

Schweizerische Empfehlungen zur Fertilitätserhaltung für Patientinnen und Patienten im fertilen Alter vor zytotoxischen Therapien (von FertiSave Suisse*, der Kommission für Fertilitätserhaltung)

Wunder D., Huober-Zeeb C, Moffat R., Stiller R., Ambrosetti A., Xie M., von Wolff M.

Korrespondenzadresse:

PD Dr. med. Dorothea Wunder

Unité de Médecine de Reproduction et Endocrinologie Gynécologique

Département Gynécologie-Obstétrique, CHUV

Avenue Pierre Decker 2

1011 Lausanne

Tel: +41 21 314 32 76 Fax: +41 21 314 32 74

Email : dorothea.wunder@chuv.ch

Es bestehen bei keinem der Autoren Interessenkonflikte.

* Vorstandsmitglieder von FertiSave Suisse in alphabetischer Reihenfolge: Ambrosetti A., de Candolle G., Huober-Zeeb C, Moffat R., Stamm J., Stiller R., von Wolff M., Wunder D., Xie M.

Résumé

Grâce aux grands progrès en oncologie, les taux de survie des patient(e)s (enfants et adultes) avec cancer augmentent de plus en plus. En conséquence, les chances ultérieures de ces jeunes patient(e)s, d'avoir des enfants après la thérapie cytotoxique et après la guérison du cancer, doivent être prises en considération. Des mesures de préservation de fertilité ne sont plus seulement réservées aux hommes, mais aussi possibles pour les jeunes femmes atteintes d'un cancer. Le but de toute préservation de la fertilité avant traitement gonadotoxique est de maximiser la sécurité et l'efficacité de ces techniques de préservation de la fertilité sans diminuer le pronostic oncologique.

En 2010, un premier réseau national a été constitué (FertiSave Suisse). Il est constitué de spécialistes en médecine de reproduction de toutes les parties de la Suisse ainsi que de biologistes et d'oncologues en gynécologie, médecine et pédiatrie. Les buts les plus importants de FertiSave sont un contrôle de qualité par un registre de traitement et de complication, une coordination logistique et administrative des mesures de préservation de la fertilité, une amélioration de l'information aux médecins et aux patient(e)s, une promotion de la multidisciplinarité ainsi que l'échange scientifique.

Cet article est un exposé sur les différentes techniques de préservation de la fertilité chez l'homme et la femme en âge fertile, selon les dernières évidences dans la littérature.

Einführung

Dank der grossen Fortschritte der onkologischen Therapien steigen die Überlebensraten nach einem Karzinom kontinuierlich an. Da viele der Betroffenen eine zytotoxische Therapie vor oder während ihres reproduktionsfähigen Alters erhalten, gelangt die Fertilitätserhaltung zunehmend in den Fokus der Aufmerksamkeit.

Zytotoxische Therapien (Radio- und Chemotherapien) können vorübergehend oder definitiv die Hoden- und Ovarfunktion stören, was zu einer Azoospermie bzw. zu einem prämaturnen Ovarialversagen und somit zu einer Sterilität führen kann. Das Ausmass der gonadalen Schädigung ist abhängig von der Art und Intensität der onkologischen Behandlung sowie von individuellen Faktoren, z.B. dem biologischen Alter.

Fertilitätserhaltende Massnahmen bei Männern vor zytotoxischer Therapie sind relativ „einfach“ durchzuführen (Kryokonservation eines aufbereiteten Ejakulats) und finden seit mehreren Jahrzehnten ihre Anwendung.

Die Fertilitätserhaltung bei Frauen im fertilen Alter gestaltet sich etwas zeitintensiver und komplexer, jedoch gibt es auch für die Frau verschiedene erfolgsversprechende Möglichkeiten. Deshalb müssen die Einschätzung des Risikos einer Unfruchtbarkeit sowie die verschiedenen Möglichkeiten der Fertilitätserhaltung (Methoden, Chancen, Risiken, Kosten etc.) so früh wie möglich mit der Patientin besprochen werden.

Patientinnen mit einer Krebsdiagnose befinden sich in verschiedener Hinsicht in einer schwierigen und belastenden Situation. Da sind einerseits die Furcht vor der lebensbedrohlichen Erkrankung und die Angst vor der kommenden onkologischen Therapie. Andererseits muss in dieser Situation oft ohne lange Bedenkzeit über eventuelle fertilitätserhaltende Massnahmen entschieden werden. Dabei gibt es viele Fragen und Ungewissheiten: Die Patientin hat einerseits keine Garantie, dass der spätere Kinderwunsch dadurch in Erfüllung gehen kann, umgekehrt ist es nicht klar, ob die Frau diese später überhaupt in Anspruch nimmt. Denn glücklicherweise ist eine Erholung der spontanen Fruchtbarkeit je nach onkologischer Diagnose und Therapie durchaus möglich. Zu all dem besteht auch noch eine Kostenfrage, denn die fertilitätserhaltenden Therapien werden in der Schweiz meistens nicht von der Krankenkasse bezahlt. Als Hilfestellung zur Entscheidungsfindung in der komplexen Situation wird den Patientinnen oftmals ein

zusätzliches Counselling angeboten, mit der Möglichkeit, eine weiterführende psychologische Unterstützung anzuschliessen [1].

Das oberste Ziel fertilitätserhaltender Massnahmen ist, dass die Chance einer Schwangerschaft erhöht wird, ohne die Wirksamkeit der onkologischen Therapie zu kompromittieren. Dazu sollten die in Frage kommenden Therapieoptionen interdisziplinär festgelegt und mit der Patientin besprochen werden, um diese dann möglichst schnell in die Wege leiten zu können. Durch die Komplexität dieser neuen und sich weiter entwickelnden Behandlungen ist eine multidisziplinäre Struktur von grosser Wichtigkeit. Dies ermöglicht die sofortige Beratung sowie die multidisziplinäre Entscheidungsfindung im individuellen Fall. In allen Sprachregionen der Schweiz (Deutschschweiz, Westschweiz, Tessin) wurde dies bis 2009 lokal durchgeführt [2].

Seit Anfang 2010 gibt es das Gesamt-Schweizerische Netzwerk FertiSave [3]. Geleitet wird es von Reproduktionsmedizinerinnen aus allen Teilen der Schweiz, sowie von Reproduktionsbiologen und Gynäkologischen, Medizinischen und Pädiatrischen Onkologen. Die wesentlichen Ziele von FertiSave sind eine Qualitätskontrolle durch ein Behandlungs- und Komplikationsregister, eine logistische und administrative Koordination der fertilitätserhaltenden Massnahmen, eine Verbesserung der Information („awareness“) von ÄrztInnen und Patientinnen, eine Förderung der Multidisziplinarität sowie der wissenschaftliche Austausch.

Fertilitätsprotektion bei Männern

Allgemeines

Medikamentöse Massnahmen, wie die Gabe von Steroidhormonen und die Gabe von GnRH-Analoga, vermögen bei Männern den Effekt einer zytotoxischen Therapie auf die Gonaden nicht zu beeinflussen. Aufgrund dessen ist die einzige wirksame Option die Kryokonservierung von Spermien, die jedoch nur postpubertär durchgeführt werden kann [4, 5].

Entsprechend werden vor der Durchführung einer Chemo- oder Radiotherapie eine oder mehrere Samenproben (Ejakulate), Hodenbiopsate oder Samenzellen aus dem Nebenhoden (Epididymis) kryokonserviert, so dass diese im Falle eines dauerhaften Versagens der reproduktiven Hodenfunktion aufgetaut und für reproduktionsmedizinische Maßnahmen verwendet werden können.

Die Aufbewahrung der männlichen Gameten wird durch das Schweizerische Fortpflanzungsmedizingesetz (FMedG) bestimmt. Im Falle einer Kryokonservation wegen einer medizinischen Behandlung, welche die Fruchtbarkeit gefährdet, gibt es für die Aufbewahrung von Samenzellen keine zeitliche Beschränkung. Die Samenzellen können jedoch nur für reproduktionsmedizinische Verfahren eingesetzt werden, wenn eine langfristige Lebenserwartung des Mannes gesichert ist.

Zum Zeitpunkt der Anlage der Zeugungsreserve (oder danach) sollte ein ausführliches Gespräch mit dem Patienten stattfinden. Im Rahmen dieses Gespräches wird er über die Modalitäten des FMedG, über die Dauer der Aufbewahrung, über die Notwendigkeit der Bekanntgabe von Adressänderungen, über die Kosten sowie über die Konditionen und Möglichkeiten zur Erfüllung eines späteren Kinderwunsches im Rahmen einer in-vitro-Fertilisationsbehandlung (IVF), intracytoplasmatischen Spermieninjektion (ICSI) und ggf. einer intra-uterinen Insemination (IUI) aufgeklärt.

Erfolgsraten

Wenn ein Paar nach Anlage einer Zeugungsreserve zur Erfüllung seines Kinderwunsches auf kryokonservierte Spermien aus Ejakulat, Nebenhoden oder Hodenbiopsaten zurückgreifen muss, ist dieses in der Regel nur im Rahmen eines assistierten reproduktionsmedizinischen Verfahrens (IVF/ICSI) möglich.

Dies bedingt eine ovarielle Stimulationsbehandlung der Partnerin, die Gewinnung reifer Eizellen aus den Ovarien gefolgt von einer extrakorporalen Befruchtung der reifen Eizellen per ICSI. Schließlich werden in der Regel ein bis zwei Embryonen in die Gebärmutter übertragen. Überzählige befruchtete Eizellen im Vorkernstadium können für maximal fünf Jahre kryokonserviert werden. Der Erfolg dieser Therapie hängt im Wesentlichen von der Qualität der kryokonservierten Samenzellen sowie vom Alter und Fertilitätsstatus (sog.

ovarielle Reserve) der Partnerin ab. Im Durchschnitt liegt die Schwangerschaftsrate bei 30% pro Embryotransfer, kumulative Schwangerschaftsraten liegen bei 70%.

Bei einer intrauterinen Insemination findet die Befruchtung im Körper der Frau statt. Jedoch erlaubt die Anzahl und Motilität der aufgetauten Samenzellen nur in wenigen Fällen die Durchführung dieser Technik. Die Chancen einer Schwangerschaft bei einer Insemination liegen bei 10-20% pro Zyklus.

Weniger als 10% der Männer, die vor einer gonadotoxischen Therapie eine Zeugungsreserve angelegt hatten, nehmen diese zur Erfüllung des Kinderwunsches auch in Anspruch [4].

Risiken

Die Risiken entsprechen denen eines Paares, das eine assistierte reproduktionsmedizinische Therapie aus anderen Gründen in Anspruch nehmen muss. Die Erkrankung, welche zur Kryokonservierung von männlichen Gameten Anlass gab, hat keinen Einfluss auf die Fehlbildungsrate des Kindes.

Indikationen und Kontraindikationen

Eine Fertilitätsreserve kann bei allen postpubertären Männern, bei denen eine gonadotoxische Therapie geplant ist und die in der Lage sind, mindestens eine Ejakulatprobe abzugeben oder bei denen genügend Zeit für die Durchführung einer Hodenbiopsie oder einer Spermengewinnung aus dem Nebenhoden bleibt und bei denen keine Kontraindikation besteht, angelegt werden.

Bei Männern ohne Spermatogenese kann keine Zeugungsreserve angelegt werden. Bei präpubertären Knaben gilt die Anlage einer Zeugungsreserve in Form von Hodenbiopsaten als experimentell.

Fertilitätsprotektive Massnahmen bei Frauen

Gonadotropin Releasing Hormon Agonisten (GnRHa)

Die Gabe von GnRHa während der zytotoxischen Therapie stellt eine medikamentöse Methode zur Ovarprotektion dar. Durch die Applikation von GnRHa erfolgt zunächst eine akute Ausschüttung der Gonadotropine (flare-up) aus dem Hypothalamus, anschliessend kommt es sowohl durch eine Desensibilisierung der hypophysären Gonadotropin-sezierenden Zellen als auch durch eine Abnahme des GnRH-Rezeptorbesatzes an der Hypophyse zu einer Suppression der FSH-Sekretion und konsekutiv zum Hypogonadismus (Downregulation). Diese Methode kann bei postpubertalen Frauen angewendet werden.

Die Überlegung, GnRHa zur Ovarprotektion einzusetzen, beruht auf der Beobachtung, dass zytotoxische Medikamente Gewebe mit einem hohen zellulären „Turnover“ am meisten schädigen. Ferner hat sich gezeigt, dass Chemotherapeutika die Ovarfunktion weniger beeinträchtigen, wenn die Therapie präpubertal erfolgt.

Es wird angenommen, dass die Ovarprotektion mittels GnRHa durch folgende Mechanismen hervorgerufen wird: Zum einen wird durch die Suppression der hypophysären FSH-Sekretion das Ovar in einen Ruhezustand versetzt, des Weiteren wird die Ovarperfusion reduziert. Ferner wird ein direkter gonadaler Effekt postuliert, welcher eine zelluläre Apoptose verhindert.

Vorgehen

Da der flare-up Effekt circa eine Woche dauert, sollten die GnRHa möglichst mindestens eine Woche vor Beginn der Chemotherapie appliziert werden. Die Applikation erfolgt idealerweise subkutan monatlich oder 3-monatlich. Die Suppression ist in der Regel nach Beendigung der zytotoxischen Therapie noch 1-2 Wochen wirksam.

Ein Vorteil bei der Anwendung von GnRHa besteht in der Tatsache, dass der Beginn der zytotoxischen Therapie nicht oder nur kurz hinausgezögert werden muss. Ferner stellt sie eine nicht-invasive Möglichkeit der Ovarprotektion dar. Ausserdem kommt es durch die Suppression der Ovarfunktion zu einer Amenorrhoe, welche einerseits einen kontrazeptiven Effekt hat, andererseits vor Hypermenorrhoen / Menorrhagien schützt, welche durch die Thrombozytopenie, insbesondere bei hämatologischen Erkrankungen, sehr ausgeprägt sein kann.

Erfolg und Risiken

Ob die Fertilitätserhaltung durch die Gabe von GnRHa gewährleistet ist, wird kontrovers beurteilt und ist noch nicht belegt. So zeigte sowohl die ZORO Studie als auch eine weitere randomisierte Studie bei Patientinnen mit Mammakarzinom keinen protektiven Effekt auf die Erhaltung der Fertilität [6, 7]. Auch die Studie von Behringer bei Patientinnen mit Lymphomen ergab keinen Hinweis eines verbesserten Fertilitätserhalts durch die Gabe von GnRHa [8]. Die Metaanalysen von Bedaiwy et al. und Clowse et al. [9, 10] zeigten hingegen einen Vorteil hinsichtlich der Ovarprotektion. Dieses ergab auch die Metaanalyse von Ben-Aharon et al., 2010 [11], wobei der Nutzen nur bei Beobachtungsstudien, nicht jedoch bei randomisierten kontrollierten Studien, zu sehen war. Hingegen zeigten Del Mastro et al. 2011 [12] in einer randomisierten Studie mit 281 Patientinnen ein Jahr nach Beendigung der Chemotherapie einen protektiven Effekt (Amenorrhoeerate 25.9% bei Patientinnen ohne GnRHa versus 8.9% bei Patientinnen mit GnRHa, $P > 0,001$). In der Summe sind die Studienergebnisse somit sehr heterogen. Zur genaueren Beurteilung des Nutzens von GnRHa sind sicherlich noch weitere prospektiv randomisierte Studien notwendig.

Während der Behandlung können postmenopausale Beschwerden auftreten, welche allerdings auch durch die Chemotherapie selber hervorgerufen werden können. Prinzipiell wäre zur Prävention eine add-back Therapie mit niedrig dosierten Östrogenen oder Tibolon denkbar, allerdings gibt es keine Studien welche den Einfluss dieser Therapie auf die Ovarprotektion untersucht haben.

Ein wichtiger noch offener Punkt besteht in der Frage, ob GnRHa bei Östrogenrezeptor positiven Tumoren die Effizienz der Chemotherapie mindern. Da aktuell hierzu keine konklusiven Daten vorliegen, sind GnRHa bei diesen Tumoren heutzutage kontraindiziert.

Darüber hinaus ist anzumerken, dass bei Patientinnen mit Mammakarzinom, die nach der Chemotherapie eine Amenorrhoe hatten, das erkrankungsfreie Intervall signifikant verlängert war [13].

Ovarielle Stimulation und Kryokonservierung unfertilisierter und fertilisierter Eizellen

Eine ovarielle Stimulationsbehandlung zur Gewinnung von Eizellen und die Kryokonservierung befruchteter Eizellen ist im Rahmen der in-vitro-Fertilisation (IVF)-Behandlungen ein etabliertes Routineverfahren. In spezialisierten reproduktionsmedizinischen

Zentren erfolgt auch eine Kryokonservierung unbefruchteter Eizellen. Eine ovarielle Stimulation zur Gewinnung von Oozyten kann bei postpubertären Frauen bis zum Alter von ca. 40 Jahren durchgeführt werden. Das Zeitfenster bis zum Beginn der zytotoxischen Therapie sollte jedoch mindestens 2 Wochen betragen.

Technik

Folgende Behandlungsschemata kommen für eine Stimulation in Frage:

- Bei Stimulationsbeginn während der Menstruation: Durchführung eines klassischen Antagonistenprotokolls, da dieses mit einem geringeren Risiko für ein Überstimulationssyndrom einhergeht [14].
- Bei Stimulationsbeginn in allen anderen Zyklusphasen: Antagonisten sofort und zeitgleich Gonadotropine [15].
- Ovulationsinduktion bei drohendem ovariellen Überstimulationssyndrom (OHSS) mit 0.2 mg Triptorelin [16].
- Bei östrogenabhängigen Tumoren kann die Stimulation mit täglich 5 mg Letrozol kombiniert werden [17], welches zeitgleich mit den Gonadotropinen appliziert wird.

Nach der Gewinnung der reifen Eizellen können diese im IVF-Labor befruchtet werden. Zur Optimierung der Fertilisation sollte immer - unabhängig vom Spermogramm - eine intrazytoplasmatische Spermieninjektion durchgeführt werden. Grundsätzlich ist die Kryokonservierung fertilisierter Oozyten einfacher, führt zu höheren Schwangerschaftsraten und kann im Gegensatz zur Kryokonservierung unfertilisierter Oozyten auch in allen IVF-Zentren durchgeführt werden.

Die Kryokonservierung unfertilisierter Oozyten erfolgt durch ein langsames Einfrierverfahren („slow freezing“) oder Vitrifikation. Nach derzeitiger Datenlage scheint die Vitrifikation effektiver zu sein [18, 19]. Eine Kryokonservierung unfertilisierter Oozyten per Vitrifikation sollte nur durchgeführt werden, wenn durch interne Kontrollen nachgewiesen wurde, dass die Technik beherrscht wird.

Zur Erhöhung der Effektivität der fertilitätsprotektiven Massnahmen können bei einem Zeitfenster bis zum Beginn der Chemotherapie von ≥ 5 Wochen und fehlender onkologischer Kontraindikationen zwei Stimulationszyklen durchgeführt werden [20].

Die zytotoxische Therapie kann 1-2 Tage nach der Follikelpunktion gestartet werden. Der Beginn der Chemotherapie vor einer Rückbildung der Ovarien führte im Tierversuch nicht zu einer stärkeren Schädigung der Ovarien [21].

Erfolgsrate

Gemäss einer Studie [22] wurden bei 205 Follikelpunktionen im Durchschnitt 11.6 Oozyten gewonnen. (SD: ± 7.7 ; 25% Quartil: n=6; 75%-Quartil: n=15). Die Fertilisationsrate pro entnommene Oozyte betrug 61.3%.

Die Chance auf eine Schwangerschaft nach Kryokonservierung von befruchteten Eizellen vor zytotoxischer Therapie beträgt bei Patientinnen mit 18-25 Jahren schätzungsweise 40%, mit 26-30 Jahren ca. 35%, mit 31-35 Jahren ca. 30% und mit 36-40 Jahren ca. 25%; bei diesen Zahlen handelt es sich um kumulative Schwangerschaftsraten nach mehreren Auftauzyklen [23].

Nach Kryokonservierung von unbefruchteten Eizellen liegt die Implantationsrate (pro aufgetraute unbefruchtete Eizelle, nach anschliessender Fertilisation) bei 6-8% [19].

Risiken

Relevante Risiken sind einerseits das OHSS und andererseits die Gewinnung keiner oder unreifer Oozyten. Gemäss Lawrenz et al. [24] konnten bei 205 Follikelpunktionen in drei Fällen keine Oozyten konserviert werden, relevante Überstimulationen traten nicht auf. Komplikationen der Follikelpunktion sind sehr selten (1‰).

Entnahme und Kryokonservierung von Ovarialgewebe

Die Entnahme und Kryokonservierung von Ovarialgewebe ist eine noch experimentelle Technik zur Fertilitätserhaltung. Laut Fortpflanzungsmedizingesetz kann das Gewebe im Falle einer Kryokonservierung wegen einer medizinischen Behandlung, welche die Fruchtbarkeit gefährdet, unbefristet lange aufbewahrt werden.

Techniken

Im Ovar befinden sich praktisch alle Follikel im Ovarikortex. Entweder wird ein halbes oder ein ganzes Ovar entnommen. Es gibt keine Richtlinien hinsichtlich der Menge des zu

entnehmenden Ovargewebes. Allgemein wird aber empfohlen, bei zytotoxischen Therapien mit einem hohen Risiko für eine Ovarschädigung einen grösseren Anteil von Ovarkortex zu entnehmen. Die Entnahme erfolgt meist per ambulant durchgeführter Laparoskopie. Intraoperativ darf das entnommene Ovargewebe nicht durch Koagulationsstrom geschädigt werden.

Die Kryokonservierung von Ovargewebe kann mit Hilfe verschiedener Techniken („slow freezing“ oder „Vitrifikation“) erfolgen. Welche Technik besser ist, ist noch unklar.

Für eine Kryokonservierung von Ovargewebe eignen sich insbesondere junge Frauen mit einer hohen Ovarreserve und Frauen, bei denen das Zeitfenster für eine ovarielle Stimulation zu gering ist. Für eine ovarielle Stimulation sind ca. 2 Wochen, für eine laparoskopische Entnahme von Ovargewebe nur wenige Tage erforderlich.

Bei einer reduzierten Ovarreserve sollte Ovargewebe nicht mehr kryokonserviert werden, weswegen als Altersobergrenze meist 35 (- 38) Jahre angegeben wird.

Risiken

Es gelten die Operationsrisiken einer Laparoskopie und einer Entfernung von Ovarialgewebe. Das Risiko für eine Reduzierung der Spontankonzeptionschancen nach der zytotoxischen Therapie durch die Entfernung von Ovargewebe wird kontrovers diskutiert. Eines der Risiken einer Ovarialgewebe-Entfernung besteht darin, dass eine Verminderung der ovariellen Reserve und damit eine Verminderung der spontanen Fruchtbarkeit nach Abschluss der gonadotoxischen Therapie resultieren. Das heisst, dass die Chancen einer spontanen Schwangerschaft durch die Entnahme beispielsweise eines ganzen Ovars stark vermindert werden können im Falle einer reversibel gonadotoxischen Therapie [25].

Da das Risiko einer Reduzierung der Spontankonzeptionschancen nicht beziffert werden kann, wird von einigen Autoren die Entfernung von maximal 50% des Ovars empfohlen [26]. Nur bei einem sehr hohen Risiko eines Funktionsverlustes der Ovarien, z.B. bei einer Radiatio des Beckens oder bei einer bewiesenermassen hoch-gonadotoxischen Therapie, empfehlen die Autoren, die Entnahme eines ganzen Ovars zu erwägen.

Das Ovargewebe kann durch den Einfrier- und später durch den Auftauprozess geschädigt werden [27]. Aufgrund dessen sollte eine Kryokonservierung nur durch Zentren erfolgen, die

eine nachweisbare Expertise dafür aufweisen. Eine Kryokonservierung während oder nach einer zytotoxischen Therapie sollte aufgrund der dann reduzierten Ovarreserve vermieden werden [28].

Transplantation von Ovarialgewebe

Es gibt verschiedene Techniken für eine anschließende Transplantation von Ovarialgewebe. Dieses Verfahren ist noch experimentell, aber vielversprechend. Derzeit wurden weltweit die Geburten von 19 Kindern nach Transplantation von Ovarialgewebe publiziert [29, 30].

Techniken

Die orthotope Transplantation ermöglichte im Jahr 2004 die Geburt des ersten Kindes [31]. Die orthotope Transplantation (z.B. in das Restovar oder Beckenperitoneum) ist der heterotopen Transplantation (z .B. ins Subkutangewebe des Unterarms, des Bauchs etc.) klar überlegen. Es wurden bisher keine Geburten nach heterotoper Transplantation mit anschließender IVF-ICSI publiziert.

Erfolgsraten

Die Transplantation von Ovarialgewebe ist bis heute eine experimentelle Technik. Eine Erfolgsrate kann noch nicht exakt beziffert werden, da nur die Gesamtzahl erfolgter Geburten, nicht aber die Anzahl von Gewebetransplantationen bekannt ist.

Es ist auch theoretisch möglich, dass einzelne Schwangerschaften durch eine Reaktivierung des nicht-transplantierten Ovargewebes entstanden sind. Ob eine solche Reaktivierung durch das transplantierte Ovargewebe induziert werden kann, ist bisher noch hypothetisch [31].

Die Überlebensdauer von Ovarialgewebe nach Transplantation ist begrenzt und beträgt in der Regel einige Jahre [32].

Risiken

Es gelten die Operationsrisiken einer Laparoskopie.

Zusätzlich besteht bei bestimmten onkologischen Erkrankungen das Risiko einer Übertragung von Tumorzellen. Rezidive nach einer Transplantation sind bisher nicht beschrieben worden.

Die Transplantation von Ovargewebe nach einem Mammakarzinom oder einem Hodgkin-Lymphom gilt als weitgehend sicher. Bei hämatologischen Neoplasien ist das Risiko für eine Tumordinfiltration des Ovars jedoch sehr hoch, weshalb in diesen Fällen eine Transplantation von Ovarialgewebe kontraindiziert ist [33].

Bei Patientinnen mit einem genetisch hohen Risiko für ein Ovariakarzinom (BRCA 1- oder BRCA2-Mutation) muss eine Transplantation kritisch diskutiert werden. Sollte eine Transplantation erfolgen, so muss gewährleistet sein, dass das Gewebe, z.B. nach Eintritt einer Schwangerschaft, wieder entfernt werden kann.

Perspektiven

Eine Verbesserung der Techniken der Kryokonservierung sowie der Transplantation ist Gegenstand der Forschung, mit dem Ziel den follikulären Verlust zu reduzieren, der im Zusammenhang mit der Ischämie sowie dem Einfrieren bzw. Auftauen des Gewebes entsteht. Ausserdem wird an der Entwicklung der in-vitro Maturation von Primordialfollikeln intensiv geforscht.

Transposition der Ovarien

Die Transposition von Ovarien, auch Oophoropexie genannt, ist eine chirurgische Technik, die das Entfernen der Eierstöcke aus dem Strahlungsfeld bei geplanter Beckenbestrahlung bezeichnet.

Technik

Die Eierstöcke werden chirurgisch aus dem Becken gelöst. Der Gefässstiel der Ovarien wird bis zur Aorta disseziert. Die Eierstöcke können damit vom Strahlungsfeld entfernt fixiert werden, in der Regel in den para-kolischen Rinnen oder subdiaphragmal. Diese Technik schützt nicht gegen die Toxizität einer Chemotherapie. Müssen die Ovarien weit entfernt vom Uterus fixiert werden, so ist eine Durchtrennung der Tube erforderlich, um die Ovarien ausreichend mobilisieren zu können.

Nach der Bestrahlung und ohne Anhalt für ein Rezidiv, können die Eierstöcke evtl. wieder in ihre ursprüngliche Position rückverlagert werden.

Erfolgsrate

Gemäß publizierter Literatur beträgt die Rate an Patientinnen mit regulär ovulatorischen Zyklen bei dieser Technik und bei Patientinnen unter 40 Jahren nach einer Radiatio bis zu 85% [34].

Risiken

Es gelten die Operationsrisiken einer Laparoskopie und einer Freilegung des Ovarstiels. Zusätzlich können chronische Schmerzen der Adnexe, sekundäre Nekrosen der Eileiter und Ovarialzysten auftreten [35]. Die Rückverlegung kann im Falle entstandener Adhäsionen erschwert sein.

Kombination verschiedener fertilitätsprotektiver Maßnahmen

Die oben aufgeführten Maßnahmen zum Erhalt der Fertilität bei malignen Erkrankungen sind Techniken mit nachgewiesener Wirksamkeit. Dennoch ist die Chance, mit einer dieser Techniken alleine eine Schwangerschaft zu erzielen, begrenzt. Darüber hinaus steht aufgrund onkologischer Erwägungen häufig nur ein limitiertes Zeitfenster bis zum Beginn einer Chemo- oder Strahlentherapie zur Verfügung, sodass eine wiederholte bzw. mehrfache Durchführung fertilitätserhaltender Maßnahmen nur in Einzelfällen möglich ist. Es ist denkbar, dass die Kombination mehrerer Techniken die Effektivität fertilitätsprotektiver Maßnahmen erhöhen könnte – auch innerhalb eines zeitlich begrenzten Rahmens.

Es konnte gezeigt werden, dass die Entnahme und Kryokonservierung von Ovargewebe mit einer ovariellen Stimulation und anschließenden Eizellentnahme und Fertilisierung der gewonnenen Oozyten (IVF/ICSI-Therapie) kombiniert werden kann [36]. Follow-up Studien werden zeigen, ob durch diese Kombination die Gesamterfolgsrate der fertilitätsprotektiven Therapie erhöht werden kann.

In weiteren Untersuchungen wurde versucht, durch die Kombination der Kryokonservierung von Ovargewebe und von Oozyten eine Verbesserung der Schwangerschaftschancen zu erreichen. Hierbei wird zunächst Ovargewebe laparoskopisch entnommen. Vor Kryokonservierung des Gewebes werden die darin enthaltenen unreifen Oozyten extrahiert und in-vitro maturiert (IVM), um anschließend ebenfalls eingefroren zu werden [37].

Allerdings sind die durch eine IVM zu erzielenden Schwangerschaftschancen als deutlich geringer anzunehmen, als sie vergleichsweise durch eine IVF/ICSI-Therapie erreicht werden können.

Die Kombination der Kryokonservierung von Ovargewebe vor einer Chemotherapie mit der Transposition des Ovars vor pelviner Strahlentherapie stellt ebenfalls eine Behandlungsoption dar.

Wenn aus onkologischen Erwägungen nur ein sehr kurzer Zeitraum von wenigen Tagen zur Durchführung von fertilitätserhaltenden Maßnahmen zur Verfügung steht, könnte die Kryokonservierung von Ovargewebe vor Beginn einer Chemotherapie mit ovarieller Stimulation und Eizellentnahme nach Abschluss der Chemotherapie diskutiert werden. Hierbei ist jedoch anzumerken, dass die Effektivität einer ovariellen Stimulation – bedingt durch chemotherapiebedingte Ovarschädigung – erheblich beeinträchtigt sein kann [38]. Darüber hinaus wurde zumindest im Tierversuch eine erhöhte Rate an Malformationen bei Nachkommen von Mäusen, die mit alkylierenden Substanzen behandelt wurden, beobachtet, sodass dieses Vorgehen eher nicht empfohlen wird [39].

Perspektiven

Die Erhaltung der Fruchtbarkeit vor Beginn einer gonadotoxischen Radio- oder Chemotherapie ist zu einer bedeutenden medizinischen Aufgabe geworden, die zunehmend an klinischer Anerkennung gewinnt.

Zu den bereits beschriebenen Methoden der Fruchtbarkeitserhaltung für Männer und Frauen die in diesem Artikel beschrieben werden, existieren weitere potentielle Methoden: (1) In-Vitro-Maturation (IVM) und Oozytenkryokonservierung; (2) In-Vitro-Growth (IVG) von Primordialfollikeln bis zur Reifung (für Patientinnen, die an vorzeitigem Versagen der Eierstöcke leiden, aufgrund einer Krebsbehandlung oder genetischer Veranlagung, z.B. Turner Syndrom); und (3) Kryokonservierung von unreifem Hodengewebe (von präpubertären Knaben). Verfahren 2 und 3 sind jedoch erst in einer frühen Phase der Forschung und Entwicklung:

In-Vitro-Maturation von Oozyten

Die IVM von Oozyten ist eine innovative Technik in der medizinisch unterstützten Fortpflanzung und könnte eine Alternative zur konventionellen IVF darstellen.

Die erfolgreiche Anwendung der IVM in der klinischen Praxis für die Behandlung von sowohl Patientinnen mit PCOS [40] als auch normaler Ovarfunktion [41] hat neue Wege für die Fruchtbarkeitserhaltung eröffnet.

Der Prozess der IVM beinhaltet die Gewinnung der unreifen Eizellen (normalerweise kleine Antralfollikel im Keimbläschenstadium) von minimal stimulierten (zum Beispiel durch die Administration von FSH für drei Tage ab Zyklustag 3) oder unstimulierten Ovarien, wenn der Leitfollikel 10-12 mm Durchmesser erreicht, gefolgt von der Reifung der Oocyte im Labor während 24-48 Stunden in einem standardisierten Maturationsmedium. Sobald die Oozyten zur Metaphase II gereift sind, werden sie entweder sofort eingefroren oder fertilisiert mit Hilfe der ICSI Technik und die befruchteten Eizellen danach kryokonserviert [42].

Die IVM vermeidet eine länger dauernde Hormonbehandlung der Patientinnen, welche üblicherweise für die klassische IVF nötig ist. Dies bringt zum einen Vorteile für Patientinnen mit Östrogen-sensitivem Krebs, wie zum Beispiel Brustkrebs, zum anderen für Patientinnen bei denen die Chemo- oder Radiotherapie möglichst rasch begonnen werden muss. Ausserdem werden Kosten durch Stimulationsmedikamente gesenkt und das Risiko von Überstimulationen minimiert.

Seit der ersten Lebendgeburt nach IVM 1991 [43] stehen die heutigen Schwangerschaftsraten nach IVM und Embryotransfer in sehr erfahrenen Zentren bei ungefähr 35% [42], allerdings mit einer tieferen Implantationsrate (weniger als 10%) und einer höheren Fehlgeburtsrate von ungefähr 25% oder höher [44, 45] verglichen mit konventioneller IVF. Nach einer Kryokonservierung sind die Ergebnisse jedoch noch schlechter. Eine kürzlich publizierte Studie mit 32 Transfers nach einer Kryokonservierung von Pronukleiden nach einer IVM der Oozyten zeigte eine Geburtenrate pro Transfer von nur 6.3% [46].

Dies limitiert die Anwendung der IVM bei onkologischen Therapien, zumal aus zeitlichen Gründen nur ein Therapiezyklus möglich ist. Es liegt nahe, dass in-vitro gereifte Oozyten ein limitiertes Potential für die Fertilisierung, Entwicklung und Implantation aufweisen. Die zytoplasmatische Maturation ist schwieriger zu erreichen als die nukleare Maturation mit Hilfe der aktuellen in-vitro Kulturkonditionen. Aus diesem Grund ist das

Entwicklungspotential solcher Eizellen geringer. Folglich ist eine weitere Optimierung der IVM Techniken erforderlich, um eine bessere Synchronisation sowohl der zytoplasmischen als auch der nuklearen Maturation zu erreichen.

In-Vitro-Growth (IVG) von Follikeln

Die Primordialfollikel befinden sich zahlreich im kortikalen Teil des Ovars. Aufgrund ihrer relativ kleinen Grösse und ihres undifferenzierten Zellstatus (Wachstumsarrest) tolerieren Primordialfollikel verschiedene Manipulationen wie das Einfrieren, das Auftauen und eine Transplantation besser als reife Follikel.

Die IVG von Primordialfollikeln ist technisch jedoch ausgesprochen anspruchsvoll und erfordert länger dauernde (bis zu drei Wochen bei Mäusen und mehrere Monate bei Menschen) und mehrere Stufen umfassende Kultursysteme. Tierexperimentelle Studien haben gezeigt, dass das Wachstum der Follikel in-vitro erneut initiiert werden kann um den Reifungsprozess abzuschliessen und Entwicklungskompetenz zu erreichen. Solche Experimente haben zu Lebendgeburten bei Mäusen geführt [47] aber die Technik zeigt Schwierigkeiten bei der Anwendung bei grösseren Säugetieren. Mit einer IVG von Follikeln des frühen antralen Stadiums wurden Lebendgeburten in Kühen erreicht [48]. 2008 konnte ein Team in England eine erfolgreiche IVG von Oozyten beim Menschen durchführen, mit einer erheblich kürzeren in-vitro Kulturzeit. In dieser Studie wurden Gewebestreifen des Ovarkortex mit Primordialfollikeln (Primär) während sechs Tagen kultiviert. Anschliessend wurden die prä-antralen Follikel (Sekundär) ausgewählt, von den Streifen isoliert und während weiteren vier Tagen kultiviert mit Zugabe von rekombinantem Human Aktivin A. In der zweiten Phase der in-vitro Kultur proliferierten 90% der ausgewählten prä-antralen Follikel und nahmen an Grösse zu. 30% der Follikel, welche die gesamte Kulturperiode überlebt hatten, zeigten eine normale Morphologie mit intakten Oozyten und einer antralen Entwicklung [49].

Die IVG von humanen Oozyten ist jedoch eindeutig noch immer in einem frühen Entwicklungsstadium, aber die bisherigen Resultate sind ermutigend. Die Herausforderung besteht nun in der Weiterentwicklung der Kultursysteme, um das komplette Oozytenwachstum und die Maturation in-vitro zu gewährleisten. Auch müssen humane Eizellen, die durch eine IVG und eine IVM entstanden sind, auf genetische Abnormalitäten und auf ihr Fertilisierungs- und Entwicklungspotential untersucht werden.

Kryokonservierung von unreifem Hodengewebe

Samenbanken werden Männern und postpubertären Knaben, welche ausgereifte Spermien produzieren, als Möglichkeit zur Fertilitätserhaltung angeboten. Dies ist jedoch keine Option für präpubertäre Knaben welche nur unreifes Hodengewebe (Immature Testicular Tissue, ITT) haben.

ITT enthält diploide Spermatogonien (SSCs) und Spermatozyten (entstanden durch die Teilung der SSCs während der Spermatogenese), jedoch keine ausgereiften Spermien. Als Alternative könnte demnach das Einfrieren von ITT als eine potentielle Strategie zur Erhaltung der Fruchtbarkeit in Betracht gezogen werden in der Hoffnung, dass durch zukünftige Technologien das konservierte Gewebe aufgetaut und re-transplantiert werden kann, um die Fruchtbarkeit bei geheilten Patienten wieder herzustellen.

ITT kann kryokonserviert werden als Zellsuspension, Gewebefragmente oder als ganzes Organ [50]. Es gilt zu beachten, dass Gefriermethoden sowohl individuelle Zellen als auch die Zell-Zell Integrität zwischen SSCs und Sertolizellen erhalten. Speziell entwickelte Einfrierprotokolle für humanes präpubertäres Hodengewebe mit DMSO als Kälteschutzmittel haben gezeigt, dass 94% der Spermatogonien auch nach dem Auftauen intakt bleiben [51]. Diese eingefrorenen und aufgetauten SSCs waren fähig, sich nach orthotoper Xenotransplantation zu vermehren [52]. Allerdings zeigt das Fehlen von meiotischer Aktivität und Differenzierung in den Transplantaten von präpubertären (nicht aber postpubertären) Knaben, dass das Alter der Patienten den Erfolg der Transplantation beeinflusst.

Ein weiteres Hindernis stellen die niedrigen Langzeitwachstums- und Überlebensraten der Transplantate nach dem Auftauen dar [52].

Literatur

- 1 Besse D, Bellavia M, de Ziegler D, Wunder D. Fertility and cancer: psychological support in young women who contemplate emergency assisted reproductive technologies (ART) prior to chemo- and/or radiation-therapy. *Swiss Med Wkly* 2010;140:w13075. doi:10.4414/smw.2010.13075.
- 2 Fertiprotekt : www.fertiprotekt.ch; Réseau Romand de Cancer et Fertilité : www.grssgo.ch; Tessin: <http://www.centro-fertilita.eoc.ch>
- 3 FertiSave : www.sgrm.org/fertisave
- 4 Tournaye H, Goossens E, Verheyen G, Frederickx V, De Block G, Devroey P, et al. Preserving the reproductive potential of men and boys with cancer: current concepts and future prospects. *Hum Reprod Update*. 2004;10:525-32.
- 5 Rovó A, Tichelli A, Passweg JR, Heim D, Meyer-Monard S, Holzgreve W, et al. Spermatogenesis in long-term survivors after allogeneic hematopoietic stem cells transplantation is associated with age, time interval since transplantation and absence of chronic graft versus host disease. *Blood* 2006;108: 1100-05.
- 6 Gerber B, von Minckwitz G, Stehle H, Reimer T, Felberbaum R, Maass N, et al; German Breast Group Investigators. Effect of luteinizing hormone-releasing hormone agonist on ovarian function after modern adjuvant breast cancer chemotherapy: the GBG 37 ZORO study. *J Clin Oncol* 2011;29:2334-41.
- 7 Munster PN, Moore AP, Ismail-Khan R, Cox CE, Lacey M, Gross-King M, et al. Randomized Trial Using Gonadotropin-Releasing Hormone Agonist Triptorelin for the Preservation of Ovarian Function During (Neo)Adjuvant Chemotherapy for Breast Cancer. *J Clin Oncol* 2012;30:533-38.
- 8 Behringer K, Wildt L, Mueller H, Mattle V, Ganitis P, van den Hoonaard B, et al. German Hodgkin Study Group. No protection of the ovarian follicle pool with the use of GnRH-analogues or oral contraceptives in young women treated with escalated BEACOPP for advanced Hodgkin lymphoma. Final report of a phase III trial from the German Hodgkin Study Group. *Ann Oncol* 2010;21:2052-60.
- 9 Clowse ME, Behera MA, Anders CK, Copland S, Coffman CJ, Leppert PC, et al. Ovarian preservation by GnRH agonists during chemotherapy: a meta-analysis. *J Womens Health* 2009;18:311-19.

- 10 Bedaiwy MA, Abou-Setta AM, Desai N, Hurd W, Starks D, El-Nashar SA, et al. Gonadotropin-releasing hormone analog cotreatment for preservation of ovarian function during gonadotoxic chemotherapy: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril* 2011;95:906-14.
- 11 Ben-Aharon I, Gafer-Gvili A, Leibovici L, Stemmer SM. Pharmacological interventions for fertility preservation during chemotherapy: a systematic review and meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat* 2010;122:803-11.
- 12 Del Mastro L, Boni L, Michelotti A, Gamucci T, Olmeo N, Gori S, Giordano M, Garrone O, Pronzato P, Bighin C, Levaggi A, Giraudi S, Cresti N, Magnolfi E, Scotto T, Vecchio C, Venturini M. Effect of the gonadotropin-releasing hormone analogue triptorelin on the occurrence of chemotherapy-induced early menopause in premenopausal women with breast cancer: a randomized trial. *JAMA* 2011;306:269-76.
- 13 Swain SM, Jeong JH, Geyer CE Jr. Longer therapy, iatrogenic amenorrhea, and survival in early breast cancer. *N Engl J Med* 2010;362:2053-65.
- 14 Al-Inany HG, Abou-Setta AM, Aboulghar M. Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted conception: a Cochrane review. *Reprod Biomed Online* 2007;14:640-649.
- 15 von Wolff M, Thaler CJ, Frambach T, Zeeb C, Lawrenz B, Popovici RM, et al. Ovarian stimulation to cryopreserve fertilized oocytes in cancer patients can be started in the luteal phase. *Fertil Steril* 2009; 92:1360-65.
- 16 Bodri D, Guillén JJ, Galindo A, Mataró D, Pujol A, Coll O. Triggering with human chorionic gonadotropin or a gonadotropin-releasing hormone agonist in gonadotropin-releasing hormone antagonist-treated oocyte donor cycles: findings of a large retrospective cohort study. *Fertil Steril* 2009;91:365-71.
- 17 Oktay K, Hourvitz A, Sahin G, Oktem O, Safro B, Cil A, Bang H. Letrozole reduces estrogen and gonadotropin exposure in women with breast cancer undergoing ovarian stimulation before chemotherapy. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:3885-90.
- 18 Barritt J, Luna M, Duke M, Grunfeld L, Mukheerje T, Sandler B, Copperman AB. Report of four donor-recipient oocyte Cryopreservation cycles resulting in high pregnancy and implantation rates. *Fertil Steril* 2007;87:189.e13-7.
- 19 Cobo A, Bellver J, Domingo J, Pérez S, Crespo J, Pellicer A, Remohí J. New options in assisted reproduction technology: the cryotop method of oocyte vitrification. *Reprod Biomed Online* 2008;17:68-72.

- 20 Lee S, Ozkavukcu S, Heytens E, Moy F, Oktay K Value of early referral to fertility preservation in young women with breast cancer. *J Clin Oncol* 2010;28:4683-86.
- 21 Maman E, Prokopis K, Levron J, Carmely A, Dor J, Meiorow D. Does controlled ovarian stimulation prior to chemotherapy increase primordial follicle loss and diminish ovarian reserve? An animal study. *Hum Reprod* 2009;24:206-10.
- 22 Lawrenz B, Jauckus J, Kupka M, Strowitzki T, von Wolff M. Efficacy and safety of ovarian stimulation before chemotherapy in 205 cases. *Fertil Steril*. 2010; 94: 2871-2873.
- 23 von Wolff M, Dian D. Fertilitätsprotektion bei Malignomen und gonadotoxischen Therapien. *Dtsch Arztebl*, in press.
- 24 Lawrenz B, Jauckus J, Kupka M, Strowitzki T; von Wolff M. Fertility preservation in > 1000 patients – patients characteristics, spectrum, efficacy and risks of applied preservation techniques. *Arch Gynecol Obstet* 2011;283:651-56.
- 25 de Ziegler D, Streuli I, Vasilopoulos I, Decanter C, This P, Chapron C. Cancer and fecundity issues mandate a multidisciplinary approach. *Fertil Steril* 2010;93:691-6.
- 26 von Wolff M, Montag M, Dittrich R, Denschlag D, Nawroth F, Lawrenz B. Fertility preservation in women--a practical guide to preservation techniques and therapeutic strategies in breast cancer, Hodgkin's lymphoma and borderline ovarian tumours by the fertility preservation network FertiPROTEKT. *Arch Gynecol Obstet* 2011;284:427-35.
- 27 Dolmans MM, Donnez J, Camboni A, Demylle D, Amorim C, Van Langendonck A, Pirard C. IVF outcome in patients with orthotopically transplanted ovarian tissue. *Hum Reprod* 2009;24:2778-87.
- 28 Oktem O, Oktay K. Quantitative assessment of the impact of chemotherapy on ovarian follicle reserve and stromal function. *Cancer* 2007;110:2222
- 29 Dittrich R, Lotz L, Keck G, Hoffmann I, Mueller A, Beckmann MW, van der Ven H, Montag M. Live birth after ovarian tissue autotransplantation following overnight transportation before cryopreservation. *Fertil Steril* 2012;97:387-90.
- 30 Fahy-Deshe M, van den Bergh M, Hohl M, Urech-Ruh C. Geburt des ersten Babys in der Schweiz nach Autotransplantation von kryokonserviertem Ovargewebe. *Schweiz Med Forum* 2012; 12(29-30): 593-594.
- 31 Donnez J, Dolmans MM, Demylle D, Jadoul P, Pirard C, Squifflet J, Martinez-Madrid B, van Langendonck A. Livebirth after orthotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. *Lancet* 2004;364:1405-10.

- 32 Silber SJ. Ovary Cryopreservation and Transplantation for Fertility Preservation. *Mol Hum Reprod* 2012;18:59-67.
- 33 Dolmans MM, Marinescu C, Saussoy P, Van Langendonck A, Amorim C, Donnez J. Reimplantation of cryopreserved ovarian tissue from patients with acute lymphoblastic leukemia is potentially unsafe. *Blood* 2010;116:2908-14.
- 34 Bisharah M, Tulandi T. Laparoscopic preservation of ovarian function: an underused procedure. *Am J Obstet* 2003;88:367-70.
- 35 Dursun P, Ayhan A, Yanik FB, Kuşçu E. Ovarian transposition for the preservation of ovarian function in young patients with cervical carcinoma; *Eur J Gynaecol Oncol* 2009;30:13-5.
- 36 Huober-Zeeb C, Lawrenz B, Popovici RM, Strowitzki T, Germeyer A, Stute P, von Wolff M. Improving fertility preservation in cancer: Ovarian tissue cryobanking followed by ovarian stimulation can be efficiently and safely combined. *Fertil Steril*.2011;95:342-44.
- 37 Huang JYJ, Tulandi T, Holzer H, Lin Tan S, Chian RC. Combining ovarian tissue cryobanking with retrieval of immature oocytes followed by in vitro maturation and vitrification: an additional strategy of fertility preservation. *Fertil Steril* 2008;89:567-572.
- 38 Dolmans MM, Demylle D, Martinez-Madrid B, Donnez J. Efficacy of in vitro fertilization after chemotherapy. *Fertil Steril* 2005;83:897-901.
- 39 Meirow D, Epstein M, Lewis H, Nugent D, Gosden RG. Administration of cyclophosphamide at different stages of follicular maturation in mice: effects on reproductive performance and fetal malformations. *Hum Reprod* 2001;4:632-37.
- 40 Chian RC, Gulekli B, Buckett WM and Tan SL. Priming with human chorionic gonadotropin before retrieval of immature oocytes in women with infertility due to the polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 1999;341:1624-26.
- 41 Mikkelsen AL, Smith SD and Lindenberg S. In vitro maturation of human oocytes from regularly menstruating women may be successful without follicle stimulating hormone priming. *Hum Reprod* 1999;14:1847-51.
- 42 Holzer HEG, Chian RC, Buckett WM and Tan SL. In vitro maturation for fertility preservation. In vitro maturation of human oocytes. Ed.: Tan SL, Chian RC and Buckett M. Informa Healthcare 2006.
- 43 Cha KY, Koo JJ, Ko JJ, Choi DH, Han SY, Yoon TK. Pregnancy after in vitro fertilization of human follicular oocytes collected from nonstimulated cycles, their culture in vitro and their transfer in a donor oocyte program. *Fertil Steril* 1991;55:109-113.

- 44 Buckett WM, Chian RC, Dean NL, Sylvestre C, Holzer HEG, Tan SL. Pregnancy loss in pregnancies conceived after in vitro oocyte maturation, conventional in vitro fertilization, and intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 2008;90:546-550.
- 45 De Vos M, Ortega-Hrepich C, Albuz FK, Guzman L, Polyzos NP, Smitz J and Devroey P. Clinical outcome of non-hCG-primed oocyte in vitro maturation treatment in patients with polycystic ovaries and polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2011; 96:860-4.
- 46 Roesner S, von Wolff M, Eberhardt I, Beuter-Winkler P, Toth B, Strowitzki T. In vitro maturation: a five-year experience. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2012; 91: 22-27.
- 47 Eppig JJ and O'Brien MJ. Development in vitro of mouse oocytes from primordial follicles. *Bio Reprod* 1996;54:197-207.
- 48 Yamamoto K, Otoi T, Koyama N, Horikita N, Tachikawa S, Miyano T. Development to live young from bovine small oocytes after growth, maturation and fertilization in vitro. *Theriogenology.* 1999;52:81-9.
- 49 Telfer EE, McLaughlin M, Ding C and Thong KJ. A two-step serum-free culture system supports development of human oocytes from primordial follicles in the presence of activin. *Hum Reprod* 2008;23:1151-58.
- 50 Wyns C, Curaba M, Vanabelle B, Van Langendonck A, and Donnez J. Options for fertility preservation in prepubertal boys. *Hum Reprod Update* 2010;16:312-28.
- 51 Keros V, Hultenby K, Borgström B, Fridström M, Jahnukainen K, and Hovatta O. Methods of cryopreservation of testicular tissue with viable spermatogonia in pre-pubertal boys undergoing gonadotoxic cancer treatment. *Hum Reprod* 2007;22:1384-95.
- 52 Van Saen D, Goossens E, Bourgain C, Ferster A and Tournaye H. Meiotic activity in orthotopic xenografts derived from human postpubertal testicular tissue. *Hum Reprod* 2011;26:282–93.
- 53 Schweizer IVF-Register. Jahresbericht 2008, Seite 17.
http://www.sgrm.org/wb/pages/de/fivnat-kommission/statistiken_reports.php

Legende zu Abbildung 1

Anzahl (n) entnommener (blaue Säule) sowie erfolgreich fertilisierter, kryokonservierter Oozyten im Pronukleus-Stadium (rote Säule) vor einer zytotoxischen Therapie (modifiziert nach [23]); sowie die Berechnung der theoretischen kumulativen Schwangerschaftsraten nach späteren Auftauzyklen (Prozentangabe über den Säulen). Berechnung gemäss den Schwangerschaftsraten des Schweizer IVF-Registers [53].