

# **Moyens de protection de la fertilité chez l'enfant devant recevoir un traitement anticancéreux**

**Pr. Yves Aubard**

Cancer et fertilité ont longtemps été deux mots antinomiques tant il est vrai que le cancer survient le plus souvent à un âge où la fertilité n'est plus un problème. Quand, par malheur, le cancer survient chez une enfant, la fertilité future de la patiente est volontiers considérée comme un problème mineur, il faut d'abord sauver la malade !

Les choses ont cependant beaucoup évolué avec les progrès de la cancérologie moderne en terme de guérison : 70% des enfants survivront à leur cancer. La rançon de ce succès est qu'il existe désormais une cohorte de plus en plus importante de patientes ayant survécu à un cancer survenu dans l'enfance et désireuses d'une qualité de vie optimale après la maladie. La préservation de la fertilité chez ces enfants est l'un des éléments essentiels de cette qualité de vie.

Ainsi pour le praticien, la protection de la fertilité avant un traitement anticancéreux (TAC) chez l'enfant devient-elle une priorité.

## **Effets délétères des TAC sur la fonction gonadique**

Tous les TAC n'ont pas d'effet nocif sur la fertilité des patientes, ainsi l'immunothérapie ou l'hormonothérapie utilisées dans le traitement de certains cancers n'ont pas d'effet décrit sur les fonctions gonadiques. Les grands pourvoyeurs d'infertilité post TAC sont en fait la radiothérapie et la chimiothérapie d'une part et les actes chirurgicaux mutilants pour les organes de la reproduction d'autre part.

### **La radiothérapie**

Chez la femme, de faibles doses de rayons X provoquent une stimulation de la croissance folliculaire, mais à partir de 1 Gy il existe une destruction des follicules primordiaux qui est dose dépendante. On estime que 9 Gy sont castrateurs chez l'adulte [1], chez l'enfant les données sont moins précises, mais il faut une dose souvent supérieure. Cependant et comme chez l'adulte, l'action délétère des rayons X est très variable d'une patiente à l'autre.

L'effet des radiations ionisantes sur l'utérus est également très néfaste comme en témoignent les mauvais résultats du don d'ovocytes chez les patientes qui ont subi une irradiation de la cavité utérine. L'implantation se fait beaucoup moins bien, ce problème peut être à lui seul responsable de stérilités féminines.

### **La chimiothérapie**

La plupart des drogues de chimiothérapie détruisent les follicules en croissance, ce qui aboutit à une aménorrhée post-traitement qui dure généralement quelques mois. Mais les agents alkylants ont une toxicité particulière en s'attaquant directement aux follicules primordiaux. Le stock de ces follicules primordiaux étant immuable, toute réduction aboutit à une diminution de la vie génitale de la patiente avec risque de ménopause précoce et de stérilité définitive. Il est très difficile pour une patiente donnée de prévoir la date de survenue de cette ménopause, mais elle peut être immédiate pour des fortes doses (20 g d'endoxan par exemple).

## **La chirurgie**

Enfin naturellement la chirurgie anticancéreuse peut également gravement compromettre la fertilité, soit lors des ovariectomies totales ou partielles ou lors d'amputation du tractus génital (hystérectomie, salpingectomies ...).

## **La relative meilleure tolérance de l'ovaire infantile**

Il est classique de penser que les TAC sont moins délétères sur la gonade de l'enfant que sur celle de l'adulte. En fait la destruction des follicules primordiaux est tout aussi réelle chez la fillette que chez la femme. Cependant la plus grande réserve de follicules de l'enfant va permettre une gestion différente de l'apoptose folliculaire tout au long de la vie génitale, ce qui fait que l'insuffisance ovarienne post thérapeutique apparaîtra beaucoup plus tard chez l'enfant. Schématiquement on peut dire que l'intensité de l'apoptose folliculaire est proportionnelle à la réserve folliculaire, si cette réserve est diminuée par un traitement anticancéreux dans l'enfance, l'apoptose à chaque cycle sera moins importante. Ce mécanisme a cependant des limites et les fortes doses de radiothérapie ou de chimiothérapie dans l'enfance peuvent également aboutir à un impubérisme et une aménorrhée primaire irréversible.

## **Les moyens de protection de la fertilité**

On dispose de plusieurs possibilités pour préserver la fertilité de l'enfant soumise à un TAC. On peut tout d'abord essayer de modifier les protocoles thérapeutiques anticancéreux classiques pour les rendre moins toxiques pour les gonades. On peut avoir recours, spécifiquement contre les rayons X, à des mesures de radioprotection. On peut utiliser des traitements médicaux qui diminueraient l'action destructive des TAC. Enfin on peut utiliser la cryopréservation des gamètes. Nous allons passer en revue ces différentes possibilités.

## **La modification des protocoles thérapeutiques classiques**

### ***Modification des protocoles de chimiothérapie***

Les actions les plus bénéfiques en matière de chimiothérapie pour préserver la fertilité sont d'utiliser des protocoles comportant moins d'agents alkylants, ainsi dans le traitement de la maladie de Hodgkin l'utilisation préférentielle de protocoles de type ABVD s'est-elle avérée moins toxique pour les gonades que le traditionnel MOPP.

La mise au point d'agents thérapeutiques moins toxiques pour le tissu gonadique et tout aussi efficaces contre le cancer est un enjeu majeur de la recherche pharmaceutique moderne. Les progrès sont cependant très lents, car pour valider l'intérêt d'une drogue ou d'un protocole dans cette optique, il est nécessaire de recourir à des études randomisées et prospectives démontrant d'une part que le nouveau protocole est au moins aussi efficace sur le plan thérapeutique et d'autre part moins iatrogène sur les gonades que le traitement classique.

### ***Modifications des protocoles de radiothérapie***

Les tentatives de fractionnement de doses ou les autres artifices pour délivrer les rayons X se sont avérés peu opérants pour protéger la fertilité (Clavère, 1999 #596}. Seules les mesures de radioprotection ont une action bénéfique.

### ***Modification des protocoles classiques de chirurgie***

Le traitement de certains cancers de l'enfant impose l'exérèse chirurgicale de tout ou partie des organes de la reproduction, compromettant gravement la fertilité. Des tentatives de chirurgie conservatrice ont été proposées. Ainsi les tumeurs ovariennes de l'enfant sont

habituellement d'origine stromale ou germinale et exceptionnellement épithéliale. Ces tumeurs se comportent très différemment des tumeurs de l'adulte et des schémas thérapeutiques conservateurs sont souvent possibles. Il est nécessaire pour ces tumeurs très rares de prendre contact avec des équipes de référence qui ont l'habitude de ces pathologies et qui connaissent bien les possibilités de préservation de la fertilité.

## **Les moyens de protection spécifiques contre la radiothérapie**

### ***La radioprotection ovarienne***

Il est beaucoup plus difficile de protéger l'ovaire que le testicule des champs d'irradiation. Les caches plombés sont moins actifs. Seul le déplacement chirurgical des ovaires, hors du champ d'irradiation s'avère efficace en terme de radioprotection. La prévention contre le rayonnement diffusé est également peu efficace.

### ***La radioprotection utérine***

La radioprotection utérine est difficile à réaliser pour les mêmes raisons que l'ovaire. Une très forte irradiation de la cavité pelvienne ne doit cependant pas faire renoncer à préserver la fertilité et la fonction gonadique car il existe pour ces patientes la possibilité de recourir au prêt d'utérus (surrogate pregnancy des anglo-saxons).

### ***Les déplacements ovariens***

Il existe trois manières de déplacer un organe :

- on peut déplacer l'organe en étirant sans les sectionner ses pédicules vasculaires, il s'agit d'une transposition,
- on peut sectionner les pédicules vasculaires de l'organe et les réanastomoser sur le site receveur, il s'agit alors d'une transplantation,
- on peut sectionner les pédicules sans les réanastomoser sur le site receveur en comptant sur une néovascularisation, il s'agit d'une greffe.

L'intérêt d'un déplacement gonadique est d'éloigner le plus possible l'organe du champ d'irradiation.

### ***La greffe d'ovaire***

La greffe d'ovaire entier ne donne pas de bons résultats, peu ou pas de follicules survivent. Par contre la greffe de fragments de cortex ovariens en de nombreux sites de l'organisme donnent de bons résultats en terme de survie au moins des follicules primordiaux. Oktay a proposé tout récemment la greffe de cortex ovarien à l'avant-bras chez des patientes devant subir une forte irradiation du pelvis, avec une survie folliculaire et des ovulations au sein des greffons [2]. Cependant ce procédé doit être comparé aux résultats de la simple transposition car la perte folliculaire liée à la greffe n'est probablement pas négligeable.

### ***La transposition ovarienne***

La transposition ovarienne (voir [3]) consiste à déplacer l'ovaire tout en gardant au moins l'un de ses pédicules vasculaires. Cette technique a tout d'abord été proposée par Estes pour traiter les stérilités tubaires. En 1958 Me Call décrivait une transposition ovarienne dans la gouttière pariéto-colique pour protéger les patientes irradiées du pelvis pour un cancer du col utérin. Depuis de nombreuses améliorations techniques ont été proposées (notamment la voie d'abord coelioscopique) pour réaliser cette intervention. Deux grands sites de transpositions ont été proposés : la gouttière pariéto-colique pour éviter les irradiations centro-pelviennes et le cul de sac de Douglas pour éviter les irradiations en Y inversé dans le cadre

des maladies de Hodgkin surtout. Une méta-analyse des différentes publications montre qu'environ deux tiers des patientes transposées évitent la castration post TAC, mais seulement 15% des patientes le désirant auront une grossesse après transposition [3]. La transposition est donc un moyen relativement efficace de préserver la fonction endocrine de l'ovaire et assez peu efficace de préservation de la fertilité. Les principaux facteurs d'échec de la transposition sont l'âge, l'association d'une chimiothérapie à la radiothérapie et la dose d'irradiation réellement reçue par l'ovaire [4].

#### *La transplantation ovarienne*

La transplantation ovarienne dans le but de protéger l'ovaire d'une irradiation pelvienne a été rapportée pour une seule patiente [5]. Ce cas tout à fait remarquable a permis de démontrer la faisabilité de la transplantation et son succès à long terme. Cependant la faible reproductibilité et la lourdeur de la procédure ont découragé d'autres équipes d'utiliser cette technique.

### **Les moyens médicamenteux de protection contre les TAC**

Plusieurs tentatives ont été faites pour diminuer l'effet délétère de la radiothérapie et de la chimiothérapie sur les gonades à l'aide de médicaments. On distingue deux grands types de produits, les anti-oxydants et les produits bloquant la gamétogénèse.

#### *Les antioxydants*

L'action délétère des rayons X et des agents alkylants sur les gonades est liée à la libération de radicaux libres. Les agents anti-oxydants diminuent l'effet toxique des radicaux libres, on peut donc espérer en théorie qu'ils diminueront l'effet néfaste sur les gonades. Si certains bénéfiques ont pu être obtenus chez l'animal, aucun résultat bien probant n'a été obtenu dans l'espèce humaine tant chez l'homme que chez la femme. Par ailleurs diminuer l'effet des traitements sur le tissu gonadique peut également diminuer cet effet sur les cellules cancéreuses et donc compromettre l'efficacité thérapeutique des traitements. En pratique, il n'est pas recommandé d'utiliser les agents anti-oxydants pour protéger la fonction gonadique en dehors d'essais thérapeutiques.

#### *Les produits bloquant la gamétogénèse*

Deux arguments plaident pour les tentatives de blocage de la gamétogénèse dans le but de préserver la fertilité lors des traitements anticancéreux :

- La plupart des traitements anticancéreux détruisent préférentiellement les cellules en croissance et différenciées. On peut donc espérer qu'un follicule primordial soit moins sensible qu'un follicule mature aux rayons X ou à la chimiothérapie.
- Par ailleurs on sait depuis longtemps que les gonades de l'enfant sont moins sensibles à l'action délétère des TAC que les gonades de l'adulte, or dans ces gonades infantiles la gamétogénèse est bloquée.

Ces données théoriques ont été confirmées chez l'animal, l'administration de stéroïdes sexuels (estroprogestatifs chez la femelle et androgènes chez le mâle) ou d'agonistes du GnRH ont permis de protéger les gonades de la radiothérapie et de la chimiothérapie. Dans l'espèce humaine, les résultats sont beaucoup moins probants, aucune étude randomisée n'a été réalisée et les séries sont toujours rétrospectives et courtes [6].

Par ailleurs les bases théoriques de la mise au repos gonadique pendant les TAC sont hasardeuses. En effet, la radiothérapie et les agents alkylants détruisent les follicules primordiaux et les spermatogonies et donc les gamètes quiescentes, bloquer la gamétogénèse n'aura donc pas d'effet protecteur contre ces traitements [1].

Ainsi les tentatives médicamenteuses de protection de la fonction gonadique lors de la radio- ou de la chimiothérapie sont-elles peu efficaces. Certaines équipes préconisent l'utilisation des agonistes du GnRH plus sur des convictions personnelles que sur des faits tangibles.

## **Les possibilités de la cryobiologie**

Les progrès de la cryobiologie ont permis de proposer des méthodes de préservation de la fertilité contre les TAC. Il y a longtemps que l'on sait conserver par le froid des cellules et la cryopréservation des gamètes est un procédé déjà anciennement proposé dans l'espèce humaine. La cryopréservation des tissus est également possible et c'est pourquoi on assiste de nos jours à un développement des techniques de cryopréservation du tissu gonadique. La cryopréservation d'organes entiers est le futur challenge des cryobiologistes, les premiers essais de congélation de gonades entières ont été réalisés.

### ***La cryopréservation de l'ovocyte***

Chen et col. ont obtenu la première grossesse à partir d'ovocytes cryopréservés dans l'espèce humaine en 1986 [7]. Après l'enthousiasme de ce premier résultat, on s'est aperçu qu'en fait la congélation de l'ovocyte mature avait une faible rentabilité. En effet la survie de l'ovocyte à la congélation-décongélation est assez faible avec des taux importants d'aneuploïdie [8]. Enfin le taux de fécondation de ces ovocytes après décongélation est également faible ce qui aboutit à un très petit nombre de grossesses rapportées dans l'espèce humaine avec cette technique. On peut améliorer les taux de fertilisation en utilisant l'ICSI et les taux de survie à la congélation en congelant des ovocytes au stade de pronuclei. Malgré tout le taux de grossesses reste faible ce qui rend cette procédure inadaptée à la situation qui nous intéresse. En effet chez les patientes soumises à un TAC pour congeler des ovocytes il faudrait avoir le temps de réaliser une induction d'ovulation. Ceci est rarement possible et même dans ce cas, les chances d'obtenir une grossesse à partir d'une dizaine d'ovocytes congelés, sont infimes. Si la patiente se présente avec un conjoint, il est préférable, si l'on obtient des ovocytes après stimulation, de faire d'emblée une FIV et de congeler les embryons obtenus après la FIV.

### ***La cryopréservation du tissu ovarien***

#### ***Le prélèvement du tissu ovarien et son conditionnement pour la congélation***

La coelioscopie est un moyen idéal pour prélever tout ou partie du tissu ovarien. Un intérêt non négligeable de la coelioscopie est la possibilité, dès le lendemain de l'intervention si cela est nécessaire, de débiter un traitement anticancéreux. Le prélèvement ovarien coelioscopique est également parfaitement adapté à l'enfant, même très jeune.

Le cortex ovarien est isolé et soigneusement débarrassé de la médullaire avant la congélation. Ce cortex est ensuite coupé en petits fragments compris entre 1 mm<sup>2</sup> et 1 cm<sup>2</sup>. Plusieurs solutés (tels que le Leibowitz, le RPMI, le PBS, l'alpha minimal essential medium ...) et plusieurs agents cryoprotecteurs (tels que le DMSO, l'éthylène glycol, propanédiol ...) ont été utilisés avec succès pour la congélation du tissu ovarien. Certains auteurs proposent également une étape de déshydratation au sucrose du tissu avant la congélation [9].

#### ***La congélation et la décongélation du tissu ovarien***

En 1990, Gosden [10] proposait une courbe de descente en température inspirée du slow cooling : les tubes ou les paillettes contenant les fragments de cortex ovarien sont mis dans un congélateur programmable dont la température de départ se situe vers + 5°C. La

descente est alors de 2 °C/mn jusqu'à - 9°C. Un seeding est alors réalisé, puis la descente est reprise à 0,3°C/mn jusqu'à - 40°C. Ensuite, la vitesse de descente en température est de 10°C/mn jusqu'à - 140°C. Les tubes sont retirés du congélateur et stockés dans l'azote liquide. La plupart des auteurs contemporains travaillent avec ce type de descente en température. Certains travaux récents ont comparé le slow cooling avec des procédés plus rapides de congélation (semi-rapide ou vitrification), les résultats obtenus avec ces autres protocoles n'ont pas encore permis de remplacer le slow cooling [9].

La décongélation qui est réalisée par la plupart des équipes est le « rapid thawing » : les tubes ou les paillettes sont extraits de l'azote liquide et plongés dans un bain-marié à 25°C. Le tissu doit ensuite être utilisé rapidement.

#### *L'utilisation du tissu ovarien*

La maturation folliculaire peut être réalisée en théorie selon plusieurs modalités :

#### L'autogreffe d'ovaire

Le choix du site de ces autogreffes est important et de très nombreux sites ont été testés dans de nombreuses espèces [11]. Si l'on réimplante le tissu dans sa situation princeps (greffe orthotopique), on peut espérer une fertilité naturelle sans recours à d'autre méthode d'AMP. On peut également imaginer la réimplantation dans un autre site (greffe hétérotopique) et le recours à la fécondation in vitro pour obtenir une grossesse. La première grossesse obtenue avec ce modèle fut celle de Parrott [12] en 1960 qui réalisa une greffe orthotopique chez la souris. C'est également l'autogreffe orthotopique qui a été essayée par Oktay lors de la première tentative d'utilisation de tissu ovarien congelé chez la femme [13]. L'autogreffe de tissu ovarien est le seul procédé de maturation folliculaire envisageable aujourd'hui.

#### La maturation folliculaire in vitro

La maturation in vitro des follicules ovariens après leur décongélation serait un procédé idéal, évitant ainsi tout risque de réintroduction de la pathologie initiale avec une greffe [14]. Les techniques de culture des follicules ovariens en sont encore à leur début. Dans l'espèce humaine, les difficultés sont liées à la longueur de la folliculogénèse [15] et à la grosseur du follicule pré-ovulatoire qui posent d'énormes problèmes techniques. Plusieurs étapes du développement folliculaire dans l'espèce humaine ont été obtenues in vitro. Bien qu'encourageants, les résultats sont encore parcellaires et cette méthode n'est pas opérationnelle aujourd'hui.

#### La xéno greffe

Plusieurs animaux immunodéficients tels que les souris SCDD ou nudes, sont utilisables pour recevoir des xéno greffes de tissu ovarien humain. On obtient avec ces modèles une survie folliculaire importante, cependant aucun auteur n'est arrivé à une maturation des follicules humains plus gros que 5 à 7 mm. S'il est possible un jour d'obtenir des grossesses grâce à la XTO, envisager des applications cliniques à la XTO posera un problème éthique majeur. Faire maturer un gamète humain dans un animal doit en effet être envisagé avec circonspection !

#### *Etat de lieux pour la CPTO*

La CPTO reste une méthode en cours de développement et d'évaluation. En France elle ne peut être proposée que dans le cadre des lois régissant la recherche clinique. Les patientes doivent être informées que pour le moment seules quelques tentatives d'autogreffe ont été réalisées dans l'espèce humaine et qu'aucune grossesse n'a encore été obtenue.

### ***La cryopréservation de l'ovaire entier***

Classiquement la congélation d'un organe entier reste impossible selon les données modernes de la cryobiologie. Cependant les premiers essais de congélation d'un ovaire entier avec son pédicule vasculaire ont été réalisés par Imhof et col. avec, semble-t-il, des résultats encourageants [16]. L'idée est de prélever l'ovaire avec son pédicule vasculaire et d'injecter par l'artère un soluté contenant un cryoprotecteur, puis ensuite de congeler l'organe entier. A la décongélation on anastomose l'ovaire sur un pédicule nourricier. Des survies de l'ovaire et du stock folliculaire ont été obtenues par Imhof sur le porc et le mouton. Naturellement ces résultats préliminaires tout à fait extraordinaires méritent d'être confirmés. Cependant cette approche pourrait constituer la méthode de choix pour préserver la fertilité des femmes soumises à un TAC.

### **Utilisation de ces différentes techniques en pratique**

En pratique le problème est d'offrir à la patiente le plus de chances de préserver sa fertilité sans mettre en jeu des techniques hasardeuses qui pourraient au contraire lui faire perdre des chances de grossesse. Il convient de distinguer trois types de situations :

- **si les TAC n'ont pas de potentiel castrateur à court terme**
  - o Il faut informer les patientes et leurs parents d'une possibilité de diminution de la fertilité et de ménopause un peu en avance,
  - o Et donner le conseil de différer le moins possible le projet parental car des techniques d'AMP seront peut être nécessaires.
  
- **Si les TAC ont un effet nocif avéré sur le tissu gonadique**
  - o Il faut en informer clairement les patientes et leurs parents,
  - o et s'ils le désirent, proposer des techniques avérées ayant fait la preuve de leur efficacité : transposition ovarienne par exemple.
  
- **Si les TAC seront très certainement castrateurs à court terme**
  - o Il faut informer les patientes et leurs parents
  - o Il existe une place pour les techniques modernes qui sont en cours d'évaluation mais qui sont la seule chance de préserver la fertilité chez ces patientes (congélation du tissu gonadique)
  - o Penser que l'on peut associer des techniques : transposition ovarienne et congélation de tissu ovarien.

Dans tous les cas de figures il est primordial d'évaluer le potentiel castrateur du TAC proposé au patient, d'envisager la possibilité de traitements moins dangereux sans compromettre le pronostic vital et de tenir compte du pronostic global de la maladie néoplasique. C'est dire que la concertation entre le gynécologue, le biologiste de la reproduction et le cancérologue doit être intense pour offrir le maximum de chances de préserver sa fertilité à la patiente.

## Références

1. Clavère, P., J.F. Berdah, and N. Tubiana, *Méthodes non chirurgicales de protection de la fertilité lors des traitements anticancéreux*, in *Fertilité après traitements anticancéreux* Y. Aubard and F. Olivennes, Editors. 1999, Masson: Paris, p. 25-40.
2. Oktay, K., et al., *Restoration of ovarian function after autologous transplantation of human ovarian tissue in the forearm*. *Fertil Steril*, 2000. 74: p. S90 - S91.
3. Porcu, G., et al., *Transposition de l'ovaire*, in *Fertilité après traitements anticancéreux*, Y. Aubard and F. Olivennes, Editors. 1999, Masson: Paris, p. 47-54.
4. Haie-Meder, C., et al., *Radiotherapy after ovarian transposition: ovarian function and fertility preservation*. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys*, 1993. 25: p. 419-424.
5. Leporrier, M., et al., *New technique to protect ovarian function before irradiation. Heterotopic ovarian transplantation*. *Cancer*, 1987. 60: p. 2201-2204.
6. Pereyra Pacheco, B., et al., *Use of GnRH analogs for functional protection of the ovary and preservation of fertility during cancer treatment in adolescent: a preliminary report*. *Gynecol Oncol*, 2001. 81: p. 391-397.
7. Chen, C., *Pregnancy after human oocyte cryopreservation*. *Lancet*, 1986. 19: p. 884-886.
8. Ludwig, M., et al., *New aspects of cryopreservation of oocytes and embryos in assisted reproduction and future perspectives*. *Hum Reprod*, 1999. **14(Suppl.): p. 162-185**.
9. Gook, A.D., D.H. Edgar, and C. Stern, *Effect of cooling rate and dehydration regimen on the histological appearance of human ovarian cortex following cryopreservation in 1,2-propanediol*. *Hum Reprod*, 1999. 14: p. 2061-2068.
10. Gosden, R.G., *Restitution of fertility in sterilized mice by transferring primordial ovarian follicles*. *Hum Reprod*, 1990. 5: p. 499-504.
11. Aubard, Y., M.P. Teissier, and J.H. Baudet, *Greffes et transplantations ovariennes chez la femme : le point*. *Rev Fr Gynécol Obstét*, 1993. 88: p. 583-590.
12. Parrott, D.M.V., *The fertility of mice with orthotopic ovarian graft derived from frozen tissue*. *J Reprod Fert*, 1960. 1: p. 230-241.
13. Oktay, K. and G. Karlikaya, *Ovarian function after transplantation of frozen, banked autologous ovarian tissue*. *N Eng J Med*, 2000. 342: p. 1919.
14. Shaw, J.M., et al., *Fresh and cryopreserved ovarian tissue samples from donors with lymphoma transmit the cancer to graft recipients*. *Hum Reprod*, 1996. 11: p. 1668-1673.
15. Gougeon, A., *Dynamics of follicular growth in the human: a model from preliminary results*. *Hum Reprod*, 1986. 1: p. 81-87.
16. Imhof, M., et al., *Ovarian tissue banking - primary results*. *Gynakol Geburt Rund*, 1999. 39: p. 210-212.