



## Möglichkeiten der Kryokonservierung bei Mann und Frau

# Kinderwunsch muss nicht unerfüllt bleiben

HANS VAN DER VEN, BENJAMIN RÖSING, KATRIN VAN DER VEN, CHRISTOPH DORN,  
EUGENIA ISACHENKO, VLADIMIR ISACHENKO, MARKUS MONTAG

Die Fortschritte in der Behandlung von Tumorerkrankungen ermöglichen vielen Patienten ein „Leben nach dem Krebs“ – das beinhaltet auch die Familienplanung. Chemo- oder Strahlentherapie können die Gonaden (Ovar/Hoden) schädigen und oft ist eine posttherapeutische Unfruchtbarkeit nicht auszuschließen. Eine adäquate Fertilitätsprophylaxe – für Männer und Frauen – kann eine Option sein, einen späteren Kinderwunsch zu erfüllen.

**D**ie Behandlung onkologischer Patienten umfasst neben dem operativen Vorgehen oftmals eine Chemo- und/oder Strahlentherapie. Dank moderner Verfahren überlebt ein hoher Prozentsatz der Betroffenen seinen Tumor, zunehmend auch junge Menschen, die sich nach überstandener Krebserkrankung ein Kind wünschen.

Eine Chemotherapie schädigt bei 10–50% der Patienten die Gonadenfunktion irreversibel. Speziell bei Frauen kann eine partielle oder in Abhängigkeit von Alter und onkologischer Therapie auch eine vollständige Schädigung des

Eierstocks nicht ausgeschlossen werden, was sich dann im vorzeitigen Eintritt der Menopause äußern kann. Die Erfüllung eines Kinderwunsches wird somit vielen Paaren verwehrt. In Abhängigkeit von der individuellen Situation und der zu Grunde liegenden onkologischen Erkrankung bietet nur eine adäquate Fertilitätsprophylaxe eine Option für die spätere Erfüllung des Kinderwunsches.

### Fertilitätsprophylaxe beim Mann

Die Fertilitätsprophylaxe beim Mann ist im Vergleich zur Frau weniger komplex.

Im Unterschied zum Ovar werden beim Mann mit Beginn der Pubertät kontinuierlich Keimzellen neu gebildet. Obwohl eine Chemo-/Strahlentherapie die Spermiogenese beeinträchtigt, besteht durchaus die Möglichkeit, dass nach abgeschlossener Tumorthherapie erneut Spermien produziert werden. Eine Schädigung der Spermiogenese bis hin zur Azoospermie kann jedoch nicht ausgeschlossen werden. Deshalb sollte vor einer Chemotherapie stets ein Sperma-Kryodepot angelegt werden. In spezialisierten Zentren können Sperma-Kryodepots in der Regel innerhalb weniger Tage –notfalls sogar unmittelbar – angelegt werden, sodass die anstehende Tumorthherapie und insbesondere ein eventuell notwendiger operativer Eingriff ohne Verzögerung eingeleitet werden können. Neuere Daten zeigen, dass die Kryokonservierung selbst nach einer begonnenen Chemotherapie in der ersten Zeit noch sinnvoll ist.

Ist eine Kryokonservierung nicht sofort erforderlich, wird den Patienten die Einhaltung einer zwei- bis fünf-tägigen Karenz vor Abgabe einer Spermaprobe empfohlen. Die Gewinnung weiterer Proben kann dann innerhalb der nächsten zwei bis drei Tage erfolgen. Aus jeder Probe werden in der Regel vier bis sechs Kryoportionen angelegt. Diese Anzahl erscheint zunächst gering, ist jedoch in Anbetracht der Fortschritte der assistierten Reproduktion für mehrere Kinderwunschbehandlungen ausreichend.

Ermöglicht wird dies durch die so genannte intrazytoplasmatische Spermieninjektion (ICSI), bei der in jede Eizelle ein vitales Spermium direkt injiziert wird. Damit ist heutzutage auch bei Patienten mit einer eingeschränkten Spermaqualität eine Kryokonservierung



Foto: pixelquelle/Wilson Urtaub

**Eine Tumorthherapie kann die Fortpflanzungsfähigkeit nachhaltig schädigen. Die Kryotherapie bietet für beide Geschlechter Möglichkeiten der Fertilitätsprophylaxe.**



vor Tumortherapie stets sinnvoll und eine realistische Option zur Erfüllung eines späteren Kinderwunsches.

Bei Patienten mit Hodentumor kann unter Umständen bereits eine sehr starke Beeinträchtigung der Hodenfunktion bis hin zur Azoospermie vorliegen. Sind im Ejakulat keine Samenzellen mehr nachweisbar, ist eine Kryokonservierung der Samenprobe natürlich nicht sinnvoll. Hier besteht jedoch die Möglichkeit – gegebenenfalls auch im Rahmen einer nachfolgenden operativen Tumortherapie – Hodengewebe zu entnehmen und auf die Anwesenheit von testikulären Spermien zu untersuchen, die dann kryokonserviert werden können.

Generell ist es bei geeigneten Lagerbedingungen möglich, kryokonservierte Spermien oder testikuläres Gewebe über viele Jahre aufzubewahren, ohne dass deren Vitalität und Befruchtungsfähigkeit darunter leidet. Auch wenn die Spermienproduktion nach abgeschlossener Tumortherapie wieder einsetzt, sollte eine Schwangerschaft erst ca. zwei Jahre nach Abschluss der Chemotherapie angestrebt werden. Spätestens zwei Jahre nach einer Tumortherapie kann ein Kontrollspermiogramm durchgeführt werden um in Abhängigkeit des Befundes über die Notwendigkeit einer weiteren Lagerung

der kryokonservierten Spermaproben zu entscheiden.

### Fertilitätsprophylaxe bei der Frau

Im Unterschied zur kontinuierlichen Spermiogenese beim Mann, wird die Anzahl der Eizellen in den Ovarien bereits während der Fetalentwicklung festgelegt. Die maximale Anzahl von sieben Millionen wird im Fetus in der 20. Woche erreicht und reduziert sich bereits bis zur Geburt auf zwei Millionen. Diese kontinuierliche Abnahme setzt sich nach der Geburt bis zur Menopause fort. Eine spätere Neubildung von Eizellen erfolgt nicht. Ein durch Chemo- bzw. Strahlentherapie geschädigter Eizell-Follikelpool kann nicht wieder neu aufgefüllt werden. Bei der Frau ist eine Fertilitätsprophylaxe aus diesem Grund die einzige Option, um mögliche Auswirkungen einer Tumortherapie auf das Ovarialgewebe und die Funktion des Ovars zu vermeiden. In Abhängigkeit von der individuellen Situation der Patientin stehen hierfür mehrere Behandlungsmöglichkeiten zur Verfügung (siehe Grafik).

### — Gabe von GnRH-Analoga

Eine Option ist, die Ovarien durch Gabe von GnRH-Analoga vorübergehend ruhig zu stellen; die Schädigung der Gona-

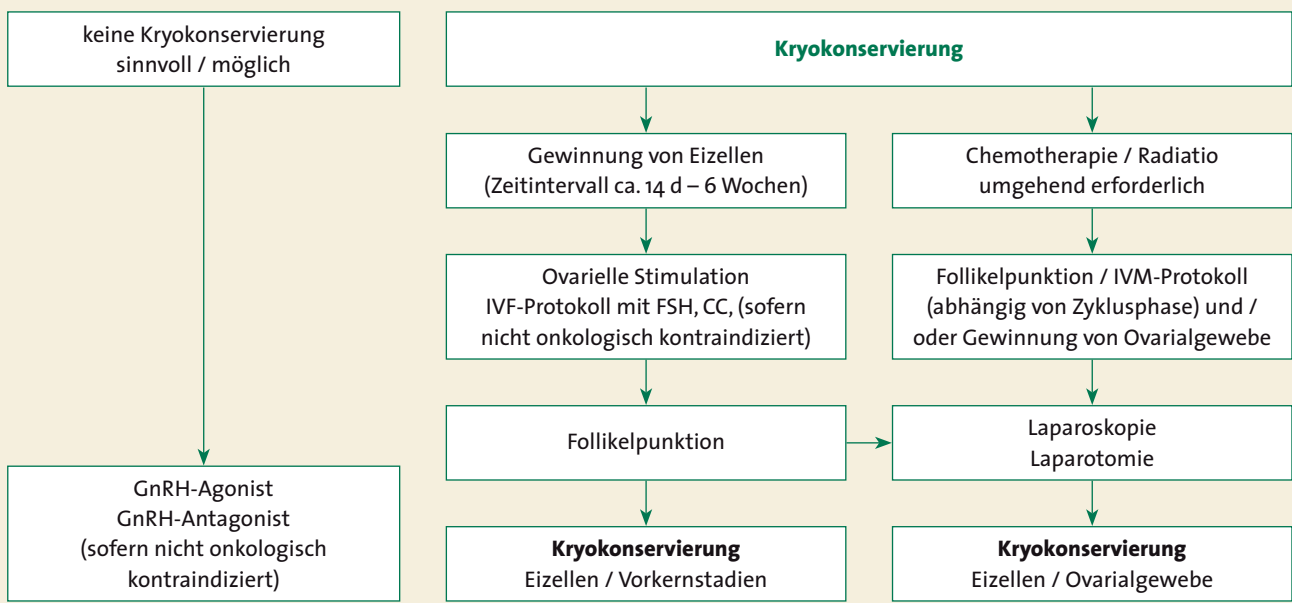
den durch die Chemotherapie kann so möglicherweise reduziert werden [Falcone et al. 2004]. Die Beobachtung, dass bei präpubertären Mädchen die Ovarien für gonadotoxische Effekte einer Chemotherapie weniger empfindlich sind, führte zu dem Versuch diesen Zustand am adulten, zyklisch aktiven Ovar zu simulieren. Ob eine „pharmakologische Kastration“ mit GnRH-Analoga/Antagonisten allerdings die Chemotherapie-induzierte Apoptose der primordialen Follikel in ausreichendem Maße aufhalten kann, ist nicht sicher bestätigt. Die weibliche Fertilität ist durch die Größe des erhaltenen Follikelpools bestimmt. Die Anzahl der primordialen Follikel ist in vivo nur schwer einzuschätzen und die Dauer eines möglichen Fertilitätserhalts nicht sicher früher zu prognostizieren [Blumenfeld & Haim 1997].

### — Transposition der Ovarien vor Strahlentherapie

Alternativ kann bei einer Strahlentherapie das Ovar operativ vorübergehend aus dem Bestrahlungsfeld transponiert werden [Seli & Tangir 2005]. Beim Zervixkarzinom, Vaginalkarzinom und bei Lymphomen kann eine Bestrahlung des kleinen Beckens indiziert sein. Eine Verlagerung der Ovarien aus dem Bestrah-

Grafik

## Therapieempfehlungen zum Fertilitätserhalt bei Patientinnen mit Malignom am Universitätsklinikum Bonn



lungsfeld reduziert den gonadotoxischen Effekt der Bestrahlung.

Die operative Verlagerung der Ovarien kann laparoskopisch erfolgen. Dabei werden die Ovarien mobilisiert und lateral und kranial der Spina iliaca an der Abdomenwand fixiert. Die räumliche Beziehung zu den Fimbrientrichtern der Tuben ist dabei zu bewahren. Ein aktinischer Schaden des im Strahlenfeld verbleibenden Uterus kann mit gesteigerten Abortraten und häufigerer fetaler intrauteriner Wachstumsretardierung einhergehen.

### — Hormonelle Stimulation zur Gewinnung reifer Eizellen

Wenn eine Tumorthherapie nicht akut eingeleitet werden muss, können theoretisch vorher Eizellen gewonnen werden. Dieses Vorgehen beinhaltet eine hormonelle Stimulation unter der sich bestenfalls maximal 15–20 Follikel bilden. Die reifen Eizellen können je nach individueller Situation befruchtet oder unbefruchtet eingefroren werden. Eine direkte Verwendung der Eizellen durch In-vitro-Fertilisation oder intrazytoplasmatische Spermieninjektion (ICSI) setzt das Vorhandensein eines Lebenspartners voraus. Durch den späteren Transfer so entstandener Embryonen wird eine Schwangerschaftsrate von maximal 30% erzielt.

Ein wesentlicher Nachteil der Verwendung kryokonservierter, unbefruchteter oder befruchteter Eizellen ist die verhältnismäßig geringe Anzahl der insgesamt verfügbaren Eizellen. Außerdem ist zu beachten, dass die hormonelle Stimulation bei bestimmten hormonabhängigen Tumoren kontraindiziert ist.

Insgesamt erfordert die hormonelle Stimulation einschließlich Eizellgewinnung und anschließender Kryokonservierung ein zyklusabhängiges Zeitintervall von 14 Tagen bis sechs Wochen. Die Erfolgsraten sind im Wesentlichen von der ovariellen Stimulation, dem Alter der Frau und der Anzahl und Qualität der Eizellen abhängig.

### — In-vitro-Maturation

Um eine Hormonbehandlung zur ovariellen Stimulation zu vermeiden, können mit einem neueren Verfahren unreife Eizellen ohne vorherige Stimulation

gewonnen werden, die in vitro zu einer befruchtungsfähigen Metaphase-II-Eizelle gereift (maturiert) und anschließend kryokonserviert werden können. Frühere Entwicklungsstufen der Eizellen sind in größerer Anzahl verfügbar und können mit der so genannten Vitrifikation eingefroren werden [Isachenko et al. 2006].

Dieses Vorgehen bietet mehr Flexibilität bezüglich der Partnerwahl und des Zeitpunktes der Verwendung. Diese Vorteile werden aber mit einer deutlich niedrigeren Befruchtungs- und Schwangerschaftsrate erkauft. Eine mögliche Auswirkung der In-vitro-Maturation auf die genetische Qualität der Eizellen ist noch nicht hinreichend untersucht. Die betroffenen Patientinnen müssen daher über den experimentellen Charakter dieser Behandlungsform umfassend beraten werden [Lobo 2005].

### — Kryokonservierung von Ovarialgewebe

Das zur Fertilitätsprophylaxe zurzeit am häufigsten eingesetzte Verfahren ist die laparoskopische Entnahme eines ganzen Ovars oder eines Teils aus dem Ovarkortex für eine nachfolgende Kryokonservierung. Nach Entnahme kann das Gewebe direkt weiter bearbeitet werden oder auch mit speziellen Transportbehältern zu einem auf die Kryokonservierung von Ovargewebe spezialisierten Zentrum mit angeschlossener Kryobank überführt werden.

Ein ganzes Ovar kann nach Perfusion mit Kryoprotektoren in toto eingefroren werden. Bei der Entnahme von Ovarialkortex werden aus diesem kleine Streifen geschnitten, mit Kryoprotektoren versetzt und ebenfalls kryokonserviert. Über das beste methodische Vorgehen der Aufbereitung des Ovarialgewebes besteht zurzeit noch keine Einigkeit.

Bei der Kryokonservierung unterscheidet man zwei Verfahren: Das langsame Einfrieren und die Vitrifikation. Beim langsamen Einfrieren werden die Proben über einen längeren Zeitraum auf  $-30^{\circ}\text{C}$  abgekühlt und anschließend in flüssigen Stickstoff überführt. Im Gegensatz dazu ist die Vitrifikation ein ultraschnelles Verfahren, bei der die Proben mit einer höheren Konzentration an Kryoprotektoren direkt in den flüssigen Stickstoff eingetaucht werden.

Beide Verfahren werden zurzeit für das Einfrieren von Ovarialgewebe eingesetzt. Eine genaue Beurteilung der Effizienz verschiedener Kryokonservierungstechniken ist heute noch nicht abschließend möglich [Montag et al. 2005]. In unserem Bonner Konzept zur Fertilitätsprophylaxe bei onkologischen Patientinnen wird daher das Gewebe anteilig sowohl vitrifiziert als auch mit konventionellen Protokollen eingefroren, um den Patientinnen unterschiedliche Optionen für die Zukunft offen zu halten.

Bei der Aufklärung der Patientinnen muss ausdrücklich auf den zurzeit experimentellen Charakter dieses Vorgehens hingewiesen werden. Bisher wurden weltweit nach Kryokonservierung von Ovarialgewebe und anschließender Re-Transplantation erst zwei Kinder geboren. Die Möglichkeit aus den primordialen Follikeln des Ovarialgewebes durch eine vollständige in vitro Maturation reife, befruchtungsfähige Eizellen zu gewinnen gelang bisher nur in wenigen Einzelfällen im tierexperimentellen Bereich. Die Anwendung der vollständigen in vitro Reifung von Eizellen aus zuvor kryokonserviertem Ovarialgewebe ist beim Menschen derzeit noch nicht möglich.

Damit ist aus reproduktionsmedizinischer Sicht die Kryokonservierung von Ovarialgewebe bei onkologischer Indikation bislang keine etablierte Standardmethode. Insbesondere sollte das Verfahren nur an oder in Zusammenarbeit mit spezialisierten Zentren angeboten werden. Da das Gewebe unter Umständen erst nach mehreren Jahren für eine spätere Transplantation Verwendung findet, müssen an den gesamten Verfahrensablauf sehr hohe Anforderungen an Einfrier- und Lagerbedingungen, Sicherheit und Sterilität gestellt werden.

### Anforderungen an das „Kryobanking“

Mit der Kryokonservierung und Langzeitlagerung von Patientenproben (Eizellen, Samenzellen, Ovargewebe, Hodengewebe) für eine spätere therapeutische Nutzung übernimmt die beteiligte Kryobank eine hohe Verantwortung. Insbesondere bei onkologischen Patienten muss von einer mehrere Jahre dauernden Lagerung



ausgegangen werden. Für diesen Zeitraum muss die Sicherheit der Proben garantiert werden. Geeignete Räumlichkeiten und adäquate Systeme zur Überwachung der Tieftemperaturlagerung sind eine Grundvoraussetzung. Die Proben selbst müssen in dicht schließenden Behältern aufbewahrt werden. Weitere Anforderungen ergeben sich aus einer neuen Direktive der Europäischen Union (204/23/EC), die beispielsweise für jeden Patient eine serologische Untersuchung auf HIV 1 und 2 sowie Hepatitis B und C verlangt. Des Weiteren muss speziell bei Ovargewebe die Richtlinie zur Transplantation beachtet werden.

Der Aufbau einer Kryobank ist mit hohen Investitionen verbunden. Der fortlaufende Unterhalt, die Beschaffung der grundlegenden Patientendaten von allen beteiligten Disziplinen und die logistische Verwaltung der Patientenproben müssen langfristig sichergestellt werden. Für die spätere therapeutische Verwendung von Ovargewebe ist eine begleitende, patienten-orientierte Forschung unabdingbar. An unserer Kryobank wurde hierzu u.a. die Stelle eines Biologen mit kryobiologischem Schwerpunkt geschaffen. Die Komplexität legt die Gründung von interdisziplinären, Netzwerk-ähnlichen Strukturen nahe um die Behandlung für Therapeut und Patient optimal und nach dem jeweiligen aktuellen wissenschaftlichen Kenntnisstand zu gestalten.

### Fazit

Die Fortpflanzungsfähigkeit nach Tumorthherapie kann bei Männern in hohem Maße gewährleistet werden. Bei Frauen stehen mehrere Möglichkeiten zur Fertilitätsprophylaxe zur Verfügung, die jedoch teilweise experimentell sind und eine sichere Erfüllung eines späteren Kinderwunsches nicht garantieren können. Die Entscheidung, welche Behandlung der individuellen Situation einer Patientin am Besten gerecht wird, muss in einem persönlichen Gespräch getroffen werden und erfordert eine intensive interdisziplinäre Kommunikation u.a. von Onkologen, Strahlentherapeuten und Reproduktionsmedizinern. Insbesondere die Kryokonservierung von Ovarialgewebe und die spätere Verwendung kann zurzeit noch nicht als eine Routinemethode angesehen werden.

### Literatur

1. Blumenfeld Z, Haim N. Prevention of gonadal damage during cytotoxic therapy. *Ann Med* 1997; 29: 199–206.
2. Falcone T et al. Ovarian function preservation in the cancer patient. *Fertil Steril* 2004; 81: 243–57.
3. Isachenko V et al. Aseptic vitrification of human germinal vesicle oocytes using dimethyl sulfoxide as a cryoprotectant. *Fertil Steril* 2006; 85: 741–7.
4. Lobo RA. Potential options for preservation of fertility in women. *N Engl J Med* 2005; 353: 64–73.
5. Montag M et al. Stellenwert der Vitrifikation in der Reproduktionsmedizin. *Gyn Endocrinol* 2005; 3: 245–50.
6. Seli E, Tangir J. Fertility preservation options for female patients with malignancies. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2005; 17: 299–308.

### Autoren:

Prof. Dr. Hans van der Ven  
Dr. Benjamin Rösing  
Prof. Dr. Katrin van der Ven  
PD Dr. Christoph Dorn  
Dipl.-Biol. Dr. Eugenia Isachenko  
Dipl.-Biol. Dr. Vladimir Isachenko  
Dipl.-Biol. PD Dr. Markus Montag

### Korrespondenzadresse:

Prof. Dr. Hans van der Ven  
Universitäts-Frauenklinik Bonn  
Abteilung für Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin  
Sigmund-Freud-Str. 25  
53105 Bonn  
E-mail: hans.van\_der\_ven@  
ukb.uni-bonn.de  
www.kryobank.net

### Für den Arbeitskreis

Supportive Maßnahmen in der Onkologie (ASO) innerhalb der Deutschen Krebsgesellschaft (DKG) und der Multinational Association of Supportive Care in Cancer (MASCC) zum Behandlungsmanagement.  
www.onkosupport.de