est possible de proposer aux patientes des techniques de préservation de la fertilité. Pour la petite fille prépubère, seule la cryoconservation d'ovaire est faisable. En cas de forte gonadotoxicité des traitements, les parents et la patiente, si elle est en âge de comprendre, doivent être informés de cette possibilité.

Des avancées importantes dans le domaine des utilisations du tissu ovarien ont eu lieu, notamment après greffe. Du fait du jeune âge des patientes, quand elles seront en âge de procréer, tout laisse à penser que, du fait des avancées importantes, l'on pourra leur restaurer leur fertilité car il vient d'être montré dans l'espèce humaine la fonctionnalité d'un tissu ovarien prélevé avant la puberté.

## BIBLIOGRAPHIE

- [1] POIROT C.J., MARTELLI H., GENESTIE C., *et al.* — Feasibility of ovarian tissue cryopreservation for prepubertal females with cancer. *Pediatr. Blood Cancer*, 2007, 49, 74-78.
- [2] DONNEZ J., DOLMANS M.M. — Preservation of fertility in females with haematological malignancy. *Br. J. Haematol.*, 2011, 154, 175-184.
- [3] TEINTURIER C., HARTMANN O., VALTEAU-COUANET D., *et al.* — Ovarian function after autologous bone marrow transplantation in childhood: high-dose busulfan is a major cause of ovarian failure. *Bone Marrow Transplant.*, 1998, 22, 989-994.
- [4] THIBAUD E., RODRIGUEZ-MACIAS K., TRIVIN C., *et al.* — Ovarian function after bone marrow transplantation during childhood. *Bone Marrow Transplant.*, 1998, 21, 287-290.
- [5] WALLACE W.H., THOMSON AB., SARAN F., KELSEY T.W. — Predicting age of ovarian failure after radiation to a field that includes the ovaries. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 2005, 62, 738-44.
- [6] SANDERS J., HOFFMEISTER P., WOOLFREY A., *et al.* — Thyroid function following hematopoietic cell transplantation in children: 30 years' experience. *Blood*, 2009, 113, 306-308.
- [7] HOVATTA O., SILYE R., KRAUSZ T., *et al.* — Cryopreservation of human ovarian tissue using dimethylsulphoxide and propanediol-sucrose as cryoprotectants. *Hum. Reprod.*, 1996, 11, 1268-1272.
- [8] POIROT C., VACHER-LAVENU M.C., HELARDOT P., *et al.* — Human ovarian tissue cryopreservation: indications and feasibility. *Hum. Reprod.*, 2002, 17, 1447-1452.
- [9] ANDERSEN C.Y., ROSENDAHL M., BYSKOV A.G., *et al.* — Two successful pregnancies following autotransplantation of frozen/thawed ovarian tissue. *Hum. Reprod.*, 2008, 23, 2266-2272.
- [10] SCHMIDT K.T., LARSEN E.C., ANDERSEN C.Y., ANDERSEN A.N. — Risk of ovarian failure and fertility preserving methods in girls and adolescents with malignant disease. *B.J.O.G.*, 2010, 117, 163-174.

- [11] OKTAY K., OKTEM O. — Ovarian cryopreservation and transplantation for fertility preservation for medical indications: report of an ongoing experience. *Fertil. Steril.*, 2010, 93, 762-768.
- [12] DOLMANS M.M., JADOUL P., GILLIAUX S., *et al.* — A review of 15years of ovarian tissue bank activities. *J. Assist. Reprod. Genet.*, 2013, 30, 305-314.
- [13] JADOUL P., DOLMANS M.M., DONNEZ J. — Fertility preservation in girls during childhood: is it feasible, efficient and safe and to whom should it be proposed? *Hum. Reprod. Update* 2010, 16, 617-630.
- [14] MICHAELI J., WEINTRAUB M., GROSS E., *et al.* — Fertility preservation in girls. *Obstet. Gynecol. Int.*, 2012, 2012, 139-193.
- [15] BABAYEV S.N., ARSLAN E., KOGAN S., *et al.* — Evaluation of ovarian and testicular tissue cryopreservation in children undergoing gonadotoxic therapies. *J. Assist. Reprod. Genet.*, 2013, 30, 3-9.
- [16] FABBRI R., VICENTI R., MACCIOCCA M., *et al.* Cryopreservation of ovarian tissue in pediatric patients. *Obstet. Gynecol. Int.*, 2012, 2012, 910-698.
- [17] GLASER A., WILKEY O., GREENBERG M. — Sperm and ova conservation: existing standards of practice in North America. *Med. Pediatr. Oncol.*, 2000, 35, 114-118.
- [18] HEATHJA J.A., STERN C.J. — Fertility preservation in children newly diagnosed with cancer: existing standards of practice in Australia and New Zealand. *Med. J. Aust.*, 2006, 185, 538-541.
- [19] ANDERSON R.A., WEDDELL A., SPOUDEAS H.A., *et al.* — Do doctors discuss fertility issues before they treat young patients with cancer? *Hum. Reprod.*, 2008, 23, 2246-2251.
- [20] QUINN G.P., MURPHY D., KNAPP C., *et al.* — Who decides ? Decision making and fertility preservation in teens with cancer: a review of the literature. *J. adolesc. Health.*, 2011, 49, 337-346.
- [21] MEIROW D., LEVON J., ELДАР-GEVA T., *et al.* — Pregnancy after transplantation of cryopreserved ovarian tissue in a patient with ovarian failure after chemotherapy. *N. Engl. J. Med.*, 2005, 353, 318-321.
- [22] JADOUL P., KIM S.S., ISFP Practice Committee. — Fertility considerations in young women with haematological malignancies. *J. Assist. Reprod. Genet.*, 2012, 29, 479-487.
- [23] NEWTON H., AUBARD Y., RUTHERFORD A., *et al.* — Low temperature storage and grafting of human ovarian tissue. *Hum. Reprod.*, 1996, 11, 1487-1491.
- [24] GOSDEN R.G., BAIRD D., WADE J., WEBB R. — Restoration of fertility to oophorectomized sheep by ovarian autografts stored at -196° C. *Hum. Reprod.*, 1994, 9, 597-603.
- [25] DOLMANS M.M., MARINESCU C., SAUSSOY P., *et al.* Reimplantation of cryopreserved ovarian tissue from patients with acute lymphoblastic leukemia is potentially unsafe. *Blood*, 2010, 116, 2908-2914.
- [26] OKTAY K., KARLIKAYA G. — Ovarian function after transplantation of frozen, banked autologous ovarian tissue. *N. Engl. J. Med.*, 2000, 342, 1919.
- [27] O'BRIEN M.J., PENDOLA J.K., EPPIG J.J. — A revised protocol for *in vitro* development of mouse oocytes from primordial follicles dramatically improves their developmental competence. *Biol. Reprod.*, 2003, 68, 1682-1686.
- [28] CARROLL J., GOSDEN R.G. — Transplantation of frozen-thawed mouse primordial follicles. *Hum. Reprod.*, 1993, 8, 1163-1167.
- [29] CORTVRINDT R., SMITZ J., VAN STERTEGHEM A.C. — In vitro maturation, fertilization and embryo development. *Hum. Reprod.*, 1996, 11, 2656-2666.
- [30] SAUVAT F., CAPITO C., SARNACKI S., *et al.* — Immature cryopreserved ovary restores puberty and fertility in mice without alteration of epigenetic marks. *PLoS. One.*, 2008, 16, e1972.

- [31] POIROT C., ABIRACHED F., PRADES M., *et al.* — Induction of puberty by autograft of cryopreserved ovarian tissue. *Lancet*, 2012, 379, 588.
- [32] ERNST E., KJAERGAARD M., BIRKEBOEK N.H., *et al.* — Case report: stimulation of puberty in a girl with chemo- and radiation therapy induced ovarian failure by transplantation of a small part of her frozen/thawed ovarian tissue. *Eur. J. Cancer*. 2013, 49, 911-914.