

Aus der Frauenklinik und Poliklinik
der Universität Würzburg
Direktor: Prof. Dr. med. Achim Wöckel

Die Bedeutung von Gonadotropin-Releasing-
Hormon-Agonisten in der Fertilitätsprotektion
von Frauen während einer zytotoxischen
Therapie: eine prospektive Kohortenstudie

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
vorgelegt von
Tabea Duch
aus Berlin

Würzburg, Februar 2016

Referentin: Priv.-Doz. Dr. med. Sabine Segerer

Korreferent: Prof. Dr. med. M. Fassnacht

Dekan: Prof. Dr. med. Matthias Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 26.06.2017

Die Promovendin ist Ärztin

Meinen Eltern gewidmet

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Auswirkungen onkologischer Therapiemaßnahmen auf die Fertilität	3
1.1.1	Auswirkungen einer Chemotherapie	4
1.1.2	Auswirkungen einer Radiatio	10
1.2	Beurteilung der ovariellen Reserve	11
1.3	Invasive Maßnahmen zum Fertilitätserhalt	15
1.3.1	Kryokonservierung fertilisierter und unfertilisierter Oozyten	15
1.3.2	Kryokonservierung von Ovarialgewebe	19
1.3.3	Transposition der Ovarien	22
1.4	Nicht-invasive Maßnahmen zum Fertilitätserhalt	24
1.4.1	GnRH-Analoga zur ovariellen Suppression	24
1.4.1.1	GnRH-Agonisten	27
1.4.1.2	GnRH-Antagonisten	29
2	Patienten und Methoden	31
2.1	Patientenkollektiv und Studiendesign	31
2.1.1	Therapiemaßnahmen zur Fertilitätsprotektion	32
2.1.2	Altersgruppen	33
2.1.3	Diagnosen	34
2.1.4	Zytotoxische Therapien	34
2.2	Beurteilung der ovariellen Reserve	35
2.3	Follow-up und Fragebogen	35
2.4	Endpunkte	36
2.5	Statistische Datenanalyse	36
3	Ergebnisse	38
3.1	Charakteristika der Studienpatientinnen	38
3.2	Fertilitätsparameter im Gesamtkollektiv	38
3.2.1	Hormonspiegel vor und nach Chemotherapie	39
3.2.2	Zyklus und Schwangerschaften nach Chemotherapie	42
3.3	Fertilitätsparameter altersabhängig	43
3.3.1	Fertilitätsparameter vor der Chemotherapie	44
3.3.2	Fertilitätsparameter nach der Chemotherapie	47
3.4	Fertilitätsparameter therapieabhängig	49
3.5	Einfluss von BMI und hormoneller Antikonception auf die Fertilitätsparameter	50
4	Diskussion	51
4.1	Diskussion der Ergebnisse	51
4.1.1	Wirkung von GnRH-Agonisten in der Fertilitätsprotektion im Gesamtkollektiv	51
4.1.2	Einfluss des Alters auf die Fertilitätsparameter	52
4.1.3	Einfluss von BMI und hormoneller Antikonception auf das AMH	53
4.2	Forschungskontext	56
4.2.1	AMH als Prädiktor der ovariellen Reserve	56
4.2.2	GnRH-Agonisten in der Fertilitätsprotektion	60
4.3	Methodische Limitationen dieser Studie	65
5	Zusammenfassung	69
6	Anhang	72
6.1	Abkürzungsverzeichnis	72
6.2	Fragebogen	73

7	Literaturverzeichnis.....	74
8	Tabellenverzeichnis.....	85
9	Abbildungsverzeichnis.....	86

1 Einleitung

Jede 48. Frau erkrankt derzeit noch vor Erreichen des 40. Lebensjahres an Krebs (Jemal et al., 2010). Obwohl darunter auch die onkologischen Erkrankungen im Säuglings- und Kleinkindalter fallen, sind in 99 % dieser Fälle Frauen im reproduktionsfähigen Alter betroffen (Bedaiwy et al., 2011). Die häufigsten Tumorentitäten bei Frauen dieser Altersgruppe sind u. a. Mammakarzinome, Melanome, Hodgkin-Lymphome und Leukämien. Dank der Optimierung der onkologischen Therapiemaßnahmen ist die Prognose von Patienten mit malignen Erkrankungen heute jedoch besser als jemals zuvor. So stieg in den letzten 30 Jahren die 5-Jahres-Überlebensrate von an Krebs erkrankten Kindern von 58 % auf 81 % und bei Erwachsenen von 50 % auf 68 % (Jemal et al., 2010). Diese Entwicklung führt dazu, dass heutzutage der Fokus der klinischen Forschung nicht allein auf den Überlebensraten, sondern insbesondere auch auf den Langzeitnebenwirkungen onkologischer Behandlungen liegt.

Während die meisten akuten Nebenwirkungen einer zytotoxischen Therapie, wie z. B. die Chemotherapie-induzierte Übelkeit, mittlerweile gut behandelt werden können, stellt vor allem die Gonadotoxizität weiterhin ein gravierendes Problem für junge Langzeitüberlebende dar. Durch den sozialen Trend, den Kinderwunsch erst später im Leben zu realisieren, haben viele der Frauen, die in jungen Jahren an Krebs erkranken, ihre Familienplanung häufig noch nicht abgeschlossen (CDC, 2014). Obwohl bei betroffenen Patientinnen zunächst natürlich allein das Erreichen einer Remission bedeutsam ist, steht nach überstandener zytotoxischer Therapie sehr häufig die Frage nach dem Fertilitätserhalt im Mittelpunkt (Schover, 2009). So gaben einer bundesweiten Studie aus dem Jahr 2008 zufolge 90 % aller Langzeitüberlebenden einer malignen Erkrankung im Kindes- und Jugendalter an, sich ein Kind zu wünschen (Balcerek, 2012). Die Gonadotoxizität der onkologischen Therapie verhindert jedoch in vielen Fällen die Erfüllung dieses Wunsches. So sinkt nach Überleben einer malignen Erkrankung die Wahrscheinlichkeit ein Kind zu gebären um 30-50 % (Green et al., 2002, Magelssen et al., 2008, Cvancarova et al., 2009, Chung et al., 2013). Daher ist die Forschung an verschiedenen

Maßnahmen zum Fertilitätserhalt onkologischer Patienten von immenser Bedeutung.

Im Gegensatz zu Männern, bei denen die Kryokonservierung von Ejakulat ein seit langem etabliertes Verfahren ist, ist die Situation bei Frauen wesentlich komplexer. Dies ist durch verschiedene Faktoren bedingt: Zum einen variiert die Gonadotoxizität, abhängig von Art (konventionelle Chemotherapie, Radiatio, oder „targeted therapy“) und Dosis der zytotoxischen Therapie sowie insbesondere auch vom jeweiligen Alter der Patientin. Zum anderen sind die Dringlichkeit des Therapiebeginns (sofort oder nach einem Zeitfenster von ca. zwei Wochen) sowie die aktuelle Lebenssituation der Patientin (fester Partner oder nicht) für die Art der möglichen Ovarprotektion bedeutend.

Zur Gewährleistung einer möglichst optimalen Behandlung aller Patientinnen und Patienten, die eine Chemo- oder Strahlentherapie benötigen, wurde 2006 in Deutschland das Netzwerk *FertiPROTEKT* gegründet, ein Zusammenschluss von mittlerweile über 70 spezialisierten universitären und privaten Zentren im gesamten deutschsprachigen Raum (www.fertiprotekt.de). Die verschiedenen Verfahren zur Ovarprotektion sind bislang noch sehr aufwendig, oder teilweise noch experimentell und weisen keine zufriedenstellenden Erfolgsraten auf. Daher ist es notwendig, weitere mögliche Verfahren zur Ovarprotektion zu entwickeln und zu überprüfen.

In dieser Arbeit soll eine prospektive klinische Kohortenstudie im Rahmen des *FertiPROTEKT*-Netzwerks an einem Kollektiv von 116 Patientinnen der Universitätsfrauenklinik Würzburg vorgestellt werden, die während einer zytotoxischen Therapie Gonadotropin-Releasing-Hormon-Agonisten (GnRH-a) zur Fertilitätsprotektion erhielten. Weiterhin sollen die derzeitigen Optionen zur Ovarprotektion unter gonadotoxischer Therapie erörtert werden.

1.1 Auswirkungen onkologischer Therapiemaßnahmen auf die Fertilität

Trotz des wissenschaftlichen Fortschritts im Bereich onkologischer Therapiemaßnahmen gibt es bislang nur wenige selektive Krebstherapien, so

dass nicht nur maligne Zellen, sondern auch andere – insbesondere schnell proliferierende Zellen, wie z. B. Knochenmarks-, Thymus- und gastrointestinale Mukosazellen – durch zytotoxische Therapien geschädigt werden (Bedaiwy et al., 2011). Auch Primordialfollikel reagieren sehr sensibel auf zytotoxische Therapien, wobei diese, im Gegensatz zu den obengenannten Zelltypen, nach derzeitigem Wissensstand beim Menschen wahrscheinlich nicht regenerationsfähig sind (Johnston und Wallace, 2009). Die Zahl der Primordialfollikel, welche die ovarielle Reserve definiert, ist bereits im Mutterleib festgelegt und schwindet im Laufe des Lebens kontinuierlich bis zum Erreichen der Menopause im durchschnittlichen Alter von 50-51 Jahren (Johnston und Wallace, 2009, Meiorow et al., 2010). Die Schädigung dieser ovariellen Reserve durch zytostatische Therapien hat je nach Ausmaß sehr unterschiedliche Folgen. So reichen die Symptome der Gonadotoxizität von Zyklusunregelmäßigkeiten über Amenorrhö und Infertilität bis hin zur kompletten vorzeitigen ovariellen Insuffizienz (POF = premature ovarian failure) (Chen et al., 2011). Diese wird definiert als vollständiger Verlust der ovariellen Funktion, einhergehend mit einem hypergonadotropen Hypogonadismus mit steigenden Gonadotropinspiegeln und sinkenden Estradiolspiegeln (Ataya et al., 1985). Diese hormonellen Veränderungen, insbesondere der Estradiolmangel, können zu weiteren, teilweise sehr belastenden Nebenwirkungen, wie z. B. Hitzewallungen, vaginaler Atrophie und Osteoporose führen (Ataya et al., 1985). Das Ausmaß der Schädigung der ovariellen Reserve mit ihren jeweiligen Folgen ist dabei stark abhängig vom Alter der Patientin zum Zeitpunkt des Therapiebeginns sowie von der Art und Dosis der zytotoxischen Therapie (Lee et al., 2006, Johnston und Wallace, 2009, Meiorow et al., 2010).

1.1.1 Auswirkungen einer Chemotherapie

In der Vergangenheit konnte sowohl in Tierstudien (Koyama et al., 1977) als auch anhand von histologischen Untersuchungen menschlichen Ovarialgewebes (Warne et al., 1973, Meiorow et al., 1999a) gezeigt werden, dass Chemotherapeutika eine ovarielle Atrophie und Fibrose induzieren sowie

zu einem Verlust an Primordialfollikeln und einem verminderten Gesamtgewicht der Ovarien führen. Die genauen zellulären Mechanismen der Chemotherapie-induzierten ovariellen Insuffizienz sind Gegenstand aktueller Forschung. Bislang wurde – basierend auf In-vitro-Studien – vermutet, dass Chemotherapeutika durch die Induktion einer Apoptose von Prägranulosazellen und Oozyten direkt zytotoxisch auf ruhende Primordialfollikel wirken (Perez et al., 1997, Meirrow et al., 1999b, Meirrow und Nugent, 2001). Eine neuere Studie am Mausmodell in-vivo zeigte jedoch, dass das Alkylans Cyclophosphamid ruhende Primordialfollikel nicht direkt durch die Induktion von Apoptose schädigt, sondern diese, im Gegenteil, durch die Aktivierung des PI3K/PTEN/Akt-Signalwegs in Oozyten und Granulosazellen vermehrt aktiviert und zum Wachstum anregt (Kalich-Philosoph et al., 2013). Die vermehrte Induktion von Follikelwachstum führt jedoch langfristig zu einem irreversiblen „burnout“ der Primordialfollikel-Reserve, was das gehäufte Auftreten vorzeitiger ovarieller Insuffizienz nach einer Chemotherapie erklären könnte (Kalich-Philosoph et al., 2013). Darüber hinaus konnte der Mechanismus der direkten Apoptose-Induktion durch Chemotherapeutika bei größeren, sich bereits im Wachstum befindenden Follikeln, bestätigt werden (Kalich-Philosoph et al., 2013). Dies wird durch die höhere Mitoserate der Granulosazellen wachsender Follikel und die dadurch erhöhte Suszeptibilität für eine antiproliferativ wirkende Chemotherapie erklärt (Lopez und Luderer, 2004, Kalich-Philosoph et al., 2013).

Weiterhin beseht Evidenz für eine zusätzliche Schädigung der ovariellen Reserve durch Chemotherapeutika über indirekte Mechanismen, wie vaskuläre Infarkte und fokale kortikale Fibrose, die zu einem ovariellen Stromaverlust mit Verminderung der Anzahl und Qualität der verbleibenden Follikel führen (Meirrow et al., 2007).

Insbesondere das Alter einer Frau wurde bisher in vielen klinischen Studien als ein entscheidender Risikofaktor für die Entwicklung einer POF nach einer Chemotherapie identifiziert (Chapman et al., 1979, Rivkees und Crawford, 1988, Kreuser et al., 1990). So zeigten Petrek et al in einer klinischen Studie mit 595 Brustkrebspatientinnen, die u. a. Cyclophosphamid, Doxorubicin und

Metothrexat erhielten, dass mit zunehmendem Alter signifikant häufiger eine permanente Amenorrhö auftrat. Die Patientinnen im Alter von unter 35 Jahren entwickelten zu 85 % innerhalb von 6 Monaten wieder einen regelmäßigen Zyklus. Im Alter zwischen 35 und 40 Jahren hatten dagegen nach 6 Monaten nur 61 % und nach 5 Jahren nur noch 45 %, einen regelmäßigen Zyklus und unter den über-40-Jährigen waren es noch weniger, mit hohen Raten permanenter Amenorrhö (Petrek et al., 2006). Ähnliche Resultate zeigte eine andere Studie, in der die Rate der Chemotherapie-induzierten Amenorrhö unter dem CMF-Schema (Cyclophosphamid, Methotrexat, 5-Fluouracil) 40 % bei den Patientinnen unter 40 Jahren und 76 % bei den Patientinnen über 40 Jahren betrug (Bines et al., 1996). In einer Studie mit präpubertären Patientinnen, die eine Chemotherapie erhielten, entwickelte hingegen der Großteil im Verlauf eine normale Pubertät mit regelmäßigen Zyklen (Chiarelli et al., 1999). Auch eine Studie mit Hodgkin-Lymphom-Patientinnen, die jeweils vier Zyklen ABVD (Adriamycin, Bleomycin, Vinblastin, Dacarbazin) erhielten, zeigte eine signifikant geringere Gonadotoxizität bei den unter-25-jährigen Patientinnen (Brusamolino et al., 2000). Die Ursache für die Zunahme der POF-Inzidenz mit steigendem Alter liegt hauptsächlich in der stark negativen Korrelation zwischen der ruhenden Primordialfollikel-Population, welche die ovarielle Reserve repräsentiert, und dem Alter einer Frau (Wallace und Kelsey, 2010). Hierdurch scheinen sich auch die gonadotoxischen Effekte einer Chemotherapie stärker zu manifestieren als bei jüngeren Frauen (Meirow et al., 2010).

Zusätzlich zum Alter der Patientin ist auch die Art und Dosis der Chemotherapie ein entscheidender Prädiktor für die Gonadotoxizität (Meirow, 2000). Insgesamt kann der Großteil aller Chemotherapeutika in Alkylantien (z. B. Cyclophosphamid, Melphalan), Antibiotika (z. B. Adriamycin, Bleomycin), Antimetabolite (z. B. 5-Fluouracil, Methotrexat), pflanzliche Alkaloide (z. B. Vincristin), Topoisomerasehemmer (z. B. Etoposid) und andere (z. B. Cisplatin) eingeteilt werden (Chen et al., 2011). Dabei sind genaue Aussagen über die Toxizität einzelner Substanzen nur schwer möglich, da häufig Kombinationstherapien verwendet werden (Meirow et al., 2010). Verschiedenen Studien zufolge sind jedoch Alkylantien die Substanzen mit dem höchsten

gonadotoxischen Potential (Meirow, 2000, Falcone und Bedaiwy, 2005, Oktem und Oktay, 2007). Adriamycin und Cisplatin werden zu den Substanzen mittleren gonadotoxischen Potentials gezählt, wohingegen 5-Fluouracil, Bleomycin, Vincristin und Methotrexat weniger gonadotoxisch zu sein scheinen, s. Tab. 1 (Sonmezer und Oktay, 2004). Die Gonadotoxizität einer Chemotherapie ist dabei auch von der jeweiligen kumulativen Dosis abhängig (Brincker et al., 1987, Rivkees und Crawford, 1988, Meirow et al., 1999b, Blumenfeld, 2012).

Tab. 1: Einteilung verschiedener Zytostatika nach Grad der Gonadotoxizität.

[Modifiziert nach (Sonmezer und Oktay, 2004)]

Hohe Gonadotoxizität	Mittlere Gonadotoxizität	Geringe Gonadotoxizität
Cyclophosphamid	Adriamycin	Methotrexat
Melphalan	Cisplatin	5-Fluouracil
Busulfan		Vincristin
Procarbazin		Bleomycin
		Actinomycin D

So wurde in einer Meta-Analyse über in Abhängigkeit vom verwendeten Therapieregime und vom Alter variierende POF-Raten von 0-100 % berichtet (Chung et al., 2013). Besonders gering ist die Gonadotoxizität bei Brustkrebstherapien nach dem AC-Regime (Adriamycin, Cyclophosphamid) mit POF-Raten von 13 % unter Patientinnen im Alter von 30-39 Jahren (Chung et al., 2013). Auch das ABVD-Regime (Adriamycin, Bleomycin, Vinblastin, Dacarbazin) zur Therapie von Hodgkin-Lymphomen hat ein nur geringes gonadotoxisches Potential (Chung et al., 2013). So entwickelten beispielsweise 84,6-88,9 % der Patientinnen einer Studie der *Deutschen Hodgkin Studiengruppe* nach der Therapie mit ABVD wieder einen regelmäßigen Zyklus (Behringer et al., 2005). Stark gonadotoxisch hingegen wirkt die Hodgkin-Lymphom-Therapie nach dem Dosis-eskalierten BEACOPP-Protokoll (Bleomycin, Etoposid, Adriamycin, Cyclophosphamid, Vincristin, Procarbazin, Prednison) mit Therapie-induzierten Amenorrhö-Raten von 66,7 % (Behringer et al., 2005) sowie die Mammakarzinom-Therapie nach dem CMF-Schema (Cyclophosphamid, Methotrexat, 5-Fluouracil) mit POF-Raten von 51-77 % unter den 30-39-Jährigen, s. auch Tab. 2 (Chung et al., 2013). Die höchsten Raten ovarieller Insuffizienz (60-100 % POF) weisen jedoch Patientinnen auf,

die vor einer Stammzelltransplantation (SZT) eine Hochdosischemotherapie erhalten, wobei eine zusätzliche Ganzkörperbestrahlung die Gonadotoxizität noch weiter erhöht (Meirow et al., 2010, Chung et al., 2013). So entwickelten einer Studie (n=718) zufolge 90 % aller Patientinnen nach Hochdosischemotherapie (Cyclophosphamid oder Busulfan) und Ganzkörperbestrahlung (10-15,75 Gy) eine POF, wohingegen die mit Hochdosischemotherapie allein konditionierten Patientinnen in 60 % der Fälle eine POF aufwiesen (Meirow et al., 2010).

Tab. 2: POF-Rate unter Brustkrebs- und Hodgkin-Lymphom-Patientinnen.

[Modifiziert nach (Behringer et al., 2005, Chung et al., 2013)]

Chemotherapie-Protokoll	Alter in Jahren	POF-Rate
Mammakarzinom		
AC	< 30	0 %
	30-39	13 %
	≥ 40	57-63 %
FAC	< 30	0 %
	30-39	10-25 %
CMF	< 30	19 %
	30-39	51-77 %
	≥ 40	83-98 %
CMF + Taxane		79 %
Hodgkin-Lymphom		
ABVD		Sehr geringes Risiko
BEACOPP (Dosis-eskaliert)		66,7 %
Stammzelltransplantation		72-100 %

Die Definition der POF variiert je nach Studie. AC = Adriamycin, Cyclophosphamid; FAC = 5-Fluouracil, Adriamycin, Cyclophosphamid; CMF = Cyclophosphamid, Methotrexat, 5-Fluouracil, ABVD = Adriamycin, Bleomycin, Vinblastin, Dacarbazin; BEACOPP = Bleomycin, Etoposid, Adriamycin, Cyclophosphamid, Vincristin, Procarbazine, Prednison.

Weniger bekannt sind bisher die Effekte neuerer, sogenannter zielgerichteter Therapieformen („targeted therapies“, z. B. Tyrosinkinaseinhibitoren und monoklonale Antikörper) auf die ovarielle Funktion. So ist beispielsweise die Datenlage für den Tyrosinkinaseinhibitor Imatinib, der seit vielen Jahren zur Therapie einer BCR-ABL-positiven chronischen myeloischen Leukämie verwendet wird, bislang unklar. Es gab bisher zwar immer wieder Berichte über Schwangerschaften während einer Imatinib-Therapie, insgesamt wird die potentielle Gonadotoxizität jedoch sehr kontrovers diskutiert (Christopoulos et al., 2008, Malozowski et al., 2008, Pye et al., 2008). So zeigte beispielsweise ein Fallbericht aus dem Jahr 2011, dass bei einer Patientin erst 2 Monate nach

dem Absetzen von Imatinib eine erfolgreiche ovarielle Stimulationsbehandlung durchgeführt werden konnte (höhere Estradiolspiegel und Gewinnung von 43 Oozyten, im Vgl. zu 9 unter Imatinib-Therapie) (Zamah et al., 2011). Eine Studie am Mausmodell hingegen zeigte einen sogar protektiven Effekt von Imatinib auf murine Primordial- und Primärfollikel während einer Chemotherapie mit Cisplatin (Gonfloni et al., 2009). Zur genaueren Einschätzung der Effekte einer Imatinib-Therapie auf die Gonaden sind folglich weitere Studien erforderlich.

Auch der monoklonale Antikörper Bevacizumab, der in der Therapie verschiedener solider Tumoren (u. a. Kolon- und Mammakarzinom) verwendet wird, ist potentiell gonadotoxisch. So gab die amerikanische *Food and Drug Administration* 2011 diesbezüglich eine Warnung heraus, nachdem in einer Studie 34 % unter den Kolonkarzinom-Patientinnen nach Bevacizumab-Therapie eine zumeist irreversible POF aufwiesen. Im Therapiearm ohne Bevacizumab waren es dagegen nur 2 % (NCI, 2011).

1.1.2 Auswirkungen einer Radiatio

Auch bei Patientinnen, die eine Radiatio des Abdomens, des Beckens oder des gesamten Körpers benötigen, besteht ein hohes Risiko, im Therapieverlauf eine Infertilität oder Amenorrhö bis hin zur kompletten ovariellen Insuffizienz zu entwickeln. Ähnlich einer Chemotherapie ist auch hier das Ausmaß der Schädigung abhängig von der applizierten Dosis und vom Alter der Patientin sowie darüber hinaus vom Ort der Bestrahlung und dem genauen Fraktionsschema (Chung et al., 2013). Zusätzlich variiert die Toxizität einer Strahlentherapie in Abhängigkeit vom Zellzyklus. So reagieren Primordialfollikel sensibler auf eine Bestrahlung als reifere Follikel (von Wolff und Dian, 2012). Wallace et al entwickelten im Jahr 2005 ein Kalkulationsmodell zur Vorhersage des Alters, in dem nach einer Radiatio der Beckenregion eine ovarielle Insuffizienz auftritt. Diesem Modell zufolge beträgt die Dosis, die unmittelbar nach der Radiatio zu einer ovariellen Insuffizienz führt, 18,4 Gy im Alter von 10 Jahren, 16,5 Gy im Alter von 20 Jahren und 14,3 Gy im Alter von 30 Jahren (Wallace et al., 2005). Weiterhin wird angenommen, dass bereits eine Dosis von 2 Gy zu einem Verlust von 50 % der Primordialfollikel führt (Wallace et al.,

2003). In Kombination mit einer Chemotherapie, insbesondere mit Alkylantien, verstärkt sich die Gonadotoxizität einer Strahlentherapie (Chung et al., 2013). Auch der Uterus scheint durch eine Radiatio, u. a. durch einen verminderten uterinen Blutfluss, geschädigt zu werden (Critchley et al., 1992). So wurde nach einer Strahlentherapie im Kindesalter im Verlauf bei den Betroffenen ein geringeres Uterusvolumen sowie eine Abnahme der Endometriumdicke beobachtet (Critchley et al., 1992, Larsen et al., 2004). Diese Veränderungen bergen das Risiko einer erhöhten Abortrate, einer erhöhten Frühgeburtsrate und einer vermehrten intrauterinen Wachstumsretardierung (Critchley et al., 2002, Green et al., 2002). Die durch Radiatio hervorgerufene Schädigung des Uterus ist irreversibel, es wurde jedoch über eine leichte Zunahme der Endometriumdicke und des Uterusvolumens unter einer Hormonersatztherapie berichtet (Bath et al., 1999).

1.2 Beurteilung der ovariellen Reserve

Viele Frauen mit einer reduzierten ovariellen Reserve weisen dennoch regelmäßige Menstruationszyklen auf (Gnoth et al., 2008). Daher ist es sinnvoll, neben der Zyklusanamnese weitere Parameter zur Beurteilung der ovariellen Reserve heranzuziehen. Hierzu eignet sich die sonographische Bestimmung des Ovarvolumens und der Zahl der antralen Follikel (AFC = antral follicle count) in Kombination mit serologischen Markern. In der klinischen Praxis werden hierfür am häufigsten die Spiegel der Gonadotropine Follikelstimulierendes Hormon (FSH) und luteinisierendes Hormon (LH) sowie die Estradiol- und Inhibin-B-Spiegel bestimmt (Meirow et al., 2010). Die beiden aus der Adenohypophyse freigesetzten Gonadotropine FSH und LH regulieren die ovarielle Funktion: FSH fördert die Reifung und Estradiolproduktion in den Granulosazellen antraler Follikel (Follikel ab dem Tertiärstadium). LH induziert in der Mitte des Zyklus die Ovulation des dominanten Follikels. Inhibin B wird von den Granulosazellen prä-antraler und kleiner antraler Follikel freigesetzt und wirkt als parakriner Modulator der Follikelreifung sowie der zyklischen Follikelrekrutierung (Knight und Glister, 2006). Darüber hinaus beeinflusst es über einen negativen Feedback-Mechanismus die FSH-Sekretion (Johnston

und Wallace, 2009). Mit dem Alter nimmt die Produktion von Inhibin B und Estradiol aufgrund der sinkenden Follikelzahl ab, wodurch der FSH-Spiegel wegen des fehlenden negativen Feedbacks steigt (Johnston und Wallace, 2009).

Ein großer Nachteil dieser serologischen Parameter ist jedoch, dass ihre Spiegel starken zyklusabhängigen Schwankungen unterliegen, wodurch nur ungenaue Aussagen über die ovarielle Reserve getroffen werden können (Muttukrishna et al., 2005, Broer et al., 2014, Randolph et al., 2014). Darüber hinaus manifestieren sich Veränderungen der Werte erst zu einem sehr späten Zeitpunkt, wenn die Follikeldepletion bereits fortgeschritten ist (Broer et al., 2014). So zeigt sich ein wesentlicher Anstieg der FSH-Konzentration beispielsweise erst, wenn bereits das Stadium der Perimenopause erreicht ist (Burger et al., 1999). Daher sind diese serologischen Parameter zwar gute Indikatoren für die periovulatorische Aktivität reifender Follikel, aber unzureichend in der Beurteilung der Frühstadien einer ovariellen Insuffizienz (Nelson et al., 2012).

Ein hierfür wesentlich sensiblerer Indikator ist das Anti-Müller-Hormon (AMH), welches von den Granulosazellen Gonadotropin-unabhängig wachsender Primär- und Sekundärfollikel sowie früher Antralfollikel (< 4 mm) sezerniert wird (Broer et al., 2014). Da die Anzahl dieser Follikel direkt proportional zur Anzahl der Primordialfollikel ist, kann das AMH als indirekter Parameter zur Bestimmung der ovariellen Reserve verwendet werden (Broer et al., 2014). Das Anti-Müller-Hormon bewirkt eine Hemmung der vorzeitigen Reifung ruhender Primordialfollikel und scheint die Sensibilität der Follikel für den FSH-abhängigen Selektionsprozess zu vermindern (Gnoth et al., 2008). So konnte in einer Tierstudie mit Knockout-Mäusen gezeigt werden, dass es ohne AMH zu einer viel höheren Rekrutierungsrate von Primordialfollikeln sowie zu einer vermehrten und früheren Selektion FSH-abhängiger präovulatorischer Follikel kam (Visser et al., 2007). In der Folge kam es jedoch auch zu einer höheren Atresie-Rate und somit zu einer schnelleren Erschöpfung der ovariellen Reserve.

Das AMH eignet sich sehr gut für die klinische Anwendung, da die Serumspiegel (im Gegensatz zu Estradiol, FSH und Inhibin B) unabhängig vom Wachstum größerer Follikel (> 8-10 mm) in der späten Follikelphase des Zyklus sind (Broer et al., 2014). Auch korreliert der AMH-Spiegel gut mit der altersabhängigen Follikeldepletion im Leben einer Frau: Im reproduktionsfähigen Alter haben Frauen hohe AMH-Spiegel, welche mit zunehmendem Alter kontinuierlich auf nicht mehr nachweisbare Werte in der Menopause absinken (van Rooij et al., 2005, Broer et al., 2014). So sank der AMH-Wert in einer Studie mit 366 gesunden Probandinnen ab dem Alter von 21 Jahren um durchschnittlich 5,6 % pro Jahr (95%-Konfidenzintervall (CI) 3,7-7,4 %; $p < 0,001$) (Bentzen et al., 2013).

Verschiedene Studien sowie erste Meta-Analysen konnten mittlerweile nachweisen, dass der AMH-Spiegel zur Erfassung der follikulären Reserve aktuell der am besten geeignete serologische Verlaufsparemeter ist (Gnoth et al., 2008, ASRM, 2012, Anderson und Wallace, 2013, Broer et al., 2014). Schon 2002 zeigte eine erste Studie mit Patientinnen, die sich einer In-vitro-Fertilisations-Behandlung (IVF) unterzogen, eine hohe Korrelation zwischen den gemessenen AMH-Werten und der Anzahl der Follikel, die nach der Superovulation gewonnen werden konnten: Je höher der AMH-Spiegel am 3. Tag der Stimulationsbehandlung war, desto mehr Oozyten konnten gewonnen werden (Seifer et al., 2002). Auch van Rooij et al wiesen eine starke Korrelation zwischen AMH-Spiegeln, sonographisch bestimmter Anzahl von Antralfollikeln (AFC) und der altersabhängigen Abnahme der ovariellen Reserve nach. FSH und Inhibin korrelierten hingegen nur bedingt mit der ovariellen Reserve, und Estradiol zeigte keinerlei Zusammenhang (van Rooij et al., 2005). Bestätigt wurde die Aussagekraft des AMH als Prädiktor der ovariellen Reserve durch eine Studie mit 42 Patientinnen, die sich aufgrund benigner Erkrankungen einer Oophorektomie unterzogen. Hier korrelierten der AMH-Wert und der AFC sehr gut mit der Anzahl der Primordialfollikel im entnommenen Ovargewebe (Hansen et al., 2011).

Insgesamt sind diese Ergebnisse auch auf die Schädigung der ovariellen Reserve durch gonadotoxische Therapiemaßnahmen übertragbar. So zeigten

Nielsen et al, dass die AMH-Spiegel Langzeitüberlebender nach einer Krebserkrankung im Kindesalter in Abhängigkeit von der Gonadotoxizität der jeweiligen Therapie unterschiedlich stark absanken (Nielsen et al., 2013). Zur Beurteilung der ovariellen Reserve bei Chemotherapie-Patientinnen empfiehlt es sich, den AMH-Spiegel vor und frühestens 12 Monate nach der gonadotoxischen Therapie (in diesem Zeitraum erholen sich die Hormonwerte teilweise wieder) zu bestimmen, eventuell in Kombination mit einem AFC (Anderson und Wallace, 2013).

1.3 Invasive Maßnahmen zum Fertilitätserhalt

Um dem Verlust der Fertilität durch gonadotoxische Therapiemaßnahmen entgegenzuwirken, gibt es bei Frauen derzeit, abhängig von der individuellen Situation, verschiedene Möglichkeiten, welche auch in invasive und nicht-invasive Verfahren unterteilt werden können. Die invasiven Verfahren zum Fertilitätserhalt umfassen die Kryokonservierung fertilisierter und unfertilisierter Oozyten, die Kryokonservierung von Ovarialgewebe und die Transposition der Ovarien.

1.3.1 Kryokonservierung fertilisierter und unfertilisierter Oozyten

Als Kryokonservierung (von Gr. *krýos* = Kälte, Frost, Eis) wird das Aufbewahren von Zellen oder Gewebe bei Temperaturen von -196 °C bezeichnet. Das Verfahren beruht auf der reversiblen Dehydrierung biologischen Materials bei dieser Temperatur, welche meist durch Applikation von flüssigem Stickstoff erreicht wird. Bereits 1949 wurde die erste erfolgreiche Kryokonservierung von Spermien durchgeführt (Polge et al., 1949). Heutzutage wird zunehmend auch das Verfahren der Vitrifizierung verwendet, bei der das Gewebe blitzartig abgekühlt wird, so dass eine glasartige hochvisköse Masse entsteht. Der Vorteil dieses Verfahrens liegt in der Vermeidung jeglicher Kristallbildung, wodurch es sich insbesondere zur Konservierung von Oozyten eignet, welche aufgrund des hohen Wassergehalts besonders sensibel sind (Kuwayama, 2007). In der

Fertilitätsprotektion findet die Kryokonservierung Anwendung zur Aufbewahrung von Ovarialgewebe sowie von fertilisierten und unfertilisierten Oozyten. Hierbei ist zu beachten, dass nach deutscher Rechtsprechung keine Embryonen, sondern nur imprägnierte Oozyten im Pronukleus-Stadium (Pn-Zellen), d. h. vor Verschmelzung der väterlichen und mütterlichen Vorkerne, kryokonserviert werden dürfen (ESchG, 1990).

Für die Kryokonservierung von Oozyten und Pronukleus-Zellen (Pn-Zellen) ist zunächst eine ovarielle Stimulationsbehandlung zur Gewinnung mehrerer reifer Oozyten in einem Zyklus nötig. Hierfür eignen sich verschiedene Standardprotokolle, wie z. B. das in der Universitätsfrauenklinik Würzburg verwendete Antagonisten-Protokoll (s. Abb. 1).

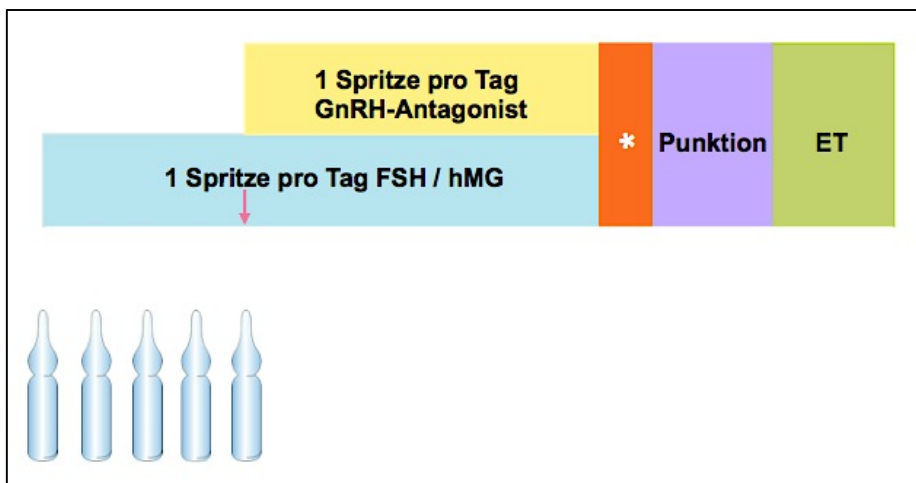


Abb. 1: GnRH-Antagonisten-Protokoll zur ovariellen Stimulation.
hMG = humanes Menopausengonadotropin,
* = Ovulationsinduktion mittels hCG, ET = Embryotransfer.

Hierbei beginnt die Stimulation idealerweise am 2. oder 3. Zyklustag mit der täglichen Gabe von rekombinantem Follikel-stimulierendem Hormon (150-300 IU pro Tag). Wenn aufgrund einer dringlichen onkologischen Therapiemaßnahme nicht genügend Zeit für den optimalen Stimulationsbeginn gegeben ist, können Fallstudien zufolge jedoch auch nach einer willkürlich begonnenen Stimulation ausreichend Oozyten (9-17) für eine Kryokonservierung gewonnen werden (Sonmezer et al., 2011). Bei Patientinnen mit hormonrezeptor-positiven Mammakarzinomen wird empfohlen, zusätzlich zum FSH einen Aromatasehemmer (z. B. 5 mg Letrozol) täglich bis zur

Ovulationsinduktion zu geben, um die potentiellen Nebenwirkungen erhöhter Estradiolspiegel während einer Stimulationsbehandlung abzuschwächen (Reddy und Oktay, 2012). Dabei ist noch nicht abschließend geklärt, ob erhöhte Estradiolspiegel durch die hormonelle Stimulation bei Mammakarzinom-Patientinnen eventuell einen tumorprogressionsfördernden Effekt haben.

Abhängig von der sonographisch ermittelten Follikelgröße (ab 10-12 mm) wird am 6. oder 7. Zyklustag mit der täglichen Gabe eines Gonadotropin-Releasing-Hormon-Antagonisten (GnRH-ant, z. B. Cetorelix) begonnen, der den vorzeitigen Eisprung verhindern soll. Sobald die Follikel groß genug sind (18-20 mm), wird die Ovulation durch die einmalige Injektion von humanem Choriongonadotropin (hCG), z. B. 5000 IU Predalon® induziert. Daraufhin kann dann, ca. 36 Stunden später, die sonographisch gesteuerte transvaginale Follikelpunktion mit Entnahme von ca. 10-15 Oozyten erfolgen (s. Abb. 2). Wenn bei der betroffenen Patientin eine Partnerschaft besteht, kann in Abhängigkeit vom Spermogramm des Partners eine extrakorporale Fertilisation mittels In-vitro-Fertilisation (IVF) oder – bei eingeschränkter männlicher Fertilität – mittels intrazytoplasmatischer Spermieninjektion (ICSI) durchgeführt werden. Anschließend werden die Pn-Zellen oder Oozyten kryokonserviert, bzw. vitrifiziert. Nach erfolgreicher Krebstherapie können die befruchteten Eizellen wieder aufgetaut werden und nach adäquater Vorbereitung des Endometriums mit einem Katheter in die Gebärmutterhöhle eingebracht werden.

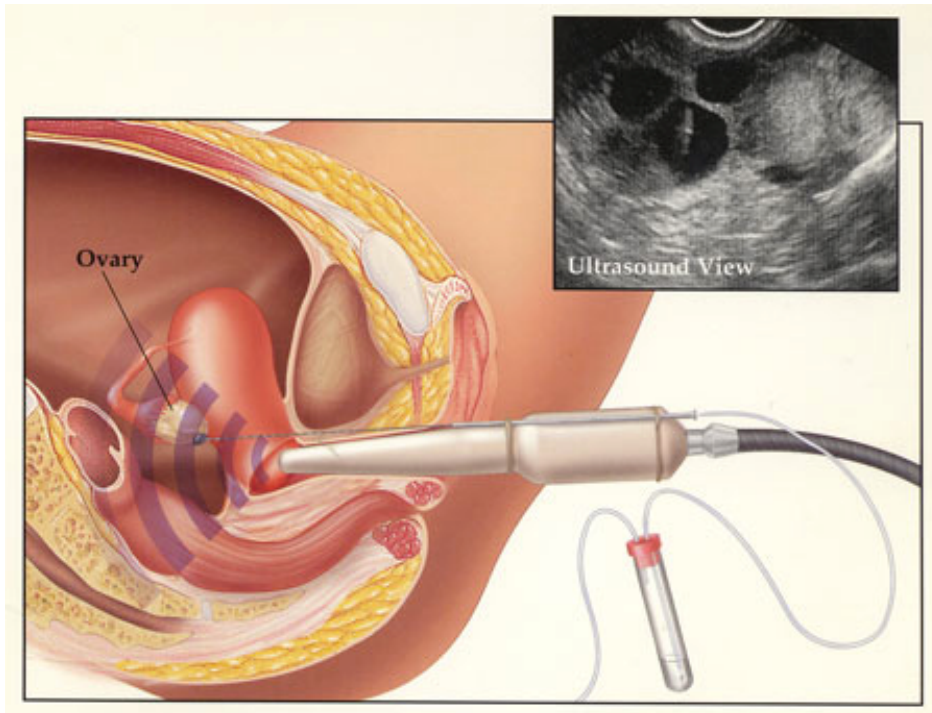


Abb. 2: Sonographisch gesteuerte Follikelpunktion nach ovarieller Stimulation.
 (Sundarapandian et al., 2009)

Eine weitere Option in onkologischen Notfallsituationen, die eine dringliche Therapie erfordern, bietet die In-vitro-Maturation (IVM). Dieses relativ neue Verfahren erlaubt die Entnahme von unreifen Oozyten zu einem beliebigen Zeitpunkt im Zyklus ohne vorherige Stimulation (Chian et al., 2004). Die Reifung erfolgt vor der Kryokonservierung in vitro. Dadurch kommt es weder zu einer Verzögerung der onkologischen Therapie, noch zu erhöhten Hormonspiegeln durch eine Stimulation. Bisher ist die Erfahrung mit der IVM jedoch nur sehr gering und es gibt nur vereinzelte Berichte über erfolgreiche Schwangerschaften (Cha et al., 1991, Tucker et al., 1998, Kan et al., 2004). Darüber hinaus besteht Unklarheit über mögliche epigenetische Effekte des Maturationsprozesses in vitro, weshalb die IVM bisher als experimentelles Verfahren gilt, das nur zusätzlich zu anderen angeboten werden sollte (Chian et al., 2013).

Bislang scheint die Kryokonservierung von Vorkernstadien das erfolgreichste Verfahren des Fertilitätserhalts zu sein, mit durchschnittlichen Schwangerschaftsraten von 25-35 % und weltweit mehr als einer halben Million

Geburten (Gosden, 2011, Kasum et al., 2014). Die Oozyten-Kryokonservierung gilt aufgrund der geringeren Erfahrung und Erfolgsraten bisher noch als experimentelles Verfahren, obwohl auch hier mittlerweile mehr als 1000 Geburten weltweit bekannt sind (Rodriguez-Wallberg und Oktay, 2012).

Insgesamt sind die Methoden zur Vorkern- und Oozyten-Konservierung jedoch sehr aufwendig (Laparoskopie und Anästhesie nötig) und teuer und werden von den Krankenkassen nicht finanziert. Problematisch ist darüber hinaus, dass sie nicht überall verfügbar sind und eine bedeutende Misserfolgsrate aufweisen (Falcone et al., 2004). Außerdem stellt das für eine ideale Stimulationsbehandlung nötige Zeitfenster von mindestens zwei Wochen, in denen keine zytotoxische Therapie erfolgen kann, häufig ein Problem dar. So erübrigt sich die erfolgversprechende Option der Kryokonservierung von Pn-Zellen beispielsweise für Leukämie-Patientinnen. Auch das Risiko einer Tumorprogression bei hormonrezeptorpositiven Mammakarzinomen durch die erhöhten Östrogen-Spiegel während einer Stimulation konnte bisher nicht ausgeschlossen werden (Urruticoechea et al., 2008). Des Weiteren ist der Nutzen dieser Verfahren besonders bei über 40-jährigen Patientinnen sehr fraglich (Oktay, 2002). Aus diesen Gründen wären weitere erfolgreiche Verfahren zum Fertilitätserhalt wünschenswert.

1.3.2 Kryokonservierung von Ovarialgewebe

Eine weitere bislang experimentelle, aber dennoch erfolgversprechende Methode der Fertilitätsprotektion ist die Kryokonservierung von Ovarialgewebe. Dazu wird mittels Laparoskopie oder Laparotomie ein Teil des Ovarkortex, welcher eine hohe Anzahl an Primordialfollikeln enthält, entnommen (s. Abb. 3). Bisher besteht kein Konsens darüber, wie viel Ovargewebe am besten entnommen werden sollte. Insbesondere bei Patientinnen, die eine Ganzkörper- oder Beckenbestrahlung oder hohe Alkylantien-Dosen erhalten, sowie bei jungen Mädchen mit sehr kleinen Ovarien wird sogar eine unilaterale Oophorektomie zur Verbesserung des Erfolges empfohlen (Jadoul et al., 2010, Rodriguez-Wallberg und Oktay, 2012, Donnez et al., 2013). Ein Teil des entnommenen Ovargewebes sollte vor der Kryokonservierung

histopathologisch auf das Vorhandensein von Primordialfollikeln und neoplastischen Zellen untersucht werden. Nach erfolgreicher Krebstherapie kann das aufgetaute Gewebe wieder re-transplantiert werden. Die Re-Transplantation erfolgt entweder orthotop (direkt an das verbliebene Ovar oder in dessen Nähe in eine Peritonealtasche der Beckenhöhle, s. Abb. 4) oder heterotop (außerhalb der Peritonealhöhle), z. B. in die Bauchwand oder den Unterarm (leichter zugänglich) (Oktay et al., 2001, Oktay et al., 2004, Donnez et al., 2013).

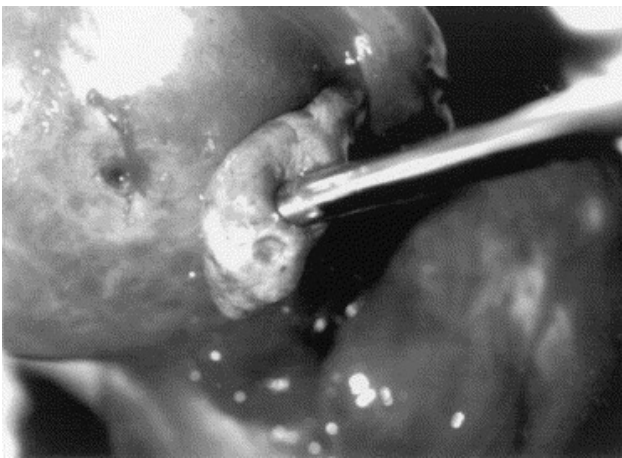


Abb. 3: Laparoskopische Entnahme von Gewebe des Ovarkortex.
(Meirow et al., 1999a)

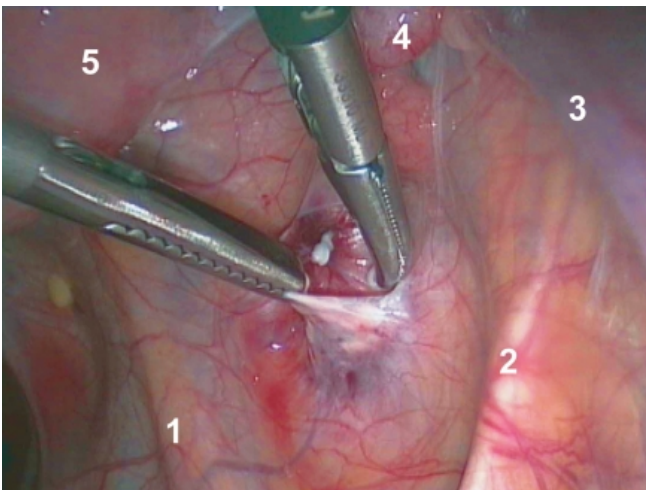


Abb. 4: Orthotope Re-Transplantation von Ovarialgewebe in eine Peritonealtasche der Fossa ovarica der rechten Beckenwand.
1: Ureter, 2: Lig. umbilicale laterale, 3: Lig. Infundibulopelvicum, 4: Tuba uterina, 5: Uterus. (Muller et al., 2012)

Insgesamt sind die Erfahrungen mit der Re-Transplantation von Ovarialgewebe jedoch noch sehr gering. Bisher wurde über 24 erfolgreiche Schwangerschaften

nach 60 Fällen orthotoper Re-Transplantation berichtet, mit einer Wiederherstellung der ovariellen Aktivität in 93 % der Fälle innerhalb von 5 Monaten (Donnez et al., 2013). Die heterotope Re-Transplantation erzielte bisher keine einzige Schwangerschaft, es gibt aber Berichte über die Wiederherstellung der endokrinologischen Funktion (Kim, 2012). Es ist bislang jedoch nicht endgültig geklärt, ob die Schwangerschaften aus dem re-transplantierten oder aus dem verbliebenen Ovargewebe entstanden. Bisher gibt es nur einen Fallbericht mit einer Re-Transplantation nach bilateraler Oophorektomie, der eine aus dem kryokonservierten Gewebe entstandene Schwangerschaft beweist (Donnez et al., 2012).

Der Nachteil der Methode besteht darin, dass die avaskulären Transplantate unabhängig vom Ort der Re-Transplantation nur eine begrenzte Überlebensdauer haben. Dies wird durch den Ischämie-Reperfusionsschaden nach Re-Transplantation mit der Bildung freier Sauerstoffradikale erklärt (Meirow et al., 1999a). Die Ischämie führt zu einem bedeutenden Verlust an Primordialfollikeln (Reduktion um 25-95 %) im Transplantat, wodurch das Potential zur Wiederherstellung der Fertilität stark abnimmt. (Demeestere et al., 2009). So kann die ovarielle Funktion teilweise nur wenige Monate bis maximal 5 Jahre nach Re-Transplantation aufrecht erhalten werden (Demeestere et al., 2009). Außerdem besteht das Risiko bei Krebspatientinnen, mit dem Ovarialgewebe auch Tumorzellen zu re-transplantieren (Lee et al., 2006). Daher sollte die Methode bei Leukämie-, Burkitt-Lymphom- und Neuroblastom-Patientinnen, bei denen ein sehr hohes Risiko ovarieller Metastasierung besteht, nicht angewendet werden (Bastings et al., 2013, Dolmans et al., 2013). Weiterhin besteht das Risiko der Entstehung von Adhäsionen im Becken, welche die Fertilität zusätzlich vermindern können.

Insgesamt bleibt die Kryokonservierung von Ovargewebe bislang ein experimentelles Verfahren. Dennoch stellt es durch Optimierung der Methoden der Kryokonservierung und Re-Transplantation in Zukunft eine vielversprechende Option dar. Da weder eine ovarielle Stimulation, noch eine bestehende Partnerschaft nötig sind, können insbesondere präpubertäre

Mädchen sowie Frauen, die eine unverzügliche onkologische Therapie benötigen, oder bei denen keine Partnerschaft besteht, davon profitieren.

1.3.3 Transposition der Ovarien

Das Verfahren der Transposition der Ovarien (Syn.: Oophoropexie) wurde bereits 1958 entwickelt und kommt bei Patientinnen, die eine Radiatio des Beckens erhalten, zur Fertilitätsprotektion in Frage (Mc Call et al., 1958). Hierbei werden die Ovarien vor der Strahlentherapie mittels Laparotomie oder häufiger (da weniger invasiv) mittels Laparoskopie aus dem Bestrahlungsfeld heraus nach kranialateral (> 1,5 cm oberhalb der Crista iliaca) in den parakolischen Raum verlagert (s. Abb. 5 und Abb. 6) (Clough et al., 1996, Hwang et al., 2012).

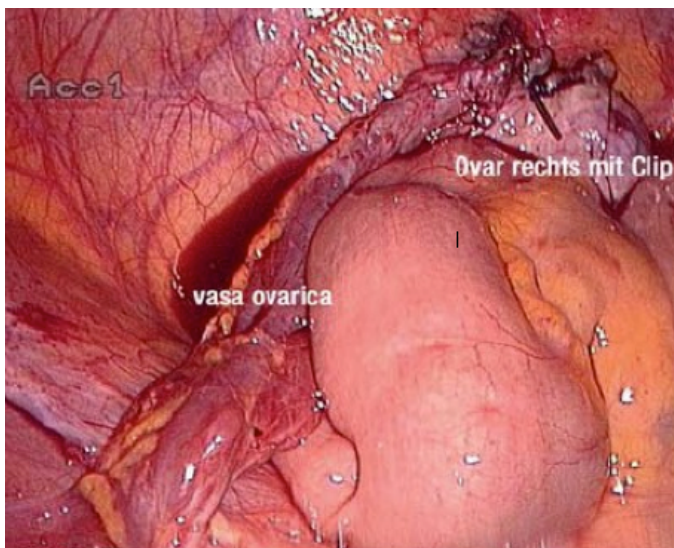


Abb. 5: Transposition des rechten Ovars und Fixierung an der Beckenwand.

Der Gefäßstiel ist freipräpariert, wodurch das Ovar mobilisiert und nach kranial aus dem Strahlenfeld heraus verlagert werden konnte. (von Wolff et al., 2011)

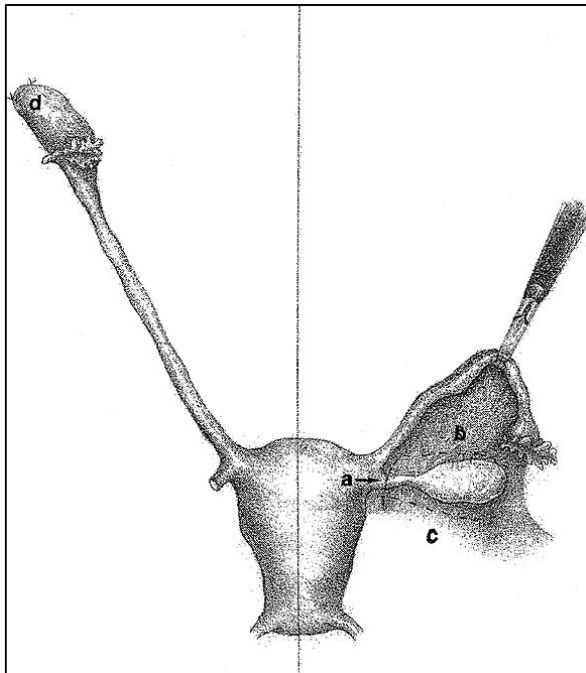


Abb. 6: Ovarielle Transposition (d).

Das Lig. ovaricum (a) wird vom Mesovar (b) getrennt. Bei eingeschränkter Mobilität kann zusätzlich eine Inzision im Peritoneum (c) nötig sein. (Bisharah und Tulandi, 2003)

Auf diese Weise wird die direkte Strahlenexposition gesenkt, wobei das Risiko der Schädigung durch Streustrahlung bestehen bleibt (Morice et al., 1998). Der Erfolg der Methode ist stark altersabhängig, scheint jedoch bei jungen Patientinnen gute Ergebnisse zu erzielen (Clough et al., 1996). So wurde in einer retrospektiven Studie über 12 Lebendgeburten unter 11 Patientinnen berichtet, die im Jugendalter eine Oophoropexie erhielten, (Terenziani et al., 2009). Andere Studien berichten über Erfolgsraten ovarieller Protektion zwischen 15 % und 88,6 % (gemessen an der Schwangerschaftsrate, bzw. der Menstruationsrate) (Clough et al., 1996, Morice et al., 1998, Morice et al., 2000, Bisharah und Tulandi, 2003). Die Variabilität der Erfolgsraten kann dadurch erklärt werden, dass die Streustrahlung nicht genau kalkuliert werden kann, teilweise gleichzeitig eine Chemotherapie erfolgt und die jeweilige Strahlendosis sowie das Alter der Patientinnen stark variieren (Sonmezer und Oktay, 2004).

Mögliche Komplikationen der Transposition der Ovarien sind Blutungen, Ovarialtorsionen mit nachfolgender Ischämie, sowie die Entstehung schmerzhafter Ovarialzysten, welche unabhängig von einer Bestrahlung zur sekundären Amenorrhö führen können (Chambers et al., 1990, Hwang et al.,

2012). Auch dieses Verfahren zur Ovarprotektion ist relativ aufwendig und für Patientinnen im Alter von über 40 Jahren wegen der geringen Erfolgsraten nicht sinnvoll (Clough et al., 1996).

1.4 Nicht-invasive Maßnahmen zum Fertilitätserhalt

1.4.1 GnRH-Analoga zur ovariellen Suppression

Im Vergleich zu den invasiven Behandlungskonzepten wäre eine effektive medikamentöse Ovarprotektion mittels GnRH-Analoga eine sehr gute Therapieoption, da sie verhältnismäßig einfach durchzuführen, günstig und leicht verfügbar ist. Die Wirkung von GnRH-Analoga auf die ovarielle Funktion wird seit vielen Jahren in der klinischen Forschung erprobt. Das Konzept der Fertilitätsprotektion mittels GnRH-Analoga beruht auf der Theorie, die Ovarien durch das Herstellen eines präpubertären hormonellen Milieus mittels GnRH-Analoga vorübergehend „stillzulegen“ und so vor der antiproliferativ wirkenden zytotoxischen Therapie zu schützen (Blumenfeld und Avivi, 1999).

Normalerweise reguliert das pulsatil aus dem Hypothalamus sezernierte Gonadotropin-Releasing-Hormon die Freisetzung der beiden Gonadotropine LH und FSH aus der Adenohypophyse, welche dann die ovarielle Funktion regulieren. Die Wirkweise von GnRH-Analoga erfolgt über eine Inhibition dieser hypophysär-gonadalen Achse. Es entsteht ein hypogonadotroper Hypogonadismus (ähnlich einem präpubertären Stadium) mit niedrigen Gonadotropin-Spiegeln und einem vorübergehend pausierten ovariellen Zyklus. Auf diese Weise soll die Rekrutierung und Reifung von Primordialfollikeln reduziert werden und somit die Anzahl der Follikel im aktiven Zellzyklus, welche besonders empfindlich auf zytotoxische Therapien reagieren, vermindert werden (Blumenfeld und Avivi, 1999). Des Weiteren könnte der ovarprotektive Effekt von GnRH-Analoga auf einer Reduktion der utero-ovariellen Durchblutung und einer daraus resultierenden verminderten Exposition gegenüber Chemotherapeutika beruhen (Danforth et al., 2005). Auch die Induktion anti-apoptotischer Moleküle, wie Sphingosin-1-Phosphat, welches

(bisher nur in vitro) einen protektiven Effekt zeigte, könnte das Wirkprinzip der GnRH-Agonisten zusätzlich erklären (Morita et al., 2000).

Seit der Sequenzierung des nativen GnRH in den 1970er Jahren konnten verschiedene GnRH-Analoga hergestellt werden, die entweder agonistische (GnRH-a) oder antagonistische (GnRH-ant) Effekte besitzen (Casper, 1991). Im Vergleich zum endogenen GnRH zeigen GnRH-Agonisten eine erhöhte Rezeptoraffinität sowie aufgrund der verlangsamten biologischen Metabolisierung eine verlängerte Wirkdauer. Die Gabe von GnRH-Agonisten induziert durch starke Bindung an die GnRH-Rezeptoren einen initialen Anstieg der Gonadotropinsekretion (flare-up-Effekt). Langfristig erfolgt jedoch eine Herabregulation der GnRH-Rezeptoren mit einer starken Suppression der Gonadotropinspiegel.

Im Gegensatz dazu wirken GnRH-Antagonisten durch kompetitive Hemmung am GnRH-Rezeptor innerhalb weniger Stunden suppressiv auf die Gonadotropin-Sekretion, wodurch der flare-up-Effekt vermieden wird (Couzinet et al., 1991). Da diese Wirkung jedoch nicht von Dauer ist, ist die tägliche Gabe von GnRH-Antagonisten nötig (Casper, 1991). Eine Übersicht über die verschiedenen GnRH-Analoga, die in Deutschland verwendet werden, zeigt Tab. 3.

Tab. 3: In Deutschland verwendete GnRH-Analoga.
 [Modifiziert nach (Griesinger und Diedrich, 2007)]

GnRH-Analoga	Wirkstoff	Handelsname	Applikation	Dosis
GnRH-a	Triptorelin-acetat	Decapeptyl® Decapeptyl®-Gyn	s.c. i.m./s.c.	0,1 und 0,5 mg/Tag 4,12 mg/Monat
	Goserelin-acetat	Zoladex®-Gyn	s.c.	3,8 mg/Monat
	Leuprorelin-acetat	Enantone®-Gyn	i.m./s.c.	3,75 mg/Monat
	Buserelin-acetat	Trenantone®-Gyn Suprecur® Profact®	i.m./s.c. nasal nasal	10,8 mg/Monat 0,15 mg/2-6 x täglich 0,1 mg/2-6 x täglich
	Nafarelin-acetat	Synarela®	nasal	0,23 mg/ 2-6 x tägl.
GnRH-ant	Cetrorelix-acetat	Cetrotide®	s.c.	0,25 mg/Tag
	Ganirelix-acetat	Orgalutran®	s.c.	0,25 mg/Tag

1.4.1.1 GnRH-Agonisten

Bereits 1985 konnte in Studien an Ratten ein verminderter Follikelverlust durch die Gabe von GnRH-Agonisten während einer Cyclophosphamid-Therapie beobachtet werden (Ataya et al., 1985). Ähnliche Ergebnisse erzielte 1995 eine Studie mit Rhesusaffen (Ataya et al., 1995). Auch in verschiedenen klinischen Studien am Menschen wurde über eine erfolgreiche Ovarprotektion bei Patientinnen unterschiedlicher Erkrankungsgruppen, wie z. B. Brustkrebs (84 %) (Wong et al., 2012), Lymphomen (94 % im Vgl. zur Kontrollgruppe mit 39 %) (Blumenfeld et al., 1996) und Lupus erythematodes (100 %, Kontrollgruppe 55 %) (Blumenfeld et al., 2000) berichtet.

In einer Cochrane-Analyse aus dem Jahr 2011, welche 4 randomisierte Studien (insges. 157 Patientinnen) einschloss, konnte gezeigt werden, dass sich die subkutane und intramuskuläre Gabe von GnRH-Agonisten – im Gegensatz zur intranasalen Gabe – bei prämenstruellen Frauen, die eine Chemotherapie erhielten, positiv auf die Menstruationswahrscheinlichkeit nach der Therapie auswirkte (relatives Risiko 2,70; 95%-CI 1,52-4,79) (Chen et al., 2011). Allerdings gab es keine signifikanten Unterschiede in den Schwangerschaftsraten.

Mittlerweile wurden die Ergebnisse verschiedener Studien in ersten Meta-Analysen zusammengefasst (Clowse et al., 2009, Bedaiwy et al., 2011, Yang et al., 2013). Diese zeigen jedoch kontroverse Ergebnisse. Der neuesten Meta-Analyse zufolge, welche 5 randomisierte Studien mit insgesamt 528 prämenstruellen Brustkrebs-Patientinnen einschloss, entwickelten Patientinnen, die während der Chemotherapie GnRH-Agonisten erhielten, in den ersten 12 Monaten nach der Chemotherapie mit geringerer Wahrscheinlichkeit eine POF (relatives Risiko 0,40; 95%-CI 0,21-0,75). Im Verlauf waren die Menstruations- und Schwangerschaftsraten in der Kontrollgruppe jedoch nicht signifikant verschieden von der GnRH-a-Gruppe (Yang et al., 2013). Bedaiwy et al schlossen 6 randomisierte Studien mit prämenopausalen Patientinnen unterschiedlicher Erkrankungsgruppen in ihre Meta-Analyse ein. Dieser zufolge zeigten sowohl die Inzidenz der spontanen Ovulation als auch die Menstruationsraten nach der Chemotherapie einen signifikanten Unterschied zugunsten der Anwendung von GnRH-Agonisten (OR 3,46; 95%-CI 1,13-10,57 und OR 5,70; 95%-CI 2,29-14,20). Doch auch hier waren die Schwangerschaftsraten nicht signifikant verschieden (Bedaiwy et al., 2011).

In einer prospektiven Studie mit 263 prämenstruellen Hodgkin-Lymphom-Patientinnen war hingegen die GnRH-a-Prophylaxe ein signifikanter Prädiktor für den Fertilitätserhalt nach der Chemotherapie (OR 12,87; $p = 0,001$). So wurden Schwangerschaftsraten von 36 % nach Chemotherapie und GnRH-Agonisten im Gegensatz zu 16 % ohne GnRH-Agonisten beobachtet (Behringer et al., 2012).

Diese widersprüchliche Datenlage zeigt, dass die Wirksamkeit von GnRH-Agonisten in der Fertilitätsprotektion noch nicht abschließend bewiesen ist.

1.4.1.2 GnRH-Antagonisten

Zur Wirkung von GnRH-Antagonisten ist die Datenlage bisher sehr dürftig. In einer experimentellen prospektiven Studie am Mausmodell konnte der zytotoxische Effekt von Cyclophosphamid auf die Primordialfollikel durch GnRH-Antagonisten nicht verhindert werden (Danforth et al., 2005). Die GnRH-

ant-Therapie führte hier sogar zu einer signifikanten Reduktion der Follikelreserve, auch ohne Chemotherapie (Danforth et al., 2005). In anderen Studien hingegen wurde ein dosisabhängiger protektiver Effekt von GnRH-Antagonisten auf die Ovarien von Ratten (Lemos et al., 2010) , bzw. Mäusen (Meirow et al., 2004) beschrieben.

Eine klinische Pilotstudie zur Beurteilung der möglichen fertilitätserhaltenden Wirkung des GnRH-Antagonisten Cetrorelix während einer zytotoxischen Therapie wurde 2011 ins Leben gerufen. Diese zeigte unter 15 Patientinnen einen eventuell protektiven Effekt des GnRH-Antagonisten während einer Cyclophosphamid-Therapie: Nach 12 Monaten hatten 13 von 15 Patientinnen (87 %) normale Inhibin-A- und -B-Spiegel (Whitehead et al., 2011). Aufgrund dieser bisher jedoch sehr spärlichen Datenlage liegt der Fokus unserer prospektiven klinischen Studie ausschließlich auf der Überprüfung der ovarprotektiven Wirkung von GnRH-Agonisten.

Dazu untersuchten wir in einer Kohorte von 116 prämenopausalen Patientinnen verschiedener Erkrankungsgruppen die Serumspiegel des AMH, der Gonadotropine FSH und LH sowie Estradiol zur Beurteilung ihrer ovariellen Reserve. Weiterhin befragten wir die Patientinnen vor und 12-48 Monate nach abgeschlossener Chemotherapie nach ihrem Menstruationszyklus bzw. nach eingetretenen Schwangerschaften. Bei der Interpretation der Fertilitätsparameter wurden das Alter der Patientinnen, der Body-Mass-Index und die Verwendung einer hormonellen Antikonzeption besonders berücksichtigt.

2 Patienten und Methoden

Unsere prospektive Kohortenstudie wurde von 2008 bis 2012 im Zentrum für gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin der Universitätsklinik Würzburg in Kooperation mit dem *FertiPROTEKT*-Netzwerk durchgeführt. Alle Patientinnen willigten nach erfolgter Aufklärung schriftlich zur Studienteilnahme ein.

2.1 Patientenkollektiv und Studiendesign

Das Patientenkollektiv unserer prospektiven Kohortenstudie besteht aus 116 prämenopausalen Frauen im Alter von 13-41 Jahren. Es wurden nur Patientinnen in die Studie eingeschlossen, die anamnestisch einen regelmäßigen Zyklus hatten. Alle erhielten an der Universitätsklinik Würzburg je nach Art der Erkrankung eine adjuvante oder neoadjuvante Chemotherapie, teilweise in Kombination mit einer Radiatio. Insgesamt schieden 81 Patientinnen aus der Studie aus, davon waren 24 verstorben, 49 erschienen nicht zum Follow-up und 8 wünschten keine GnRH-a-Therapie. Insgesamt waren die Daten von 35 Patientinnen im reproduktionsfähigen Alter (13-40 Jahre) vollständig verwertbar, s. auch Tab. 4. Alle 35 Patientinnen, deren Daten in der Auswertung berücksichtigt wurden, erhielten eine Behandlung mit GnRH-Agonisten während der onkologischen Therapie.

Tab. 4: Patientenkollektiv.

Patientenkollektiv	Anzahl (n)	Prozent
Gesamtkollektiv	116	100
Drop-outs	81	69,8
• davon verstorben	24	
• kein Follow-up	49	
• keine GnRH-a-Therapie	8	
Patientinnen mit verwertbaren Daten	35	30,2

2.1.1 Therapiemaßnahmen zur Fertilitätsprotektion

Den Studienteilnehmerinnen wurde das gesamte aktuelle Therapiespektrum zum Fertilitätserhalt vorgestellt (GnRH-a; Kryokonservierung von Oozyten, Pn-Zellen und Ovarialgewebe; Transposition der Ovarien). Je nach Wunsch und Situation der Patientin (bestehende Partnerschaft, Art der Erkrankung) sowie

nach Länge des Zeitfensters bis zum Beginn der jeweiligen Chemotherapie wurde dann die individuelle Therapie begonnen.

Alle Patientinnen, die in der Auswertung berücksichtigt wurden, erhielten eine GnRH-a-Therapie. Bei länger dauernden gonadotoxischen Therapien wurde alle drei Monate 10,8 mg Leuprorelin (Trenantone®-Gyn) oder Goserelinacetat (Zoladex®-Gyn) subkutan injiziert. Bei kürzer dauernden onkologischen Therapien erfolgte die Gabe von 3,75 mg Leuprorelin (Enantone®-Gyn) monatlich, s. Tab. 5. Die GnRH-a-Therapie wurde nach Möglichkeit 14 Tage vor Beginn der Chemotherapie begonnen. Die Patientinnen, bei denen die Verzögerung der Chemotherapie nicht möglich war, erhielten zeitgleich mit der Chemotherapie die erste GnRH-a-Injektion in Kombination mit einem GnRH-Antagonisten (Cetrorelix®, 3 mg), zur Vermeidung der ungewünschten initialen ovariellen Stimulation (flare-up). Die GnRH-a-Therapie wurde bis einschließlich des letzten Tages der Chemotherapie fortgeführt.

Tab. 5: GnRH-a im Patientenkollektiv.

GnRH-a	Anzahl	Prozent
Enantone®-Gyn	7	20,0
Trenantone®-Gyn	4	11,4
Zoladex®-Gyn	24	68,6
Gesamt	35	100,0

Je nach individueller Situation wurden auch die Verfahren der Kryokonservierung von Oozyten, Pn-Zellen und Ovargewebe sowie die Transposition der Ovarien angeboten. Eine Übersicht über die im Patientenkollektiv gewählten Maßnahmen zur Fertilitätsprotektion zeigt Abb. 7. Da die Angaben hierzu im Gesamtpatientenkollektiv (n = 116) sehr lückenhaft waren, werden hier nur die Angaben der 35 in der Auswertung berücksichtigten Patientinnen dargestellt.

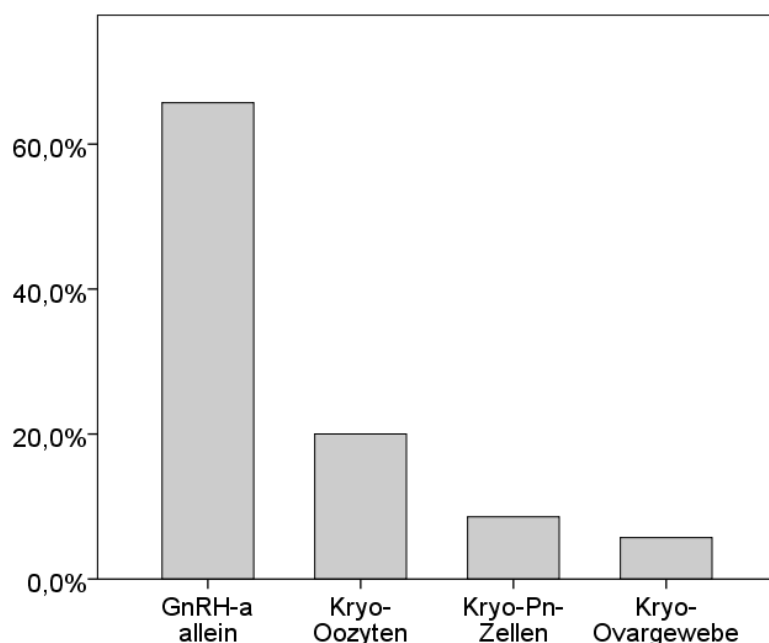


Abb. 7: Im Patientenkollektiv (n = 35) gewählte Maßnahmen zum Fertilitätserhalt.

2.1.2 Altersgruppen

Aufgrund des großen Einflusses des Alters auf die Fertilität wurden die Fertilitätsparameter vor und nach der Chemotherapie jeweils für das Gesamtstudienkollektiv sowie unter besonderer Berücksichtigung des Alters ausgewertet. Hierzu wurde das Patientenkollektiv in eine Gruppe 13-29-jähriger Patientinnen (n = 24) und eine zweite Gruppe 30-40-jähriger Patientinnen (n = 11) unterteilt. Tab. 6.

Tab. 6: Einteilung des Patientenkollektivs in Altersgruppen.

Altersgruppe	Anzahl	Prozent
13-29 J.	24	68,6
30-40 J.	11	31,4
Gesamt	35	100,0

2.1.3 Diagnosen

Auch die verschiedenen Chemotherapie-Arten wurden in der Auswertung gesondert untersucht. Hierzu unterteilten wir die 35 Patientinnen in sechs verschiedene Erkrankungsgruppen, deren zytostatische Therapien sich grundlegend unterscheiden (s. Tab. 7). Die Gruppen bildeten wir wie folgt: Autoimmunerkrankungen (n = 8), Hodgkin-Lymphome (n = 9), Karzinome

(n = 1), Leukämien (n = 6), Mammakarzinome (n = 8) sowie Sarkome (n = 3). In die Gruppe der Autoimmunerkrankungen wurden Patientinnen mit systemischem Lupus erythematodes (SLE), Glomerulonephritiden und Multipler Sklerose (MS) zusammengefasst.

Tab. 7: Einteilung des Patientenkollektivs in Diagnosegruppen.

Diagnose	Anzahl	Prozent
Autoimmunerkrankung	8	22,9
Hodgkin Lymphom	9	25,7
Karzinom	1	2,9
Leukämie	6	17,1
Mammakarzinom	8	22,9
Sarkom	3	8,6
Gesamt	35	100,0

2.1.4 Zytotoxische Therapien

Die in unserem Patientenkollektiv angewendeten onkologischen Therapiemaßnahmen (mit Ausnahme der chirurgischen Therapien) sind in Tab. 8 dargestellt. Die häufigsten verwendeten Therapiemaßnahmen waren das FEC-Protokoll (Fluorouracil, Epirubicin, Cyclophosphamid) bei Mammakarzinomen, das BEACOPP-Protokoll bei Hodgkin-Lymphomen, die Hochdosischemotherapie mit anschließender Stammzelltransplantation bei Leukämien und die immunsuppressive Therapie mit Cyclophosphamid bei Autoimmunerkrankungen. Im gesamten Studienkollektiv war somit das am häufigsten applizierte Chemotherapeutikum das Alkylans Cyclophosphamid, in höheren Dosen bei den Krebspatientinnen und in geringeren Dosen bei den Patientinnen mit Autoimmunerkrankungen.

Tab. 8: Onkologische Therapiemaßnahmen in den sechs Erkrankungsgruppen.

Erkrankungsgruppe	onkologische Therapiemaßnahmen
Mammakarzinom	FEC, Taxol, Trastuzumab, Bevacizumab, Radiatio
Hodgkin-Lymphom	BEACOPP, ABVD, Hochdosischemotherapie + SZT
Leukämie	Hochdosischemotherapie + SZT, Ganzkörper-Radiatio + SZT
Autoimmunerkrankung	Cyclophosphamid
Sarkom	Ifosfamid + Vincristin + Doxorubicin, Radiatio
(Magen-)Karzinom	Epirubicin + Cisplatin + Capecitabin

FEC = Fluorouracil, Epirubicin, Cyclophosphamid; ABVD = Adriamycin, Bleomycin, Vinblastin, Dacarbazin; BEACOPP = Bleomycin, Etoposid, Adriamycin, Cyclophosphamid, Vincristin, Procarbazine, Prednison; SZT = Stammzelltherapie.

2.2 Beurteilung der ovariellen Reserve

Vor Beginn der onkologischen Therapie wurden von allen Patientinnen Blutproben entnommen. Aus diesen wurden zur genaueren Beurteilung der ovariellen Funktion nicht nur die FSH-, LH- und Estradiol-Spiegel, sondern auch die AMH-Serumspiegel ermittelt. Außerdem wurden alle Patientinnen zu ihrem Zyklus, bzw. der Verwendung einer Antikonzeption befragt.

2.3 Follow-up und Fragebogen

Das Follow-up fand nach einer Dauer von 12-48 Monaten nach Beendigung der onkologischen Therapie statt. Dieser Zeitraum von mindestens 12 Monaten wurde gewählt, um möglichst keine durch die Chemotherapie veränderten Fertilitätsparameter zu erheben. Wenn der Abstand des Follow-ups zur letzten Chemotherapie kürzer gewählt wird, kann sich die ovarielle Reserve auch in der Folge noch erholen, was zu verfälschten Ergebnissen führen kann. Von allen Patientinnen wurde die genaue Art und Dauer der jeweiligen onkologischen Therapie ermittelt. Weiterhin erfolgte eine erneute Bestimmung der FSH-, LH-, Estradiol- und AMH-Werte. Außerdem wurden die Patientinnen nach ihrem Menstruationszyklus, der Verwendung einer Antikonzeption sowie eventuell eingetretener Schwangerschaften befragt. Zusätzlich erfragten wir das Körpergewicht und die Größe der Patientinnen zur Berechnung des Body-

Mass-Index (BMI), um einen eventuellen Einfluss des BMI auf die AMH-Werte zu ermitteln (Fragebogen s. Anhang).

2.4 Endpunkte

Die primären Endpunkte dieser Studie sind die AMH-Serumspiegel sowie das Wiedereinsetzen der Menstruation nach der Chemotherapie. Sekundäre Endpunkte sind FSH- und Estradiolwerte sowie nach der onkologischen Therapie aufgetretene Schwangerschaften. Weiterhin untersuchten wir den Einfluss des BMI und der Verwendung einer Antikonzeption auf die Fertilitätsparameter. Bei der Interpretation der Ergebnisse wurden das Alter sowie die verschiedenen Chemotherapie-Protokolle besonders berücksichtigt.

2.5 Statistische Datenanalyse

Zur Auswertung der Ergebnisse wurde das Statistikprogramm *SPSS Statistics 21* verwendet. Aufgrund der geringen Größe der Stichprobe wurde in allen Berechnungen zusätzlich zum Mittelwert der Median ermittelt. Mit dem nicht-parametrischen Mann-Whitney-U-Test wurde ermittelt, ob sich zwei unabhängige Stichproben (z. B. die beiden Altersgruppen) bezüglich der Verteilung einer metrischen Variablen unterschieden. Der Unterscheidung zwischen mehreren unabhängigen Gruppen diente der parameterfreie Kruskal-Wallis-Test. Für abhängige Daten (z. B. AMH vor und nach Chemotherapie) wurde der nicht-parametrische Wilcoxon-Vorzeichen-Rangsummen-Test verwendet. Es erfolgte eine graphische Darstellung der Daten zur besseren Illustration mittels Boxplot- und Balkendiagrammen. Mit Hilfe der Spearman'schen Rangkorrelation wurde bestimmt, ob zwei Parameter korrelierten. Der exakte Chi²-Test diente der Überprüfung des Zusammenhangs zwischen einer Gruppe (z. B. Altersgruppe) und einer kategorialen Variablen (z. B. Zyklus) Das Signifikanzniveau α wurde auf $\alpha = 0,05$ gesetzt.

3 Ergebnisse

3.1 Charakteristika der Studienpatientinnen

Alle in die Studie aufgenommenen Patientinnen waren sowohl bei Diagnosestellung als auch zum Zeitpunkt des Follow-ups im fertilen Alter und hatten zum Zeitpunkt der Diagnosestellung einen regelmäßigen Zyklus. Das Alter der 35 in der Auswertung berücksichtigten Patientinnen betrug bei Diagnosestellung 13-40 Jahre (Mittelwert 25,3; SD = 7,7). Das Follow-up erfolgte 12-48 Monate später (Mittelwert 20,5; SD = 11,3). Insgesamt hatten drei Patientinnen bereits vor Studienbeginn ein Kind (8,6 %) und eine Patientin zwei Kinder (2,9 %). Zum Zeitpunkt des Follow-ups verwendeten 44,8 % (n = 13) der Patientinnen eine hormonelle Antikonzeption („Pille“, Implanon®, NuvaRing®). 55,2 % verwendeten keine hormonelle Antikonzeption und von sechs Patientinnen (17,1 %) lagen hierzu keine Angaben vor. Der Body-Mass-Index der Patientinnen reichte beim Follow-up von 17,6-48 kg/m² (Mittelwert 23,4; SD = 6,0). Eine Übersicht über die Charakteristika der Studienpatientinnen zeigt Tab. 9.

Tab. 9: Charakteristika der Studienpatientinnen.

Patientencharakteristika	Mittelwert ± SD, bzw. n (%)	Median
Alter bei Diagnosestellung [J.]	25,3 ± 7,7	26,0
Schwangerschaften vorher	5 (11,5 %)	
Monate bis Follow-up	20,5 ± 11,3	12,0
hormonelle Antikonzeption	13 (44,8 %)	
BMI [kg/m ²]	23,4 ± 6,0	22,0

3.2 Fertilitätsparameter im Gesamtkollektiv

In unserem Patientenkollektiv konnte kein protektiver Effekt von GnRH-Analoga auf die Ovarien nachgewiesen werden. So waren die Fertilitätsparameter (Zyklus und Hormone: AMH, FSH, E2) nach der Chemotherapie im Vergleich zu vorher größtenteils signifikant verändert.

3.2.1 Hormonspiegel vor und nach Chemotherapie

Insgesamt waren die AMH-Serumspiegel nach der Chemotherapie im Vergleich zu vorher signifikant gesunken (p < 0,001) und die FSH-Spiegel waren nach der

Chemotherapie signifikant angestiegen ($p = 0,023$). Die Estradiolspiegel waren im Verlauf ebenfalls angestiegen. Dieser Unterschied war jedoch nicht signifikant ($p = 0,408$).

Das AMH betrug vor der Chemotherapie im Mittel $3,2 \mu\text{g/l}$ ($SD = 3,2$) und sank nach der Chemotherapie auf $1,19 \mu\text{g/l}$ ($SD = 1,94$). In Abb. 8 erfolgt eine Gegenüberstellung der AMH-Werte vor und nach der onkologischen Therapie. Die Differenz der AMH-Werte zwischen vorher und nachher lag im Mittel bei $1,86 \mu\text{g/l}$ ($SD = 2,45$), s. auch Tab. 10. In die Berechnungen der Hormondifferenzen gingen jeweils nur vollständige Datenpaare ein (z. B. AMH vor *und* nach Chemotherapie vorhanden), um genaue Aussagen über die Entwicklung treffen zu können.

Tab. 10: AMH-Serumspiegel vor und nach Chemotherapie (CHT).

	AMH vor CHT [$\mu\text{g/l}$]	AMH nach CHT [$\mu\text{g/l}$]	AMH- Differenz
Mittelwert	3,20	1,19	-1,86
n	26	32	26
Standardabweichung	3,20	1,94	2,45
Minimum	0,05	0,05	-9,00
Maximum	12,80	9,63	1,19
Median	2,10	0,24	-1,51

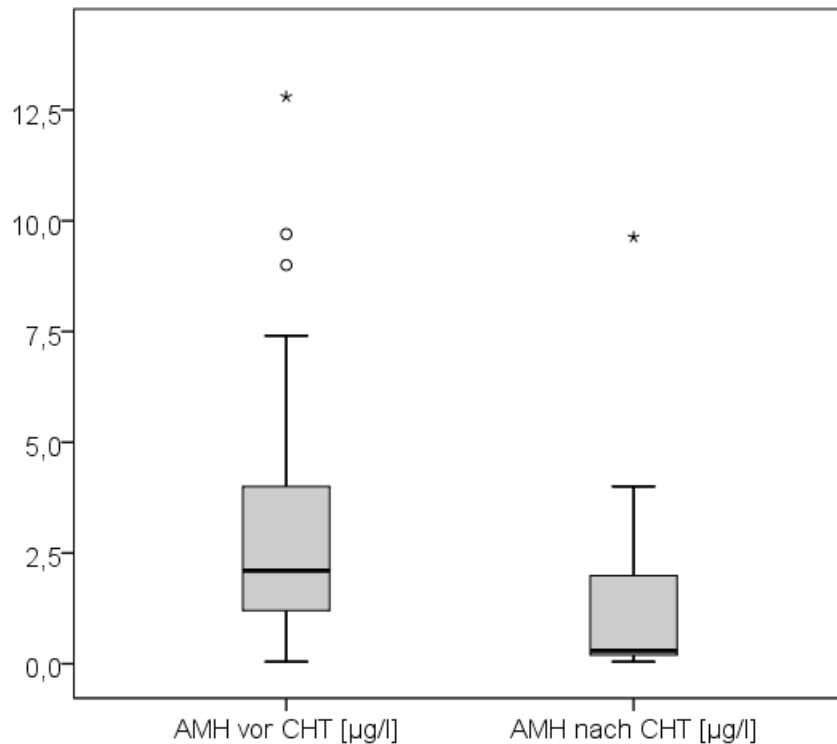


Abb. 8: AMH-Spiegel vor und nach Chemotherapie (CHT).

Die FSH-Werte nahmen nach der Chemotherapie im Mittel um 6,38 IU/l (SD = 15,29) zu. Vor der zytotoxischen Therapie lagen die FSH-Mittelwerte bei 4,61 IU/l (SD = 3,04) und nachher bei 11,30 IU/l (SD = 14,75), s. auch Tab. 11 und Abb. 9. Auch dieser Unterschied war signifikant.

Tab. 11: FSH-Serumspiegel vor und nach Chemotherapie (CHT).

	FSH vor CHT [IU/l]	FSH nach CHT [IU/l]	FSH-Differenz
Mittelwert	4,61	11,30	6,38
n	27	21	17
Standardabweichung	3,04	14,72	15,29
Minimum	0,40	0,30	-4,60
Maximum	13,80	62,50	58,80
Median	4,00	6,40	0,92

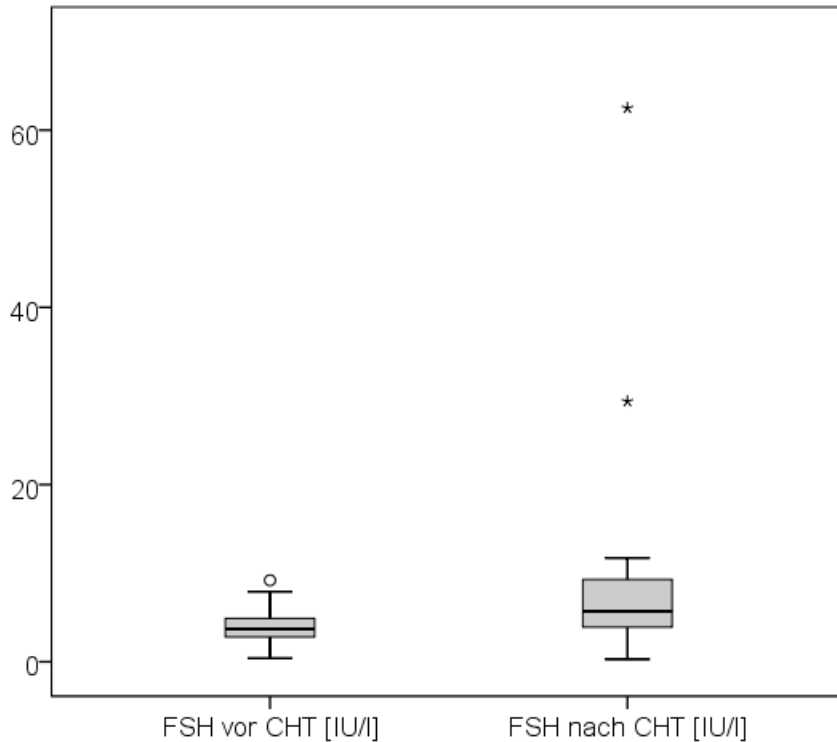


Abb. 9: FSH-Spiegel vor und nach Chemotherapie (CHT).

Die Zunahme der Estradiolspiegel lag im Mittel bei 4,80 pg/ml (SD = 58,88, Spannweite -146,21 bis 133,50 pg/ml). Die große Standardabweichung und die große Spannweite zwischen Minimum und Maximum deuten auf Ausreißer in den Estradiolspiegeln vor und nach der Chemotherapie hin. So variierten die Estradiolspiegel vor der Chemotherapie von 5-291,20 pg/ml (Mittelwert 44,44; SD = 68,39) und nach der Chemotherapie von 5-201,50 pg/ml (Mittelwert 40,38; SD = 49,48), s. Tab. 12 und Abb. 10.

Tab. 12: Estradiol- (E2-) Serumspiegel vor und nach Chemotherapie (CHT).

	E2 vor CHT [pg/ml]	E2 nach CHT [pg/ml]	E2-Differenz
Mittelwert	44,44	40,38	4,80
n	29	21	18
Standardabweichung	68,39	49,48	58,88
Minimum	5,00	5,00	-146,21
Maximum	291,20	201,50	133,50
Median	19,78	27,69	8,45

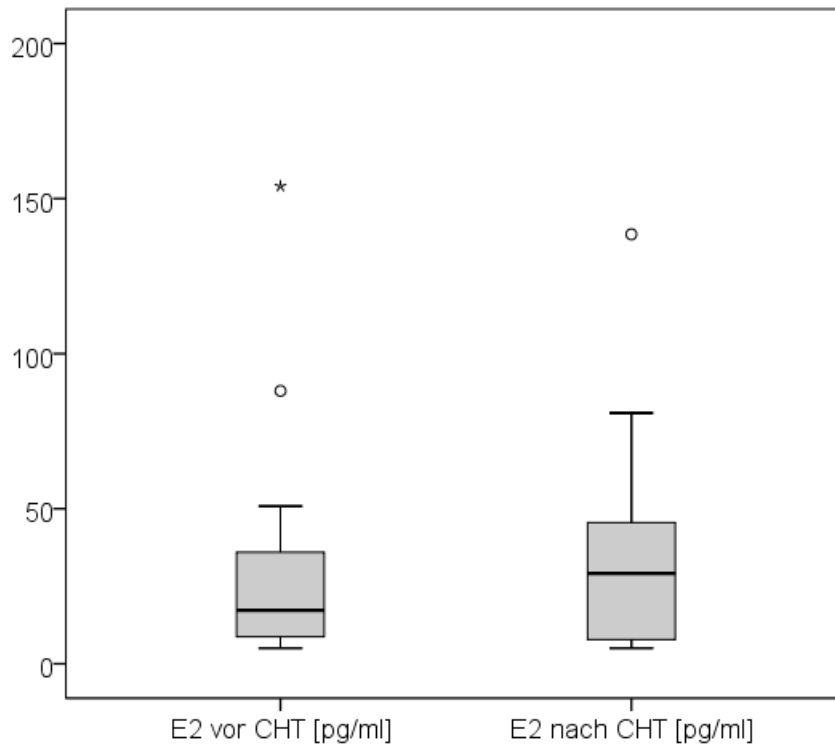


Abb. 10: Estradiol- (E2) Serumspiegel vor und nach Chemotherapie (CHT).

3.2.2 Zyklus und Schwangerschaften nach Chemotherapie

Nach der Chemotherapie hatten noch 61,3 % der Patientinnen im Gesamtkollektiv einen regelmäßigen Zyklus. 6,5 % hatten einen unregelmäßigen Zyklus und 32,3 % hatten keinen Zyklus mehr, s. auch Tab. 13 und Abb. 11. Bei 4 Patientinnen (11,4 %) bekamen wir keine Angaben zum Zyklus. Es konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den AMH-Serumspiegeln und der Zykluskategorie nach der Chemotherapie nachgewiesen werden ($p = 0,049$). So waren die AMH-Werte in der Gruppe der Patientinnen, die nach der Chemotherapie einen regelmäßigen Zyklus hatten, signifikant höher als bei den Patientinnen, welche einen unregelmäßigen oder keinen Zyklus mehr hatten. Für das FSH und das Estradiol nach der Chemotherapie konnte ein solcher Zusammenhang nicht hergestellt werden (FSH: $p = 0,634$; E2: $p = 0,512$).

Zwei Patientinnen hatten nach der zytotoxischen Therapie jeweils ein gesundes Kind geboren und eine Patientin war zum Zeitpunkt des Follow-ups schwanger.

Tab. 13: Zyklus und Schwangerschaften nach Chemotherapie.

Zyklusanamnese	Anzahl	Prozent
kein Zyklus	10	32,3
unregelmäßig	2	6,5
regelmäßig	19	61,3
fehlend	4	11,4
Gesamt	35	100,0
Schwangerschaften	3	8,6

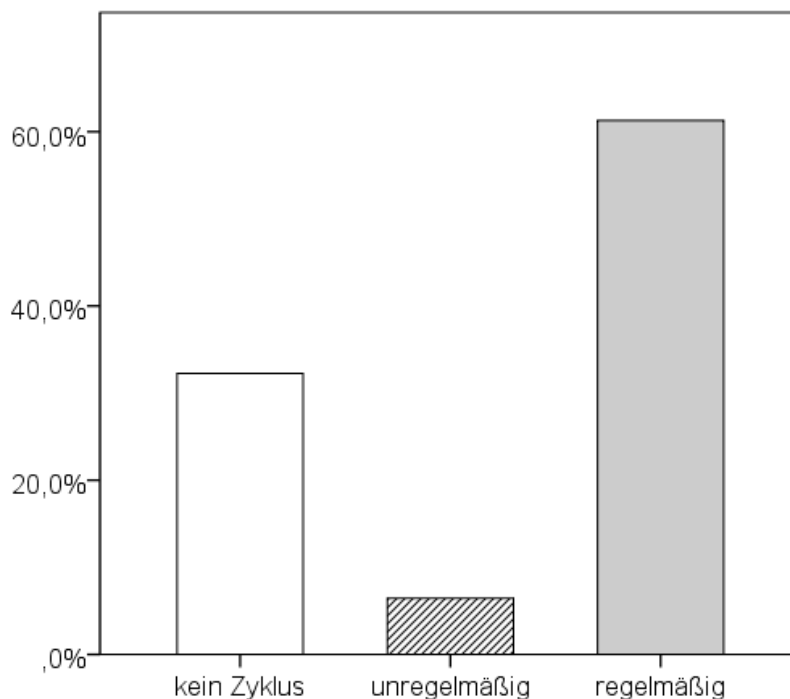


Abb. 11: Zyklus nach Chemotherapie.

3.3 Fertilitätsparameter altersabhängig

Um den Einfluss des Alters auf die Fertilitätsparameter zu untersuchen, wurden die beiden Altersgruppen (13-29 J. und 30-40 J.) bezüglich der Fertilitätsparameter vor und nach der Chemotherapie miteinander verglichen.

3.3.1 Fertilitätsparameter vor der Chemotherapie

Die Hormonwerte vor der Chemotherapie unterschieden sich zwischen den beiden Altersgruppen, jedoch waren diese Unterschiede nicht signifikant (AMH: $p = 0,075$; FSH: $p = 0,561$; E2: $p = 0,295$). Im Mittel waren die AMH-Werte vor

der Chemotherapie in der Gruppe der 13-29-Jährigen mit 3,77 µg/l (SD = 3,34) höher als in der Gruppe der 30-40-Jährigen mit 1,10 µg/l (SD = 2,84). Die FSH-Werte vor der Chemotherapie waren bei der Gruppe der Jüngeren im Mittel niedriger (FSH vor CHT: 4,35 IU/l; SD = 2,96) als bei der Gruppe der Älteren (FSH vor CHT: 5,12 IU/l; SD = 3,32). Die Estradiolspiegel waren vor der Chemotherapie bei den jüngeren Patientinnen im Mittel höher (45,23 pg/ml; SD = 67,44, Median 25,17 pg/ml) als bei den älteren (42,67 pg/ml; SD = 74,58, Median 10,0 pg/ml). Die große Differenz zwischen Mittelwerten und Median deutet auf Ausreißer in den Estradiolspiegeln hin.

Diese Unterschiede blieben jedoch subklinisch, da alle Patientinnen einen regelmäßigen Zyklus hatten. Vier Patientinnen der Gruppe der 30-40-Jährigen hatten vor der Chemotherapie insgesamt fünf Kinder geboren. Unter den 13-29-Jährigen hatte vor Diagnosestellung keine Patientin ein Kind geboren. Eine Übersicht über die Unterschiede der Fertilitätsparameter vor der zytotoxischen Therapie zwischen den beiden Altersgruppen zeigt Tab. 14.

Abb. 12, Abb. 13 und Abb. 14 zeigen die Unterschiede der Hormonparameter vor und nach der Chemotherapie in beiden Altersgruppen.

Tab. 14: Fertilitätsparameter vor der onkologischen Therapie in Abhängigkeit vom Alter.

Fertilitätsparameter vor CHT	13-29 Jahre (n = 24)		30-40 Jahre (n = 11)	
	Mittelwert ± SD, bzw. n (%)	Median	Mittelwert ± SD, bzw. n (%)	Median
AMH vor CHT [$\mu\text{g/l}$]	3,77 ± 3,34	2,60	2,12 ± 2,78	1,04
FSH vor CHT [IU/l]	4,35 ± 2,96	3,85	5,12 ± 3,32	4,20
E2 vor CHT [pg/ml]	45,23 ± 67,44	25,17	42,67 ± 74,58	10,00
Zyklus vor CHT	100 % regelmäßig		100 % regelmäßig	
Schwangerschaften vor CHT	0		5	

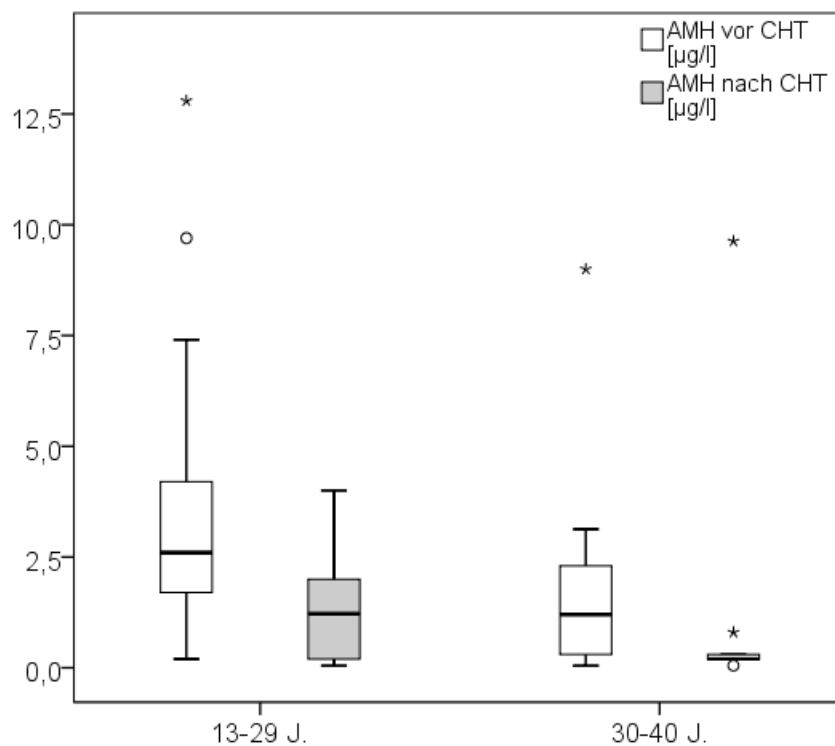


Abb. 12: AMH-Serumspiegel vor und nach CHT in beiden Altersgruppen.

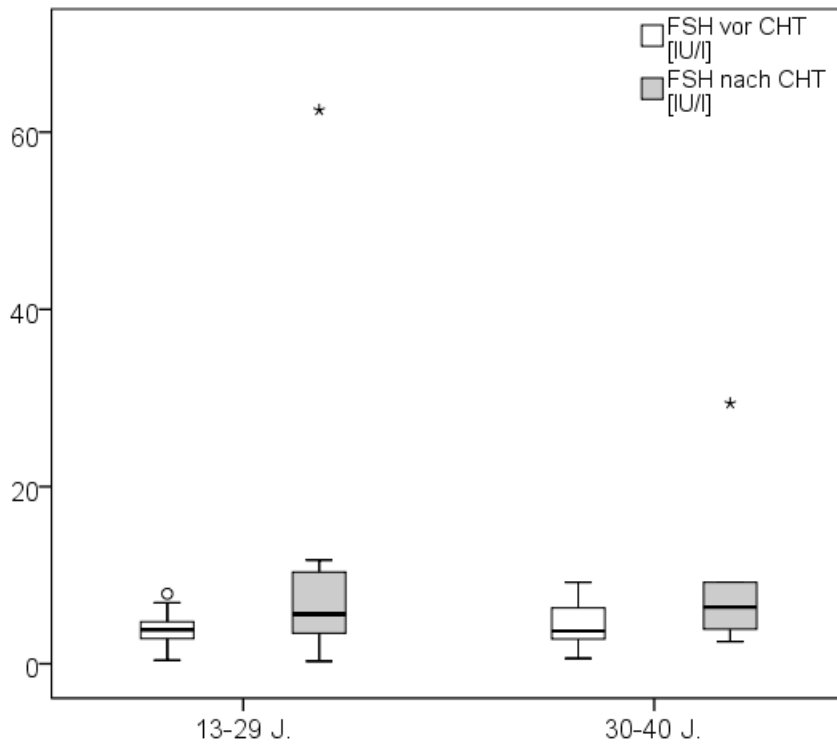


Abb. 13: FSH-Serumspiegel vor und nach CHT in beiden Altersgruppen.

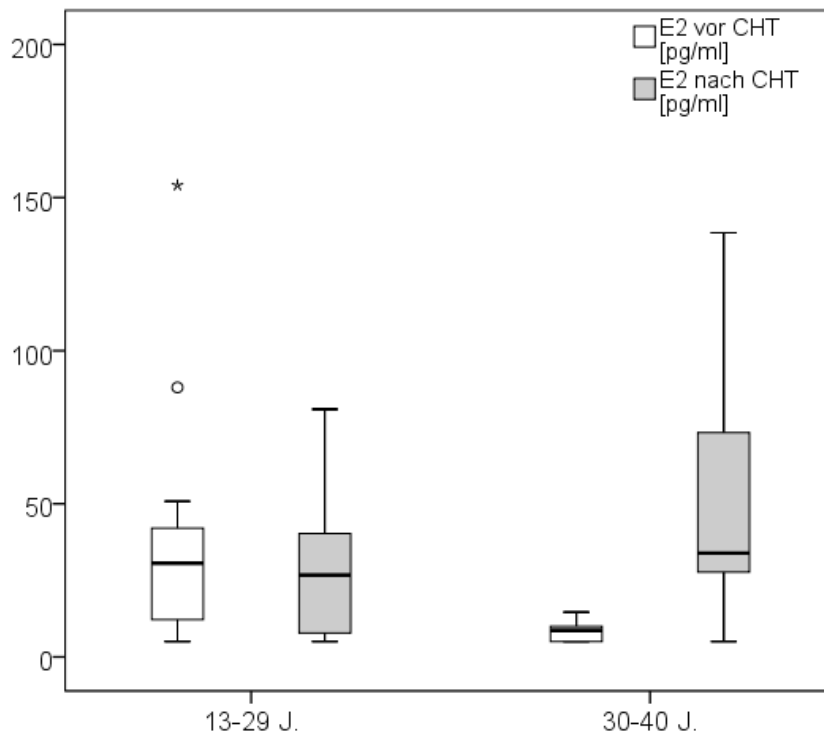


Abb. 14: E2-Serumspiegel vor und nach CHT in beiden Altersgruppen.

3.3.2 Fertilitätsparameter nach der Chemotherapie

Auch nach der Chemotherapie unterschieden sich die Hormonwerte zwischen den beiden Altersgruppen, doch diese Unterschiede waren ebenfalls nicht signifikant (AMH nach CHT: $p = 0,307$; FSH nach CHT: $p = 0,569$; E2 nach CHT: $p = 0,132$). In der Gruppe der 13-29-Jährigen waren die AMH-Spiegel im Vergleich zur Gruppe der 30-40-Jährigen nach der Chemotherapie stärker gesunken (AMH-Differenz). Doch auch hier war der Unterschied zwischen den Altersgruppen nicht signifikant ($p = 0,561$). So sanken die AMH-Werte in der Gruppe der Jüngeren im Mittel um $2,42 \mu\text{g/l}$ (SD = 2,78) und in der Gruppe der Älteren um $0,8 \mu\text{g/l}$ (SD = 1,17). Somit näherten sich nach der Chemotherapie die AMH-Serumspiegel beider Gruppen an, mit einem Mittelwert von $1,24 \mu\text{g/l}$ (SD = 1,34) in der Gruppe der 13-29-jährigen Patientinnen im Vergleich zu einem Mittelwert von $1,10 \mu\text{g/l}$ (SD = 2,84) in der Gruppe der 30-40-Jährigen.

Die FSH-Differenz zwischen den prä- und post-Chemotherapie-Werten war zwischen den beiden Gruppen verschieden, jedoch nicht signifikant verschieden ($p = 0,383$). Im Mittel stiegen die FSH-Spiegel bei den 13-29-Jährigen um $6,64 \text{ IU/l}$ (SD = 16,72) und bei den 30-40-Jährigen um $5,76 \text{ IU/l}$ (SD = 12,88). Nach der Chemotherapie lagen die FSH-Mittelwerte der jüngeren Patientengruppe bei $9,91 \text{ IU/l}$ (SD = 14,99) und die der älteren Gruppe bei $14,77 \text{ IU/l}$ (SD = 14,74), s. auch Abb. 12, Abb. 13 und Abb. 14.

Auch die Estradiol-Differenz unterschied sich zwischen den beiden Altersgruppen nicht signifikant. Im Mittel zeigten sich jedoch bei den jüngeren Patientinnen ähnliche Estradiolspiegel vor und nach der Chemotherapie (E2-Differenz $-11,43 \text{ pg/ml}$; SD = 54,0; Median 0,0), wohingegen bei den älteren Patientinnen ein deutlicher Anstieg um ein Mittel von $46,99 \text{ pg/ml}$ (SD = 53,29; Median 19,22) zu erkennen war. So lagen die Estradiolspiegel nach der Chemotherapie bei den 13-29-Jährigen im Mittel bei $24,55 \text{ pg/ml}$ (SD = 22,49; Median 13,39) und bei den 30-40-Jährigen bei $79,98 \text{ pg/ml}$ (SD = 75,78; Median 53,59).

Auch in Bezug auf den Zyklus nach der Chemotherapie gab es Unterschiede zwischen den beiden Altersgruppen, welche jedoch ebenfalls nicht signifikant

waren ($p = 0,458$). So hatten 68,2 % ($n = 15$) der Patientinnen im Alter von 13-29 Jahren noch einen regelmäßigen Zyklus. Eine Patientin (4,5 %) gab einen unregelmäßigen Zyklus an und 27,3 % ($n = 6$) wiesen eine Amenorrhö auf. In dieser Altersgruppe hatte eine Patientin nach Beendigung der onkologischen Therapie ein Kind geboren und eine weitere Patientin war zum Zeitpunkt des Follow-ups schwanger.

In der Gruppe der 30-40-Jährigen hatten mit 44,4 % ($n = 4$) durchschnittlich weniger Patientinnen noch einen regelmäßigen Zyklus. Auch hier hatte eine Patientin einen unregelmäßigen Zyklus (11,1 %) und mit 44,4 % ($n = 4$) hatten durchschnittlich mehr als unter den 13-29-Jährigen eine Amenorrhö. In dieser Gruppe gab es eine Geburt nach erfolgter Chemotherapie. Die Fertilitätsparameter der beiden Altersgruppen nach der onkologischen Therapie stellt Tab. 15 gegenüber. Eine Übersicht über die Unterschiede zwischen beiden Altersgruppen bezüglich der Zyklusanamnese beim Follow-up zeigt Abb. 15.

Tab. 15: Fertilitätsparameter nach der onkologischen Therapie in Abhängigkeit vom Alter.

Fertilitätsparameter nach CHT	13-29 Jahre (n = 24)	Median	30-40 Jahre (n = 11)	Median
	Mittelwert \pm SD, bzw. n (%)		Mittelwert \pm SD, bzw. n (%)	
AMH nach CHT [$\mu\text{g/l}$]	1,24 \pm 1,34	9,63	1,10	0,20
AMH-Differenz	-2,42 \pm 2,78	-1,9	-0,80 \pm 1,17	-0,1
FSH nach CHT [IU/l]	9,91 \pm 14,99	5,70	14,77 \pm 14,74	7,80
FSH-Differenz	6,64 \pm 16,72	2,6	5,76 \pm 12,88	0,1
E2 nach CHT [pg/ml]	24,55 \pm 22,49	13,39	79,98 \pm 75,78	53,59
E2-Differenz	-11,43 \pm 54,00	0,00	46,99 \pm 53,92	19,22
Zyklus nach CHT:	n = 22		n = 9	
• regelmäßig	15 (68,2 %)		4 (44,4 %)	
• unregelmäßig	1 (4,5 %)		1 (11,1 %)	
• kein Zyklus	6 (27,3 %)		4 (44,4 %)	
• fehlend	2		2	
Schwangerschaften nach CHT	2 (8,3 %)		1 (12,5 %)	

Angaben in % jeweils innerhalb der Altersgruppe.

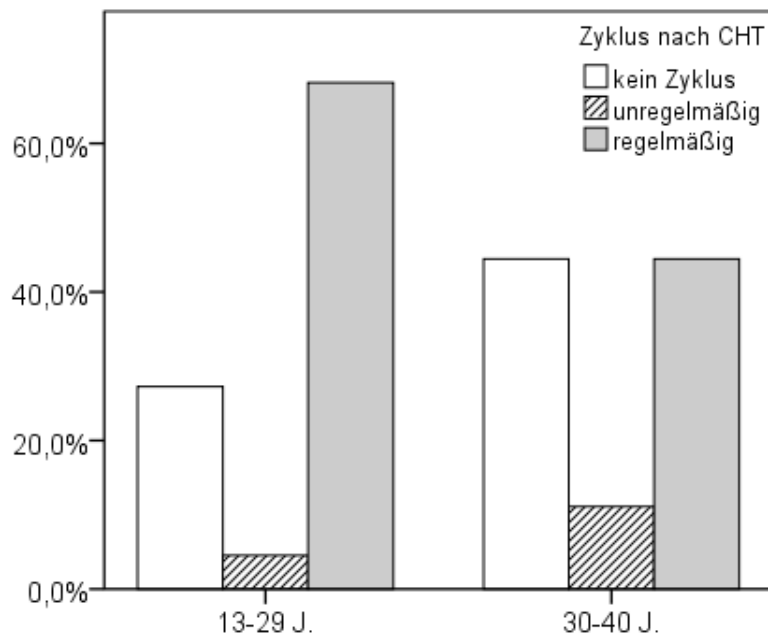


Abb. 15: Zyklus nach Chemotherapie in beiden Altersgruppen.

3.4 Fertilitätsparameter therapieabhängig

Zur Beurteilung des Einflusses der Art der zytotoxischen Therapie auf die Fertilitätsparameter sollten die erhobenen Fertilitätsparameter der sechs verschiedenen Diagnosegruppen miteinander verglichen werden. Aufgrund der vielen Drop-outs in unserem Patientenkollektiv wiesen die verschiedenen Diagnosegruppen jedoch eine nur sehr geringe Größe auf ($n = 1$ bis maximal $n = 9$). Da der Vergleich zwischen diesen kleinen Untergruppen keine sinnvollen statistischen Berechnungen erlaubte, wurde die Einflussgröße der Therapieart in dieser Arbeit nicht weiter berücksichtigt. Es können demzufolge keine Aussagen über den Einfluss der Art der zytotoxischen Therapie auf die Fertilitätsparameter getroffen werden.

3.5 Einfluss von BMI und hormoneller Antikonzeption auf die Fertilitätsparameter

Da zum BMI und zur Verwendung einer Antikonzeption jeweils nur Angaben zum Zeitpunkt des Follow-ups vorlagen, wurde ein möglicher Zusammenhang

jeweils nur für die Fertilitätsparameter nach der Chemotherapie ermittelt. Der Fokus lag hierbei auf dem AMH, für das bisher nur wenige Daten zu möglichen Einflussgrößen vorliegen.

Die Korrelation zwischen dem BMI und den AMH-Serumspiegeln nach der Chemotherapie war jedoch nicht signifikant ($p = 0,366$). Auch die Verwendung einer Antikonzeption beeinflusste die AMH-Werte nach der Chemotherapie nicht signifikant ($p = 0,650$).

Auch die FSH- und Estradiol-Spiegel nach der zytotoxischen Therapie wurden in unserem Patientenkollektiv weder durch einen erhöhten BMI, noch durch hormonelle Kontrazeptiva signifikant beeinflusst. Zwischen dem Zyklus nach der Chemotherapie und dem BMI konnte ebenfalls kein signifikanter Zusammenhang nachgewiesen werden.

4 Diskussion

4.1 Diskussion der Ergebnisse

4.1.1 Wirkung von GnRH-Agonisten in der Fertilitätsprotektion im Gesamtkollektiv

In dieser prospektiven Kohortenstudie konnte kein protektiver Effekt von GnRH-Agonisten auf die ovarielle Reserve während einer gonadotoxischen Therapie nachgewiesen werden. So waren die AMH-Serumspiegel im Gesamtkollektiv (n = 35) nach der Chemotherapie signifikant ($p < 0,001$) niedriger als vor der Chemotherapie, was für eine Verminderung der ovariellen Reserve der Patientinnen spricht. Weiterhin waren die FSH-Serumspiegel im Gesamtkollektiv nach der Chemotherapie signifikant ($p = 0,023$) angestiegen, was ebenfalls einer verminderten ovariellen Aktivität entspricht. Überraschend scheint in diesem Kontext der (nicht signifikante) Anstieg der Estradiolwerte nach der Chemotherapie, da die prämatüre ovarielle Insuffizienz normalerweise mit einem Estradioldefizit einhergeht. Dennoch können auch die teilweise stark erhöhten Estradiolspiegel auf eine beginnende ovarielle Insuffizienz hindeuten. So kann es in den Frühstadien der ovariellen Insuffizienz zu einer vorzeitigen Follikelrekrutierung oder einem polyfollikularen Wachstum kommen, welche in einer vorübergehenden erhöhten Estradiolfreisetzung resultieren (Licciardi et al., 1995, Bukman und Heineman, 2001). Im Verlauf kommt es anschließend jedoch zu einem Absinken der Estradiolspiegel im Sinne einer manifesten ovariellen Insuffizienz.

Auch bezüglich der Zyklusanamnese konnte in unserem Patientenkollektiv keine fertilitätsprotektive Wirkung von GnRH-Analoga nachgewiesen werden. So hatten 12-48 Monate nach der Chemotherapie nur noch 61,3 % der Patientinnen einen regelmäßigen Zyklus im Vergleich zu 100 % vor der Chemotherapie. Somit wurde trotz der GnRH-a-Therapie bei einem großen Teil des Patientenkollektivs durch die Chemotherapie eine vorzeitige Menopause (Verlust der Ovulation vor dem 40. Lebensjahr) induziert. Die Rate vorzeitiger

ovarieller Insuffizienz war in unserem Patientenkollektiv nach der Chemotherapie deutlich höher als in der Normalpopulation (1 %), was darauf hindeutet, dass die GnRH-Agonisten die durch die Chemotherapie bedingte Reduktion der ovariellen Reserve nicht verhindern konnten (Shah und Nagarajan, 2014).

Auch die Schwangerschaftsraten im Patientenkollektiv sprechen nicht für eine ovariprotektive Wirkung von GnRH-a. So waren unter den 35 Studienpatientinnen zum Zeitpunkt des Follow-ups nur 3 Schwangerschaften aufgetreten. Hierbei muss jedoch berücksichtigt werden, dass das Follow-up für diesen Endpunkt mit 12-48 Monaten nach Ende der onkologischen Therapie zu einem sehr frühen Zeitpunkt stattfand.

Insgesamt konnte die Anwendung von GnRH-a in unserem Patientenkollektiv demnach die Entwicklung einer vorzeitigen ovariellen Insuffizienz durch gonadotoxische Therapien nicht verhindern.

4.1.2 Einfluss des Alters auf die Fertilitätsparameter

In unserer Studie konnte zwischen der Gruppe der 13-29-jährigen und der Gruppe der 30-40-jährigen Patientinnen kein signifikanter Unterschied bezüglich der Fertilitätsparameter vor sowie nach der Chemotherapie nachgewiesen werden. Der aktuellen Evidenz zufolge verstärkt ein höheres Alter jedoch die gonadotoxischen Nebenwirkungen einer Chemotherapie, was u. a. durch die ohnehin schon verminderte ovarielle Reserve erklärt werden kann (s. Einleitung: Auswirkungen einer Chemotherapie). Diese altersbedingte Reduktion der ovariellen Reserve wird diversen Studien zufolge sowohl von sinkenden AMH-Serumspiegeln als auch von steigenden FSH-Spiegeln und einer verminderten Anzahl antraler Follikel im AFC adäquat wiedergespiegelt (van Rooij et al., 2005, Bentzen et al., 2013, Wiweko et al., 2013, Broer et al., 2014).

Auch in unserem Patientenkollektiv waren in der Gruppe der 30-40-Jährigen die AMH-Spiegel vor und nach der Chemotherapie im Mittel niedriger, die FSH-

Spiegel im Mittel höher und es hatten durchschnittlich weniger Patientinnen nach der zytotoxischen Therapie noch einen regelmäßigen Zyklus. Bezüglich der Estradiolspiegel fiel auf, dass die Werte nach der Chemotherapie hauptsächlich in der Gruppe der 30-40-Jährigen deutlich angestiegen waren, was als gehäuftes Auftreten einer vorzeitigen Follikelrekrutierung in dieser Altersgruppe interpretiert werden kann. Insgesamt deuteten die Fertilitätsparameter in der Gruppe der Älteren verglichen mit der Gruppe der Jüngeren somit auf eine durchschnittlich geringere ovarielle Reserve hin, wenngleich in unseren Untersuchungen das Niveau der Signifikanz nicht erreicht wurde. Eine mögliche Erklärung hierfür ist, dass unser Patientenkollektiv insgesamt nur aus 35 Patientinnen bestand, welche außerdem in zwei sehr unterschiedlich große Altersgruppen (n = 24 vs. n = 11) unterteilt wurden, wodurch die Teststärke bezüglich des Einflusses des Alter auf die Fertilitätsparameter nur gering war.

4.1.3 Einfluss von BMI und hormoneller Antikonzeption auf das AMH

In unserer Studie konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Body-Mass-Index und den AMH-Serumspiegeln nachgewiesen werden. Hierbei ist jedoch zu beachten, dass jeweils nur die AMH-Werte nach der Chemotherapie mit den BMI-Werten nach der Chemotherapie korreliert wurden, da zu den Körpermaßen vor der onkologischen Therapie keine Daten erhoben wurden. Da die AMH-Werte und möglicherweise auch die BMI-Werte zusätzlich durch die onkologischen Therapiemaßnahmen beeinflusst wurden, wäre es besser gewesen, auch die BMI- und AMH-Werte vor der Chemotherapie in der Ermittlung einer Korrelation zu berücksichtigen.

Die Aussage, dass ein erhöhter BMI die Höhe der AMH-Werte nicht beeinflusst, ist dennoch kongruent mit den Ergebnissen einer großen Querschnittsstudie aus dem Jahr 2013, in der unter 2300 gesunden prämenopausalen Frauen kein signifikanter Zusammenhang zwischen AMH-Spiegeln und dem BMI beobachtet werden konnte (Dolleman et al., 2013).

In einer anderen Studie (n = 36) aus dem Jahr 2008 konnte hingegen eine signifikante Senkung der AMH-Spiegel bei übergewichtigen Frauen (BMI > 30 kg/m²) im Vergleich zu normalgewichtigen Frauen festgestellt werden (Su et al., 2008). Diese Patientinnen waren mit 40-52 Jahren jedoch deutlich älter als die Patientinnen in unserer Studie und älter als die meisten Patientinnen, für die eine Ovarprotektion während einer Chemotherapie in Frage kommt. Daher bleibt die Bedeutung der Ergebnisse der Studie von Su et al für die durchschnittlich wesentlich jüngere Zielgruppe von Patientinnen, die eine Fertilitätsprotektion während einer Chemotherapie wünschen, fraglich. In einer weiteren Studie aus dem Jahr 2011 mit 290 infertilen Frauen wurde ebenfalls festgestellt, dass übergewichtige Frauen niedrigere AMH-Werte hatten als normalgewichtige Frauen (Buyuk et al., 2011). Dies galt jedoch nur für Frauen, deren ovarielle Reserve bereits reduziert war (definiert als FSH am 3. Zyklustag > 10 IU/l). Bei Frauen mit einer normalen ovariellen Reserve konnte kein Zusammenhang zwischen dem BMI und den AMH-Serumspiegeln hergestellt werden. Für die Schlussfolgerung, dass das AMH als Prädiktor der ovariellen Reserve bei übergewichtigen Frauen nicht verwendet werden sollte, ist die Evidenz bisher nicht ausreichend. Es bleiben die Ergebnisse zukünftiger Studien zur möglichen Auswirkung eines erhöhten BMI auf die AMH-Serumspiegel abzuwarten.

Auch für die Verwendung einer hormonellen Antikonzeption konnte in unserer Studie kein signifikanter Zusammenhang mit der Höhe der AMH-Serumspiegel hergestellt werden. Hierbei konnten jedoch ebenfalls nur die Angaben nach der zytotoxischen Therapie berücksichtigt werden. Da die AMH-Werte nach der Chemotherapie in unserem Kollektiv ohnehin signifikant niedriger waren als vorher, wäre die Aussagekraft über den möglichen Einfluss einer Antikonzeption auf die AMH-Werte möglicherweise größer gewesen, wenn auch die Daten vor der Chemotherapie berücksichtigt worden wären.

In der oben erwähnten großen klinischen Querschnittsstudie von Dolleman et al wurden bei der Verwendung einer hormonellen Antikonzeption signifikant niedrigere altersspezifische AMH-Perzentilen (11 Perzentilen niedriger; p < 0,001) gemessen (Dolleman et al., 2013). Die Meta-Analyse von Broer

zeigt, dass diese Ergebnisse auch in anderen Studien bestätigt wurden (Broer et al., 2014). Insgesamt spricht die aktuelle Evidenz dafür, dass hormonelle Kontrazeptiva einen reversiblen suppressiven Effekt auf AMH-Serumspiegel haben. Die Verwendung einer hormonellen Antikonzeption sollte daher in der klinischen Praxis bei der Interpretation von AMH-Werten gesondert berücksichtigt werden.

4.2 Forschungskontext

4.2.1 AMH als Prädiktor der ovariellen Reserve

Trotz der Vorteile des Anti-Müller-Hormons gegenüber FSH und Inhibin B in der Beurteilung der ovariellen Reserve bestehen bezüglich der klinischen Anwendbarkeit dieses relativ neuen Parameters noch Kontroversen. Besonders problematisch in der Anwendung von AMH als Prädiktor der ovariellen Reserve sind die bisher fehlenden internationalen Standards bezüglich der verwendeten Assays, weshalb auch die Ergebnisse bisher durchgeführter Studien nur schlecht vergleichbar sind. (Broer et al., 2014). Aus diesem Grund besteht bislang auch noch kein Konsens über die Definition eines Cut-off-Wertes, bzw. eines Normbereiches für AMH-Serumspiegel (Anderson und Segars, 2012, Broer et al., 2014).

Weiterhin gibt es kontroverse Ergebnisse bezüglich möglicher Faktoren, welche die AMH-Werte beeinflussen könnten, wie z. B. orale Kontrazeptiva, oder auch GnRH-Analoga (Broer et al., 2014). So sanken die AMH-Werte einer Studie mit 33 gesunden Probandinnen im Alter von 18-45 Jahren zufolge besonders in den ersten vier Wochen nach Beginn einer GnRH-a-Therapie signifikant ab und stiegen innerhalb von 30 Tagen nach Absetzen der GnRH-a auf höhere Werte als vor der Therapie an (Su et al., 2013). Ähnliche Ergebnisse erzielten Hagen et al in einer Studie mit 15 Mädchen, die eine GnRH-a-Therapie erhielten (Hagen et al., 2012a). Sechs Monate nach Absetzen der GnRH-a-Therapie ließ sich in dieser Studie die suppressive Wirkung der GnRH-a jedoch nicht mehr nachweisen und die AMH-Werte erreichten ähnliche Werte wie vor der Chemotherapie. Es ist daher möglich, dass das AMH während einer GnRH-a-

Therapie ein weniger zuverlässiger Parameter in der Beurteilung der ovariellen Reserve ist als in der Normalpopulation. Der suppressive Effekt der GnRH-a auf die AMH-Werte scheint nach Beendigung der Therapie jedoch reversibel zu sein, wodurch die Anwendbarkeit in einem Studiendesign ähnlich unserer Studie (> 12 Monate bis zum Follow-up) weiterhin möglich wäre. Es sind jedoch weitere Studien mit größeren Patientenkollektiven nötig, um diese Aussagen zu überprüfen.

Auch die Verwendung einer hormonellen Antikonzeption führte in verschiedenen Studien (s.o.) zu einer signifikanten Senkung des AMH-Wertes (Arbo et al., 2007, Shaw et al., 2011). Es wurde daher vermutet, dass die AMH-Sekretion möglicherweise zumindest partiell abhängig von der Gonadotropin-Sekretion (und somit beeinflussbar durch GnRH-Analoga und hormonelle Kontrazeptiva) sein könnte. In anderen Studien (n = 45, n = 24) wiederum blieben die AMH-Werte auch während einer hormonellen Antikonzeption stabil (Somunkiran et al., 2007, Streuli et al., 2008). Doch auch hier ist die Generalisierbarkeit der Ergebnisse aufgrund der geringen Größe der Patientenkollektive begrenzt.

Weitere mögliche Einflussfaktoren auf die AMH-Serumspiegel könnten verschiedenen Studien zufolge der Body-Mass-Index (s.o.), die Ethnizität, der Vitamin-D-Status, verschiedene AMH-Rezeptor-Polymorphismen, Schwangerschaften und ein Nikotinabusus sein (Broer et al., 2014). Die klinische Relevanz dieser Ergebnisse bleibt jedoch abzuwarten.

Ein weiterer Einwand gegen die Verwendung des AMH als Parameter zur Beurteilung der Fertilität besagt, dass es bisher kaum Studien gibt, in denen ein Zusammenhang zwischen Schwangerschaftsraten und AMH-Serumspiegeln hergestellt werden konnte. Der „Goldstandard“ der Fertilitätsevaluation bleibt somit für das AMH bislang kaum untersucht. Dies liegt unter anderem daran, dass die hierfür nötigen langen Follow-up-Zeiträume in der Praxis nur sehr schwer realisierbar sind. Es gibt jedoch erste Erkenntnisse, dass das AMH trotz der guten Korrelation mit der ovariellen Reserve ein schlechter Prädiktor einer reduzierten Fekundität sein könnte. So waren einer prospektiven

Kohortenstudie mit 186 gesunden Frauen im Alter von 20-35 Jahren zufolge niedrige AMH-Werte $< 10 \text{ pmol/l}$ ($= < 0,7 \text{ ng/ml}$) im Vergleich zu mittleren AMH-Werten ($14\text{-}39 \text{ pmol/l}$) nicht mit verminderten Schwangerschaftsraten assoziiert (Hagen et al., 2012b). In dieser Studie hatten Patientinnen mit erhöhten AMH-Werten ($40\text{-}183 \text{ pmol/l}$) im Vergleich zu Patientinnen mit mittleren und verringerten AMH-Spiegeln die geringste Fekundität. Die Teststärke dieser Studie war jedoch insbesondere in der Gruppe der Patientinnen mit niedrigen AMH-Spiegeln aufgrund der kleinen Stichprobe nicht ausreichend. Steiner et al konnten hingegen zeigen, dass niedrige AMH-Serumspiegel ($< 0,7 \text{ ng/ml}$) bei 100 Frauen im Alter von 30-44 Jahren mit einer signifikant niedrigeren Schwangerschaftsrate (OR 0,38; 95%-CI: 0,08–0,91) assoziiert waren (Steiner et al., 2011). Die beiden Studien sind jedoch aufgrund der Heterogenität der Patientenkollektive (insbesondere in Bezug auf das Alter) sowie aufgrund der Verwendung verschiedener AMH-Assays schlecht vergleichbar.

Mehr Daten zur Evaluation des AMH als Fertilitätsparameter liegen im Rahmen von Studien zur Vorhersage des Erfolgs einer IVF vor. Doch auch auf diesem Gebiet waren einer Meta-Analyse von Broer et al zufolge weder das AMH noch der antrale Follikel-Count (AFC) ausreichend zuverlässige Prädiktoren einer reduzierten Fekundität (Broer et al., 2009). Es wird dennoch vermutet, dass verringerte, ebenso wie erhöhte AMH-Werte mit verminderten Schwangerschaftsraten einhergehen (Hagen et al., 2012b). Um dies zu überprüfen, sind in Zukunft jedoch weitere große, kontrollierte Studien mit langen Follow-up-Zeiträumen nötig.

Trotz der obengenannten Einwände bleibt das AMH bislang der am besten mit der ovariellen Reserve korrelierende Parameter mit den geringsten inter- und intrazyklischen Schwankungen (Broer et al., 2014). Insgesamt besteht jedoch weiterer Forschungsbedarf, um die Zuverlässigkeit von AMH als Fertilitätsparameter (insbesondere in Bezug auf die Fekundität) zu überprüfen. Des Weiteren besteht ein dringender Bedarf an internationalen Leitlinien bezüglich der Analyse von AMH-Serumspiegeln mittels der verschiedenen Assays, um die Ergebnisse verschiedener Labore vergleichbar zu machen. Ferner sollten in der klinischen Praxis die Umstände, unter denen AMH-Proben

entnommen werden (GnRH-a, Antikonzeption, Alter, etc.), bei der Interpretation von AMH-Werten sorgfältig in Betracht gezogen werden.

Zur besseren Vergleichbarkeit der verschiedenen Screening-Parameter in der Beurteilung der ovariellen Reserve wurde in Anlehnung an die Empfehlungen der ASRM (*American Society for Reproductive Medicine*) Tab. 16 erstellt. Die Tabelle zeigt eine Übersicht über die aktuelle Evidenzlage der verschiedenen Fertilitätsparameter im Rahmen einer IVF und stellt bisher verwendete Cut-off-Werte sowie die Gütekriterien der verschiedenen Tests gegenüber. Insgesamt scheint derzeit die Kombination aus AFC und AMH-Serumspiegel-Bestimmung die ovarielle Reserve einer Frau am besten zu reflektieren.

Tab. 16: Screening-Tests ovarieller Reserve.

[Modifiziert nach (ASRM, 2012)]

	AMH (ng/ml)	FSH (IU/l)	Inhibin B (pg/ml)	AFC (n)
Cut-off-Wert	0,2-0,7	10-20	10-22	3-10
schlechtes IVF-Ansprechen	40-97	10-80	35-98	9-73
Sensitivität (%)				
schlechtes IVF-Ansprechen	78-92	83-100	68-98	73-100
Spezifität (%)				
reduzierte Fekundität	*	7-58	*	8-33
Sensitivität (%)				
reduzierte Fekundität	*	43-100	*	64-100
Spezifität (%)				
Reliabilität	gut	eingeschränkt	eingeschränkt	gut
Vorteile	gute Reliabilität	weitverbreitete Anwendung	-	gute Reliabilität, weitverbreitete Anwendung
Nachteile	fehlende internationale Standards, keine Prädiktion von Schwangerschaften	eingeschränkte Reliabilität, niedrige Sensitivität	eingeschränkte Reliabilität, keine Prädiktion von Schwangerschaften	niedrige Sensitivität

*=unzureichende Evidenz.

4.2.2 GnRH-Agonisten in der Fertilitätsprotektion

Bislang bleiben die Möglichkeiten der Fertilitätsprotektion während einer gonadotoxischen Therapie insgesamt leider nur eingeschränkt. Keine Methode ist ideal und keine Methode kann die Fertilität nach einer gonadotoxischen

Therapie garantieren. Trotz intensiver Forschung auf dem Gebiet seit 1985 konnte die Wirksamkeit von GnRH-Analoga zur Ovarprotektion bis heute weder abschließend bewiesen, noch abschließend widerlegt werden (Ataya et al., 1985, Blumenfeld et al., 2014).

Obwohl mittlerweile 29 kontrollierte Studien (11 randomisierte und 18 nicht-randomisierte) mit insgesamt 2430 Patientinnen zur Wirksamkeit von GnRH-Agonisten in der Fertilitätsprotektion vorliegen, bleiben die Ergebnisse kontrovers (Blumenfeld et al., 2014). 20 Studien zufolge (davon 5 RCT's = randomised controlled trials) reduzierten GnRH-a die Rate der POF nach onkologischer Therapie signifikant, wohingegen 9 Studien (davon 6 RCT's) keinen protektiven Effekt von GnRH-a nachwiesen. Die möglichen Ursachen für diese widersprüchlichen Ergebnisse sind vielfältig.

Die Hauptlimitation vieler Studien besteht darin, dass die Teststärke häufig nur gering ist, da nur kleine Patientenkollektive rekrutiert werden konnten. So lag die Größe der Stichprobe in 14 der 29 Studien bei unter 100 Patientinnen (n = 16-100) (Blumenfeld et al., 2014). Außerdem gibt es bisher kaum Daten zu Schwangerschaftsraten nach einer Chemotherapie mit gleichzeitiger GnRH-a-Gabe im Vergleich zu Schwangerschaftsraten nach einer Chemotherapie allein (Turner et al., 2013, Blumenfeld et al., 2014). Das Problem hierbei sind die dafür nötigen langen Follow-up-Zeiträume, die in den meisten Studien mit 6 Monaten bis 3 Jahren nicht erfüllt wurden. Die bisher größte Studie hierzu, mit Schwangerschaftsraten von 71 % (30 von 42 Patientinnen) nach Chemotherapie und GnRH-a wurde ohne Kontrollgruppe durchgeführt, so dass keine Aussage über das Ausmaß des Einflusses von GnRH-a auf die Schwangerschaftsraten getroffen werden kann (Wong et al., 2012).

Weitere Probleme bei der Interpretation von Studienergebnissen zur Wirksamkeit von GnRH-Analoga in der Fertilitätsprotektion bereiten die uneinheitlichen Definitionen von Fertilität bzw. ovarieller Insuffizienz (POF). In einigen Studien wurde ein regelmäßiger Menstruationszyklus mit einer erhaltenen Fertilität gleichgesetzt, obwohl mittlerweile allgemein anerkannt ist, dass ein regelmäßiger Zyklus die ovarielle Funktion nicht genau widerspiegelt

(Bukman und Heineman, 2001, Yang et al., 2013). So ist die Fertilität einer Frau bereits viele Jahre vor der Menopause reduziert bis aufgehoben, auch wenn noch regelmäßige Menstruationszyklen auftreten (te Velde und Pearson, 2002). Weiterhin kann bei Patientinnen, die eine Chemotherapie erhalten, auch eine subklinische Infertilität auftreten, weshalb die Zyklusanamnese allein hier nicht ausreichend ist, um die Fertilität zu beurteilen (Turner et al., 2013). Auch kann das Vorliegen einer Amenorrhö bei Chemotherapie-Patientinnen nicht mit einer Infertilität gleichgesetzt werden. Eine Amenorrhö tritt nach einer Chemotherapie zwar häufig auf, jedoch ist diese zum Teil nach einer gewissen Zeit reversibel (Bines et al., 1996). Es wird daher empfohlen die Beurteilung der Fertilitätsparameter (anders als in einigen bisher durchgeführten Studien) frühestens 12 Monate nach der letzten Chemotherapie durchzuführen, um sicherzugehen, dass keine Patientin fälschlich als infertil eingestuft wird (Blumenfeld et al., 2014). Die unterschiedlich gewählten Follow-up-Zeiträume (6 Monate bis 3 Jahre) bereiten weitere Probleme in der Vergleichbarkeit der Studien. Außerdem gibt es bislang keine Daten dazu, für welchen Zeitraum die ovarielle Funktion von Patientinnen, welche eine Chemotherapie mit gleichzeitiger GnRH-a-Therapie erhielten, aufrechterhalten werden konnte. Blumenfeld et al zufolge blieb bei den Patientinnen, bei denen sich nach der Chemotherapie wieder ein Zyklus einstellte, die ovarielle Funktion durchschnittlich für 5-15 Jahre erhalten (Blumenfeld et al., 2014). Hierbei ist jedoch unklar, ob die Wiederkehr des Zyklus tatsächlich auf die Wirkung der GnRH-a-Therapie zurückzuführen ist, da keine Angaben zu einer Kontrollgruppe vorliegen. Weitere Publikationen hierzu gibt es bisher nicht.

Zusätzlich zu den unterschiedlichen Zeitpunkten der Beurteilung der ovariellen Reserve wurden von Studie zu Studie auch verschiedene Methoden hierfür verwendet. So wurde die Rate der POF je nach Studie anhand des Wiedereinsetzens des Zyklus, verschiedener Hormonwerte (FSH, Inhibin B, AMH) oder mittels sonographischer Bestimmung der antralen Follikelzahl (AFC) ermittelt. Aufgrund der unterschiedlichen Korrelation dieser Parameter mit der tatsächlichen ovariellen Reserve ist die Vergleichbarkeit der Studien demzufolge nur bedingt möglich. So konnten aufgrund mangelnder Daten in die

Meta-Analysen von Bedaiwy und Yang et al keine Analysen serologischer Marker zur genaueren Beurteilung der ovariellen Reserve eingeschlossen werden (Bedaiwy et al., 2011, Yang et al., 2013). Die Ergebnisse dieser beiden Meta-Analysen beruhen somit allein auf der Zyklusanamnese nach der Chemotherapie. Beide Meta-Analysen kommen zu dem Ergebnis, dass GnRH-a die POF-Rate (hier zumeist definiert als Amenorrhö nach 6, 8, oder 12 Monaten) nach der Chemotherapie signifikant vermindern. Bedaiwy et al schlussfolgern ferner, dass die Anwendung von GnRH-a einen positiven Effekt auf die Wiederkehr eines Menstruationszyklus nach der Chemotherapie hat, wohingegen Yang et al zum gegenteiligen Ergebnis kommen, obwohl zum Teil die selben Grundlagenstudien verwendet wurden. Diese wurden jedoch in den beiden Meta-Analysen unterschiedlich interpretiert. So deuteten Bedaiwy et al die Ergebnisse von Badawy et al aus dem Jahr 2009 als positiv (GnRH-a wirken protektiv), wohingegen Yang et al diese negativ bewerteten (GnRH-a wirken nicht protektiv). Eine weitere Ursache für die Differenzen bezüglich der Ergebnisse zur Rückkehr des Zyklus könnte sein, dass bei Bedaiwy et al nur die Ergebnisse von zwei randomisierten Studien zur Analyse dieser Zielgröße verwendet werden konnten (Bedaiwy et al., 2011). Die verschiedenen Schlussfolgerungen der beiden Meta-Analysen verdeutlichen die Schwierigkeit des Vergleichs der vielen im Design sehr heterogen konzipierten Studien zur Wirkung von GnRH-a.

Bei der Interpretation der bisher durchgeführten Studien fällt weiterhin auf, dass insgesamt bislang nur sehr wenige Studien das AMH, den aktuell genauesten serologischen Marker, zur Bestimmung der ovariellen Reserve verwendeten. So konnte aufgrund mangelnder Daten in die beiden oben genannten Meta-Analysen sowie auch in die Cochrane-Analyse von 2011 nur eine einzige Studie (Giuseppe 2007, n = 29), die das AMH zur Beurteilung der ovariellen Reserve verwendete, eingeschlossen werden (Chen et al., 2011, Yang et al., 2013). Zur besseren Vergleichbarkeit zukünftiger Studien wäre die Anwendung einheitlicher, möglichst aussagekräftiger Parameter (AMH und AFC) zur Bestimmung der ovariellen Reserve wünschenswert.

Die Vergleichbarkeit bisheriger Studien ist außerdem limitiert durch die Heterogenität der Patientenkollektive bezüglich Alter sowie Art und Dosis der onkologischen Therapie. So variierte das mediane Alter der Patientinnen der bisherigen Studien zwischen 26 und 45 Jahren (Alterspanne 14-55 Jahre) (Blumenfeld et al., 2014). Da die ovarielle Reserve im Alter von über 40 Jahren jedoch ohnehin nur noch sehr gering ist, ist die Effizienz einer Fertilitätsprotektion bei Patientinnen dieser Altersgruppe fraglich (Faddy et al., 1992, Blumenfeld et al., 2014). Daher sind die Ergebnisse der Studien, welche Patientinnen über 40 Jahre einschlossen (Sverrisdottir et al., 2009, Munster et al., 2012), aufgrund des großen Einflusses des Alters auf die ovarielle Reserve kaum mit den anderen vergleichbar.

Weiterhin könnte auch die je nach Art und Dosis der onkologischen Therapie stark variierende Gonadotoxizität die widersprüchlichen Ergebnisse der bisher durchgeführten Studien erklären. Damit auch für wenig toxische Therapien, wie z. B. das ABVD-Protokoll, oder besonders toxische Therapien, wie z. B. das Dosis-eskalierte BEACOPP-Protokoll eine ausreichende Teststärke erreicht werden kann, müssten hunderte von Patientinnen rekrutiert werden und nicht wie in einem Großteil der bisher durchgeführten Studien nur 16-100 (Blumenfeld et al., 2014). Die meisten Daten zur Fertilität nach einer Chemotherapie liegen bisher zu dem Zytostatikum Cyclophosphamid vor, jedoch ist auch hier die Vergleichbarkeit der einzelnen Studien durch verschiedene Kombinationstherapien und Cyclophosphamid-Dosen eingeschränkt.

4.3 Methodische Limitationen dieser Studie

Hauptlimitation dieser Studie ist die, aufgrund der vielen Drop-outs, nur sehr geringe Größe der Stichprobe (s. Tab. 4), wodurch die Generalisierbarkeit unserer Ergebnisse begrenzt bleibt. Auch wäre der Vergleich mit einer Kontrollgruppe (im besten Falle anhand eines randomisiert-kontrollierten Studiendesigns) von größerer allgemeiner Aussagekraft gewesen. Ferner war die Zusammensetzung unseres Patientenkollektivs in Bezug auf die Art der zytotoxischen Therapie sehr heterogen. Aufgrund der geringen Größe unseres

Patientenkollektivs konnten jedoch die Unterschiede zwischen den verschiedenen Erkrankungsgruppen mit ähnlichen Therapieprotokollen bezüglich der Fertilitätsparameter nach der Chemotherapie nicht untersucht werden.

Des Weiteren wäre es aufgrund neuester Erkenntnisse sinnvoll gewesen, die AMH-Serumspiegel zu einem definierten Zeitpunkt (frühe Follikelphase: 2.-4. Zyklustag) zu bestimmen (Broer et al., 2014). So zeigten zwei Studien, dass – anders als bisher angenommen – auch bei den AMH-Serumspiegeln zyklusabhängige Unterschiede auftreten können (Wunder et al., 2008, Overbeek et al., 2012). Um zukünftige Studien besser vergleichbar zu machen, wäre demzufolge zur Beurteilung der ovariellen Reserve die Bestimmung des AMH-Wertes in der frühen Follikelphase sinnvoll. Diese sollte idealerweise in Kombination mit einem antralen Follikel-Count (AFC) erfolgen, um die ovarielle Reserve möglichst genau zu erfassen. Da in unserer Studie das AMH zu einem willkürlichen Zeitpunkt und nicht während der frühen Follikelphase bestimmt wurde und darüber hinaus ein Teil der Patientinnen zum Zeitpunkt des Follow-ups eine hormonelle Antikonzeption verwendete, ist die Aussagekraft des AMH-Wertes als Prädiktor der ovariellen Reserve möglicherweise vermindert.

Weiterhin sind der aktuellen Studienlage zufolge ein regelmäßiger Zyklus und ein höherer AMH-Wert nicht gleichbedeutend mit einer erhaltenen Fertilität. Daher bleibt die Aussagekraft unserer Studie zur tatsächlichen Fertilität nach einer Chemotherapie und gleichzeitiger Ovarprotektion mittels GnRH-Agonisten eingeschränkt. Der Endpunkt der Schwangerschaftsraten als „Goldstandard“ der Fertilitätsevaluation konnte aufgrund des hierfür zu kurzen Follow-ups (12-48 Monate) in dieser Studie nicht überprüft werden. So gab es zum Zeitpunkt des Follow-ups unter allen Patientinnen nur zwei Geburten und eine Schwangerschaft.

Für die klinische Praxis lässt sich aus der aktuellen Evidenzlage folgende Vorgehensweise ableiten: Zeitnah nach der Diagnosestellung sollte eine individuelle Beratung erfolgen, in der auf mögliche gonadotoxische Nebenwirkungen der geplanten zytotoxischen Therapie sowie mögliche

Maßnahmen der Fertilitätsprotektion hingewiesen werden sollte. Bei Bedarf sollte die zügige Überweisung (noch vor Beginn der Chemotherapie) an ein spezialisiertes reproduktionsmedizinisches Zentrum (*Fertiprotekt*-Netzwerk) erfolgen. Hier sollte in der Beratung eine detaillierte Aufklärung über die verschiedenen Maßnahmen des Fertilitätserhalts in Abhängigkeit von der individuellen Situation der Patientin (Art und Dosis der zytotoxischen Therapie, Tumorentität, Alter, bestehende Partnerschaft) erfolgen. Weiterhin sollte aufgrund der erheblichen psychischen Belastungssituation eine psychosoziale Unterstützung angeboten werden (Turan und Oktay, 2014).

Zur Steigerung des Erfolgs einer Fertilitätsprotektion sollte betroffenen Patientinnen eine Kombination der verschiedenen Maßnahmen angeboten werden, s. auch Abb. 16. Aktuell ist die Kryokonservierung von Pn-Zellen das Verfahren mit der besten Evidenz. Alternativ kann die Kryokonservierung von unfertilisierten Oozyten erfolgen. Beide Verfahren können mit dem bislang experimentellen, aber dennoch vielversprechenden Verfahren der Kryokonservierung von Ovarialgewebe kombiniert werden. In onkologischen Notfallsituationen kann die Entnahme von unreifen Oozyten mit anschließender In-vitro-Maturation diskutiert werden. Bei einer Radiatio des Beckens kann zusätzlich eine Transposition der Ovarien in Betracht gezogen werden.

Auch eine GnRH-a-Therapie kann zusätzlich zu allen obengenannten Maßnahmen angeboten werden. Die GnRH-a-Gabe sollte aufgrund der unzureichenden Evidenz jedoch nur in Kombination mit anderen Methoden und möglichst nur im Rahmen von klinischen Studien erfolgen. Dabei müssen die Patientinnen auf die nicht eindeutige Datenlage explizit hingewiesen werden.

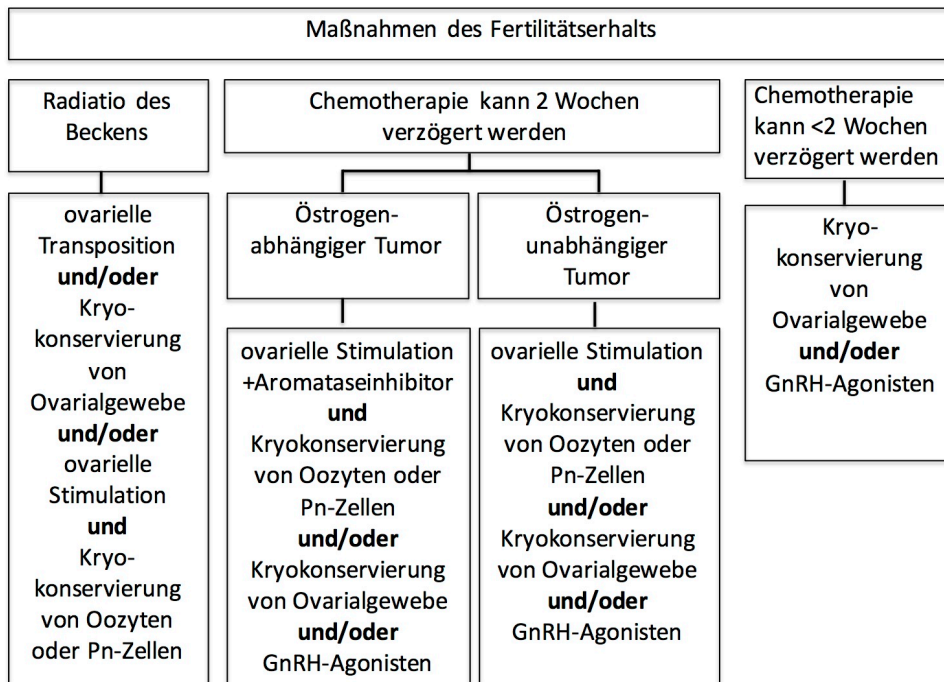


Abb. 16: Optionen zur Fertilitätsprotektion von Krebspatientinnen.
 [Modifiziert nach (von Wolff et al., 2011)]

5 Zusammenfassung

Eine Chemotherapie-induzierte Infertilität bedingt bei vielen betroffenen Patientinnen eine verminderte Lebensqualität sowie eine erhebliche psychische Belastung. Daher ist die Forschung an verschiedenen Maßnahmen der Fertilitätsprotektion von Patientinnen im reproduktionsfähigen Alter, die eine zytotoxische Therapie benötigen, von großer Bedeutung. Bislang gibt es keine ideale Methode der Ovarprotektion während einer gonadotoxischen Therapie.

Nicht-medikamentöse Maßnahmen zum Fertilitätserhalt haben den Nachteil der Invasivität und des hierzu häufig notwendigen Zeitfensters von mindestens zwei Wochen. Außerdem bleiben die Kryokonservierung von Ovargewebe, die In-vitro-Maturation und die Kryokonservierung von unreifen Oozyten bislang aufgrund der geringen Erfahrung nur experimentell. Bezüglich der Wirksamkeit einer medikamentösen Fertilitätsprotektion mittels GnRH-Agonisten bleibt die Evidenz kontrovers.

Anhand der hier vorgestellten prospektiven Kohortenstudie mit 116 prämenopausalen Chemotherapie-Patientinnen im Alter von 13-40 Jahren sollte die Wirksamkeit einer Fertilitätsprotektion mittels GnRH-a überprüft werden. Bei der Beurteilung der ovariellen Reserve lag der Fokus auf der Bestimmung des Anti-Müller-Hormons, welches nach aktueller Evidenz die ovarielle Reserve am genauesten widerspiegelt, jedoch bisher nur in wenigen Studien zu dieser Thematik untersucht wurde.

In unserem Patientenkollektiv waren die erhobenen Fertilitätsparameter (Zyklus und serologische Marker: AMH, FSH, E2) nach der Chemotherapie im Vergleich zu vorher größtenteils signifikant verändert, entsprechend einer verminderten ovariellen Reserve. Die Anti-Müller-Hormon-Serumspiegel waren im Gesamtkollektiv nach der Chemotherapie signifikant gesunken ($p < 0,001$) und die FSH-Serumspiegel waren signifikant angestiegen ($p = 0,023$). Ferner hatten nach der Chemotherapie nur noch 61,3 % der Patientinnen einen regelmäßigen Zyklus, im Gegensatz zu 100 % vor der Chemotherapie. Aus diesen Ergebnissen lässt sich ableiten, dass in unserem Patientenkollektiv trotz

der GnRH-a-Therapie die Entwicklung einer Chemotherapie-induzierten ovariellen Insuffizienz nicht verhindert werden konnte.

Besondere Berücksichtigung bei der Auswertung der Ergebnisse fanden der Einfluss des Alters und des Body-Mass-Index sowie die Verwendung einer hormonellen Konzeption auf die Fertilitätsparameter.

Aufgrund der hohen Zahl an Drop-outs (n = 81) sind die Ergebnisse dieser Studie jedoch nur eingeschränkt generalisierbar. Auch wäre der Vergleich mit einer Kontrollgruppe von größerer Aussagekraft gewesen.

Eine mögliche Erklärung für die weiterhin kontroverse Datenlage bezüglich der Wirksamkeit von GnRH-Agonisten in der Fertilitätsprotektion ist die schlechte Vergleichbarkeit der bisher durchgeführten Studien. Dies liegt unter anderem an den heterogenen Patientengruppen (Erkrankungsart, Therapieart und -dosis, Altersunterschied), den unterschiedlichen Definitionen ovarieller Insuffizienz, den teilweise sehr kurzen Follow-up-Zeiträumen sowie daran, dass der Großteil der Studien bislang nicht Placebo-kontrolliert durchgeführt wurde.

Insgesamt besteht daher der Bedarf an weiteren randomisiert-kontrollierten Studien mit großen Patientenkollektiven und genauen Methoden der Beurteilung der ovariellen Reserve, idealerweise mittels AMH-Wert-Bestimmung kombiniert mit der sonographischen Ermittlung der Anzahl antraler Follikel (AFC).

In der klinischen Praxis wird die Anwendung von GnRH-Agonisten in der Fertilitätsprotektion aufgrund der unklaren Datenlage nur in Kombination mit anderen Maßnahmen empfohlen.

6 Anhang

6.1 Abkürzungsverzeichnis

BMI	Body-Mass-Index
CHT	Chemotherapie
CI	Konfidenzintervall
E2	Estradiol
FSH	Follikel-stimulierendes Hormon
GnRH	Gonadotropin Releasing Hormon
GnRH-a	Gonadotropin Releasing Hormon Agonist
GnRH-ant	Gonadotropin Releasing Hormon Antagonist
hCG	humanes Choriongonadotropin
ICSI	intrazytoplasmatische Spermieninjektion
IU	international units = internationale Einheiten (IE)
IVF	In-vitro-Fertilisation
IVM	In-vitro-Maturation
LH	luteinisierendes Hormon
n	Anzahl der Merkmalsträger
OR	Odds Ratio
Pn-Zelle	Pronukleuszelle
POF	premature ovarian failure = prämatüre ovarielle Insuffizienz
RCT	randomised controlled trial = randomisiert-kontrollierte Studie
SD	standard deviation = Standardabweichung
SERM	selektiver Östrogen-Rezeptor-Modulator
SZT	Stammzelltransplantation

6.2 Fragebogen

Name:

Geburtsdatum:

Alter bei Diagnosestellung:

Alter (aktuell):

Diagnose:

Therapie:

Maßnahmen zum Fertilitätserhalt:

AMH, FSH, LH, E2 vor Therapiebeginn:

Aktuelles AMH, FSH, LH, E2:

Zyklus aktuell:

Familienstand:

Schwangerschaften:

Lifestyle:

- **BMI :**
- **Nikotin:**
- **EtOH:**
- **Komplentärmedizin:**

Medikation:

7 Literaturverzeichnis

- Anderson KS, Segars JH (2012) Predicting fertility with antimullerian hormone: is a cutoff value adequate? *Fertility and sterility* 98:1421-1422.
- Anderson RA, Wallace WH (2013) Antimullerian hormone, the assessment of the ovarian reserve, and the reproductive outcome of the young patient with cancer. *Fertility and sterility* 99:1469-1475.
- Arbo E, Vetori DV, Jimenez MF, Freitas FM, Lemos N, Cunha-Filho JS (2007) Serum anti-mullerian hormone levels and follicular cohort characteristics after pituitary suppression in the late luteal phase with oral contraceptive pills. *Human reproduction (Oxford, England)* 22:3192-3196.
- ASRM PC (2012) Testing and interpreting measures of ovarian reserve: a committee opinion. *Fertility and sterility* 98:1407-1415.
- Ataya K, Rao LV, Lawrence E, Kimmel R (1995) Luteinizing hormone-releasing hormone agonist inhibits cyclophosphamide-induced ovarian follicular depletion in rhesus monkeys. *Biology of reproduction* 52:365-372.
- Ataya KM, McKanna JA, Weintraub AM, Clark MR, LeMaire WJ (1985) A luteinizing hormone-releasing hormone agonist for the prevention of chemotherapy-induced ovarian follicular loss in rats. *Cancer research* 45:3651-3656.
- Balcerek MR, Simone; Hohmann, Cynthia; Keil, Thomas; Borgmann-Staudt, Anja (2012) Verdacht auf Infertilität nach Leukämien und soliden Tumoren im Kindes- und Jugendalter
Suspected Infertility After Treatment for Leukemia and Solid Tumors in Childhood and Adolescence. *Dtsch Arztebl Int* 2012; 109(7): 126-31; DOI: 103238/arztebl20120126.
- Bastings L, Beerendonk CC, Westphal JR, Massuger LF, Kaal SE, van Leeuwen FE, Braat DD, Peek R (2013) Autotransplantation of cryopreserved ovarian tissue in cancer survivors and the risk of reintroducing malignancy: a systematic review. *Human reproduction update* 19:483-506.
- Bath LE, Critchley HO, Chambers SE, Anderson RA, Kelnar CJ, Wallace WH (1999) Ovarian and uterine characteristics after total body irradiation in childhood and adolescence: response to sex steroid replacement. *British journal of obstetrics and gynaecology* 106:1265-1272.
- Bedaiwy MA, Abou-Setta AM, Desai N, Hurd W, Starks D, El-Nashar SA, Al-Inany HG, Falcone T (2011) Gonadotropin-releasing hormone analog cotreatment for preservation of ovarian function during gonadotoxic chemotherapy: a systematic review and meta-analysis. *Fertility and sterility* 95:906-914 e901-904.
- Behringer K, Breuer K, Reineke T, May M, Nogova L, Klimm B, Schmitz T, Wildt L, Diehl V, Engert A (2005) 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. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 23:7555-7564.

- Behringer K, Thielen I, Mueller H, Goergen H, Eibl AD, Rosenbrock J, Halbsguth T, Eichenauer DA, Fuchs M, Reiners KS, Renno JH, van der Ven K, Kuehr M, von Wolff M, Diehl V, Engert A, Borchmann P (2012) Fertility and gonadal function in female survivors after treatment of early unfavorable Hodgkin lymphoma (HL) within the German Hodgkin Study Group HD14 trial. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO* 23:1818-1825.
- Bentzen JG, Forman JL, Johannsen TH, Pinborg A, Larsen EC, Andersen AN (2013) Ovarian antral follicle subclasses and anti-mullerian hormone during normal reproductive aging. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 98:1602-1611.
- Bines J, Oleske DM, Cobleigh MA (1996) Ovarian function in premenopausal women treated with adjuvant chemotherapy for breast cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 14:1718-1729.
- Bisharah M, Tulandi T (2003) Laparoscopic preservation of ovarian function: an underused procedure. *American journal of obstetrics and gynecology* 188:367-370.
- Blumenfeld Z (2012) Chemotherapy and fertility. *Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology* 26:379-390.
- Blumenfeld Z, Avivi I (1999) Trying to preserve ovarian function in the face of chemotherapy? *Fertility and sterility* 71:773-775.
- Blumenfeld Z, Avivi I, Linn S, Epelbaum R, Ben-Shahar M, Haim N (1996) Prevention of irreversible chemotherapy-induced ovarian damage in young women with lymphoma by a gonadotrophin-releasing hormone agonist in parallel to chemotherapy. *Human reproduction (Oxford, England)* 11:1620-1626.
- Blumenfeld Z, Katz G, Evron A (2014) 'An ounce of prevention is worth a pound of cure': the case for and against GnRH-agonist for fertility preservation. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO*.
- Blumenfeld Z, Shapiro D, Shteinberg M, Avivi I, Nahir M (2000) Preservation of fertility and ovarian function and minimizing gonadotoxicity in young women with systemic lupus erythematosus treated by chemotherapy. *Lupus* 9:401-405.
- Brincker H, Rose C, Rank F, Mouridsen HT, Jakobsen A, Dombernowsky P, Panduro J, Andersen KW (1987) Evidence of a castration-mediated effect of adjuvant cytotoxic chemotherapy in premenopausal breast cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 5:1771-1778.
- Broer SL, Broekmans FJ, Laven JS, Fauser BC (2014) Anti-Mullerian hormone: ovarian reserve testing and its potential clinical implications. *Human reproduction update*.
- Broer SL, Mol BW, Hendriks D, Broekmans FJ (2009) The role of antimullerian hormone in prediction of outcome after IVF: comparison with the antral follicle count. *Fertility and sterility* 91:705-714.
- Brusamolino E, Lunghi F, Orlandi E, Astori C, Passamonti F, Barate C, Pagnucco G, Baio A, Franchini P, Lazzarino M, Bernasconi C (2000)

- Treatment of early-stage Hodgkin's disease with four cycles of ABVD followed by adjuvant radio-therapy: analysis of efficacy and long-term toxicity. *Haematologica* 85:1032-1039.
- Bukman A, Heineman MJ (2001) Ovarian reserve testing and the use of prognostic models in patients with subfertility. *Human reproduction update* 7:581-590.
- Burger HG, Dudley EC, Hopper JL, Groome N, Guthrie JR, Green A, Dennerstein L (1999) Prospectively measured levels of serum follicle-stimulating hormone, estradiol, and the dimeric inhibins during the menopausal transition in a population-based cohort of women. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 84:4025-4030.
- Buyuk E, Seifer DB, Illions E, Grazi RV, Lieman H (2011) Elevated body mass index is associated with lower serum anti-mullerian hormone levels in infertile women with diminished ovarian reserve but not with normal ovarian reserve. *Fertility and sterility* 95:2364-2368.
- Casper RF (1991) Clinical uses of gonadotropin-releasing hormone analogues. *CMAJ* 1991 January 15; 144(2): 153–158
- CDC NCFHS (2014) Birth Statistics. vol. 2014.
- Cha KY, Koo JJ, Ko JJ, Choi DH, Han SY, Yoon TK (1991) Pregnancy after in vitro fertilization of human follicular oocytes collected from nonstimulated cycles, their culture in vitro and their transfer in a donor oocyte program. *Fertility and sterility* 55:109-113.
- Chambers SK, Chambers JT, Holm C, Peschel RE, Schwartz PE (1990) Sequelae of lateral ovarian transposition in unirradiated cervical cancer patients. *Gynecologic oncology* 39:155-159.
- Chapman RM, Sutcliffe SB, Malpas JS (1979) Cytotoxic-induced ovarian failure in women with Hodgkin's disease. I. Hormone function. *JAMA : the journal of the American Medical Association* 242:1877-1881.
- Chen H, Li J, Cui T, Hu L (2011) Adjuvant gonadotropin-releasing hormone analogues for the prevention of chemotherapy induced premature ovarian failure in premenopausal women. *The Cochrane database of systematic reviews* Cd008018.
- Chian RC, Lim JH, Tan SL (2004) State of the art in in-vitro oocyte maturation. *Current opinion in obstetrics & gynecology* 16:211-219.
- Chian RC, Uzelac PS, Nargund G (2013) In vitro maturation of human immature oocytes for fertility preservation. *Fertility and sterility* 99:1173-1181.
- Chiarelli AM, Marrett LD, Darlington G (1999) Early menopause and infertility in females after treatment for childhood cancer diagnosed in 1964-1988 in Ontario, Canada. *American journal of epidemiology* 150:245-254.
- Christopoulos C, Dimakopoulou V, Rotas E (2008) Primary ovarian insufficiency associated with imatinib therapy. *The New England journal of medicine* 358:1079-1080.
- Chung K, Donnez J, Ginsburg E, Meirou D (2013) Emergency IVF versus ovarian tissue cryopreservation: decision making in fertility preservation for female cancer patients. *Fertility and sterility* 99:1534-1542.
- Clough KB, Goffinet F, Labib A, Renolleau C, Campana F, de la Rochefordiere A, Durand JC (1996) Laparoscopic unilateral ovarian transposition prior to irradiation: prospective study of 20 cases. *Cancer* 77:2638-2645.

- Clowse ME, Behera MA, Anders CK, Copland S, Coffman CJ, Leppert PC, Bastian LA (2009) Ovarian preservation by GnRH agonists during chemotherapy: a meta-analysis. *Journal of women's health* (2002) 18:311-319.
- Couzinet B, Lahlou N, Thomas G, Thalabard JC, Bouchard P, Roger M, Schaison G (1991) Effects of gonadotrophin releasing hormone antagonist and agonist on the pulsatile release of gonadotrophins and alpha-subunit in postmenopausal women. *Clinical endocrinology* 34:477-483.
- Critchley HO, Bath LE, Wallace WH (2002) Radiation damage to the uterus -- review of the effects of treatment of childhood cancer. *Human fertility (Cambridge, England)* 5:61-66.
- Critchley HO, Wallace WH, Shalet SM, Mamtora H, Higginson J, Anderson DC (1992) Abdominal irradiation in childhood; the potential for pregnancy. *British journal of obstetrics and gynaecology* 99:392-394.
- Cvancarova M, Samuelsen SO, Magelssen H, Fossa SD (2009) Reproduction rates after cancer treatment: experience from the Norwegian radium hospital. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 27:334-343.
- Danforth DR, Arbogast LK, Friedman CI (2005) Acute depletion of murine primordial follicle reserve by gonadotropin-releasing hormone antagonists. *Fertility and sterility* 83:1333-1338.
- Demeestere I, Simon P, Emiliani S, Delbaere A, Englert Y (2009) Orthotopic and heterotopic ovarian tissue transplantation. *Human reproduction update* 15:649-665.
- Dolleman M, Verschuren WM, Eijkemans MJ, Dolle ME, Jansen EH, Broekmans FJ, van der Schouw YT (2013) Reproductive and lifestyle determinants of anti-Mullerian hormone in a large population-based study. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 98:2106-2115.
- Dolmans MM, Luyckx V, Donnez J, Andersen CY, Greve T (2013) Risk of transferring malignant cells with transplanted frozen-thawed ovarian tissue. *Fertility and sterility* 99:1514-1522.
- Donnez J, Dolmans MM, Pellicer A, Diaz-Garcia C, Sanchez Serrano M, Schmidt KT, Ernst E, Luyckx V, Andersen CY (2013) Restoration of ovarian activity and pregnancy after transplantation of cryopreserved ovarian tissue: a review of 60 cases of reimplantation. *Fertility and sterility* 99:1503-1513.
- Donnez J, Jadoul P, Pirard C, Hutchings G, Demylle D, Squifflet J, Smitz J, Dolmans MM (2012) Live birth after transplantation of frozen-thawed ovarian tissue after bilateral oophorectomy for benign disease. *Fertility and sterility* 98:720-725.
- ESchG (1990) Embryonenschutzgesetz vom 13. Dezember 1990 (BGBl. I S. 2746), das zuletzt durch Artikel 1 des Gesetzes vom 21. November 2011 (BGBl. I S. 2228) geändert worden ist.
- Faddy MJ, Gosden RG, Gougeon A, Richardson SJ, Nelson JF (1992) Accelerated disappearance of ovarian follicles in mid-life: implications for

- forecasting menopause. *Human reproduction* (Oxford, England) 7:1342-1346.
- Falcone T, Attaran M, Bedaiwy MA, Goldberg JM (2004) Ovarian function preservation in the cancer patient. *Fertility and sterility* 81:243-257.
- Falcone T, Bedaiwy MA (2005) Fertility preservation and pregnancy outcome after malignancy. *Current opinion in obstetrics & gynecology* 17:21-26.
- Gnoth C, Schuring AN, Friol K, Tigges J, Mallmann P, Godehardt E (2008) Relevance of anti-Mullerian hormone measurement in a routine IVF program. *Human reproduction* (Oxford, England) 23:1359-1365.
- Gonfloni S, Di Tella L, Caldarola S, Cannata SM, Klinger FG, Di Bartolomeo C, Mattei M, Candi E, De Felici M, Melino G, Cesareni G (2009) Inhibition of the c-Abl-TAp63 pathway protects mouse oocytes from chemotherapy-induced death. *Nature medicine* 15:1179-1185.
- Gosden R (2011) Cryopreservation: a cold look at technology for fertility preservation. *Fertility and sterility* 96:264-268.
- Green DM, Whitton JA, Stovall M, Mertens AC, Donaldson SS, Ruymann FB, Pendergrass TW, Robison LL (2002) Pregnancy outcome of female survivors of childhood cancer: a report from the Childhood Cancer Survivor Study. *American journal of obstetrics and gynecology* 187:1070-1080.
- Griesinger G, Diedrich K (2007) Ovarielle Stimulation bei IVF, GnRH-Agonist versus GnRH-Antagonist Überlegungen zu einem modernen Management. *FRAUENARZT* 48 (2007).
- Hagen CP, Sorensen K, Anderson RA, Juul A (2012a) Serum levels of antimullerian hormone in early maturing girls before, during, and after suppression with GnRH agonist. *Fertility and sterility* 98:1326-1330.
- Hagen CP, Vestergaard S, Juul A, Skakkebaek NE, Andersson AM, Main KM, Hjollund NH, Ernst E, Bonde JP, Anderson RA, Jensen TK (2012b) Low concentration of circulating antimullerian hormone is not predictive of reduced fecundability in young healthy women: a prospective cohort study. *Fertility and sterility* 98:1602-1608.e1602.
- Hansen KR, Hodnett GM, Knowlton N, Craig LB (2011) Correlation of ovarian reserve tests with histologically determined primordial follicle number. *Fertility and sterility* 95:170-175.
- Hwang JH, Yoo HJ, Park SH, Lim MC, Seo SS, Kang S, Kim JY, Park SY (2012) Association between the location of transposed ovary and ovarian function in patients with uterine cervical cancer treated with (postoperative or primary) pelvic radiotherapy. *Fertility and sterility* 97:1387-1393.e1381-1382.
- Jadoul P, Dolmans MM, Donnez J (2010) Fertility preservation in girls during childhood: is it feasible, efficient and safe and to whom should it be proposed? *Human reproduction update* 16:617-630.
- Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E (2010) Cancer statistics, 2010. *CA: a cancer journal for clinicians* 60:277-300.
- Johnston RJ, Wallace WH (2009) Normal ovarian function and assessment of ovarian reserve in the survivor of childhood cancer. *Pediatric blood & cancer* 53:296-302.

- Kalich-Philosoph L, Roness H, Carmely A, Fishel-Bartal M, Ligumsky H, Paglin S, Wolf I, Kanety H, Sredni B, Meirou D (2013) Cyclophosphamide triggers follicle activation and "burnout"; AS101 prevents follicle loss and preserves fertility. *Science translational medicine* 5:185ra162.
- Kan A, Kilani S, Tilia L, Mitchell F, Burns K, Chapman M (2004) Pregnancy from intracytoplasmic injection of a frozen-thawed oocyte. *The Australian & New Zealand journal of obstetrics & gynaecology* 44:262-263.
- Kasum M, Beketic-Oreskovic L, Peddi PF, Oreskovic S, Johnson RH (2014) Fertility after breast cancer treatment. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology* 173:13-18.
- Kim SS (2012) Assessment of long term endocrine function after transplantation of frozen-thawed human ovarian tissue to the heterotopic site: 10 year longitudinal follow-up study. *Journal of assisted reproduction and genetics* 29:489-493.
- Knight PG, Glister C (2006) TGF-beta superfamily members and ovarian follicle development. *Reproduction (Cambridge, England)* 132:191-206.
- Koyama H, Wada T, Nishizawa Y, Iwanaga T, Aoki Y (1977) Cyclophosphamide-induced ovarian failure and its therapeutic significance in patients with breast cancer. *Cancer* 39:1403-1409.
- Kreuser ED, Hetzel WD, Billia DO, Thiel E (1990) Gonadal toxicity following cancer therapy in adults: significance, diagnosis, prevention and treatment. *Cancer treatment reviews* 17:169-175.
- Kuwayama M (2007) Highly efficient vitrification for cryopreservation of human oocytes and embryos: the Cryotop method. *Theriogenology* 67:73-80.
- Larsen EC, Schmiegelow K, Rechnitzer C, Loft A, Muller J, Andersen AN (2004) Radiotherapy at a young age reduces uterine volume of childhood cancer survivors. *Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica* 83:96-102.
- Lee SJ, Schover LR, Partridge AH, Patrizio P, Wallace WH, Hagerty K, Beck LN, Brennan LV, Oktay K (2006) American Society of Clinical Oncology recommendations on fertility preservation in cancer patients. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 24:2917-2931.
- Lemos CN, Reis FM, Pena GN, Silveira LC, Camargos AF (2010) Assessment of fertility protection and ovarian reserve with GnRH antagonist in rats undergoing chemotherapy with cyclophosphamide. *Reproductive biology and endocrinology : RB&E* 8:51.
- Licciardi FL, Liu HC, Rosenwaks Z (1995) Day 3 estradiol serum concentrations as prognosticators of ovarian stimulation response and pregnancy outcome in patients undergoing in vitro fertilization. *Fertility and sterility* 64:991-994.
- Lopez SG, Luderer U (2004) Effects of cyclophosphamide and buthionine sulfoximine on ovarian glutathione and apoptosis. *Free radical biology & medicine* 36:1366-1377.
- Magelssen H, Melve KK, Skjaerven R, Fossa SD (2008) Parenthood probability and pregnancy outcome in patients with a cancer diagnosis during adolescence and young adulthood. *Human reproduction (Oxford, England)* 23:178-186.

- Malozowski S, Nelson L, Calis KA (2008) More on ovarian insufficiency with imatinib. *The New England journal of medicine* 358:2648; author reply 2648-2649.
- Mc Call M, Keaty EC, Thompson JD (1958) Conservation of ovarian tissue in the treatment of carcinoma of the cervix with radical surgery. *American journal of obstetrics and gynecology* 75:590-600; discussion 600-595.
- Meirow D (2000) Reproduction post-chemotherapy in young cancer patients. *Molecular and cellular endocrinology* 169:123-131.
- Meirow D, Assad G, Dor J, Rabinovici J (2004) The GnRH antagonist cetrorelix reduces cyclophosphamide-induced ovarian follicular destruction in mice. *Human reproduction (Oxford, England)* 19:1294-1299.
- Meirow D, Biederman H, Anderson RA, Wallace WH (2010) Toxicity of chemotherapy and radiation on female reproduction. *Clinical obstetrics and gynecology* 53:727-739.
- Meirow D, Dor J, Kaufman B, Shrim A, Rabinovici J, Schiff E, Raanani H, Levron J, Fridman E (2007) Cortical fibrosis and blood-vessels damage in human ovaries exposed to chemotherapy. Potential mechanisms of ovarian injury. *Human reproduction (Oxford, England)* 22:1626-1633.
- Meirow D, Fasouliotis SJ, Nugent D, Schenker JG, Gosden RG, Rutherford AJ (1999a) A laparoscopic technique for obtaining ovarian cortical biopsy specimens for fertility conservation in patients with cancer. *Fertility and sterility* 71:948-951.
- Meirow D, Lewis H, Nugent D, Epstein M (1999b) Subclinical depletion of primordial follicular reserve in mice treated with cyclophosphamide: clinical importance and proposed accurate investigative tool. *Human reproduction (Oxford, England)* 14:1903-1907.
- Meirow D, Nugent D (2001) The effects of radiotherapy and chemotherapy on female reproduction. *Human reproduction update* 7:535-543.
- Morice P, Juncker L, Rey A, El-Hassan J, Haie-Meder C, Castaigne D (2000) Ovarian transposition for patients with cervical carcinoma treated by radiosurgical combination. *Fertility and sterility* 74:743-748.
- Morice P, Thiam-Ba R, Castaigne D, Haie-Meder C, Gerbaulet A, Pautier P, Duvillard P, Michel G (1998) Fertility results after ovarian transposition for pelvic malignancies treated by external irradiation or brachytherapy. *Human reproduction (Oxford, England)* 13:660-663.
- Morita Y, Perez GI, Paris F, Miranda SR, Ehleiter D, Haimovitz-Friedman A, Fuks Z, Xie Z, Reed JC, Schuchman EH, Kolesnick RN, Tilly JL (2000) Oocyte apoptosis is suppressed by disruption of the acid sphingomyelinase gene or by sphingosine-1-phosphate therapy. *Nature medicine* 6:1109-1114.
- Muller A, Keller K, Wacker J, Dittrich R, Keck G, Montag M, Van der Ven H, Wachter D, Beckmann MW, Distler W (2012) Retransplantation of cryopreserved ovarian tissue: the first live birth in Germany. *Deutsches Arzteblatt international* 109:8-13.
- Munster PN, Moore AP, Ismail-Khan R, Cox CE, Lacevic M, Gross-King M, Xu P, Carter WB, Minton SE (2012) Randomized trial using gonadotropin-releasing hormone agonist triptorelin for the preservation of ovarian function during (neo)adjuvant chemotherapy for breast cancer. *Journal of*

- clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology 30:533-538.
- Muttukrishna S, McGarrigle H, Wakim R, Khadum I, Ranieri DM, Serhal P (2005) Antral follicle count, anti-mullerian hormone and inhibin B: predictors of ovarian response in assisted reproductive technology? BJOG : an international journal of obstetrics and gynaecology 112:1384-1390.
- NCI NCI (2011) Cancer Drug Information - FDA Approval for Bevacizumab.
- Nelson SM, Anderson RA, Broekmans FJ, Raine-Fenning N, Fleming R, La Marca A (2012) Anti-Mullerian hormone: clairvoyance or crystal clear? Human reproduction (Oxford, England) 27:631-636.
- Nielsen SN, Andersen AN, Schmidt KT, Rechnitzer C, Schmiegelow K, Bentzen JG, Larsen EC (2013) A 10-year follow up of reproductive function in women treated for childhood cancer. Reproductive biomedicine online 27:192-200.
- Oktaý K (2002) Evidence for limiting ovarian tissue harvesting for the purpose of transplantation to women younger than 40 years of age. The Journal of clinical endocrinology and metabolism 87:1907-1908.
- Oktaý K, Buyuk E, Veeck L, Zaninovic N, Xu K, Takeuchi T, Opsahl M, Rosenwaks Z (2004) Embryo development after heterotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. Lancet 363:837-840.
- Oktaý K, Economos K, Kan M, Rucinski J, Veeck L, Rosenwaks Z (2001) Endocrine function and oocyte retrieval after autologous transplantation of ovarian cortical strips to the forearm. JAMA : the journal of the American Medical Association 286:1490-1493.
- Oktem O, Oktaý K (2007) Quantitative assessment of the impact of chemotherapy on ovarian follicle reserve and stromal function. Cancer 110:2222-2229.
- Overbeek A, Broekmans FJ, Hehenkamp WJ, Wijdeveld ME, van Disseldorp J, van Dulmen-den Broeder E, Lambalk CB (2012) Intra-cycle fluctuations of anti-Mullerian hormone in normal women with a regular cycle: a re-analysis. Reproductive biomedicine online 24:664-669.
- Perez GI, Knudson CM, Leykin L, Korsmeyer SJ, Tilly JL (1997) Apoptosis-associated signaling pathways are required for chemotherapy-mediated female germ cell destruction. Nature medicine 3:1228-1232.
- Petrek JA, Naughton MJ, Case LD, Paskett ED, Naftalis EZ, Singletary SE, Sukumvanich P (2006) Incidence, time course, and determinants of menstrual bleeding after breast cancer treatment: a prospective study. Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology 24:1045-1051.
- Polge C, Smith AU, Parkes AS (1949) Revival of spermatozoa after vitrification and dehydration at low temperatures. Nature 164:666.
- Pye SM, Cortes J, Ault P, Hatfield A, Kantarjian H, Pilot R, Rosti G, Apperley JF (2008) The effects of imatinib on pregnancy outcome. Blood 111:5505-5508.
- Randolph JF, Jr., Harlow SD, Helmuth ME, Zheng H, McConnell DS (2014) Updated assays for inhibin B and AMH provide evidence for regular episodic secretion of inhibin B but not AMH in the follicular phase of the

- normal menstrual cycle. *Human reproduction* (Oxford, England) 29:592-600.
- Reddy J, Oktay K (2012) Ovarian stimulation and fertility preservation with the use of aromatase inhibitors in women with breast cancer. *Fertility and sterility* 98:1363-1369.
- Rivkees SA, Crawford JD (1988) The relationship of gonadal activity and chemotherapy-induced gonadal damage. *JAMA : the journal of the American Medical Association* 259:2123-2125.
- Rodriguez-Wallberg KA, Oktay K (2012) Recent advances in oocyte and ovarian tissue cryopreservation and transplantation. *Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology* 26:391-405.
- Schover LR (2009) Rates of postcancer parenthood. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 27:321-322.
- Seifer DB, MacLaughlin DT, Christian BP, Feng B, Sheldon RM (2002) Early follicular serum mullerian-inhibiting substance levels are associated with ovarian response during assisted reproductive technology cycles. *Fertility and sterility* 77:468-471.
- Shah D, Nagarajan N (2014) Premature menopause - Meeting the needs. *Post reproductive health* 20:62-68.
- Shaw CM, Stanczyk FZ, Egleston BL, Kahle LL, Spittle CS, Godwin AK, Brinton LA, Dorgan JF (2011) Serum antimullerian hormone in healthy premenopausal women. *Fertility and sterility* 95:2718-2721.
- Somunkiran A, Yavuz T, Yucel O, Ozdemir I (2007) Anti-Mullerian hormone levels during hormonal contraception in women with polycystic ovary syndrome. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology* 134:196-201.
- Sonmezer M, Oktay K (2004) Fertility preservation in female patients. *Human reproduction update* 10:251-266.
- Sonmezer M, Turkcuoglu I, Coskun U, Oktay K (2011) Random-start controlled ovarian hyperstimulation for emergency fertility preservation in letrozole cycles. *Fertility and sterility* 95:2125.e2129-2111.
- Steiner AZ, Herring AH, Kesner JS, Meadows JW, Stanczyk FZ, Hoberman S, Baird DD (2011) Antimullerian hormone as a predictor of natural fecundability in women aged 30-42 years. *Obstetrics and gynecology* 117:798-804.
- Streuli I, Fraisse T, Pillet C, Ibecheole V, Bischof P, de Ziegler D (2008) Serum antimullerian hormone levels remain stable throughout the menstrual cycle and after oral or vaginal administration of synthetic sex steroids. *Fertility and sterility* 90:395-400.
- Su HI, Maas K, Sluss PM, Chang RJ, Hall JE, Joffe H (2013) The impact of depot GnRH agonist on AMH levels in healthy reproductive-aged women. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 98:E1961-1966.
- Su HI, Sammel MD, Freeman EW, Lin H, DeBlasis T, Gracia CR (2008) Body size affects measures of ovarian reserve in late reproductive age women. *Menopause (New York, NY)* 15:857-861.
- Sundarapandian V, Logambal PS, Ramesh U (2009) *Jananam IVF*. vol. 2012.

- Sverrisdottir A, Nystedt M, Johansson H, Fornander T (2009) Adjuvant goserelin and ovarian preservation in chemotherapy treated patients with early breast cancer: results from a randomized trial. *Breast cancer research and treatment* 117:561-567.
- te Velde ER, Pearson PL (2002) The variability of female reproductive ageing. *Human reproduction update* 8:141-154.
- Terenziani M, Piva L, Meazza C, Gandola L, Cefalo G, Merola M (2009) Oophoropexy: a relevant role in preservation of ovarian function after pelvic irradiation. *Fertility and sterility* 91:935.e915-936.
- Tucker MJ, Wright G, Morton PC, Massey JB (1998) Birth after cryopreservation of immature oocytes with subsequent in vitro maturation. *Fertility and sterility* 70:578-579.
- Turan V, Oktay K (2014) Sexual and fertility adverse effects associated with chemotherapy treatment in women. *Expert opinion on drug safety* 13:775-783.
- Turner NH, Partridge A, Sanna G, Di Leo A, Biganzoli L (2013) Utility of gonadotropin-releasing hormone agonists for fertility preservation in young breast cancer patients: the benefit remains uncertain. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO* 24:2224-2235.
- Urruticoechea A, Arnedos M, Walsh G, Dowsett M, Smith IE (2008) Ovarian protection with goserelin during adjuvant chemotherapy for premenopausal women with early breast cancer (EBC). *Breast cancer research and treatment* 110:411-416.
- van Rooij IA, Broekmans FJ, Scheffer GJ, Looman CW, Habbema JD, de Jong FH, Fauser BJ, Themmen AP, te Velde ER (2005) Serum antimullerian hormone levels best reflect the reproductive decline with age in normal women with proven fertility: a longitudinal study. *Fertility and sterility* 83:979-987.
- Visser JA, Durlinger AL, Peters IJ, van den Heuvel ER, Rose UM, Kramer P, de Jong FH, Themmen AP (2007) Increased oocyte degeneration and follicular atresia during the estrous cycle in anti-Mullerian hormone null mice. *Endocrinology* 148:2301-2308.
- von Wolff M, Dian D (2012) Fertility preservation in women with malignant tumors and gonadotoxic treatments. *Dtsch Arztebl Int* 2012; 109(7): 126-31; DOI: 103238/arztebl20120126.
- von Wolff M, Montag M, Dittrich R, Denschlag D, Nawroth F, Lawrenz B (2011) Fertility preservation in women--a practical guide to preservation techniques and therapeutic strategies in breast cancer, Hodgkin's lymphoma and borderline ovarian tumours by the fertility preservation network FertiPROTEKT. *Archives of gynecology and obstetrics* 284:427-435.
- Wallace WH, Kelsey TW (2010) Human ovarian reserve from conception to the menopause. *PloS one* 5:e8772.
- Wallace WH, Thomson AB, Kelsey TW (2003) The radiosensitivity of the human oocyte. *Human reproduction (Oxford, England)* 18:117-121.

- Wallace WH, Thomson AB, Saran F, Kelsey TW (2005) Predicting age of ovarian failure after radiation to a field that includes the ovaries. *International journal of radiation oncology, biology, physics* 62:738-744.
- Warne GL, Fairley KF, Hobbs JB, Martin FI (1973) Cyclophosphamide-induced ovarian failure. *The New England journal of medicine* 289:1159-1162.
- Whitehead J, Toledo MG, Stern CJ (2011) A pilot study to assess the use of the gonadotrophin antagonist cetorelix in preserving ovarian function during chemotherapy. *The Australian & New Zealand journal of obstetrics & gynaecology* 51:452-454.
- Wiweko B, Prawesti DM, Hestiantoro A, Sumapraja K, Natadisastra M, Baziad A (2013) Chronological age vs biological age: an age-related normogram for antral follicle count, FSH and anti-Mullerian hormone. *Journal of assisted reproduction and genetics* 30:1563-1567.
- Wong M, O'Neill S, Walsh G, Smith IE (2012) Goserelin with chemotherapy to preserve ovarian function in pre-menopausal women with early breast cancer: menstruation and pregnancy outcomes. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO*.
- Wunder DM, Bersinger NA, Yared M, Kretschmer R, Birkhauser MH (2008) Statistically significant changes of antimullerian hormone and inhibin levels during the physiologic menstrual cycle in reproductive age women. *Fertility and sterility* 89:927-933.
- Yang B, Shi W, Yang J, Liu H, Zhao H, Li X, Jiao S (2013) Concurrent treatment with gonadotropin-releasing hormone agonists for chemotherapy-induced ovarian damage in premenopausal women with breast cancer: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Breast (Edinburgh, Scotland)* 22:150-157.
- Zamah AM, Mauro MJ, Druker BJ, Oktay K, Egorin MJ, Cedars MI, Rosen MP (2011) Will imatinib compromise reproductive capacity? *The oncologist* 16:1422-1427.

8 Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Einteilung verschiedener Zytostatika nach Grad der Gonadotoxizität.	7
Tab. 2: POF-Rate unter Brustkrebs- und Hodgkin-Lymphom-Patientinnen.	9
Tab. 3: In Deutschland verwendete GnRH-Analoga.	27
Tab. 4: Patientenkollektiv.	32
Tab. 5: GnRH-a im Patientenkollektiv.	33
Tab. 6: Einteilung des Patientenkollektivs in Altersgruppen.	34
Tab. 7: Einteilung des Patientenkollektivs in Diagnosegruppen.	34
Tab. 8: Onkologische Therapiemaßnahmen in den 6 Erkrankungsgruppen.	35
Tab. 9: Charakteristika der Studienpatientinnen.	38
Tab. 10: AMH-Serumspiegel vor und nach Chemotherapie (CHT).	39
Tab. 11: FSH-Serumspiegel vor und nach Chemotherapie (CHT).	40
Tab. 12: Estradiol- (E2-) Serumspiegel vor und nach Chemotherapie (CHT).	41
Tab. 13: Zyklus und Schwangerschaften nach Chemotherapie.	43
Tab. 14: Fertilitätsparameter vor der onkologischen Therapie in Abhängigkeit vom Alter.	45
Tab. 15: Fertilitätsparameter nach der onkologischen Therapie in Abhängigkeit vom Alter.	49
Tab. 16: Screening-Tests ovarieller Reserve.	60

9 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: GnRH-Antagonisten-Protokoll zur ovariellen Stimulation.	16
Abb. 2: Sonographisch gesteuerte Follikelpunktion nach ovarieller Stimulation.	18
Abb. 3: Laparoskopische Entnahme von Gewebe des Ovarkortex.	20
Abb. 4: Orthotope Re-Transplantation von Ovarialgewebe in eine Peritonealtasche der Fossa ovarica der rechten Beckenwand.	21
Abb. 5: Transposition des rechten Ovars und Fixierung an der Beckenwand.	23
Abb. 6: Ovarielle Transposition (d).	23
Abb. 7: Im Patientenkollektiv (n = 35) gewählte Maßnahmen zum Fertilitätserhalt.	33
Abb. 8: AMH-Spiegel vor und nach Chemotherapie (CHT).	40
Abb. 9: FSH-Spiegel vor und nach Chemotherapie (CHT).	41
Abb. 10: Estradiol- (E2) Serumspiegel vor und nach Chemotherapie (CHT).	42
Abb. 11: Zyklus nach Chemotherapie.	43
Abb. 12: AMH-Serumspiegel vor und nach CHT in beiden Altersgruppen.	45
Abb. 13: FSH-Serumspiegel vor und nach CHT in beiden Altersgruppen.	46
Abb. 14: E2-Serumspiegel vor und nach CHT in beiden Altersgruppen.	46
Abb. 15: Zyklus nach Chemotherapie in beiden Altersgruppen.	49
Abb. 16: Optionen zur Fertilitätsprotektion von Krebspatientinnen.	68

Danksagung

Hiermit möchte ich mich ganz herzlich bei all jenen bedanken, die mich in der Erstellung meiner Promotionsarbeit unterstützt haben. Mein besonderer Dank gilt Frau Priv.-Doz. Dr. med. Sabine Segerer, unter deren Leitung ich diese Arbeit durchführen konnte. Vielen Dank für die hervorragende persönliche Betreuung, die zahlreichen konstruktiven Vorschläge, die stets schnelle Antwort auf alle Fragen, die vielen Treffen und Telefonate. Weiterhin danke ich Herrn Prof. Dr. med. M. Fassnacht für die freundliche Übernahme des Korreferats.

Ein besonderer Dank gilt auch Frau Dipl.-Math. Sabine Karl für die große Hilfe bei der statistischen Auswertung meiner Daten sowie Herrn Peter Wermke für die Beantwortung aller Fragen zur Formatierung dieser Arbeit. Außerdem bedanke ich mich herzlich bei dem gesamten Team der Hormonsprechstunde für die Unterstützung bei der Durchsicht der Patientenakten.