

Kryokonservierung von unbefruchteten Eizellen bei nichtmedizinischen Indikationen („social freezing“)

Aktueller Stand und Stellungnahme des Netzwerkes FertiPROTEKT

F. Nawroth¹, R. Dittrich², M. Kupka³, B. Lawrenz⁴, M. Montag⁵, M. von Wolff⁶

Verschiedene Pflanzen in Dauerfrostgebieten, aber auch in der mitteleuropäischen Vegetation haben Strategien entwickelt, um sich durch Wasserentzug vor Kälteschäden zu schützen bzw. sogar vorübergehend selbst einzufrieren (13). Es handelt sich bei der Kryokonservierung also um eine uralte physiologische Anpassung an Extrembedingungen. Inhalt der vorliegenden Übersichtsarbeit ist eine komprimierte Darstellung des aktuellen Standes der Kryokonservierung unfertilisierter Oozyten sowie eine Stellungnahme des Netzwerkes FertiPROTEKT zur Anwendung dieser Methode außerhalb einer medizinischen Indikation.

Auch in der humanen Reproduktionsmedizin bildet die Kryokonservierung von unbefruchteten und befruchteten Eizellen seit Jahren einen integralen Bestandteil der Therapiekonzepte und steigert die kumulativen Erfolgsraten einzelner Therapien.

Nach dem Einfrieren unbefruchteter Eizellen und In-vitro-Fertilisation

(IVF) wurde 1987 in Deutschland die weltweit zweite Geburt publiziert (30). Die erste Geburt nach Kryokonservierung unfertilisierter Eizellen und Anwendung der intrazytoplasmatischen Spermieninjektion (ICSI) wurde 1997 berichtet (25). Bereits heute sind weit über 1.000 Kinder nach Anwendung der Kryokonservierung von unbefruchteten Eizellen zur Welt gekommen (22). Weltweit liegt der Schwerpunkt der Kryokonservierung von unbefruchteten Eizellen bei der Anwendung in Eizellspendeprogrammen.

Die prophylaktische Kryokonservierung von unbefruchteten Eizellen wird bisher überwiegend im Rahmen der Fertilitätsprotektion von Patientinnen vor gonadotoxischen Therapien (Chemotherapie, Radiatio) und Operationen – also bei medizinischen Indikationen – durchgeführt.

Sowohl durch die zunehmende Diskussion unter Wissenschaftlern als auch

in der Laienpresse häufen sich seit einiger Zeit die Nachfragen zur Kryokonservierung unbefruchteter Eizellen bei nichtmedizinischen Indikationen (z. B. aktuell kein Partner, Karriereplanung im Vordergrund usw.), im anglo-amerikanischen Sprachgebrauch oft als „social freezing“ bezeichnet.

Nichtmedizinische Gründe für die Kryokonservierung

Obwohl bekannt ist, dass die Fertilität bereits etwa ab Mitte der dritten Lebensdekade einer Frau sinkt, geben rund 30% sowohl der männlichen als auch der weiblichen Bevölkerung an, dass sie eine abnehmende Fruchtbarkeit erst ab dem etwa 40. Lebensjahr vermuten (1). Das ist sicherlich nur eine der Ursachen für die zeitliche Verschiebung der Familienplanung. Eine andere ist die Karriereplanung und die für manche Frauen bzw. Paare ungenügende Unterstützung in Beruf und Familie, die ihnen mit einer Schwangerschaft und Geburt nicht vereinbar erscheint. Viele Frauen denken auch wegen des Fehlens eines festen Lebenspartners im optimalen reproduktiven Alter über die prophylaktische Anlage einer Fertilitätsreserve nach.

Kryokonservierung unbefruchteter Eizellen und deren spätere Verwendung

Durch eine kontrollierte ovarielle Stimulation lässt sich – je nach individueller ovarieller Reserve – eine unterschiedlich starke polyfollikuläre Reaktion induzieren, sodass bei einer transvaginalen Follikelpunktion mehrere Eizellen gewonnen werden können.

¹ Zentrum für Endokrinologie, Kinderwunsch und Pränatale Medizin im Barkhof, Hamburg

² Universitäts-Frauenklinik Erlangen

³ Universitäts-Frauenklinik München-Innenstadt

⁴ Universitäts-Frauenklinik Tübingen

⁵ Universitäts-Frauenklinik Heidelberg

⁶ Frauenklinik, Inselspital Bern

Die Autoren bilden das Leitungsteam des Netzwerkes FertiPROTEKT (www.fertiprotekt.de).

Fertilisierungsraten langsam eingefrorener bzw. vitrifizierter Oozyten nach ICSI (10)

	langsames Einfrieren	Vitrifikation
eingefrorene / aufgetaute Oozyten (n)	1.348	285
Überlebensrate	57,9%	78,9%*
Fertilisierungsrate durch ICSI	64,6%	72,8%**

* p < 0,0001 ** p = 0,027

Tab. 1: Die Vitrifikation ist dem langsamen Einfrieren hinsichtlich der Überlebensraten nach dem Auftauen wie auch hinsichtlich der Fertilisierungsraten durch ICSI überlegen.

Nach Einführung einer ultraschnellen Methode der Kryokonservierung (der sogenannten Vitrifikation) werden in verschiedenen Publikationen Überlebensraten reifer Eizellen von etwa 80–95% beschrieben (4, 26). Diese Methode ist dem langsamen Einfrierverfahren (slow freezing) sowohl hinsichtlich der Überlebensraten nach dem Auftauen als auch hinsichtlich der Fertilisierungsraten nach (später hier in jedem Fall erforderlicher) ICSI überlegen (7, 10) (s. Tab. 1).

Die Lagerungsdauer im flüssigen Stickstoff (-196 °C) spielt nach heutigem Kenntnisstand für Germinalzellen und -gewebe keine Rolle. Entscheidend scheinen der Einfrier- und Auftauprozess, nicht aber die Lagerungszeit zu sein. Stellvertretend für diese Aussage sind in Tabelle 2 einige Publikationen zu dieser Thematik zusammengestellt.

Die dargestellten Ergebnisse zeigen, dass es einen „Verlust“ an nutzbaren Zellen nach dem Auftauen unbefruchteter Eizellen sowie der Fertilisation mittels ICSI gibt.

An dieser Stelle bleibt daher der Fokus insbesondere auf der sowohl die Patientin als auch den Arzt besonders interessierenden Implantations- sowie Geburtenrate pro aufgetauter Oozyte, da die Kenntnis einer solchen Relation eine Vorstellung darüber vermittelt, wie viele Eizellen eingefroren werden müssten, um eine realistische Chance für die Geburt eines Kindes erwarten zu können.

Die Implantationsrate ist die Wahrscheinlichkeit eines einzelnen Embryos zu implantieren und wird durch die Anzahl der Fruchtblasen pro 100 Embryonen definiert, die transferiert wurden.

In Tabelle 3 sind dazu Daten einer Metaanalyse der Jahre 1985 bis 3/2010 dargestellt (3).

Mittlerweile konnten die Implantationsraten aber weiter verbessert werden. In einer retrospektiven Untersuchung von 1.772 vitrifizierten Oozyten in einem Eizellspende-Programm (medianes Alter der Spenderinnen: 26,1 Jahre) lag die Implantationsrate je aufgetauter Oozyte bei 11,4% (24).

In einer vergleichenden Studie zum Transfer von Embryonen aus einem „frischen“ ICSI-Zyklus bzw. aus vitrifizierten Oozyten in einem normalen ICSI-Kollektiv lagen die Implantationsraten pro aufgetauter Eizelle bei 12,9% (26).

Mittlerweile lassen sich unbefruchtete Eizellen mit modifizierten Einfrierprotokollen im „slow freezing“ ebenfalls mit besseren Ergebnissen einfrieren. Die publizierte Implantationsrate pro injizierter Oozyte lag dabei in einem spezialisierten Zentrum bei 11,8% (Alter ≤ 34 Jahre), 7,5% (35–39 Jahre) bzw. 7,5% (≥ 39 Jahre) (2).

Die Vitrifikation beeinflusst Spindelaufbau und Chromosomenanordnung

Cil und Oktay (5) konnten zeigen, dass die Implantationsraten sowohl langsam eingefrorener als auch vitrifizierter Eizellen mit zunehmendem Alter erwartungsgemäß tendenziell sanken. Altersabhängig scheint die Vitrifikation einen unterschiedlichen Einfluss auf die Spindelkonfiguration und Chromosomenanordnung zu haben. Bei einem medianen Alter von 25,1 Jahren zeigte sich kein signifikanter Einfluss drei Stunden nach Auftauen und Kultivierung der Eizellen (6). Lag das mediane Alter aber bei 38,5 Jahren, waren nur noch 32,6% der Eizellen diesbezüglich unauffällig (8).

Entscheidend für die Erfolgsaussichten der Kryokonservierung von unbefruchteten Eizellen ist neben der

Einige Publikationen zur Lagerungszeit

Zellart	Publikation	Einfrierverfahren	Lagerungszeit
Embryonen	López Teijón et al. 2006 (18)	langsames Einfrieren	13 Jahre
Vorkernzellen	Dowling-Lacey et al. 2011 (9)	langsames Einfrieren	20 Jahre
Oozyten	Parmegiani et al. 2008 (23)	langsames Einfrieren	5 Jahre
	Kim & Hong 2011 (15)	Vitrifikation	5 Jahre
Spermien	Feldschuh et al. 2005 (12)	langsames Einfrieren	28 Jahre

Tab. 2: Publikationen zu Lagerungszeit unterschiedlicher Zellen und nachfolgenden Geburten bei deren therapeutischer Verwendung. Studien wie die hier aufgeführten lassen annehmen, dass die Dauer der Lagerung in flüssigem Stickstoff keine Rolle spielt.

Implantationsraten bei unterschiedlichen Kryokonservierungsverfahren

	langsames Einfrieren	Vitrifikation
aufgetaute Oozyten (n)	18.020	3.424
Implantationsrate pro aufgetauter Oozyte	7% (95% CI 4,3–11,2)	7,7% (95% CI 5,3–11)

Tab. 3: Metaanalyse zum Vergleich der Ergebnisse von langsamer Kryokonservierung sowie Vitrifikation von Oozyten (3)

erforderlichen Eizellzahl also vor allem das Alter der Frau zum Zeitpunkt der Kryokonservierung. Interessanterweise liegt das durchschnittliche Alter, in dem Frauen über ein „social freezing“ nachdenken, mit etwa 38 Jahren deutlich oberhalb dessen, was als optimal anzusehen wäre, um später ein ausgewogenes Verhältnis von Kosten und Nutzen zu erreichen (19).

Nach heutigem Kenntnisstand unterscheidet sich die Fehlbildungsrate von Kindern, die nach Kryokonservierung unbefruchteter Eizellen und ICSI geboren wurden, nicht von denen nach spontaner Konzeption. Sie lag in einem Review von 58 Publikationen (23 Fallberichte und 35 publizierte Fallserien) aus den Jahren 1986 bis 2008 zu diesem Thema bei 1,3% (21). In der Auswertung handelte es sich um 282 Kinder nach langsamer Kryokonservierung, 285 nach Vitrifikation und zwölf nach Verwendung beider Verfahren.

Alter und späterer Transfer

Berichte (vor allem in der Laienpresse) über Schwangerschaften/Geburten mehr oder weniger prominenter Persönlichkeiten jenseits des 50. Lebensjahres haben sicherlich dazu beigetragen, dass die Problematik von Schwangerschaften ab der sechsten Lebensdekade (in aller Regel nach Eizellspende, also der hier diskutierten Problematik durchaus vergleichbar) zumeist unterschätzt wird.

Dabei ist lange bekannt, dass die Risiken für Frühgeburten, niedriges Geburtsgewicht, Gestationsdiabetes, Hypertonus usw. bei Schwangerschaften

in diesem Alter erhöht sind (16, 18, 28). Daher muss bei der Diskussion einer Kryokonservierung von Eizellen ohne medizinische Indikation auch die Beratung über den Zeitpunkt des späteren Transfers obligater Bestandteil des Patientengesprächs sein.

Kostenaspekte und bisherige Stellungnahmen

Nach unserem Verständnis muss die Kryokonservierung unfertilisierter Zellen aus nichtmedizinischer Indikation inklusive der vorangehenden (ovarielle Stimulation, Follikelpunktion) sowie späteren (ICSI, Transferzyklus) Leistungen über die GOÄ abgerechnet werden. Anders hat Israel diese Fragestellung entschieden, wo die Behandlung als „präventive Medizin“ eingestuft wurde, weil sie Eizellspenden und ineffektive Kinderwunschbehandlungen im „höheren“ Alter vermeiden soll. Dort erfolgt keine Unterscheidung zwischen „medizinischen“ und „nichtmedizinischen“ Gründen für das Einfrieren von Eizellen. In der Stellungnahme des dortigen Gremiums wird aber auch eine kritische Aufklärung gefordert, um übersteigerte (und potenziell falsche) Hoffnungen in eine „Fruchtbarkeitsversicherung“ durch das Einfrieren von Eizellen zu vermeiden (27).

Eine Task-Force der ESHRE (European Society for Human Reproduction and Embryology) hat kürzlich ebenfalls ein Positionspapier zum Thema veröffentlicht. Sie befürwortet die Methode unter gewissen Voraussetzungen wie z. B. einer ausführlichen Beratung über altersabhängige Chan-

cen, die offenen Fragen zum Follow-up der Kinder usw. Die Kostensituation wird darin genauso thematisiert wie die Notwendigkeit einer entsprechenden Datenerfassung (10).

In einer aktuellen Arbeit werden verschiedene Abrechnungsoptionen wie die Aufnahme in den Leistungskatalog der Krankenversicherung oder die Auslagerung durch spätere kostenfreie Transferzyklen diskutiert (20).

Zur Kosteneffektivität einer „zeitlichen Verlagerung der Reproduktion“ existieren mittlerweile mehrere Publikationen, deren Ergebnisse widersprüchlich sind (14, 29). Alle Autoren gehen aber davon aus, dass die effektivste Strategie darin besteht, Frauen darin zu unterstützen und sie dazu zu ermutigen, die Verwirklichung ihres Kinderwunsches nicht zu verschieben.

Zusammenfassung

Das diskutierte Problem wird in Zukunft vermutlich eine zunehmend aktuelle Fragestellung bilden, der wir uns daher nicht verschließen können und zu der eine Positionierung sinnvoll ist. Momentan sind die Studiendaten zu verschiedenen Aspekten noch unzureichend, um alle offenen Fragen eindeutig beantworten zu können. Außerdem ist zu erwarten, dass sich die Ergebnisse der Kryokonservierung unfertilisierter Oozyten weiter verbessern werden und heute gezogene Schlussfolgerungen mit weiterem Erkenntniszuwachs einer erneuten Aktualisierung bedürfen. Die Positionierung zu dieser Therapieoption muss und wird daher zukünftig notwendigerweise Modifikationen erfahren. Die nachfolgende Stellungnahme basiert auf dem aktuellen Stand des Wissens bis März 2012 sowie der Diskussion während des 8. Arbeitstreffens des Netzwerkes *FertiPROTEKT* (www.ferti-protekt.de) vom 23. bis 24. März 2012 in Münster. Sie wurde von den anwesenden Mitgliedern der im Netzwerk beteiligten Zentren mit einer Gegenstimme angenommen.

Stellungnahme des Netzwerkes FertiPROTEKT zur Kryokonservierung unbefruchteter Eizellen bei nichtmedizinischen Indikationen vom 24.3.2012

Obwohl das Netzwerk FertiPROTEKT seine primäre Aufgabe auch weiterhin in der Betreuung von Patientinnen mit medizinischen Gründen für eine Kryokonservierung von Gameten bzw. Ovargewebe sieht, möchten wir aufgrund zunehmender Nachfragen zur Kryokonservierung bei nichtmedizinischen Indikationen („social freezing“) Stellung nehmen.

Aufgrund der vorliegenden Daten zu den Erfolgsaussichten des Verfahrens (Überlebensrate nach Kryokonservierung etwa 80–90%, Fertilisierungsrate nach ICSI etwa 60–70%, Implantationsrate pro aufgetauter Eizelle etwa 10%, Geburtenrate pro aufgetauter Eizelle etwa 8%) halten wir für die individuelle Beratung und Entscheidung sowie die Umsetzung der Methode die folgenden Punkte für wichtig.

Diese sollen eine Hilfestellung geben, um die Chancen der Patientin sowie das Risiko einer späteren Schwangerschaft für Mutter und Kind individuell abzuwägen. Über die medizinischen Zusammenhänge sollte eingehend und differenziert beraten werden, damit die Patientin ihre Erfolgsaussichten realistisch einschätzen kann und keiner ungerechtfertigten Erwartungshaltung erliegt.

1. Die zum Zeitpunkt der Kryokonservierung volljährige Patientin muss individuell beraten und über die höheren Erfolgsaussichten im Alter <35 Jahre informiert werden.
2. Die individuellen Voraussetzungen der Patientin (z. B. aufgrund des Anti-Müller-Hormon (AMH)-Wertes) sollten in einem oder mehreren Stimulations-/Punktionszyklen die Möglichkeit der Gewinnung von insgesamt mindestens 10 (besser >15) Eizellen erwarten lassen.

3. Zur Stimulation sollte ein Protokoll mit geringem Überstimulationsrisiko angewendet werden (z. B. Antagonistenprotokoll mit einem GnRH-Agonisten zur Ovulationsinduktion).
4. Es muss ein etabliertes und speziell zur Kryokonservierung von Oozyten geeignetes Einfrierverfahren verwendet werden. Nach gegenwärtigem Kenntnisstand führt die Vitrifikation zu besseren Erfolgsraten als das Slow-freezing.
5. Voraussetzungen für die Durchführung der Vitrifikation sind eine ausreichende Erfahrung mit dieser Technik und das Wissen um die Besonderheiten bei der Vitrifikation von unbefruchteten Eizellen. Bei Anwendung der langsamen Kryokonservierung müssen entsprechend geeignete Einfrierlösungen für Oozyten sowie adaptierte Einfrierprotokolle verwendet werden.
6. Die Patientin muss über die mit dem Alter zunehmenden Schwangerschaftsrisiken aufgeklärt werden. Ein Transfer ab dem 50. Lebensjahr sollte vermieden werden. Die Schwangerschaftsbetreuung ist dem individuellen Risiko anzupassen.
7. Die Leistungen im Rahmen der Kryokonservierung bei nichtmedizinischer Indikation werden über die GOÄ abgerechnet.
8. Eine Kryokonservierung von Oozyten ohne medizinische Indikation muss auf speziellen Dokumentationsbögen in einem Register von FertiPROTEKT erfasst werden, um langfristig wichtige Daten zur Komplikations- und Erfolgsrate zu rekrutieren. Die Namen der beteiligten Zentren werden auf der Homepage von FertiPROTEKT aufgeführt.

Literatur

1. Allensbacher Berichte 2007: Unfreiwillige Kinderlosigkeit. www.ifd-allensbach.de/uploads/tx_reportsndocs/prd_0711.pdf
2. Bianchi V: Oocyte slow freezing using a 0.2-0.3 M sucrose concentration protocol: is it really the time to trash the cryopreservation machine? *Fertil Steril* 97 (2012) 1101-1107.
3. Broomfield DP et al.: Slow freezing vs. vitrification of oocytes: a comprehensive meta-analysis. *Fertil Steril* 96 (suppl.) (2011) S24.
4. Chian RC et al.: Obstetric outcomes following vitrification of in vitro and in vivo matured oocytes. *Fertil Steril* 91 (2009) 2391-2398.
5. Cil AP, Oktay K: Age-based success rates after elective oocyte cryopreservation (EOC): a pooled analysis of 2281 thaw cycles. *Fertil Steril* 96 (suppl.) (2011) S211.
6. Cobo A, et al.: Effect of different cryopreservation protocols on the metaphase II spindle in human oocytes. *Reprod Biomed Online* 17 (2008) 350-359.
7. Cobo A, Diaz C: Clinical application of oocyte vitrification: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Fertil Steril* 96 (2011) 277-285.
8. Cotichio G et al.: Vitrification may increase the rate of chromosome misalignment in the metaphase II spindle of human mature oocytes. *Reprod Biomed Online* 19(Suppl 3) (2009) 29-34.
9. Dowling-Lacey D et al.: Live birth from a frozen-thawed pronuclear stage embryo almost 20 years after its cryopreservation. *Fertil Steril* 95 (2011) 1120.e1-e3.
10. ESHRE Task Force on Ethics and Law including, Dondorp W, de Wert G, Pennings G, Shenfield F, Devroey P, Tarlatzis B, Barri P, Diedrich K: Oocyte cryopreservation for age-related fertility loss. *Hum Reprod* 27 (2012) 1231-1237.
11. Fadini R et al.: Human oocyte cryopreservation: comparison between slow and ultrarapid methods. *Reprod Biomed Online* 19 (2009) 171-180.
12. Feldschuh J et al.: Successful sperm storage for 28 years. *Fertil Steril* 84 (2005) 1017.
13. Hirsh AG: Vitrification in plants as a natural form of cryoprotection. *Cryobiology* 24 (1987) 214-228.
14. Hirshfeld-Cytron J et al.: Fertility preservation for social indications: a cost-based decision analysis. *Fertil Steril* 97 (2012) 665-670.
15. Kim TJ, Hong SW: Successful live birth from vitrified oocytes after 5 years of cryo-preservation. *J Assist Reprod Genet* 28 (2011) 73-76.
16. Kort DH et al.: Pregnancy after age 50: Defining risks for mother and child. *Am J Perinatol* 29 (2012) 245-250.
17. Le Ray C et al.: Association between oocyte donation and maternal and perinatal outcomes in women aged 43 years or older. *Hum Reprod* 27 (2012) 896-901.
18. López Teijón M et al.: Delivery of a healthy baby following the transfer of embryos cryopreserved for 13 years. *Reprod Biomed Online* 13 (2006) 821-822.
19. Mertes H, Pennings G: Social egg freezing: for better, not for worse. *Reprod Biomed Online* 23 (2011) 824-829.
20. Mertes H, Pennings G: Elective oocyte

- cryopreservation: who should pay? Hum Reprod 27 (2012) 9–13.
21. Noyes N et al.: Over 900 oocyte cryopreservation babies born with no apparent increase in congenital anomalies. Reprod Biomed Online 18 (2009) 769–776.
 22. Noyes N et al.: Oocyte cryo-preservation as a fertility preservation measure for cancer patients. Reprod Biomed Online 23 (2011) 323–333.
 23. Parmegiani L et al.: Blastocyst formation, pregnancy, and birth derived from human oocytes cryopreserved for 5 years. Fertil Steril 90 (2008) 2014.e7–e10.
 24. Patrizio P et al.: Ongoing implantations and baby rate per vitrified oocyte during third party reproduction using gametes from an egg bank. Fertil Steril 96 (Suppl) (2011) S53–S54.
 25. Porcu E et al.: Birth of a healthy female after intracytoplasmic sperm injection of cryopreserved human oocytes. Fertil Steril 68 (1997) 724–726.
 26. Rienzi L et al.: Embryo development of fresh 'versus' vitrified metaphase II oocytes after ICSI: a prospective randomized sibling-oocyte study. Hum Reprod 25 (2010) 66–73.
 27. Shkedi-Rafid S, Hashiloni-Dolev Y: Egg freezing for age-related fertility decline: preventive medicine or a further medicalization of reproduction? Analyzing the new Israeli policy. Fertil Steril 96 (2011) 291–294.
 28. Simchen MJ et al.: Pregnancy outcome after age 50. Obstet Gynecol 108 (2006) 1084–1088.
 29. Van Loendersloot LL et al.: Expanding reproductive lifespan: a cost-effectiveness study on oocyte freezing. Hum Reprod 26 (2011) 3054–3060.
 30. Van Uehm JF, et al.: Birth after cryopreservation of unfertilized oocytes. Lancet 1 (1987) 752–753.

Interessenkonflikte

Die Autoren erklären, dass keine Interessenkonflikte vorliegen.



Für die Autoren

**Prof. Dr. med.
Frank Nawroth**
Zentrum für Endokrinologie,
Kinderwunsch und
Pränatale Medizin im Barkhof
Mönckebergstr. 10
20095 Hamburg
Frank.Nawroth@
amedes-group.com