

Diplomarbeit

**Fertilitätsprotektion bei der Frau
Kryokonservierung von Ovarialgewebe**

eingereicht von

Anna Mona Rutzinger

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktorin der gesamten Heilkunde

(Dr. med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der

Universitätsklinik für Gynäkologie und Geburtshilfe

unter der Anleitung von

Priv.Doz.Dr. Monika Martina Wölfler

Univ.Prof.Dr. Wolfgang Schöll

Graz, am 20.11.2017

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am 20.11.2017

Anna Mona Rutzinger eh

*„Wer nichts weiß, liebt nichts.
Wer nichts tun kann, versteht nichts.
Wer nichts versteht, ist nichts wert.
Aber wer versteht,
der liebt, bemerkt und sieht auch...
Je mehr Erkenntnis einem Ding innewohnt,
desto größer ist die Liebe...
Wer meint, alle Früchte
würden gleichzeitig mit den Erdbeeren reif,
versteht nichts von den Trauben.“*

Paracelsus

Zusammenfassung

Einleitung: Eine zunehmende Zahl an Patienten ist bereits während der reproduktiven Lebensphase mit einer gonadotoxischen Therapie für maligne oder andere Erkrankungen konfrontiert. Die Konservierung von Spermien ist ein seit Jahrzehnten etabliertes Verfahren, bei Frauen existieren erst seit wenigen Jahren effektive Techniken zur Fertilitätsprotektion. Eine dieser Techniken ist die Kryokonservierung von Ovarialgewebe. Das Gewebe kann nach Abschluss der gonadotoxischen Behandlung und des rezidiv-freien Intervalls bei Ovarialinsuffizienz re-transplantiert werden. Mit dem Ziel, die endokrine Funktion der Frau wiederherzustellen und bei Kinderwunsch auch die Möglichkeit für Reproduktion wiederzuerlangen.

Methodik: Die Daten von Frauen, bei denen im Zeitraum von Mai 2012 bis Mai 2016 eine Entnahme von Ovarialgewebe zur Kryokonservierung per Laparoskopie erfolgte, wurden erhoben und ausgewertet. Bei allen Patientinnen erfolgte eine Biopsie zur histologischen Untersuchung und zum Ausschluss von Kontamination der Ovarien mit malignen Zellen.

Ergebnis: Die Entnahme und Kryokonservierung von Ovarialgewebe erfolgte bisher bei 37 Frauen auf unkomplizierte Weise. Die Frauen waren im Durchschnitt 26 Jahre alt (Range: 16-42 Jahre). Der durchschnittliche Anti-Müller Hormon (AMH)-Wert betrug 4,99 ng/ml (SD 3,84, Range 0,36-18,3 ng/ml). Bei 31 Frauen (83,8%) stellte eine onkologische Grunderkrankung die Indikation für die Durchführung einer Kryokonservierung von Ovarialgewebe dar: Hodgkin Lymphom (14; 37,8%), Mammakarzinom (11; 29,7%), Osteosarkom (2; 5,4%), Kolonkarzinom (1; 2,7%), Rektumkarzinom (1; 2,7%), Cervixkarzinom (1; 2,7%) und Plattenepithelkarzinom der Zunge (1; 2,7%). Bei 6 weiteren Frauen (16,2%) wurde die Kryokonservierung von Ovarialgewebe wegen nicht-onkologischer Grunderkrankungen wie Lupus-Nephritis (2), IgA Nephropathie (1), Niereninsuffizienz (Good Pasture Syndrom) (1), Susac Syndrom (1) und Leukodystrophie (1) durchgeführt. Ende 2015 erfolgte die erste autologe Re-Transplantation von kryokonservierten Ovarialgewebe in die rechte Fossa ovarica

bei einer 38-jährigen Frau mit M. Hodgkin. Das Anwachsen des Gewebes konnte durch beginnende hormonelle Aktivität nachgewiesen werden.

Conclusio: Erste Ergebnisse zeigen, dass die Kryokonservierung von Ovarialgewebe eine sichere Methode für die Fertilitätsprotektion bei der Frau ist. Interessanterweise stellte in 16% der Fälle eine nicht-onkologische Grunderkrankung die Indikation zur Kryokonservierung von Ovarialgewebe dar. Langzeitergebnisse zur ersten Re-Transplantation liegen momentan noch nicht vor, Ergebnisse aus anderen Zentren innerhalb des FertiPROTEKT Netzwerkes sind jedoch vielversprechend.

Abstract

Introduction: An increasing number of patients has to undergo a gonadotoxic therapy already in their early reproductive lifetime. The cryopreservation of sperms is a well-established method for fertility preservation for decades, whereas effective methods for women only exist for a few years now. One of these methods is the cryopreservation of ovarian tissue. In case of premature ovarian failure after the gonadotoxic therapy ovarian tissue can be re-transplanted. The aim of the re-transplantation is to re-establish the endocrine function of the woman and to rebuild the prerequisites for reproduction in case of infertility.

Material and methods: The database of women who underwent a removal of ovarian tissue for cryopreservation between May 2012 and May 2016 has been collected and evaluated. In all patients a histological analysis of the tissue was performed to exclude a contamination of the ovaries with malign cells.

Results: The removal and cryopreservation of ovarian tissue has been carried out in 37 women without any complications. The average of the age in these women was 26 years old (Range: 16-42 years). The average of the Anti-Mullerian Hormon (AMH) was 4,99 ng/ml (SD 3,84; Range 0,36-18,3 ng/ml). In 31 women (83,8%) an oncological disease was the indication for carrying out a cryopreservation of ovarian tissue: Hodgkin Lymphoma (14; 37,8%), Mammacarcinoma (11; 29,7%), Osteosarcoma (2; 5,4%), Colonicarcinoma (1; 2,7%), Rectumcarcinoma (1; 2,7%), Cervixcarcinoma (1; 2,7%) and squamous cell carcinoma of the lingua (1; 2,7%). In 6 other women (16,2%) the cryopreservation of ovarian tissue was carried out due to non-oncological diseases like Lupus-Nephritis (2), IgA Nephropathy (1), Insufficiency of the kidneys (Good Pasture Syndrome) (1), Susac Sndrome (1) and Leucodystrophy (1). At the end of 2015 the first autological re-transplantation of cryoperserved ovarian tissue into the right fossa ovarica has been carried out.

Conclusion: First results have showed that cryopreservation of ovarian tissue is a valid and safe method for fertility protection in women. In fact the indication for carrying out a cryopreservation of ovarian tissue has been a non-oncological disease in 16% of all cases. There are no long-term results of the first Re-

transplantation at the moment, but a lot of other centers of the FertiPROTECT network have already shown encouraging results.

Inhaltsverzeichnis

ZUSAMMENFASSUNG	III
ABSTRACT	V
INHALTSVERZEICHNIS	VII
GLOSSAR UND ABKÜRZUNGEN	IX
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	X
TABELLENVERZEICHNIS	XI
1 EINLEITUNG.....	12
1.1 ENDOKRINE FUNKTIONEN DES OVARS	12
1.1.1 Regelkreis Hypothalamus-Hypophyse-Ovar	12
1.1.2 Die Rolle der Östrogene – Postmenopause	13
1.2 HÄUFIGE DIAGNOSEN UND GONADOTOXISCHE THERAPEUTIKA	14
1.2.1 Morbus Hodgkin	14
1.2.2 Mammakarzinom	19
1.3 AMH ALS MESSWERT FÜR DIE OVARIELLE RESERVE	23
1.3.1 Die Herkunft und Aufgaben von AMH	24
1.3.2 Messung des AMH-Wertes	25
1.4 VERFAHREN ZUR FERTILITÄTSPROTEKTION	26
1.4.1 Kryokonservierung von unfertilisierten und fertilisierten Oozyten	27
1.4.2 GnRH-Analoga	28
1.4.3 Kryokonservierung von Ovarialgewebe	29
1.4.4 Transposition der Ovarien	34
1.4.5 Experimentelle Therapieansätze	34
2 MATERIAL UND METHODEN	37
2.1 ETHIKKOMMISSION UND DATENSCHUTZ	37
2.2 STUDIENDESIGN	37
2.3 STUDIENPOPULATION.....	37
2.4 DATENERHEBUNG.....	38
2.5 METHODIK.....	39
3 ERGEBNISSE	40
3.1 ERKRANKUNGEN	40
3.2 ALTER.....	42
3.3 ANTI-MÜLLER-HORMON (AMH-) WERTE.....	44
3.4 CHEMOTHERAPIE-ZEITINTERVALL	45
3.5 CHEMOTHERAPIE SCHEMA BEI MORBUS HODGKIN UND MAMMAKARZINOM	46
3.6 ENTNAHMESEITE UND HISTOPATHOLOGISCHER BEFUND	48
3.7 GRAVIDITÄT UND PARITÄT	49

4	DISKUSSION	50
5	LITERATURVERZEICHNIS.....	53

Glossar und Abkürzungen

ABVD	Adriamycin, Bleomycin, Vinblastin, Dacarbazin
AC	Adriamycin, Cyclophosphamid
ACT	Doxorubicin, Cyclophosphamid, Paclitaxel
AMH	Anti-Müller-Hormon
BEACOPP	Cyclophosphamid, Etoposid, Doxorubicin, Procarbazin, Vincristin, Bleomycin, Prednisolon
BRCA	Breast Cancer Gen
CMF	Cyclophosphamid, Methotrexat, 5-Fluorouracil
DMSO	Dimethylsulfoxide
FAC	5-Fluorouracil, Adriamycin, Cyclophosphamid
FEC	5-Fluorouracil, Epirubicin, Cyclophosphamid
FSH	Follikelstimulierendes Hormon
GnRH	Gonadotropin-releasing-Hormon
GnRHa	Gonadotropin-releasing-Hormon-Agonist
GnRHant	Gonadotropin-releasing-Hormon-Antagonist
HCG	Humanes Choriongonadotropin
HDL	High density Lipoprotein
HL	Hodgkin Lymphom
IF	Involved Field
IVF	In-vitro-Fertilisation
LDL	Low density Lipoprotein
LH	Luteinisierendes Hormon
OR	Ovarielle Reserve
PET	Positronen –Emissions-Tomographie
POF	Premature ovarian failure
POI	Persistierende ovarielle Insuffizienz
TAC	Docetaxel, Adriamycin, Cyclophosphamid
VLDL	Very low density Lipoprotein
WHO	World Health Organization

Abbildungsverzeichnis

ABBILDUNG 1: HYPOTHALAMUS-HYPOPHYSEN-GONADEN ACHSE (43)	13
ABBILDUNG 2: STADIENEINTEILUNG DES HODGKIN LYMPHOMS NACH ANN-ARBOR (44). 15	
ABBILDUNG 3: ÜBERLEBENS RATEN BEIM HODGKIN LYMPHOM (6).....	16
ABBILDUNG 4: CHEMOTHERAPIE SCHEMATA NACH STADIENEINTEILUNG BEIM HODGKIN LYMPHOM (45)	17
ABBILDUNG 5: VORGEHENSWEISE ZUR FERTILITÄTSPROTEKTION BEIM HODGKIN LYMPHOM (6).....	19
ABBILDUNG 6: KLASSIFIKATION DES MAMMACARCINOMS LAUT WHO (12).....	20
ABBILDUNG 7: VORGEHENSWEISE ZUR FERTILITÄTSPROTEKTION BEIM MAMMACARCINOM (6).....	23
ABBILDUNG 8: EINFLUSS VON AMH AUF DIE FOLLIKEL (21)	25
ABBILDUNG 9: EINSATZ VON GNRHA- UND GNRHANT PRÄPARATEN IN ABHÄNGIGKEIT ZUM START DER CHEMOTHERAPIE (6)	29
ABBILDUNG 10: KÜHLBEHÄLTER FÜR DEN TRANSPORT VON OVARIALGEWEBE VOR KRYOKONSERVIERUNG (6).....	30
ABBILDUNG 11: PROZENTUELLE EINTEILUNG DER AUFGEZEICHNETEN ONKOLOGISCHEN ERKRANKUNGEN.....	41
ABBILDUNG 12: PROZENTUELLE EINTEILUNG DER AUFGEZEICHNETEN NICHT ONKOLOGISCHEN ERKRANKUNGEN	42
ABBILDUNG 13: DARSTELLUNG DES MITTLEREN ALTERS BEI DEN AUFGETRETENEN ONKOLOGISCHEN ERKRANKUNGEN	43
ABBILDUNG 14: DARSTELLUNG DES MITTLEREN ALTERS BEI DEN AUFGETRETENEN NICHT ONKOLOGISCHEN ERKRANKUNG	44
ABBILDUNG 15: DARSTELLUNG DER AMH-MITTELWERTE.....	45
ABBILDUNG 16: DARSTELLUNG DER MITTLEREN DAUER DER CHEMOTHERAPIE	46
ABBILDUNG 17: DARSTELLUNG DER CHEMOTHERAPIE SCHEMATA BEI DEN HODGKIN LYMPHOM PATIENTINNEN	47
ABBILDUNG 18: DARSTELLUNG DER CHEMOTHERAPIE SCHEMATA BEI DEN MAMMACARCINOM PATIENTINNEN	48
ABBILDUNG 19: DARSTELLUNG DER ENTNAHMESEITE DES OVARIALGEWEBES.....	49

Tabellenverzeichnis

TABELLE 1: RISIKO FÜR GONADOTOXIZITÄT BEI VERSCHIEDENEN CHEMOTHERAPEUTIKERN (7).....	16
TABELLE 2: EINFLUSS DES ALTERS AUF DIE ÜBERLEBENSRATE BEIM MAMMACARCINOM (6).....	21
TABELLE 3: RISIKO FÜR DAS VORHANDENSEIN VON MALIGNEN ZELLEN IM TRANSPLANTAT (6).....	33

1 Einleitung

1.1 Endokrine Funktionen des Ovars

1.1.1 Regelkreis Hypothalamus-Hypophyse-Ovar

In verschiedenen Kerngebieten des Hypothalamus, die als übergeordnete Steuerungszentren für die Ovarialfunktion zuständig sind, werden Impulse ausgesendet, welche über die Adenohypophyse auf das Ovar wirken. Das Gonadotropin-releasing-Hormon (GnRH) wird in diesen Arealen pulsatil ausgeschüttet und gelangt über das portale Gefäßsystem zur Hypophyse. Der Hypothalamus kontrolliert den gesamten Regelkreis, kann aber selbst beeinflusst werden durch höher geschaltete Hirnzentren. Dadurch können auch Faktoren wie Angst oder Stress einen Einfluss auf diesen Kreislauf nehmen. Über retrograden Blutfluss des Portalsystems kann die Hypophyse einen Feedbackmechanismus auf den Hypothalamus ausüben. (1) (2) (3)

Die Adenohypophyse besitzt GnRH-Rezeptoren, an welche die GnRH Hormone mit einer hohen Affinität binden und es dadurch in weiterer Folge zur Synthese und Freisetzung der beiden Gonadotropine, Follikel-stimulierendes Hormon (FSH) und Luteinisierungshormon (LH), kommt. (3)

Während der „Follikelphase“ stimuliert FSH, durch die Bindung an FSH-Rezeptoren der ovariellen Granulosazellen das Heranreifen der Follikel und die Sekretion von Sexualhormonen - vorwiegend Östradiol - aus den Granulosazellen der reifen ovariellen Follikel. (2)

Das Gonadotropin LH bewirkt in den Zellen der Theka interna die Testosteronsynthese. Unter FSH-Einfluss wird das hier gebildete Testosteron in den Granulosazellen zu Östradiol aromatisiert. Durch den präovulatorischen LH-Peak kommt es schließlich zur Ovulation und in weiterer Folge wird unter LH-Einfluss das Corpus luteum gebildet und zur Progesteronsynthese stimuliert. (1) (3)

Östrogene, Progesterone und ovariell sezernierte Substanzen, wie Aktivin und Inhibin beeinflussen über Feedbackmechanismus Hypophyse und Hypothalamus.

(3)

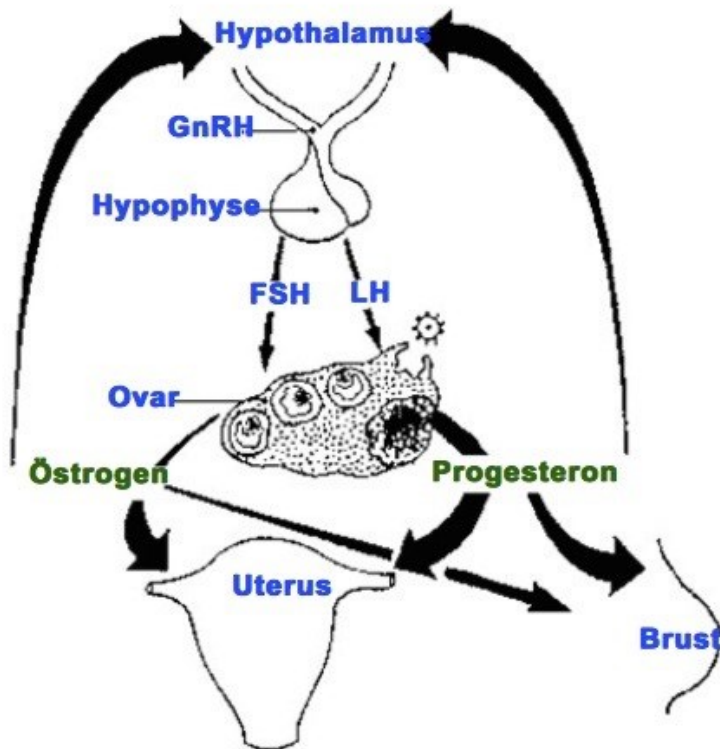


Abbildung 1: Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden Achse (43)

1.1.2 Die Rolle der Östrogene – Postmenopause

Die Östrogene bewirken, dass sich Gebärmutter, Eileiter und Vagina aus den Müller-Gängen entwickeln und es zur Ausbildung der sekundären Geschlechtsmerkmale kommt. Auch die psychische Entwicklung zur Frau wird von ihnen gesteuert. (4)

Die Aufgaben der Östrogene bei der geschlechtsreifen Frau umfassen: Proliferation der Uterusschleimhaut, Verringerung der Viskosität des Zervixschleims, Steigerung der Proliferation und Abschilferung von Vaginalepithel, Förderung der Ausbildung von Drüsenschläuchen in den Milchdrüsen, Förderung des Proteinaufbaus, Steigerung der Bildung von HDL (high density lipoprotein) und VLDL (very low density lipoprotein), Senkung der Konzentration von LDL (low

density lipoprotein), Steigerung der Blutgerinnung, Hemmung von Osteoklasten und Bildung von Osteoblasten. Damit setzen sie sowohl das Arterioskleroserisiko als auch das Osteoporoserisiko herab, da sie den Aufbau und die Mineralisation des Knochens fördern. Im kindlichen Organismus fördern sie folglich die Knochenreifung und beschleunigen den Epiphysenschluss. (4)

Ein Mangel an Östrogenen, wie er sich beispielsweise in der Postmenopause oder beim vorzeitigen Versagen der Ovarialfunktion (premature ovarian failure, POF) findet, lässt einen normalen Zyklus nicht zu. Im Weiteren kommt es zu allen Symptomen des Östrogenmangels mit u.a. einer Anfälligkeit für Vaginalinfektionen, einer Steigerung des Osteoporose- und Arterioskleroserisikos und einer verminderten Ausprägung der äußeren Geschlechtsmerkmale bei Mädchen, sowie Schlafstörungen, Depressionen und Hitzewallungen. (4)

1.2 Häufige Diagnosen und gonadotoxische Therapeutika

1.2.1 Morbus Hodgkin

Weltweit findet sich ein deutlich geografischer Unterschied in der Verteilung des Hodgkin-Lymphoms, was als Hinweis auf Umgebungseinflüsse angesehen werden kann. Die jährliche Inzidenz weltweit liegt bei 2-4/100 000. Das Hodgkin Lymphom stellt in Europa die häufigste maligne Neoplasie im Kindes- und Jugendalter dar. In dieser Alterskategorie finden sich vor allem die nodulär sklerosierende- und lymphozytenprädominante Form. Die Gesamtverteilung zeigt sich zweigipfelig mit einem ersten Altersgipfel zwischen 15 und 35 Jahren und einem zweiten Altersgipfel zwischen 55 und 65 Jahren. (5)

Die Pathogenese des Morbus Hodgkin ist bisher ungeklärt, dennoch ist eine Assoziation mit dem Epstein Barr Virus deutlich erkennbar, da sich der Virus bei der Hälfte der Tumoren klonal in den Tumorzellen nachweisen lässt. Man unterscheidet 5 Subtypen: Klassisches HL lymphozytenarm, klassisches HL lymphozytenreich, klassisches HL gemischtzellig, klassisches HL nodulär-sklerosierend und nodulär-lymphozyten-prädominantes HL. (5)

Für die Prognose und Therapie des Morbus Hodgkin ist sowohl die Stadieneinteilung nach Ann Arbor als auch die Einteilung in Kategorie A (ohne Symptome) und Kategorie B (unerklärlicher Gewichtsverlust von mehr als 10% innerhalb des letzten halben Jahres, Fieber von mehr als 38°C unklarer Ursache und Nachtschweiß) von großer Bedeutung.

		Ann-Arbor-Stadium			
		IA, IB, IIA	IIB	IIIA	IIIB, IVA, IVB
Risikofaktoren	Ohne RF	Frühe (limitierte) Stadien		Fortgeschrittene Stadien	
	≥ 3 befallene LK-Areale	Intermediäre Stadien			
	Hohe BSG				
	Großer Mediastinaltumor				
	E-Befall				

Abbildung 2: Stadieneinteilung des Hodgkin Lymphoms nach Ann-Arbor (44)

Das Hodgkin Lymphom hat sich allerdings in den letzten Jahrzehnten von einer unheilbaren Erkrankung zu einer sehr gut behandelbaren onkologischen Erkrankung im Erwachsenenalter mit herausragenden 5-Jahres-Überlebensraten gewandelt. (6)

	Alter bei der Erstdiagnose (Jahre)	5-Jahres-(Relative) Überlebensrate (95%-Konfidenzintervall)	15-Jahres-(Relative) Überlebensrate (95%-Konfidenzintervall)
Glimelius et al., 2015 (4)	18-29	96% (95%–98%)	94% (91%–95%)
	30-39	95% (93%–97%)	91% (87%–94%)
	40-49	93% (90%–96%)	87% (81%–91%)
Pulte et al., 2014 (5)	15-29	97,9%	
	30-39	95,8%	
	40-59	88,3%	

Abbildung 3: Überlebensraten beim Hodgkin Lymphom (6)

1.2.1.1 Gonadotoxische Therapieschemata

Für gonadotoxische Therapeutika gilt im Allgemeinen, dass alkylierende Substanzen wie etwa Cylophosphamide oder Platinum Derivate die höchste Gonadotoxizität aufweisen. Ihnen folgen die Anthracycline, deren Gonadotoxizität im mittleren Drittel liegt. Taxane, Metaboliten von Taxan und Vinca Alkaloide sind mit dem geringsten Risiko für Gonadotoxizität assoziiert. (7)

Tabelle 1: Risiko für Gonadotoxizität bei verschiedenen Chemotherapeutika (7)

High risk	cyclophosphamide, mitomycin C
Intermediate risk	anthracyclines, cisplatin, vinca alkaloids
Low risk	methotrexate, 5-fluorouracil
Unclear risk	taxanes, gemcitabine

Seit Februar 2013 gibt es eine stadienadaptierte Therapieempfehlung entsprechend der S3-Leitlinie „Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Hodgkin-

Lymphoms bei erwachsenen Patienten“. Zwei Zyklen ABVD mit anschließender IF-Radiatio mit 20 Gray wird zur Behandlung der frühen Stadien eingesetzt. In den intermediären Stadien setzt sich die Therapie aus zwei Zyklen eskalierten BEACOPP, gefolgt von zwei Zyklen ABVD und einer IF-Radiation mit 30 Gray zusammen. Sechs Zyklen eskaliertes BEACOPP werden zur Behandlung der fortgeschrittenen Stadien eingesetzt und können bei PET-positiven Lymphomrestgewebe von > 2,5cm noch durch eine lokalisierte Radiotherapie mit 30 Gray ergänzt werden. (6) (8)

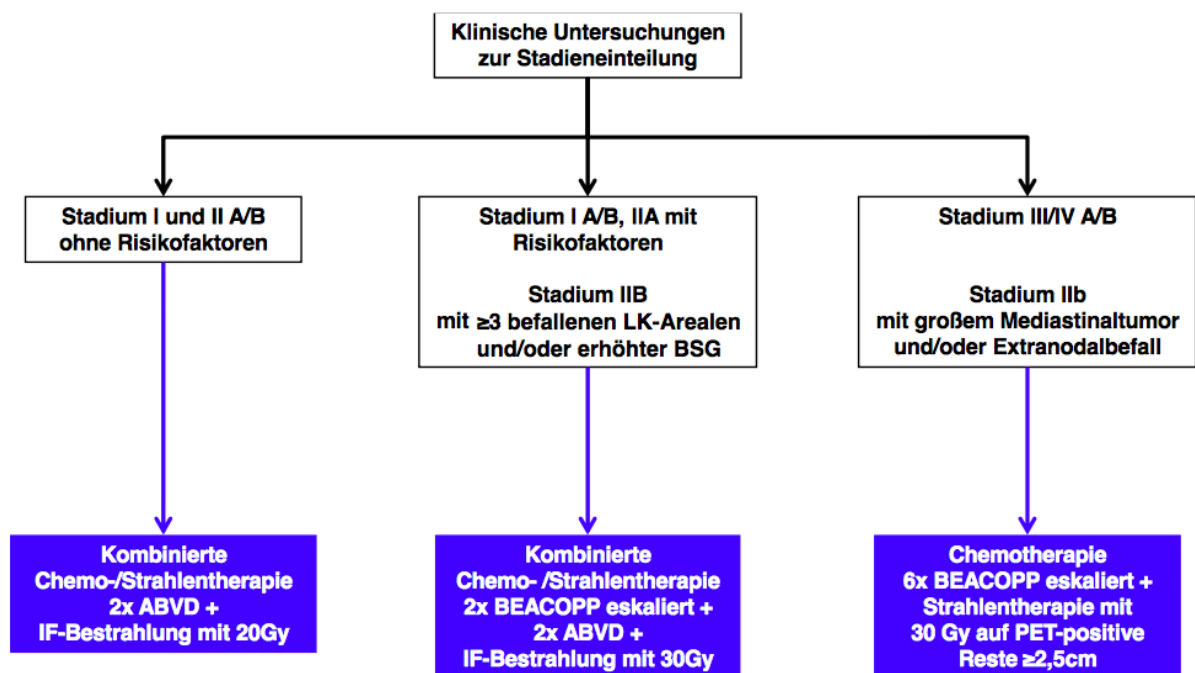


Abbildung 4: Chemotherapie Schemata nach Stadieneinteilung beim Hodgkin Lymphom (45)

Im Allgemeinen hat die Chemotherapie einen zweifachen Effekt auf die ovarielle Reserve: Zum einen kommt es zu einer starken Abnahme der wachsenden Follikel und zur Amenorrhoe während der Behandlung. Zum anderen kann ein Verlust an Primordialfollikeln später zum Versagen der Ovarialfunktion (POF-Syndrom) und zum Klimakterium praecox führen. (9)

Die Chemotherapie-Schemata beim Hodgkin-Lymphom zeigen eine dosis- und substanzabhängige Gonadotoxizität. Im Vergleich zum ABVD-Schema (Adriamycin, Bleomycin, Vinblastin, Dacarbazin) weist das intensivere BEACOPP-eskalierte Regime (Cyclophosphamid, Etoposid, Doxorubicin,

Procarbazin, Vincristin, Bleomycin, Prednisolon) eine höhere Gonadotoxizität auf. Die Anzahl der Fälle von ovarieller Insuffizienz, Infertilität und verfrühte Menopause bei Patienten, die mit Chemotherapie behandelt wurden, korreliert aber auch mit dem Alter. (6) (10)

Auch bei der Veröffentlichung von Behringer et al. zeigen sich deutliche Unterschiede in der Auswertung abhängig vom Alter bei Erstdiagnose (</> 30 Jahren) und vom verabreichten Therapieregime (ABVD oder BEACOPP eskaliert). Die gemessenen FSH und AMH Werte waren sowohl bei Frauen >30 Jahren als auch bei Frauen, die mit BEACOPP eskaliertem Schema behandelt wurden, signifikant schlechter. Zu einer regulären Menstruation kam es bei den meisten Patienten, die in den frühen Stadien behandelt wurden, innerhalb des ersten Jahres nach der Therapie. Während dies bei Patienten mit 6-8 Zyklen BEACOPP eskaliert deutlich länger dauerte und stark mit dem Alter bei Erstdiagnose zusammenhing. (11)

1.2.1.2 Fertilitätsprotektion

Beim Hodgkin Lymphom ist das Zeitfenster für alle fertilitätsprotektiven Maßnahmen meist lang genug. Die Tumorzellen sind nicht hormon-abhängig und im Gonadengewebe werden meist keine Lymphomzellen nachgewiesen. Lediglich die Laparaskopie kann sich als risikoreich darstellen, da sich bei einem Befall des Mediastinums die Intubation und Extubation als äußerst schwierig herausstellen kann. In einem solchen Fall kann eine Kryokonservierung von fertilisierten oder unfertilisierten Oozyten als alleinige Maßnahme in Betracht gezogen werden. (6)

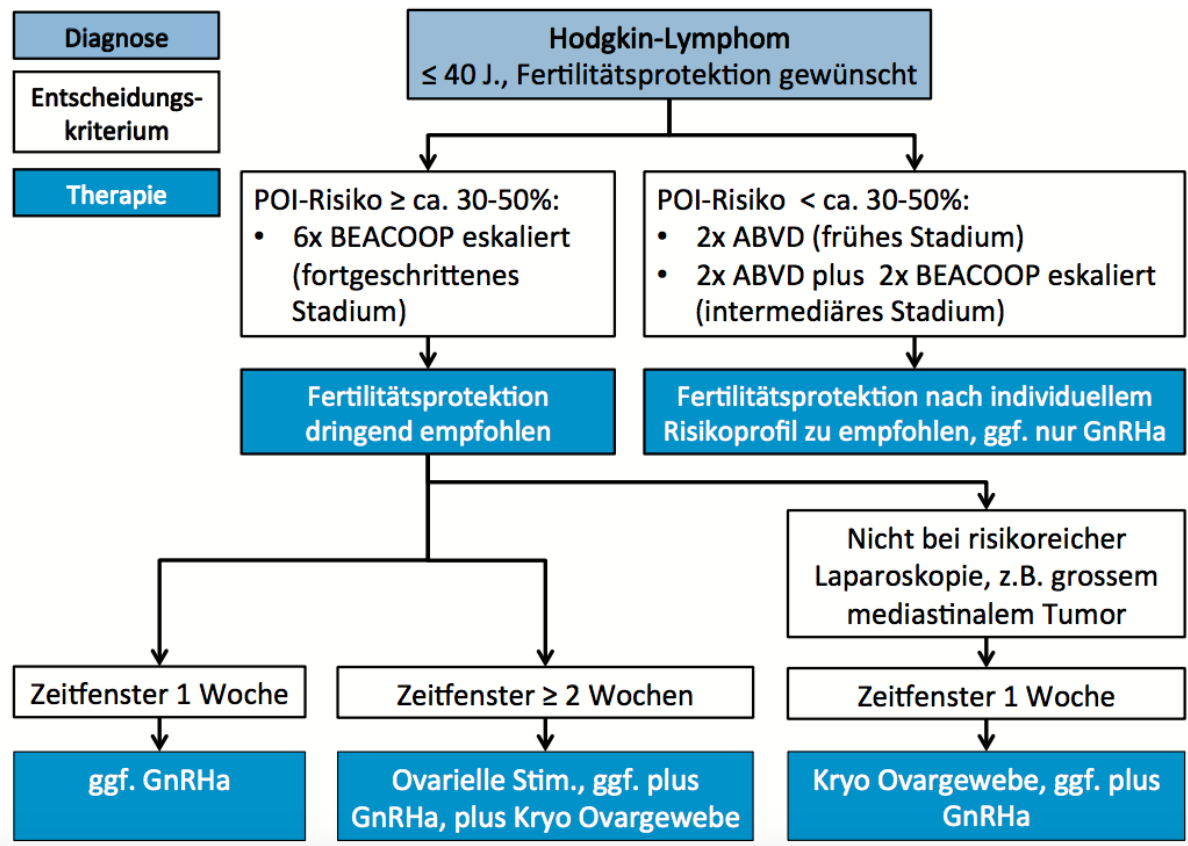


Abbildung 5: Vorgehensweise zur Fertilitätsprotektion beim Hodgkin Lymphom (6)

1.2.2 Mammakarzinom

Weltweit ist das Mammakarzinom der häufigste bösartige Tumor der Frau mit über 1 Million Neuerkrankungen pro Jahr. Trotz steigender Inzidenz konnte in den letzten 30 Jahren die Letalität der Erkrankung deutlich gesenkt werden, sodass sie zurzeit bei etwa 30 pro 100 000 Frauen/Jahr liegt. Das Mammakarzinom zeigt sich als heterogene Tumorerkrankung, wobei die Tumore Unterschiede hinsichtlich Verlauf, Prognose und Ansprechen auf eine Therapie zeigen. (5) (12)

Die Ätiologie der Erkrankung ist noch unbekannt. Allerdings haben zahlreiche Untersuchungen gezeigt, dass sich die invasiven Mammakarzinome immer über ein Carcinoma in situ entwickeln. Mit einem erhöhten Krebsrisiko verbundene Faktoren sind beim Mammakarzinom von besonderer Bedeutung, dazu zählen: Positive Familienanamnese, frühe Menarche/späte Menopause, Nulliparität oder

späte Erstgebärende, hormonelle Imbalancen, Adipositas, Alter und Karzinome der kontralateralen Mamma. (5) (12)

Die Pathogenese des Mammakarzinoms besagt, dass es sich biphasisch über intraepitheliale (In-situ)-Stadien entwickelt, die nach mehrjähriger Latenz in ein infiltrierendes Karzinom übergehen. Ob sich das Karzinom de novo aus normalen Epithel entsteht oder sich aus primär atypischen Hyperplasien entwickelt, ist bis jetzt noch ungeklärt. Laut WHO kann das Mammakarzinom entsprechend folgender Abbildung klassifiziert werden. (12)

≡ C-1.18 WHO-Klassifikation der Mammakarzinome

1. **nicht invasiv**
 - a) duktales Carcinoma in situ (DCIS)
 - b) lobuläres Carcinoma in situ (LCIS)
2. **invasiv**
 - a) invasives duktales Karzinom
 - b) invasives duktales Karzinom mit dominierender intraduktaler Komponente
 - c) invasives lobuläres Karzinom
 - d) muzinöses Karzinom
 - e) medulläres Karzinom
 - f) papilläres Karzinom
 - g) tubuläres Karzinom
 - h) adenoid-zystisches Karzinom
 - i) sekretorisches (juveniles) Karzinom
 - j) apokrines Karzinom
 - k) Karzinom mit Metaplasie
 - squamöser Typ
 - Spindelzelltyp
 - kartilaginärer und össärer Typ
 - gemischter Typ
 - l) andere
3. **Morbus Paget der Mamille** (nicht invasive und invasive Formen)

Abbildung 6: Klassifikation des Mammakarzinoms laut WHO (12)

Im Allgemeinen liegt die 10 Jahres-Überlebensrate aller Frauen und Stadien bei 89%. Sowohl bezüglich des Gesamtüberlebens als auch der Entwicklung eines Rezidivs haben Frauen unter 35 Jahren eine deutlich schlechtere Prognose.

Tabelle 2: Einfluss des Alters auf die Überlebensrate beim Mammakarzinom (6)

	Niedrigeres Alter in Jahren (n)	Höheres Alter in Jahren (n)	Outcome-Kriterium	Einfluss des niedrigeren Alters auf das Outcome (Multivariate Analyse); Hazard Ratio (li.) und 95% Konfidenzintervall (re.)	
Gnerlich et al. 2009(3)	< 40 (15,548)	≥ 40 (227,464)	Überleben, Mammakarzinom-spezifisch	1,39	1,34-1,45
Fredholm et al. 2009(4)	< 35 (378)	50-69 (13,486)	Überleben, Mammakarzinom-spezifisch	1,76	1,36-2,28
Han et al. 2010(5)	< 35 (1,443)	40-50 (6,335)	Überleben, Overall	30-34 J.: 1,43 26-29 J.: 1,97	1,18-1,74 1,48-2,62
Azim et al. 2012(6)	≤ 40 (339)	> 40 (2,562)	Überleben, Rezidiv-frei	1,34	1,10-1,63

1.2.2.1 Gonadotoxische Therapieschemata

Beim Mammakarzinom werden bei den Empfehlungen zur systemischen Therapie Tumorgröße, Nodalstatus, Grading, Hormonrezeptorstatus, Menopausenstatus und Alter der Patientin berücksichtigt. Die aktuelle Empfehlung nach St. Gallen 2015 zur adjuvanten Chemotherapie sieht eine Kombination eines Anthrazyklins mit Taxanen vor. Eine Überlegenheit anthrazyklinhaltiger Schemata gegenüber dem CMF (Cyclophosphamid/Methotrexat/5-Fluorouracil) Regime konnte in einzelnen Studien allerdings nur in der Dreierkombination FEC/FAC nachgewiesen werden. Folgende systemische Therapie-Regime werden für prä- und postmenopausale Patientinnen eingesetzt: (13) (6)

- CMF (Cyclophosphamid/Methotrexat/ 5-Fluorouracil)

- FEC (5-Fluorouracil/Epirubicin/Cyclophosphamid)
- FAC (5-Fluorouracil/Adriamycin/Cyclophosphamid)
- TAC (Docetaxel/Adriamycin/Cyclophosphamid)
- AC (Adriamycin/Cyclophosphamid)
- ACT (Doxorubicin/Cyclophosphamid/Paclitaxel)

Nach adjuvanter systemischer Therapie ist die zytotoxisch induzierte Amenorrhoe wesentlich vom Alter der Patientin und dem Chemotherapie-Regime abhängig. Bis 2010 wurden fast keine prospektiven Studien, die den Effekt der aktuell verwendeten Chemotherapie-Regime auf die Amenorrhoe in Abhängigkeit vom Alter der Patientin begutachten, publiziert. Die erste große prospektive Studie veröffentlichte Sukumvanich et al., bei der im Zeitraum zwischen 1998-2002 446 Frauen im Alter von 20-45 Jahren untersucht wurden. Dabei erhielten 76 Frauen das Regime CMF, 111 Frauen das AC und 143 Frauen das ACT. Zu den anderen Chemotherapien wurden das FAC-, FACT-Regime und andere nicht näher definierte Regime gezählt. Eine längere Chemotherapiedauer, ein erhöhter BMI und zunehmendes Alter zählten zu den negativen Prädiktoren für die Entwicklung einer Amenorrhoe. Das Outcome bezüglich dem Wiedereintritt der Menstruation nach Amenorrhoe zeigte sich beim CMF-Regime deutlich schlechter als bei den AC-, ACT- und den anderen, nicht näher definierten Regimen. (14)

1.2.2.2 Fertilitätsprotektion

Das Risiko für ein POI beim Mammakarzinom ist mitunter nicht sehr hoch, dies ist bei der Entscheidung zur Durchführung einer fertilitätsprotektiven Maßnahme zu beachten. Allerdings muss beim östrogensensitiven Mammakarzinom oft eine länger dauernde endokrine Therapie angeschlossen werden. In diesem Zeitraum wird sich die Ovarialreserve der Patientin weiter reduzieren und das Alter möglicherweise so weit ansteigen, dass in der Folge eine Spontanschwangerschaft nicht mehr möglich ist. Aus dieser Überlegung heraus sollte eine fertilitätsprotektive Maßnahme auch bei einem geringen POI-Risiko in Betracht gezogen werden. Um ein möglichst großes Zeitfenster für die Durchführung einer fertilitätsprotektiven Maßnahme zu haben, sollten die Patientinnen bereits früh in einem Zentrum für Reproduktionsmedizin vorstellig

und über alle verschiedenen Maßnahmen zur Fertilitätsprotektion aufgeklärt werden. (6)

Das Risiko für eine ovarielle Metastasierung ist in einem N0-Stadium sehr gering. Auch im Stadium II und III des Mammakarzinoms ist eine ovarielle Metastasierung sehr unwahrscheinlich. Trotzdem sollte grundsätzlich in jedem Falle eine histologische Begutachtung einer Gewebeprobe vor Replantation durchgeführt werden. Im Stadium IV sollte eine Kryokonservierung von Ovarialgewebe nicht mehr erfolgen, da die mit einer Laparoskopie verbundenen Risiken in diesem Fall zu hoch sind. (6)

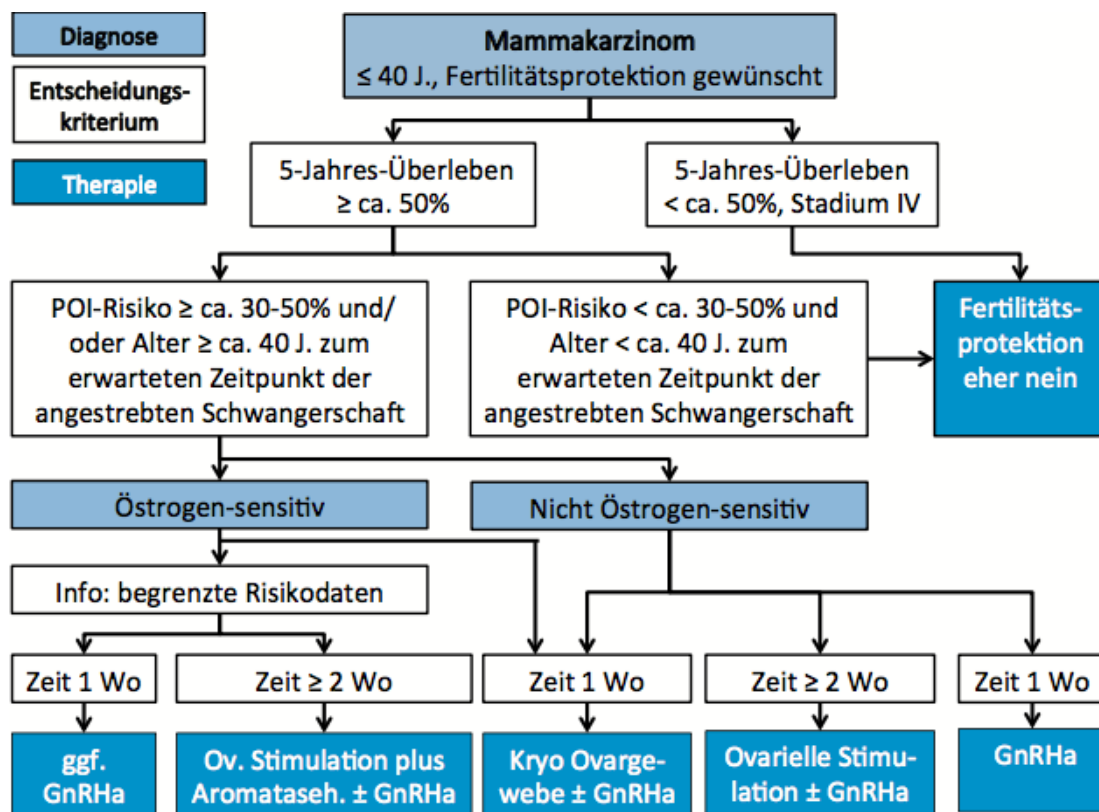


Abbildung 7: Vorgehensweise zur Fertilitätsprotektion beim Mammakarzinom (6)

1.3 AMH als Messwert für die ovarielle Reserve

Die reproduktive Zeitspanne der Frau - und damit die weibliche Fertilität - ist mit dem Begriff der ovariellen Reserve (OR) assoziiert, einem Pool nicht wachsender

Follikel, die zu einem entsprechenden Zeitpunkt im ovariellen Cortex vorhanden sind. Diese Follikel werden aus Primordialfollikel allmählich zu wachsenden Follikel während der weiblichen reproduktiven Phase, bis schließlich eine Erschöpfung in der Menopause eintritt, was im Falle einer gonadotoxischen Therapie früher als erwartet passieren kann. Diese Primordialfollikel können in vivo nicht gezählt werden, daher haben sich verschiedene indirekt klinische und biologische Marker für die OR entwickelt. Die Amenorrhoe wurde lange Zeit als klinischer Indikator für eine herabgesetzte ovarielle Funktion nach einer Chemotherapie verwendet. Dieser klinische Parameter hat sich allerdings als sehr später und schlechter Marker für die residuale OR bei Krebspatientinnen im reproduktiven Alter gezeigt. (15) (16) (17)

1.3.1 Die Herkunft und Aufgaben von AMH

Das Anti-Müller-Hormon spielt beim Embryo eine wichtige Rolle in der Geschlechtsdetermination. Beim männlichen Embryo induziert es die Rückbildung der Müllerschen Gänge, sodass diese nur noch als sogenannte Hodenanhängsel (Appendix testis) zwischen Nebenhodenanlage und Hoden erhalten bleiben. Da es bei weiblichen Feten fehlt, entwickeln sich hier aus den Müllerschen Gängen die Gebärmutter, der Eileiter und die proximalen 2/3 der Vagina. (18)

Im Erwachsenenalter spielt AMH vor allem bei der geschlechtsreifen Frau eine wichtige Rolle. Es wird von den Granulosazellen der Primär- und Sekundärfollikel produziert und gehört zur Familie der Wachstumshormone. Während der Follikulogenese kann AMH in Primär-, Sekundär- und frühen Antralfollikel nachgewiesen werden, wobei die Konzentration im Antralfollikel um ein vielfaches höher ist als in den direkt präovulatorischen Follikeln. Eine Expression des Hormons findet vorwiegend aus kleinen antralen (< 4mm Durchmesser) und präantralen Follikeln statt. Auch die immer größer werdenden Follikel der Ovarien können AMH exprimieren, bis sie schließlich eine bestimmte Größe und ein gewisses Differenzierungsstadium erreichen, um sich weiter zu entwickeln. (3) (19) (20)

Durch den Einfluss von AMH wird die Selektion des dominanten Follikels aus dem Pool aller sprungreifen Follikel unterstützt. Denn einerseits hemmt es die Rekrutierung von Follikeln aus dem Primordialfollikelpool und andererseits hemmt es das FSH abhängige Wachstum und die Selektion von präantralen und kleinen antralen Follikeln. (21)

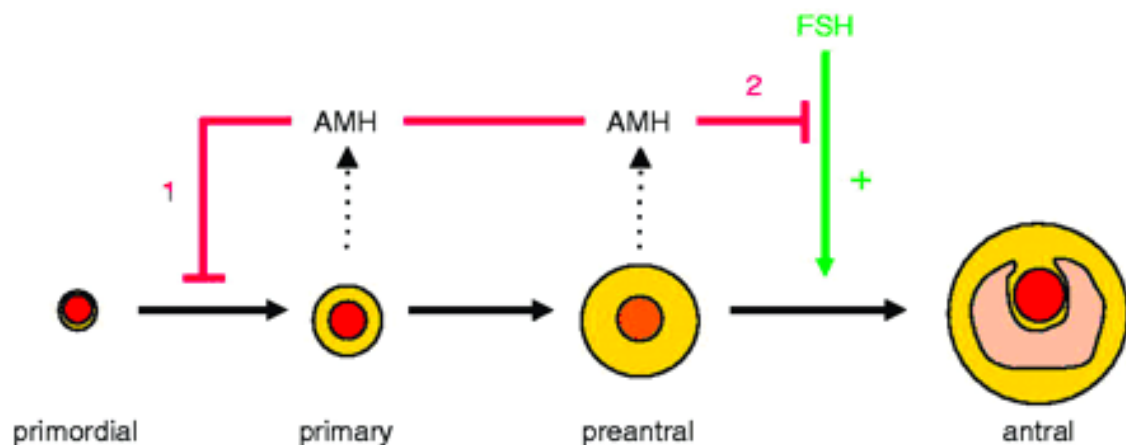


Abbildung 8: Einfluss von AMH auf die Follikel (21)

1.3.2 Messung des AMH-Wertes

AMH kann in allen Altersklassen nachgewiesen werden und ist, anders als FSH, kaum zyklusabhängigen Schwankungen unterlegen. Die AMH-Serumkonzentrationen sinken mit zunehmenden Alter und sind in der Postmenopause Ausdruck einer erschöpften ovariellen Reserve. Das Anti-Müller-Hormon ist, wie FSH, ein guter Prädiktor für die Oozyten-Anzahl und die ovarielle Antwort auf die Gonadotropin-Stimulation im Rahmen einer Fertilitätsbehandlung. (22) (23) (24)

Bei gesunden Frauen liegt der Median des AMH Werts bei 2,1 ng/ml. (25)

Für die Normbereiche werden folgende Werte angeführt:

- Frauen in der fertilen Lebensphase 1-10 ng/ml (26)
- Frauen in der Menopause <0,4 ng/ml (26)
- Frauen mit ausreichend ovarielle Restfunktion >1 ng/ml (26)
- Frauen mit eingeschränkte ovarieller Restfunktion 0,4-1,0 ng/ml (26)

Verglichen mit FSH und Inhibin-B ist AMH der sensitivste Parameter um Veränderungen in der ovariellen Reserve darzustellen. Um den gonadotoxischen Effekt der Chemotherapie zu evaluieren, sollten AMH und FSH-Werte vor und nach der Chemotherapie gemessen werden. (9) (27)

Laut Dezellus et al. vermindern sich die AMH Serum Werte signifikant nach jedem Chemotherapie Zyklus. Die Werte liegen dann meist so niedrig, dass sie nicht mehr in den detektierbaren Bereich fallen. Die Abnahme der Serumkonzentration wird wesentlich vom Alter und dem basalen AMH Level aber nur wenig von der Cyclophosphamid-Dosis und dem Einsatz von Tamoxifen bestimmt. (28)

1.4 Verfahren zur Fertilitätsprotektion

Die Anzahl der Primordialfollikel zum Zeitpunkt der Geburt liegt bei etwa 1 Million, während der Pubertät beträgt sie ca. 400 000 und um das 40. Lebensjahr reduziert sie sich weiter auf durchschnittlich 70 000. Dieser physiologische Prozess der Reduktion der Primordialfollikel wird durch den Einsatz einer systemischen gonadotoxischen Therapie beschleunigt. Sowohl Dosis als auch Dauer der Therapie beeinflussen den Grad des Beschleunigungsschemas. Dabei zählen alkylierende Substanzen, wie zum Beispiel etwa Cyclophosphamid, zu dem am stärksten gonadotoxisch wirkenden Chemotherapeutika. Während die Aromatasehemmer und auch Tamoxifene nur einen marginalen Effekt auf die OR haben, schädigen die GnRH-Analoga die Keimzellen nicht. Auch wenn nach einer Chemo- und/oder antihormonellen Therapie ein normaler Menstruationszyklus eintritt schließt diese Tatsache eine vorzeitige Ovarialinsuffizienz nicht aus. Daher wird empfohlen, mindestens 2 Monate nach antineoplastischer Therapie die Ovarialfunktion zu bestimmen. Sowohl der AMH-Wert als auch der Östradiolwert in den ersten Tagen des Menstruationszyklus sollen bestimmt werden. Des Weiteren können sonographische Untersuchungen der Ovarien zur Bestimmung der Anzahl der Antralfollikel, die gut mit dem AMH-Wert korreliert, und eine sonographische Bestimmung der Endometriumdicke zusätzlich durchgeführt werden. (13) (29)

1.4.1 Kryokonservierung von unfertilisierten und fertilisierten Oozyten

1.4.1.1 Ovarielle Stimulation

Die ovarielle Stimulation dient dazu reife Eizellen zu gewinnen, um diese fertilisiert oder unfertilisiert als Fertilitätsreserve zu konservieren. Es soll eine maximal hohe Anzahl an reifen Eizellen gewonnen und das Risiko einer Überstimulation vermieden werden. Dabei hängt die Anzahl der gewonnenen Eizellen sowohl vom Alter der Patientin als auch von der zugrundeliegenden OR ab. Die ovarielle Stimulation erfolgt mittels Gonadotropinen und kann im Falle eines hormonrezeptorpositiven Tumors mit einem Aromatasehemmer kombiniert werden, da das Wachstum dieser Tumore durch supraphysiologischen Östrogenkonzentrationen gesteigert werden kann. In jedem Fall muss beachtet werden, dass rechtzeitig und so schnell wie möglich mit der Behandlung begonnen wird, um die Therapie der Grunderkrankung nicht zu verzögern. Dies bedeutet außerdem, dass oft nur eine Stimulationsbehandlung möglich ist, die möglichst optimal verlaufen und die Gewinnung einer möglichst hohen Zahl von Oozyten mit sich bringen sollte. (6) (13) (29)

1.4.1.2 Kryokonservierung

Sowohl unfertilisierte Oozyten als auch Oozyten, die mittels IVF und/oder mittels intrazytoplasmatischer Spermieninjektion fertilisiert wurden können über das Slow Freezing-Verfahren (mit Äquilibration, „langsames Einfrieren“) oder über Vitrifikation (ohne Äquilibration, „ultraschnelles Einfrieren“) kryokonserviert werden. Diese beiden Verfahren unterscheiden sich in ihrem Ablauf, haben aber dieselben gemeinsamen Ziele: Den Strukturhalt der Keimzelle und ihrer genetischen Integrität, eine reversible Arretierung des Zellmetabolismus bei -196°C, reproduzierbare Ergebnisse und akzeptable Überlebensraten nach Kryokonservierung und dem Auftauen. Zur Methode der Wahl wurde mittlerweile die Vitrifikation, da somit auch eine Kryokonservierung von unfertilisierten Oozyten ermöglicht wurde. (6) (30)

1.4.2 GnRH-Analoga

Die GnRH-Analoga sollen die Stimulation der Ovarien reduzieren. Dies geschieht unter der Annahme, dass sie sowohl eine hypophysäre Down-Regulation sowie eine „Ruhigstellung“ der Ovarien bewirken und somit zu einer herabgesetzten Sensitivität des Gonadengewebes gegenüber zytotoxischen Therapeutika führen. Je nach ihrem Wirkmechanismus in der Hypophyse können GnRH-Agonisten und GnRH-Antagonisten unterschieden werden. Die GnRH-Agonisten (GnRHa) binden an die spezifischen Rezeptoren in der Hypophyse und führen über 5-7 Tage zunächst zu einem initialen „Flare-Up“-Effekt, das heißt, es kommt durch die Rezeptorbindung zu einer übermäßigen Gonadotropin Sekretion. Wenn sich die FSH/LH-Speicher in der Hypophyse dann entleert haben, kommt es schließlich zu einer Senkung der Gonadotropinkonzentration und daraus resultiert eine Inaktivierung der Ovarien. Die GnRH-Antagonisten (GnRHant) hingegen blockieren die spezifischen Rezeptoren in der Hypophyse und können dadurch innerhalb von 8 Stunden die gesamte FSH-/LH-Ausschüttung blockieren. (6) (13) (31)

Bis heute konnte nicht endgültig geklärt werden, ob die Gabe von GnRH-Analoga während der Chemotherapie tatsächlich einen protektiven Effekt auf das Ovar hat. In Tierversuchen konnte gezeigt werden, dass die Protektivität möglicherweise in Abhängigkeit zur Wahl des Chemotherapeutikums steht. Wenn GnRHa mit einem Cyclophosphamid kombiniert wurde, konnte ein protektiver Effekt erzeugt werden. Wenn GnRHa aber mit einem Doxorubicin kombiniert wurde, verstärkte sich die toxische Wirkung auf die Follikel sogar. Im Falle eines Hormonrezeptor-positiven Tumors könnte der Einsatz eines GnRH-Analogas außerdem theoretisch die Wirksamkeit der Chemotherapie beeinflussen. (6) (32) (33)

Wenn GnRH-Analoga zum Einsatz kommen, muss zuerst in Betracht gezogen werden, in welchem Zeitraum die Down Regulation erzielt werden soll. Denn je nachdem wie viel Zeit bis zum Start der Chemotherapie noch zur Verfügung steht wird entweder ein GnRHa oder ein GnRHant in Kombination mit einem GnRHa gegeben. Die Applikation kann intramuskulär, subcutan oder intranasal erfolgen. In den meisten Fällen erfolgt die Downregulation allerdings mit GnRHa alleine. (6)

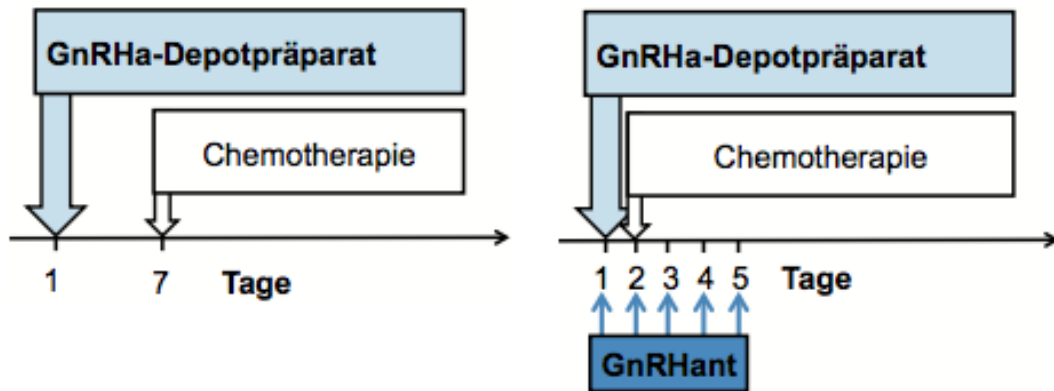


Abbildung 9: Einsatz von GnRHa- und GnRHant Präparaten in Abhängigkeit zum Start der Chemotherapie (6)

1.4.3 Kryokonservierung von Ovarialgewebe

Ovarialgewebe mit Primordialfollikeln kann laparoskopisch entfernt, kryokonserviert und zu einem späteren Zeitpunkt retransplantiert werden. Das konservierte Eierstockgewebe sollte nur nach einem mindestens 2-jährigen rezidivfreien Verlauf und fehlender Funktion der verbleibenden Restovarien bei bestehendem Kinderwunsch retransplantiert werden. Ovarialgewebe kann sowohl orthotop in das Becken als auch heterotop im Bereich des Fettgewebes im Unterbauch oder des Unter- bzw. Oberarms retransplantiert werden. Je größer die OR im konservierten und transplantierten Ovarialgewebe ist, desto höher ist die Wahrscheinlichkeit einer Schwangerschaft. Daher eignet sich diese Methode der Fertilitätsprotektion sehr gut für junge Frauen und Kinder und sollte bei Frauen über dem 35. Lebensjahr nur bedingt eingesetzt werden. Nicht nur eine Wiederaufnahme des zyklischen Hormonkreislaufs kann erzielt werden, sondern auch eine Induktion der Pubertät ist theoretisch möglich. Im Vergleich zur Kryokonservierung von Oozyten kann bei dieser Art der Fertilitätsprotektion direkt nach der Entnahme des Ovarialgewebes mit der zytotoxischen Therapie begonnen werden und es besteht die Möglichkeit einer Spontanschwangerschaft nach erfolgreicher Retransplantation, während kryokonservierte Oozyten immer (gegebenenfalls noch eine Fertilisierung und) einen nachfolgenden Embryotransfer erfordern. (6) (7) (13) (34)

1.4.3.1 Entnahme von Ovarialgewebe

Nachdem die Ovarialreserve der Patientin mittels AMH bestimmt wurde, kann laparoskopisch Eierstockgewebe entnommen werden. Es sollte darauf geachtet werden, dass die Entnahme auf der Seite erfolgt, auf der kein Follikel heranreift oder ein Corpus luteum zum Operationszeitpunkt zu finden ist, da ansonsten das Blutungsrisiko erhöht und die Ovarialgewebsqualität reduziert sind.

Antimesenterial werden 50% eines Ovars ohne elektrische Koagulation – um das Ovarialgewebe zu schonen – entnommen. Im Falle von präpubertären Ovarien muss, aufgrund der geringen Größe, oft ein gesamtes Ovar entnommen werden. Um eine ovarielle Metastasierung auszuschließen wird ein kleines Stück des entnommenen Ovarialgewebes in Formalin eingelegt und zur patho-histologischen Begutachtung geschickt. Der verbleibende Rest des Eierstockgewebes wird in einem geeigneten Medium bei 4°C in ein Kryobankzentrum des FertiPROTEKT Netzwerkes überführt und nach speziellen Protokollen oder kryokonserviert. Falls das Gewebe an ein Zentrum für Kryokonservierung transportiert wird, muss ein Zeitlimit von 22 ± 2 Stunden eingehalten werden und das Gewebe muss konstant bei 4 – 8 °C gekühlt werden. (6)

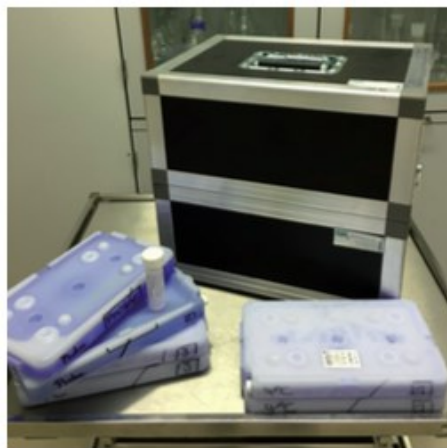


Abbildung 10: Kühlbehälter für den Transport von Ovarialgewebe vor Kryokonservierung (6)

1.4.3.2 Ablauf der Kryokonservierung

Zunächst wird die Medulla ovarii vom Cortex ovarii abpräpariert. Allerdings sollte etwas Reststroma belassen werden, damit hier im Falle einer Replantation ein Ansatzpunkt für eine Neovaskularisierung gegeben ist. Um die Dichte vitaler Follikel im Gewebe zu bestimmen werden bei der Präparation Biopsiestanzen aus verschiedenen Gewebe-Randbereichen entnommen. In der weiteren Folge werden aus dem freigelegten Cortex kleine Stücke herausgeschnitten, in einem Medium gekühlt und äquilibriert und anschließend einzeln in mit Kryomedium befüllte Kryo-Röhrchen gefüllt. Die Kühlung geschieht entweder in einem Slow Freezing-Verfahren oder durch Vitrifikation, beide Techniken finden bereits Anwendung. Derzeit werden Glycerin, DMSO, Propandiol und Ethylenglycol als permeable Kryoprotektiva eingesetzt, wobei Glycerin die am schlechtesten geeignet Substanz ist. (6) (35)

1.4.3.3 Vorbereitung zur Transplantation von Ovarialgewebe

Auch nach der Kryokonservierung sollte die Dichte vitaler Follikel im Gewebe mittels Biopsiestanzen im Gewebe-Randbereich ermittelt werden. Mithilfe dieser Ergebnisse kann in Kombination mit dem Alter der Patientin zum Entnahmezeitpunkt und dem AMH Wert die Anzahl der zu transplantierenden Gewebestücke festgelegt werden. Falls das Alter der Patientin zum Entnahmezeitpunkt unter dem 30. Lebensjahr lag, entspricht die Menge des zu transplantierendem Gewebes ca. 15% eines gesamten Ovars. Wenn allerdings das 30. Lebensjahr zum Zeitpunkt der Probenentnahme bereits überschritten war, sollten mindestens 20-25% eines Ovars transplantiert werden, da in diesem Falle mit einer erniedrigten Follikeldichte zu rechnen ist. (6)

1.4.3.4 Re-Transplantation von Ovarialgewebe

Nachdem das Gewebe durch entsprechend geschultes Personal aufgetaut wurde, kann orthotop oder heterotop retransplantiert werden. Dies geschieht üblicherweise laparoskopisch. Während der Re-Transplantation sollten in jedem

Falle die Tuben auf ihre Durchgängigkeit überprüft werden und eine Hysteroskopie erfolgen. (6) (13)

1.4.3.4.1 Re-Transplantation in das Ovar

In diesem Fall wird das zur Entnahme kontralaterale Ovar inzidiert und somit eine subkortikale Tasche gebildet. In diese Tasche werden die Gewebestücke, jeweils mit der Cortexoberfläche zur Ovaraussenseite gewandt, hineingelegt und anschließend das Ovar verschlossen. (6)

1.4.3.4.2 Re-Transplantation auf das Ovar

Die physiologische Anatomie wird am besten durch diese Art der Re-Transplantation imitiert. Allerdings setzt die Methode großes laparoskopische Geschick und eine entsprechende Größe der zu transplantierenden Gewebestücke voraus, da diese ansonsten nicht ausreichend gut fixiert werden können. Das Ovar wird nur oberflächlich inzidiert und der resultierende Wundspalt stumpf erweitert. Anschließend können die Gewebestücke auf diesem fixiert werden. (6)

1.4.3.4.3 Transplantation in das Beckenperitoneum

Diese Methode ist technisch am einfachsten auszuführen, allerdings entspricht sie am wenigstens der physiologischen Lokalisation. Lateral des Ovars wird eine subparietale Tasche durch Inzision des parietalen Peritoneums gebildet. Die zu re-transplantierenden Gewebestücke werden nebeneinander, mit der Cortexoberfläche zum Becken gewandt, in die Tasche gelegt und anschließend wird das Peritoneum verschlossen. Durch das subperitoneale Einsetzen des Gewebes kann eine effiziente Versorgung des Gewebes unter anderem durch Neovaskularisierung gewährleistet werden und die Rate an anwachsenden Gewebearealen ist sehr hoch. (6)

Laut Lawrenz et al. könnte eine gleichzeitig orthotope und heterotope Re-Transplantation die am besten geeignete Lösung sein, da somit ein guter und

einfacher Zugang für Follikelpunktionen gegeben ist und ein potenzielles Tumorrezidiv schneller und einfacher festgestellt werden könnte. Die Gewebestücke werden in der Regel 3-4 Monate nach erfolgreicher Re-Transplantation hormonell aktiv und eine Spontanschwangerschaft kann angestrebt werden. Dazu sollte ein genaues Zyklusmonitoring stattfinden. Wenn es unter diesen Maßnahmen innerhalb eines halben Jahres zu keiner Spontanschwangerschaft kommt, kann eine IVF in Betracht gezogen werden. (6) (27) (36)

Auch die Sicherheit von re-transplantiertem Ovarialgewebe für Krebspatienten ist ein wichtiger Punkt, vor allem wenn es um das potentielle Risiko geht, dass eventuell vorhandene maligne Zellen des Transplantats zu einer Rückkehr der Grunderkrankung führen könnten. Das Entfernen des re-transplantierten Gewebes nach einer erfolgreichen Schwangerschaft oder nach einem bestimmten zuvor festgelegten Zeitlimit könnte Dittrich et al. zufolge eine Lösung für Patienten mit einem erhöhten Risiko für erneute Entartung wie zum Beispiel nach Ovarialtumoren darstellen. Auch im Falle einer BRCA-Mutation kann laut von Wolff et al. eine Kryokonservierung und Re-Transplantation von Ovarialgewebe in Betracht gezogen werden, hierbei sollte aber in jedem Fall das re-transplantierte Gewebe später wieder entfernt werden. (6) (37)

Tabelle 3: Risiko für das Vorhandensein von malignen Zellen im Transplantat (6)

Niedriges Risiko	Mittleres Risiko	Hohes Risiko
Mamma-Ca Stadium I-II, Squamöses Zervix-Ca, Hodgkin-Lymphom, Osteogene Karzinome, Wilms-Tumor	Mamma-Ca: Stadium IV und lobulär invasives Karzinom, Kolon-Ca, Adeno-Ca der Zervix, Non-Hodgkin-Lymphom, Ewing-Sarkom	Leukämie, Neuroblastom, Burkitt-Lymphom, Ovarialkarzinom bzw. Ovarialmalignome

1.4.4 Transposition der Ovarien

Eine Transposition der Ovarien sollte dann angestrebt werden, wenn die Beckenregion bestrahlt wird. Nicht aber, wenn eine Ganzkörperbestrahlung durchgeführt werden soll. Zudem schützt diese Maßnahme die Patientinnen nicht vor den gonadotoxischen Nebenwirkungen der Chemotherapeutika. Indikationen für eine Transposition sind vor allem das Rektal- und das Analkarzinom. Zu den verschiedenen Operationstechniken zählen die kraniale-, die mediale-, die laterale- und die anteriore Transposition. Von größter Bedeutung ist allerdings der Abstand der neuen Position der Ovarien zum Bestrahlungsfeld, da sogar in einem Abstand von 10 cm vom Strahlungsfeld noch 10% der Strahlendosis wirksam sind. Somit ist die Höhe der ovariellen Position ausschlaggebend. Hwang et al. empfiehlt, dass die Ovarien mindestens 2 cm oberhalb des Beckenkamms liegen sollten. Ob die Transposition ein- oder beidseitig erfolgt, muss individuell entschieden werden. Der laparoskopische Eingriff, der zum Zwecke der Transposition stattfindet, kann gleichzeitig für ein Staging oder eine pelvine Lymphadenektomie genutzt werden. (6) (36) (38) (39) (40)

1.4.5 Experimentelle Therapieansätze

1.4.5.1 In vitro Maturation von Oozyten

Über transvaginale Ovarialpunktion können auch unreife Eizellen gewonnen werden. Um diese Eizellen extrakorporal reifen zu lassen werden sie einer Stimulationsbehandlung unterzogen, und in weiterer Folge kann eine intrazytoplasmatische Spermieninjektion stattfinden. Da dieses Verfahren sich als wenig effektiv erwiesen hat, sollte es nur bei sehr hoher OR in spezialisierten Zentren durchgeführt werden. (6) (13)

1.4.5.2 In vitro Growth von Oozyten

Diese Methode ist vor allem für Patientinnen geeignet, die für eine Retransplantation von kryokonservierten Ovarialgewebe, aufgrund eines zu hohen Risikos einer Kontamination des Gewebes mit Tumorzellen, nicht in Frage kommen. Um aus dem Ovarialgewebe unreife Oozyten zu gewinnen, werden Oozyten im Gewebeverband oder in isolierten Follikeln kultiviert. Anschließend können diese dann in vitro maturiert werden. (6)

1.4.5.3 Xenotransplantation von Ovarialgewebe

Auch diese Methode eignet sich für Patientinnen bei denen eine Retransplantation von kryokonservierten Ovarialgewebe, aufgrund eines zu hohen Risikos einer Kontamination des Gewebes mit Tumorzellen, nicht in Frage kommt. Das kryokonservierte Gewebe wird hierbei in eine andere Spezies, beispielsweise SCID Mäuse, in welcher die Generierung von Oozyten passieren soll, transplantiert. Anschließend können die gewonnenen Oozyten in vitro maturiert, fertilisiert und der betroffenen Frau eingesetzt werden. Aktuell steht diese Methode jedoch beim Menschen noch nicht zur Verfügung. (6)

1.4.5.4 Artifizielles Ovar

Hinter dieser Methode steckt die Idee, Primordialfollikel aus Ovarialgewebe zu isolieren und in einer Fibrinmatrix zu fixieren, um somit ein artifizielles Ovar zu erzeugen. Um nun in vivo Follikel heranreifen zu lassen, muss diese Matrix die Funktion des Ovars ersetzen und entsprechende Voraussetzungen geschaffen werden. Diese Technik ist aktuell Gegenstand intensiver Forschung und lässt auf eine Erweiterung der künftigen Möglichkeiten hoffen. (6)

1.4.5.5 Immunmodulator AS101

Der Immunmodulator AS101 hemmt das antiinflammatorische IL-10 und soll so die Gonadotoxizität der Chemotherapeutika reduzieren ohne diese in ihrer Effektivität zu verringern. Zusätzlich soll die Substanz auch einen anti-tumoralen Effekt besitzen. (41) (42)

2 Material und Methoden

2.1 Ethikkommission und Datenschutz

Die Studie wurde durch die Ethikkommission der Medizinischen Universität Graz geprüft und ein positives Votum (EK 28-125 ex 15/16) ausgestellt. Jede Patientin ist nur anhand ihrer zufällig zugeordneten Nummer zu erkennen. Ein Rückschluss auf die Patientinnen innerhalb der Datenauswertung ist nicht möglich, da die zugehörigen Patienteninformationen mit dem Kürzel „Patientin 1“ in fortlaufenden Zahlen bis „Patientin 37“ angeführt werden (Pseudonymisierung). Diese Nummern sind nur autorisierten Personen bekannt, des Weiteren haben nur diese Personen Zugriff auf die Originaldaten. Jeder Zugriff auf Patientendaten wie auch jede/r Zugreifer/in wird gespeichert, um den Datenschutz zu gewährleisten.

2.2 Studiendesign

Die retrospektive Studie wurde an der Universitätsklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe der Medizinischen Universität Graz durchgeführt. Es erfolgte eine deskriptive Datenanalyse aus Open MEDOCS.

2.3 Studienpopulation

Eingeschlossen wurden alle Patientinnen, die sich zwischen Mai 2012 und Mai 2016 an der Universitätsklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe der Medizinischen Universität Graz aufgrund einer gonadotoxischen Therapie einer Entnahme von Ovarialgewebe zum Zwecke der Kryokonservierung unterzogen haben. Die Anzahl der für die Analyse relevanten Patientinnen ergab sich aus der Summe der in diesem Zeitraum behandelten Patientinnen, die die entsprechenden Ein- und Ausschlusskriterien erfüllten. Sie belief sich schlussendlich auf 37 Patientinnen.

Einschlusskriterien:

- Geschlecht: weiblich

- Laparoskopische Entnahme von Ovarialgewebe und Kryokonservierung zwischen Mai 2012 und Mai 2016
- Alter zum Zeitpunkt der Analyse > 16 Jahren

Ausschlusskriterien:

- keine

2.4 Datenerhebung

Bei den 37 Patientinnen, die sich einer Entnahme zur Kryokonservierung von Ovarialgewebe unterzogen haben, wurden verschiedene Daten und Parameter mithilfe von Anamnese und Laborwerten erhoben. Diese wurden in die Datenbank Open MEDOCS eingegeben. Die Daten und Parameter, die für die vorliegende Analyse von Bedeutung waren, sind:

- **Art der Grunderkrankung:** Es wurde zunächst unterschieden ob Benignität oder Malignität vorlag. In weiterer Folge konnte die genaue Art der Erkrankung aufgeschlüsselt werden.
- **Alter:** Das Alter der Patientin zum Zeitpunkt der Erstdiagnose in Jahren.
- **Gravidität/Parität:** Die Anzahl der Schwangerschaften sowie die Anzahl der ausgetragenen Schwangerschaften bis zum Zeitpunkt der Erstdiagnose wurde erhoben.
- **Art der Chemotherapie:** Das Chemotherapie Schema, das verwendet wurde.
- **Chemotherapie-Intervall:** Die Zeitspanne zwischen dem Start und dem Ende der angewandten Chemotherapie.
- **Datum der Entnahme:** Der Zeitpunkt an dem das Ovarialgewebe entnommen und kryokonserviert wurde.
- **Entnahmeseite:** Auf welcher Seite das Ovarialgewebe entnommen wurde.
- **Histologie des entnommenen Gewebes:** Die histologische Auswertung der Gewebeprobe des entnommenen Ovarialgewebes.
- **AMH-Wert:** Der AMH-Wert im Serum der Patientinnen gemessen in ng/ml.
- **Tumorfreiheit bei letztem Kontrolltermin:** Der Zeitpunkt des letzten Kontrolltermins und ob die Patientinnen tumorfrei waren.

2.5 Methodik

Deskriptive Analyse

Es wurden die Daten von Frauen im Alter zwischen 16 und 45 Jahren analysiert, die sich an der Universitätsklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe der Medizinischen Universität Graz aufgrund einer gonadotoxischen Therapie einer Entnahme von Ovarialgewebe zum Zwecke der Kryokonservierung unterzogen haben. Im Zuge dieser fertilitätsprotektiven Maßnahme wurde der AMH-Wert im Serum der Patientinnen bestimmt und ihre Grunderkrankungen, wie auch die daraus resultierenden Therapiemaßnahmen, dokumentiert. Außerdem wurden Alter bei Erstdiagnose, Gravidität und Parität, wie auch die Histologie des entnommenen Gewebes erfasst. Die retrospektiv erhobenen Daten der Patientinnen wurden zum Zwecke der Auswertung in einer Excel-Datei zusammengetragen. Für die kategoriale Datenauswertung wurden als Auswertungsmaß Mittelwert, Median, Standardabweichung und Häufigkeiten berechnet.

3 Ergebnisse

Die Datensuche ergab, dass sich im Zeitraum zwischen Mai 2012 und Mai 2016 37 Patientinnen einer Entnahme und anschließenden Kryokonservierung von Ovarialgewebe unterzogen haben. Davon war lediglich eine Patientin bereits 2015 verstorben. Diese wurde aber in den Datensatz miteinbezogen. Somit belief sich die Zahl der eingeschlossenen Patientinnen auf 37 Personen (n=37).

Im gesamten Kollektiv lag das Durchschnittsalter zum Zeitpunkt der Erstdiagnose bei 26 Jahren, bei einem Medianalter von 26 Jahren. Die jüngste Patientin war 16, die älteste war 42 Jahre alt (Range: 16-42 Jahre).

Der Anti-Müller-Hormon (AMH-) Wert lag im Schnitt bei 4,99 ng/ml, mit einem Minimum von 0,36 ng/ml und einem Maximum von 18,52 ng/ml (Range: 0,36-18,52 ng/ml).

Bei 31 Patientinnen (83,8%) war eine maligne onkologische Grunderkrankung die Indikation für die Entnahme und Kryokonservierung von Ovarialgewebe. Bei den weiteren 6 Frauen (16,2%) lagen nicht-onkologische Grunderkrankungen vor.

Das Ovarialgewebe wurde bei 15 Patientinnen (40,54%) links, bei 20 Patientinnen (54,05%) rechts und bei 2 Patientinnen (5,4%) beidseitig entnommen. Alle entnommenen Präparate wurden zur histologischen Begutachtung eingeschickt.

3.1 Erkrankungen

In 31 Fällen (83,8%) war eine onkologische Grunderkrankung der Grund für die Entnahme und Kryokonservierung von Ovarialgewebe. Das Hodgkin Lymphom war mit 14 betroffenen Patientinnen (37,8%) die häufigste onkologische Diagnose. Im Weiteren fanden sich 11 Patientinnen (29,7%) mit Mammacarcinom, 2 Patientinnen (5,4%) mit einem Osteosarkom, eine Patientin (2,7%) mit Koloncarcinom, eine Patientin (2,7%) mit Rektumcarcinom, eine Patientin (2,7%) mit Cervixcarcinom und eine Patientin (2,7%) mit einem Plattenepithelcarcinom der Zunge. (Abbildung 11)

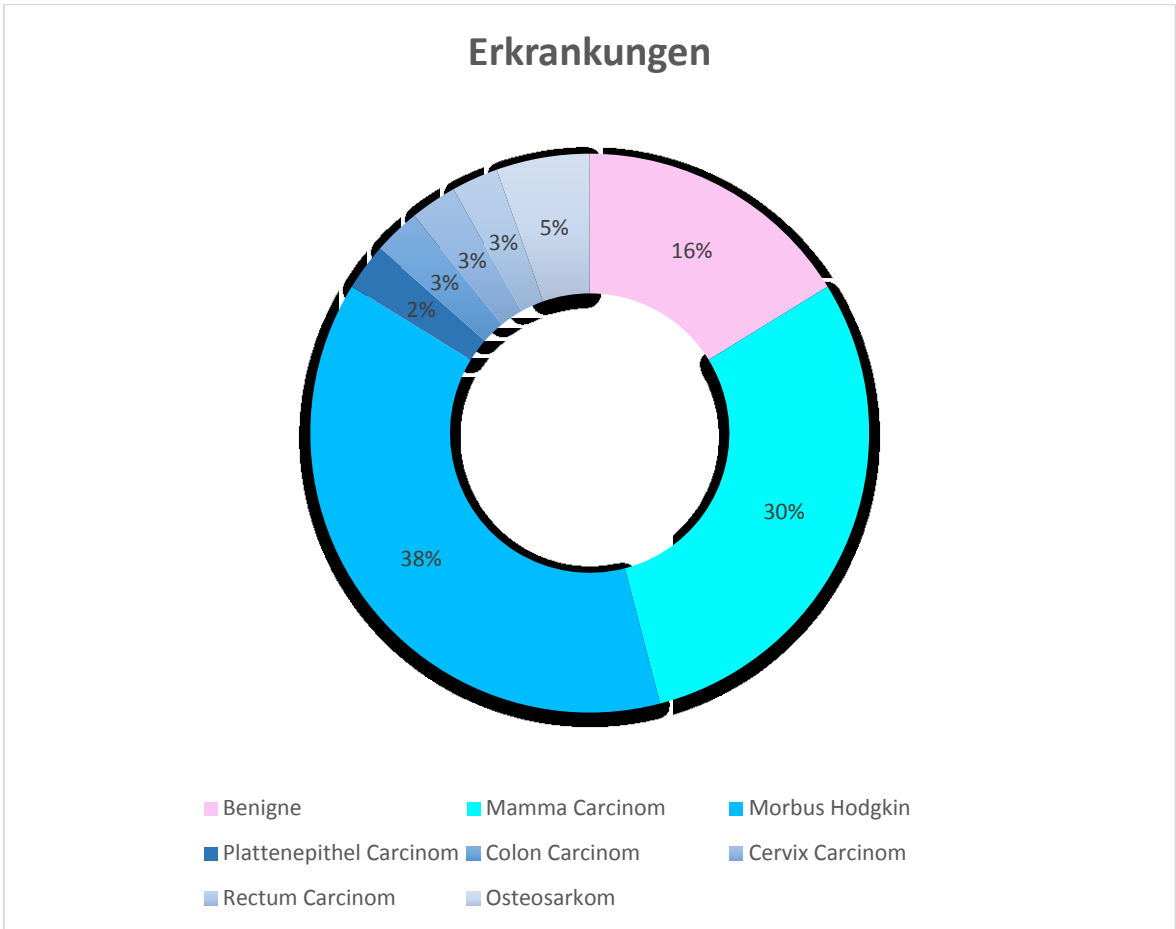


Abbildung 11: Prozentuelle Einteilung der aufgezeichneten onkologischen Erkrankungen

Eine nicht-onkologische Grunderkrankung war bei 6 Frauen (16,2%) die Indikation zur Durchführung einer Kryokonservierung von Ovarialgewebe. Die Datenaufarbeitung ergab in diesen Fällen folgende Erkrankungsbilder: Eine Lupus-Nephritis zeigten 2 Patientinnen (5,4%), eine IgA Nephropathie zeigte eine Patientin (2,7%), eine Niereninsuffizienz im Rahmen eines Good Pasture Syndroms zeigte eine Patientin (2,7%), ein Susac Syndrom zeigte eine Patientin (2,7%) und eine Leukodystrophie zeigte ebenfalls eine Patientin (2,7%). (Abbildung 12)

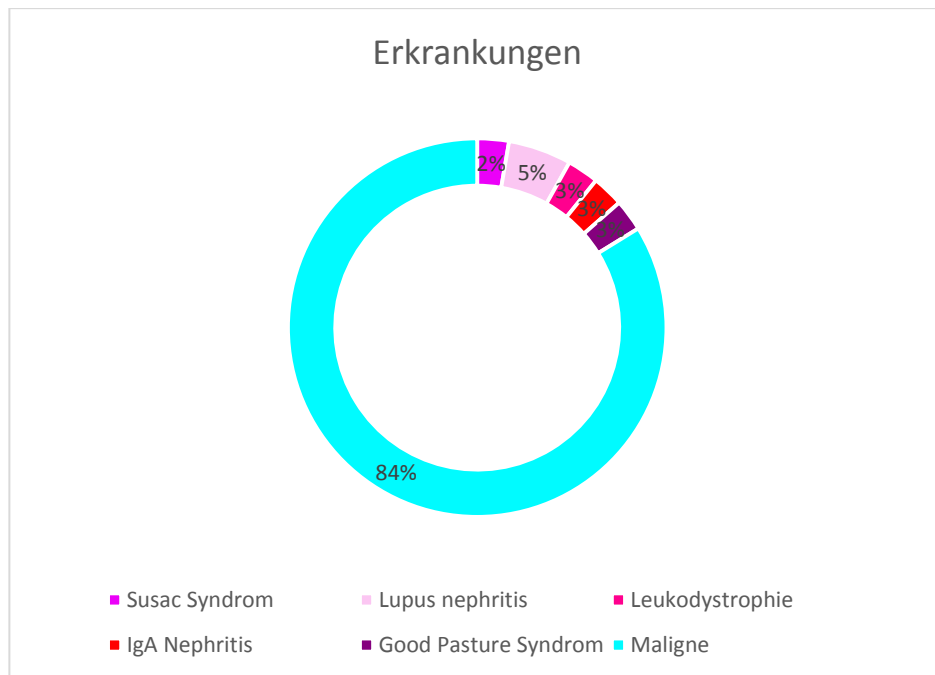


Abbildung 12: Prozentuelle Einteilung der aufgezeichneten nicht onkologischen Erkrankungen

3.2 Alter

Für die 37 Patientinnen, die in die deskriptive Datenanalyse miteinbezogen wurden, ergab sich ein Altersmittelwert bei Erstdiagnose der Grunderkrankung von 26 Jahren. Die älteste Patientin war zum Zeitpunkt der Erstdiagnose 36 Jahre alt und litt an einem Colon Carcinom. Bei der jüngsten Patientin wurde mit 16 Jahren eine Leukodystrophie festgestellt. Für die Patientinnen mit onkologischer Grunderkrankung ergab sich eine Altersaufschlüsselung wie sie in Abbildung 13 ersichtlich ist.

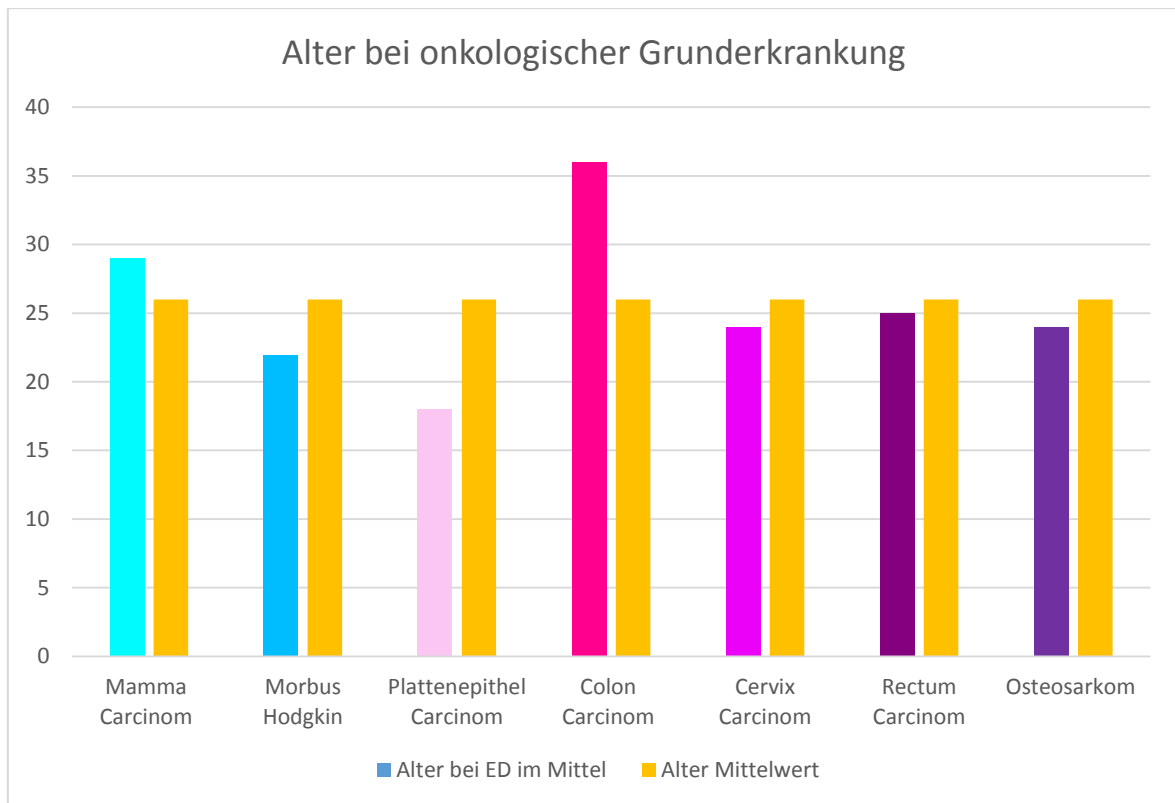


Abbildung 13: Darstellung des mittleren Alters bei den aufgetretenen onkologischen Erkrankungen

Für die Patientinnen mit nicht onkologischer Grunderkrankung zeigten sich im Durchschnitt niedrigere Altersmittelwerte bei Erstdiagnose. Sowohl die jüngste als auch die zweitjüngste Patientin erhielten eine Entnahme und Kryokonservierung von Ovarialgewebe ohne an einer onkologischen Grunderkrankung zu leiden. Die Abbildung 14 zeigt eine genaue Aufschlüsselung der Datensätze.

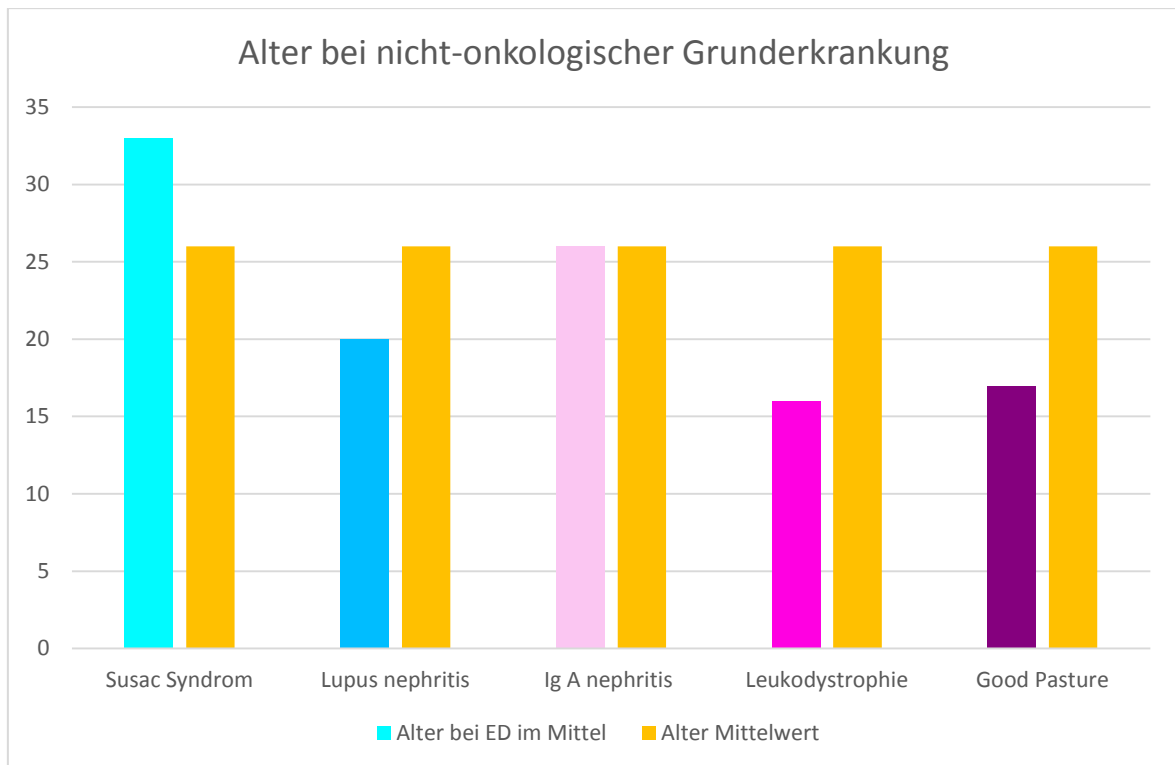


Abbildung 14: Darstellung des mittleren Alters bei den aufgetretenen nicht onkologischen Erkrankung

3.3 Anti-Müller-Hormon (AMH-) Werte

Die Datensuche ergab, dass die AMH-Werte erst bei den Patientinnen, die ab 2013 an der Universitätsklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe in Behandlung waren, gemessen und aufgezeichnet wurden, und für vier Frauen, die sich 2012 einer Operation unterzogen hatten, wurden keine AMH-Messung erfolgten. Außerdem waren die Werte bei drei weiteren Frauen nicht dokumentiert worden. Somit belief sich die Anzahl der Frauen, die in die Berechnung miteinbezogen wurden, im Falle des AMH-Wertes auf 30 Patientinnen (n=30). Der Mittelwert der gemessenen und dokumentierten AMH-Werte lag bei 4,99 ng/ml. Der am niedrigsten gelegene AMH-Wert betrug 0,36 ng/ml und wurde bei einer 17-jährigen Patientin, die an einem Osteosarkom erkrankt war, gemessen. Der AMH-Wert einer 26-jährigen Patientin, die an einem Morbus Hodgkin erkrankt war, lag bei 18,52 ng/ml und war damit der am höchsten gemessene Wert. Von den 11 an Mammakarzinom erkrankten Patientinnen konnten nur 7 in die Berechnung des mittleren AMH-Wertes miteinbezogen werden, da bei den restlichen 4 Frauen die

Datenaufzeichnung nicht vollständig war. Für diese 7 lag der AMH-Mittelwert bei 2,16 ng/ml. Auch im Falle der Morbus Hodgkin Patientinnen war die Datenlage nicht vollständig und nur 12 der 14 Patientinnen konnten miteinbezogen werden. Hier betrug der mittlere AMH-Wert 6,31 ng/ml. Die Abbildung 15 zeigt grafisch die Darstellung dieser berechneten AMH-Mittelwerte.

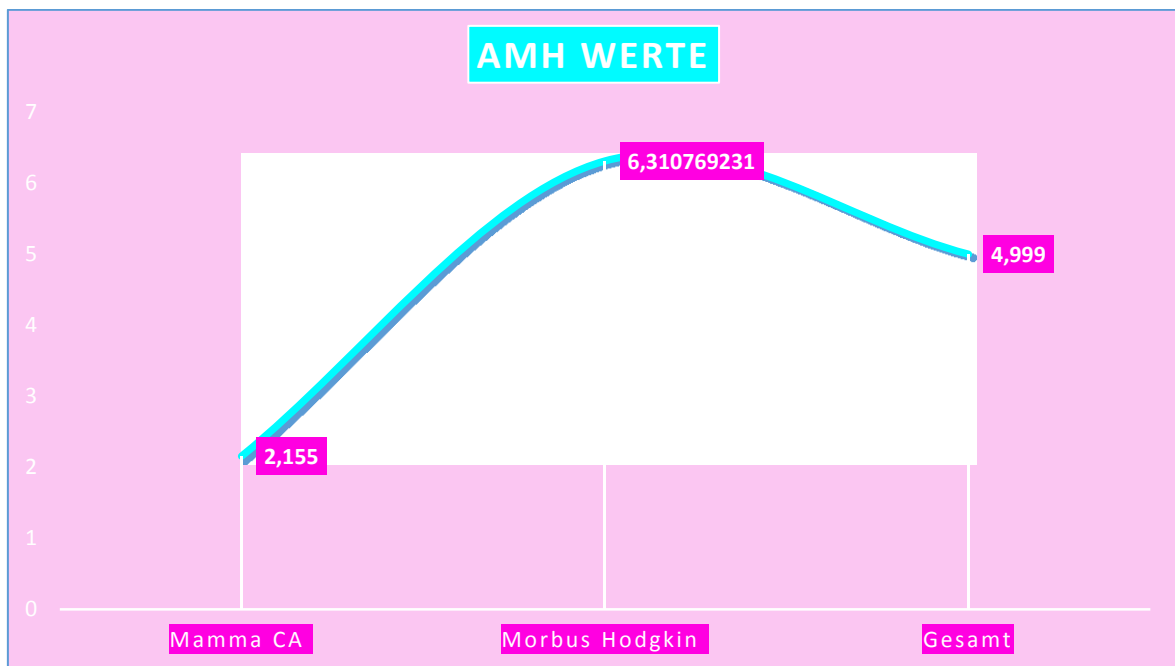


Abbildung 15: Darstellung der AMH-Mittelwerte

3.4 Chemotherapie-Zeitintervall

Von den 31 onkologischen Patientinnen wurde nur für 27 Patientinnen (n=27) der Start der durchgeführten Chemotherapie und das Ziel derselben im open MEDOCS dokumentiert. Damit ergab sich im gesamten ein mittleres Chemotherapie-Zeitintervall von 3,54 Monaten. Für die 11 Patientinnen, die an einem Mammakarzinom erkrankt waren, ergab die Datensuche eine Aufzeichnung der Dauer der Chemotherapie bei 10 Frauen. Im Falle des Mammakarzinoms ergab sich somit ein mittleres Chemotherapie-Zeitintervall von 3,45 Monaten. Da sich 1 der 14 Morbus Hodgkin Patientinnen zum Zeitpunkt der retrospektiven Datenanalyse noch zu Beginn ihrer chemotherapeutischen Behandlung befand,

konnte lediglich das mittlere Chemotherapie-Zeitintervall für 13 Patientinnen berechnet werden. Dieses lag bei 3 Monaten.

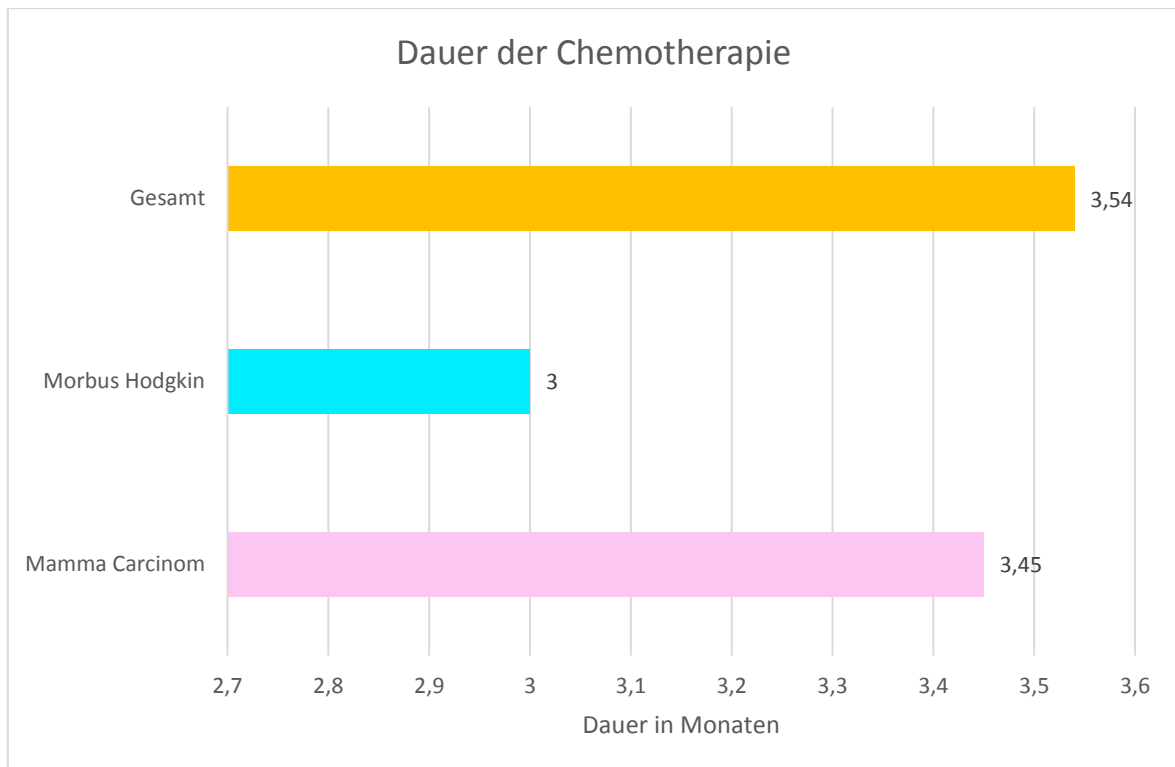


Abbildung 16: Darstellung der mittleren Dauer der Chemotherapie

3.5 Chemotherapie Schema bei Morbus Hodgkin und Mammakarzinom

Da die Art der durchgeführten Chemotherapie einen Einfluss auf die ovarielle Reserve der Patientinnen hat, wurden für diese beiden Erkrankungsbilder auch die Chemotherapie Schemata in der retrospektiven Datenanalyse betrachtet. Bei den 14 an Morbus Hodgkin erkrankten Patientinnen wurde am häufigsten ein Schema angewendet, bei dem zwei BEACOPP und zwei ABVD Blöcke miteinander kombiniert wurden. Aber auch die stark gonadotoxische Therapie aus 6 Blöcken BEACOPP musste für drei Patientinnen angewendet werden. Eine Patientin stand zum Zeitpunkt der Datenrecherche noch am Beginn ihrer Chemotherapie und es wurde noch kein eindeutiges Schema festgelegt, dadurch konnten lediglich 13

Frauen in die Berechnung miteinbezogen werden. In Abbildung 17 ist dies graphisch dargestellt.

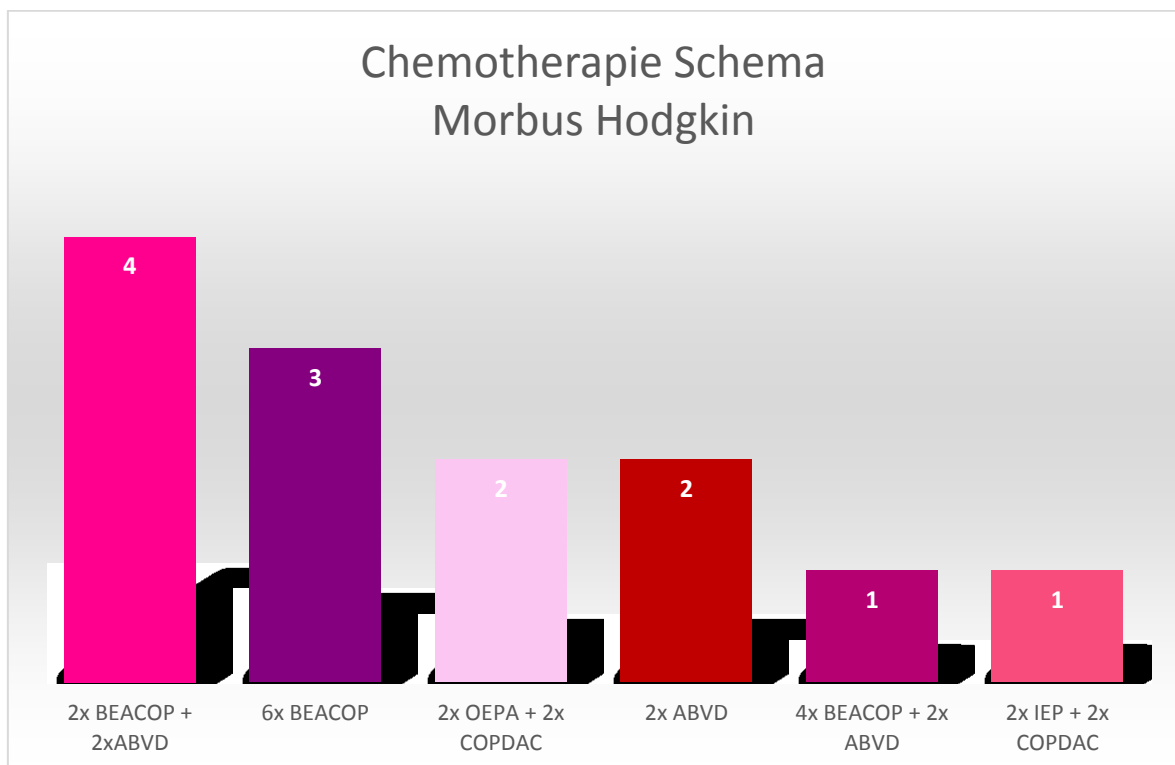


Abbildung 17: Darstellung der Chemotherapie Schemata bei den Hodgkin Lymphom Patientinnen

Auch bei den 11 Frauen, die an Mammakarzinom erkrankt waren, wurde die Art der durchgeführten Chemotherapie dokumentiert. Es zeigte sich, dass am häufigsten eine Kombination aus FEC und Taxotere zum Einsatz kam. Am zweithäufigsten wurde EC mit Taxotere zur Chemotherapie miteinander kombiniert. Somit ergaben sich die in Abbildung 18 dargestellten und dokumentierten Therapieschemata.

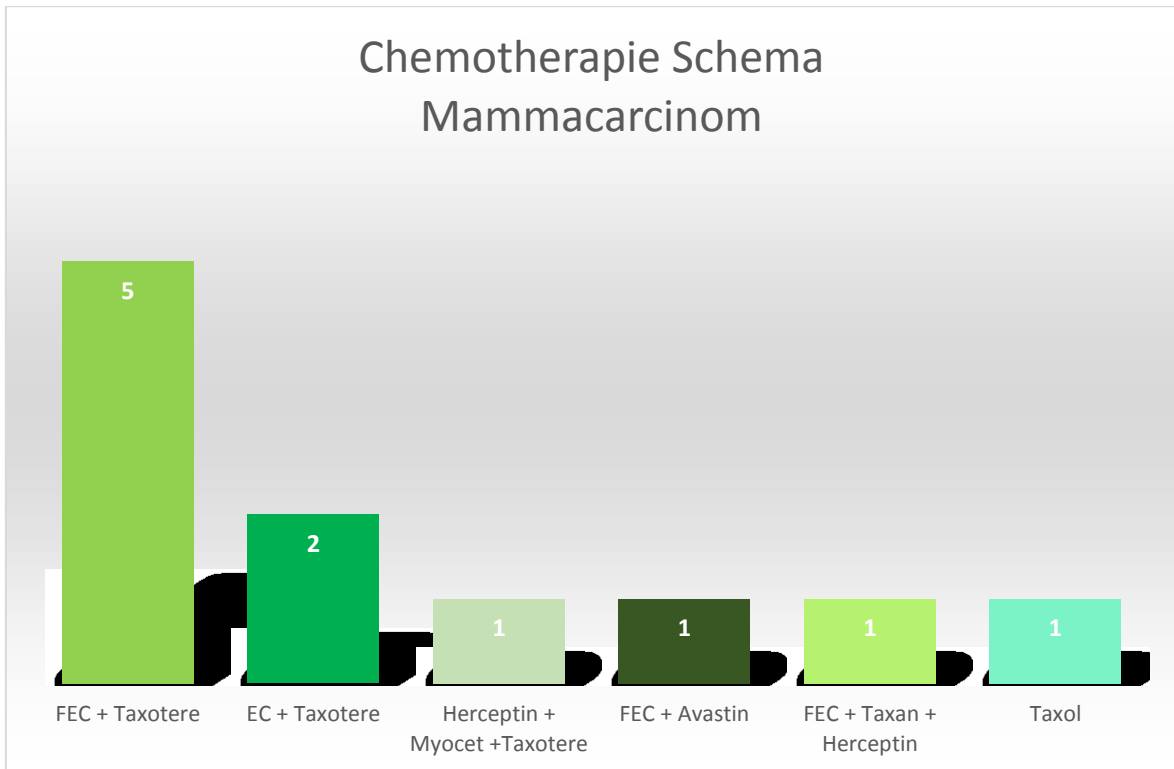


Abbildung 18: Darstellung der Chemotherapie Schemata bei den Mammacarcinom Patientinnen

3.6 Entnahmeseite und histopathologischer Befund

Das zur Kryokonservierung entnommene Ovarialgewebe wurde bei 15 Patientinnen (40,54%) links, bei 20 Patientinnen (54,05%) rechts und bei 2 Patientinnen (5,4%) beidseits entnommen (siehe Abbildung 19). Das Gewebe wurde anschließend zur histopathologischen Begutachtung eingeschickt. Die Datensuche ergab, dass das Ovarialgewebe bei allen 32 Patientinnen (86,49%), bei denen ein histologischer Befund vorhanden war, regelrecht und tumorfrei war. Bei weiteren 5 Frauen (13,51%) konnte kein Ergebnis der histopathologischen Begutachtung im open MEDOCS gefunden werden.

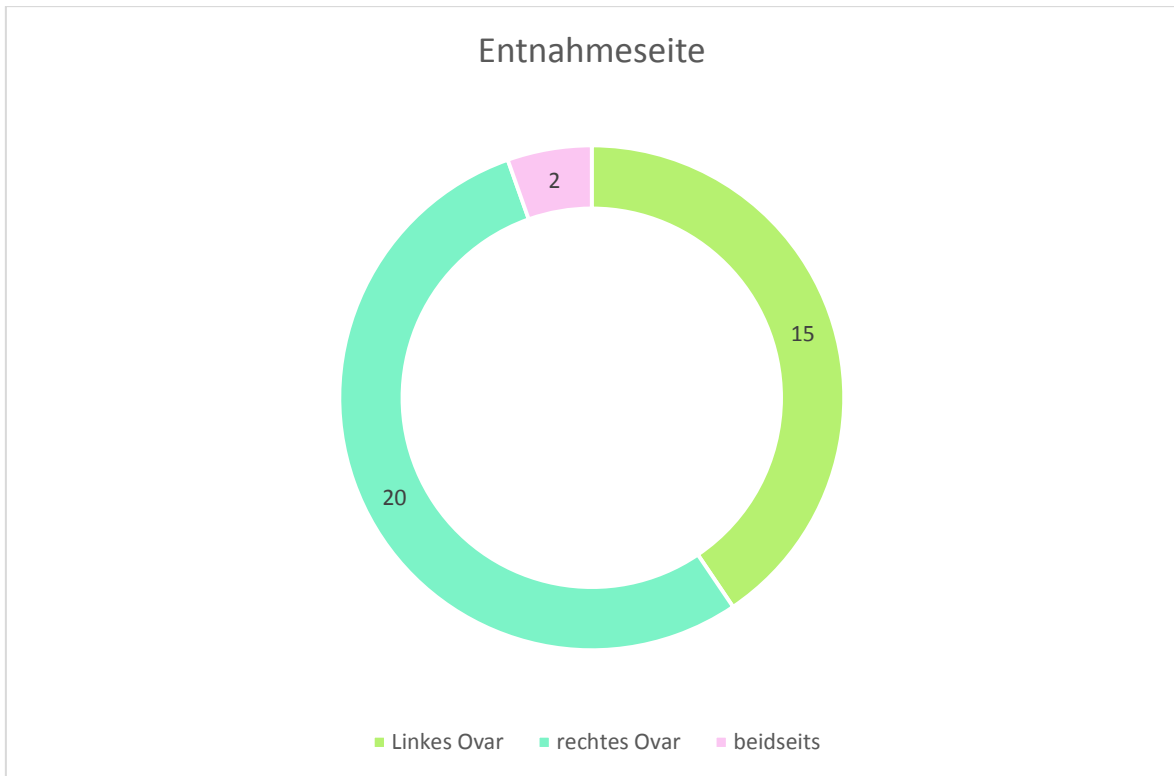


Abbildung 19: Darstellung der Entnahmeseite des Ovarialgewebes

3.7 Gravidität und Parität

Keine der 37 Patientinnen (100%) hatte bis zum Zeitpunkt der Erkrankung ein Kind zur Welt gebracht. Lediglich 1 Patientin (2,7%) hatte eine missed Abortion durchgemacht und war daher bereits ein Mal schwanger gewesen.

4 Diskussion

In dieser retrospektiven Studie wurden alle Patientinnen, die sich im Zeitraum Mai 2012 bis Mai 2016, einer Kryokonservierung von Ovarialgewebe an der Universitätsklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe unterzogen haben, erfasst. Mithilfe dieses Patientinnenkollektives wurde versucht, zu evaluieren, in welchem Ausmaß die Kryokonservierung von Ovarialgewebe an der Universitätsklinik und vor allem bei welchen Erkrankungsbildern sie vorwiegend durchgeführt wird.

Es konnte gezeigt werden, dass unter den onkologischen Grunderkrankungen das Morbus Hodgkin Lymphom mit 37,8% (14 Patientinnen) und das Mammakarzinom mit 29,7% (11 Patientinnen) am häufigsten vertreten waren. Dieses Ergebnis lässt sich gut mit der Tatsache erklären, dass es sich beim Morbus Hodgkin Lymphom um einen sehr häufigen Tumor im Kinder- und Jugendalter handelt und die Kryokonservierung von Ovarialgewebe vor allem bei so jungen Patientinnen einen noch viel höheren Stellenwert besitzt. Gleichzeitig findet sich bei dieser onkologischen Grunderkrankung bei entsprechender adäquater Behandlung auch eine sehr gute Heilungsrate mit wenig Gefahr für Rezidive.

In der überwiegenden Anzahl der Fälle verzögert eine Entnahme von Ovarialgewebe den Beginn einer bevorstehenden Chemotherapie kaum, da bereits am Folgetag der Entnahme mit einer systemischen Chemotherapie begonnen werden kann. Ein interessanter Aspekt, der in dieser retrospektiven Datenanalyse nicht aufgeführt wurde, wäre es aufzuzeigen, wie viele Tage im Durchschnitt vom Tag der Entnahme bis zum Beginn der Chemotherapie bei jeder einzelnen Patientin benötigt werden. Diese Information könnte vor allem von großem Nutzen sein, um Patientinnen, die Angst vor der Möglichkeit einer Therapieverzögerung im Falle einer fertilitätsprotektiven Maßnahme haben, zu nehmen. Denn auch Baysal et al. konnten in einer großen niederländischen Umfrage mittels Fragebogen zeigen, dass folgende Themen die Entscheidung zur Fertilitätsprotektion maßgeblich beeinflussen: Der Wunsch, die onkologische Behandlung zu fokussieren, der Wunsch, sich fortzupflanzen in der Zukunft, entscheidungsbezogene Unterstützung von den behandelnden Ärzten und die geplante Art der Fertilitätsprotektion. (46)

Bei einer Gesamtzahl von 37 Patientinnen in einem Zeitraum von vier Jahren, die sich an der Universitätsklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe einer Entnahme von Ovarialgewebe unterzogen haben, liegt die Annahme nahe, dass sich diese Technik noch nicht ausreichend etabliert hat. Vor allem im deutschsprachigen Raum wird durch das Netzwerk FertiPROTEKT ein wichtiger Beitrag geleistet, um über diese Möglichkeit der Fertilitätsprotektion weiter aufzuklären und die ersichtlich guten Ergebnisse aufzuzeigen. Dennoch wird die Methode auch von Oktay et al. als experimentelle Methodik bezeichnet, die aber längst nicht mehr in diese Kategorie fallen sollte. Zurückzuführen ist diese Tatsache oft auf ungenügendes Wissen und zu wenig Aufklärung der behandelnden Ärzte. Interessant und hilfreich wäre es, mithilfe einer fragebogenbasierenden Umfrage aufzudecken, wie viel Information über fertilitätsprotektive Maßnahmen in der Ärztesgruppe, die am häufigsten mit weiblichen onkologischen Grunderkrankungen konfrontiert ist, tatsächlich vorhanden ist. Das Anliegen, ein Bewusstsein für diese unglaublich innovative Art der Fertilitätsprotektion zu schärfen, war auch Grundlage dieser Arbeit. (47)

Eine Aufzeichnung zum AMH Wert konnte lediglich bei 30 von 37 Patientinnen dokumentiert gefunden werden. Um diesen Messwert tatsächlich als zuverlässiges Maß für die ovarielle Reserve nutzen zu können, ist es wichtig, diesen präoperativ zu bestimmen. Ein Ansatzpunkt wäre es auch, den AMH-Wert im Verlauf der systemischen Chemotherapie in regelmäßigen Abständen zu kontrollieren, da regelmäßige Blutbildkontrollen während dieser Behandlung im Allgemeinen von äußerster Wichtigkeit sind und diese Ergebnisse möglicherweise die Sensitivität dieses Wertes noch weiter verstärken könnten.

Das Durchschnittsalter der Patientinnen lag bei 26 Jahren. Somit zeigt sich auch in welchem einem frühen Lebensabschnitt die Frauen eine maßgebende Entscheidung für ihr späteres Leben treffen müssen. Zu diesem Zeitpunkt hat für die meisten Patientinnen die Heilung der Grunderkrankung höchste Priorität. Daher ist es wichtig, die Frauen bestmöglich zu beraten, aufzuklären und als unterstützende Komponente zu funktionieren. Garvelink et al. konnte zeigen, dass vielen betroffenen Frauen die Auseinandersetzung mit dem Thema der

Fertilitätsprotektion Hoffnung, einen Grund zum Leben und generell ein gutes Gefühl gibt. Die Psyche der Patientinnen wird damit gestärkt und unterstützt und eine laufende oder beginnende Chemotherapie kann erfolgreicher oder leichter ertragen werden. (48)

In weiterer Folge wäre es nun von großer Bedeutung den aktuellen Zustand jeder Patientin festzustellen. Eine ausreichende körperliche Untersuchung und erneute Bestimmung der AMH Werte. Die Ergebnisse könnten für die Planung einer Re-Transplantation des entnommenen Gewebes genutzt werden und in der Folge eine prospektive Studie angelegt werden, die die Erfolgsraten dieses Vorgehens aufzeigt.

5 Literaturverzeichnis

- (1) Schmidt-Matthiesen H, Wallwiener D. Gynäkologie und Geburtshilfe, Lehrbuch für Studium und Praxis. 10th Editio. Stuttgart · New York; 2005.
- (2) Magowan BA, Owen P, Thompson A. Clinical Obstetrics & Gynaecology. 3rd Editio. Edinburgh; 2014.
- (3) Kaufmann M, Costa S-D, Scharl A. Die Gynäkologie. 3rd Editio. 2013.
- (4) Sillbernagel S, Lang F. Taschenatlas Pathophysiologie. 3rd Editio. Stuttgart; 2009.
- (5) Böcker W, Denk H, Heitz PU, Moch H, Höfler G, Kreipe H. Pathologie. 5th Editio. 2012.
- (6) von Wolff M. Indikation und Durchführung fertilitätsprotektiver Massnahmen bei onkologischen und nicht-onkologischen Erkrankungen. 1st Editio. Kiel; 2016.
- (7) Findeklee S, Lotz L, Heusinger K, Hoffmann I, Dittrich R, Beckmann MW. Fertility Protection in Female Oncology Patients: How Should Patients Be Counseled? Geburtshilfe Frauenheilkd [Internet]. Stuttgart · New York: Georg Thieme Verlag KG; 2015 Dec 21;75(12):1243–9.
- (8) Onkologie L, der AWMF DK e. V und DK e. V. S3-Leitlinie Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Hodgkin Lymphoms bei erwachsenen Patienten. 2013;1st Versio.
- (9) Di Paola R, Costantini C, Tecchio C, Salvagno GL, Montemezzi R, Perandini A, et al. Anti-Mullerian Hormone and Antral Follicle Count Reveal a Late Impairment of Ovarian Reserve in Patients Undergoing Low-Gonadotoxic Regimens for Hematological Malignancies. Oncologist [Internet]. 2013;18(12):1307–14.
- (10) Letourneau JM, Ebbel EE, Katz PP, Oktay KH, McCulloch CE, Ai WZ, et al. Acute ovarian failure underestimates age-specific reproductive impairment for young women undergoing chemotherapy for cancer. Cancer. 2012;118(7):1933–9.
- (11) Behringer K, Breuer K, Reineke T, May M, Nogova L, Klimm B, et al. Secondary amenorrhea after Hodgkin's lymphoma is influenced by age at treatment, stage of disease, chemotherapy regimen, and the use of oral contraceptives during therapy: a report from the German Hodgkin's Lymphoma Study Group. J Clin Oncol [Internet]. 2005 Oct 20 [cited 2016 Jun 8];23(30):7555–64.
- (12) Weyerstahl T, Stauber M. Gynäkologie und Geburtshilfe. 4.Auflage. Stuttgart; 2013. 732 p.

- (13) Petru E, Jonat W, Fink D, Köchli O. Praxisbuch Gynäkologische Onkologie. 3. Auflage. Graz,Kiel, Zürich; 2011. 321 p.
- (14) Sukumvanich P, Case LD, Van Zee K, Singletary SE, Paskett ED, Petrek JA, et al. Incidence and time course of bleeding after long-term amenorrhea after breast cancer treatment. *Cancer* [Internet]. Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company; 2010;116(13):3102–11. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/cncr.25106>
- (15) Partridge AH, Ruddy KJ, Gelber S, Schapira L, Abusief M, Meyer M, et al. Ovarian reserve in women who remain premenopausal after chemotherapy for early stage breast cancer. *Fertil Steril* [Internet]. 2010 [cited 2017 May 26];94(2):638–44. Available from: <http://www-1sciencedirect-1com-1pubmed.han.medunigraz.at/science/article/pii/S0015028209006104>
- (16) Petrek J a, Naughton MJ, Case LD, Paskett ED, Naftalis EZ, Singletary SE, et al. Incidence, time course, and determinants of menstrual bleeding after breast cancer treatment: a prospective study. *J Clin Oncol*. 2006;24(7):1045–51.
- (17) Walshe JM, Denduluri N, Swain SM. Amenorrhea in premenopausal women after adjuvant chemotherapy for breast cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol* [Internet]. 2006;24(36):5769–79. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17130515>
- (18) Josso N, Belville C, di Clemente N, Picard JY. AMH and AMH receptor defects in persistent Müllerian duct syndrome. Vol. 11, *Human Reproduction Update*. 2005. p. 351–6.
- (19) Andersen CY, Byskov AG. Estradiol and Regulation of Anti-Müllerian Hormone, Inhibin-A, and Inhibin-B Secretion: Analysis of Small Antral and Preovulatory Human Follicles' Fluid. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2006 Oct 1;91(10):4064–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1210/jc.2006-1066>
- (20) La Marca A, Giulini S, Tirelli A, Bertucci E, Marsella T, Xella S, et al. Anti-Müllerian hormone measurement on any day of the menstrual cycle strongly predicts ovarian response in assisted reproductive technology. *Hum Reprod* [Internet]. 2007 Mar 1;22(3):766–71. Available from: <http://dx.doi.org/10.1093/humrep/del421>
- (21) Visser JA, de Jong FH, Laven JSE, Themmen APN. Anti-Mullerian hormone: a new marker for ovarian function. *Reproduction* [Internet]. 2006;131(1):1–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16388003%5Cnhttp://www.reproduction-online.org/content/131/1/1.full.pdf>
- (22) Brougham MFH, Crofton PM, Johnson EJ, Evans N, Anderson RA, Wallace WHB. Anti-Müllerian Hormone Is a Marker of Gonadotoxicity in Pre- and Postpubertal Girls Treated for Cancer: A Prospective Study. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. The Endocrine Society; 2012 Apr 3;97(6):2059–67. Available from: <http://dx.doi.org/10.1210/jc.2011-3180>

- (23) Hamre H, Kiserud CE, Ruud E, Thorsby PM, Fosså SD. Gonadal function and parenthood 20 years after treatment for childhood lymphoma: A cross-sectional study. *Pediatr Blood Cancer* [Internet]. Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company; 2012 Aug 1;59(2):271–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/pbc.23363>
- (24) Hagen CP, Vestergaard S, Juul A, Skakkebaek NE, Andersson A-M, Main KM, et al. Low concentration of circulating antimüllerian hormone is not predictive of reduced fecundability in young healthy women: a prospective cohort study. *Fertil Steril* [Internet]. 2012 Dec;98(6):1602–1608.e2. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0015028212020602>
- (25) Laven JSE, Mulders AGMGJ, Visser JA, Themmen AP, De Jong FH, Fauser BCJM. Anti-Müllerian Hormone Serum Concentrations in Normoovulatory and Anovulatory Women of Reproductive Age. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89(1):318–23.
- (26) Internet Wikipedia. Anti-Müller-Hormon [Internet]. 2017. Available from: <https://de.wikipedia.org/wiki/Anti-Müller-Hormon>
- (27) Roberts J, Ronn R, Tallon N, Holzer H. Fertility preservation in reproductive-age women facing gonadotoxic treatments. *Curr Oncol* [Internet]. 66 Martin St. Milton, ON, Canada L9T 2R2: Multimed Inc.; 2015 Aug;22(4):e294–304. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4530827/>
- (28) Dezellus A, Barriere P, Campone M, Lemanski C, Vanlemmens L, Mignot L, et al. Prospective evaluation of serum anti-Müllerian hormone dynamics in 250 women of reproductive age treated with chemotherapy for breast cancer. *Eur J Cancer* [Internet]. 2017 [cited 2017 May 26];79:72–80. Available from: <http://www-1sciencedirect-1com-1pubmed.han.medunigraz.at/science/article/pii/S0959804917308730>
- (29) Petru E, Wildt L, Stummvoll W, Singer C, Speiser P, Fischerlehner, et al. Konsensus der österreichischen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe/Arbeitsgemeinschaft für Gynäkologische Onkologie: Fertilität, Kontrazeption und Hormonersatz bei onkologischen Patientinnen unter besonderer Berücksichtigung des Mammakarzinoms. 2009;
- (30) Liebermann J, Nawroth F. Reproduktionsmedizin. Springer-Verlag; 2013.
- (31) Von Wolff M, Dittrich R, Liebenthron J, Nawroth F, Schüring AN, Bruckner T, et al. Fertility-preservation counselling and treatment for medical reasons: Data from a multinational network of over 5000 women. *Reprod Biomed Online*. 2015;31(5):605–12.
- (32) Xu M, Pavone ME, Woodruff T. Fruitful progress to fertility: preserving oocytes from chemodestruction. *Nat Med* [Internet]. 2011;17(12):1562–3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22146461>
- (33) Pagani O, Regan MM, Walley BA, Fleming GF, Colleoni M, Láng I, et al. Adjuvant Exemestane with Ovarian Suppression in Premenopausal Breast

- Cancer. N Engl J Med [Internet]. 2014;371(2):107–18. Available from: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMoa1404037>
- (34) Liebenthron J, Dittrich R, Toth B, Korell M, Krüssel J, van der Ven K, et al. Orthotopic ovarian tissue transplantation - results in relation to experience of the transplantin centers, overnight tissue transportation and transplantation into the peritoneum. Hum Reprod. 2015;
- (35) Donnez J, Dolmans M-M. Ovarian tissue freezing: current status. Curr Opin Obstet Gynecol [Internet]. 2015;27(3). Available from: http://journals.lww.com/co-obgyn/Fulltext/2015/06000/Ovarian_tissue_freezing_current_status.12.aspx
- (36) Lawrenz B, Jauckus J, Kupka MS, Strowitzki T, von Wolff M. Fertility preservation in >1,000 patients: patient's characteristics, spectrum, efficacy and risks of applied preservation techniques. Arch Gynecol Obstet [Internet]. 2011;283(3):651–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s00404-010-1772-y>
- (37) Dittrich R, Hackl J, Lotz L, Hoffmann I, Beckmann MW. Pregnancies and live births after 20 transplantations of cryopreserved ovarian tissue in a single center. Fertil Steril. 2015;103(2):462–8.
- (38) Lee SJ, Schover LR, Partridge AH, Patrizio P, Wallace WH, Hagerty K, et al. American Society of Clinical Oncology recommendations on fertility preservation in cancer patients. Vol. 24, Journal of Clinical Oncology. 2006. p. 2917–31.
- (39) Visvanathan DK, Cutner AS, Cassoni AM, Gaze M, Davies MC. A new technique of laparoscopic ovariopexy before irradiation. Fertil Steril. 2003;79(5):1204–6.
- (40) Hwang JH, Yoo HJ, Park SH, Lim MC, Seo S-S, Kang S, et al. Association between the location of transposed ovary and ovarian function in patients with uterine cervical cancer treated with (postoperative or primary) pelvic radiotherapy. Fertil Steril [Internet]. 2012 [cited 2017 Jun 3];97(6):1387–1393.e2. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0015028212002865>
- (41) F., A. AMSBC, Y. K, Y. K, M. D, B. Y, et al. A new immunomodulating compound (AS-101) with potential therapeutic application. Nature. 1987;330(6144):173–6.
- (42) Sredni B. Immunomodulating tellurium compounds as anti-cancer agents. Vol. 22, Seminars in Cancer Biology. 2012. p. 60–9.
- (43) Internet Google Bilder. Hypothalamus-Hypophysen-Ovar Achse [Internet]. 2017. Available from: <http://slideplayer.org/slide/208878/>

- (44) Internet Google Bilder. Ann-Arbor-Stadien modifiziert [Internet]. 2017. Available from: <https://www.onkopedia.com/de/onkopedia/guidelines/hodgkin-lymphom/@@view/html/index.html>
- (45) Internet Google Bilder. Stadienadaptierte Therapieschemata [Internet]. 2017. Available from: <https://www.onkopedia.com/de/onkopedia/guidelines/hodgkin-lymphom/@@view/html/index.html>
- (46) Baysal Ö, Bastings L, Beerendonk CCM, Postma SAE, IntHout J, Verhaak CM, et al. Decision-making in female fertility preservation is balancing the expected burden of fertility preservation treatment and the wish to conceive. Hum Reprod [Internet]. 2015 Jul 1;30(7):1625–34. Available from: <http://humrep.oxfordjournals.org/content/30/7/1625> .
- (47) Oktay K. Fertility Preservation in Cancer Patients. Oncol Times [Internet]. 2017;39(4). Available from: http://journals.lww.com/oncology-times/Fulltext/2017/02250/Fertility_Preservation_in_Cancer_Patients.1.aspx
- (48) Garvelink MM, ter Kuile MM, Bakker RM, Geense WJ, Jenninga E, Louwé LA, et al. Women’s experiences with information provision and deciding about fertility preservation in the Netherlands: “satisfaction in general, but unmet needs.” Health Expect [Internet]. Hoboken: John Wiley and Sons Inc.; 2015 Oct 5;18(5):956–68. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5060855/>