

# Konzeptpapier zur Technik der Kryokonservierung, Entnahme und der Transplantation von Ovarialgewebe zum Fertilitätserhalt

## Concept Paper on the Technique of Cryopreservation, Removal and Transplantation of Ovarian Tissue for Fertility Preservation

OPEN  
ACCESS



### Autoren

Matthias W. Beckmann<sup>1</sup>, Laura Lotz<sup>1</sup>, Bettina Toth<sup>2</sup>, Dunja Maria Baston-Büst<sup>3</sup>, Tanja Fehm<sup>3</sup>, Torsten Frambach<sup>4</sup>, Ariane Germeyer<sup>5</sup>, Maren Goeckenjan<sup>6</sup>, Felix Häberlin<sup>7</sup>, Melanie Henes<sup>8</sup>, Jens Hirchenhain<sup>3</sup>, Stephanie Hübner<sup>8</sup>, Matthias Korell<sup>9</sup>, Jan-Steffen Krüssel<sup>3</sup>, Andreas Müller<sup>10</sup>, Jochen Reinsberg<sup>11</sup>, Roxana Schwab<sup>12</sup>, Stephan Seitz<sup>13</sup>, Marc Sütterlin<sup>14</sup>, Hans van der Ven<sup>11</sup>, Katrin van der Ven<sup>11</sup>, Katharina Winkler-Crepaz<sup>2</sup>, Pauline Wimberger<sup>6</sup>, Michael von Wolff<sup>15</sup>, Jana Liebenthron<sup>3\*</sup>, Ralf Dittrich<sup>1\*</sup>

### Institute

- 1 Frauenklinik, Universitätsklinikum Erlangen, Erlangen
- 2 Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin, Universitätsklinikum Innsbruck, Innsbruck, Österreich
- 3 Frauenklinik, Universitätsklinikum Düsseldorf, Düsseldorf
- 4 Frauenklinik, Krankenhaus St. Joseph Stift Bremen, Bremen
- 5 Frauenklinik, Universitätsklinikum Heidelberg, Heidelberg
- 6 Frauenklinik, Universitätsklinikum Dresden, Dresden
- 7 Frauenklinik, Kantonspital St. Gallen, St. Gallen, Schweiz
- 8 Frauenklinik, Universitätsklinikum Tübingen, Tübingen
- 9 Frauenklinik, Johanna Etienne Klinikum Neuss, Neuss
- 10 Frauenklinik, Klinikum Karlsruhe, Karlsruhe
- 11 Frauenklinik, Universitätsklinikum Bonn, Bonn  
(aktuell im Zentrum für Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin Bonn)
- 12 Frauenklinik, Universitätsklinikum Mainz, Mainz
- 13 Frauenklinik, Krankenhaus St. Josef, Universität Regensburg, Regensburg
- 14 Frauenklinik, Universitätsklinikum Mannheim, Mannheim
- 15 Frauenklinik, Universitätsspital Bern, Bern, Schweiz

### Schlüsselwörter

FertiPROTEKT, Fertilitätsprotektion, Ovarialgewebe, Kryokonservierung, Transplantation

### Key words

FertiPROTEKT, fertility protection, ovarian tissue, cryopreservation, transplantation

eingereicht 13. 6. 2018  
revidiert 19. 7. 2018  
akzeptiert 25. 7. 2018

### Bibliografie

DOI <https://doi.org/10.1055/a-0664-8619>  
Online-publiziert 9. 10. 2018 | Geburtsh Frauenheilk 2019;  
79: 53–62 © Georg Thieme Verlag KG Stuttgart · New York |  
ISSN 0016-5751

### Korrespondenzadresse

Prof. Ralf Dittrich  
University Hospital Erlangen, Department of Gynecology  
and Obstetrics  
Universitätsstraße 21–23, 91054 Erlangen  
[ralf.dittrich@uk-erlangen.de](mailto:ralf.dittrich@uk-erlangen.de)

### ZUSAMMENFASSUNG

Die Kryokonservierung von Ovarialgewebe mit anschließender Transplantation des Gewebes stellt eine etablierte Methode der Fertilitätsprotektion für Patientinnen dar, die sich einer gonadotoxischen Therapie unterziehen müssen. Das Verfahren kann zu jedem Zykluszeitpunkt erfolgen und führt somit meistens zu keiner Verzögerung der onkologischen Therapie. Mithilfe dieses Verfahrens konnten bis dato mehr als 130 Geburten weltweit verzeichnet werden. Die Geburtenrate beträgt derzeit ca. 30% und es ist von einer Steigerung durch eine weitere Optimierung der Kryokonservierungs- und Operationstechnik auszugehen. Das hier vorgelegte Konzeptpapier soll Handlungsempfehlungen für den Umgang mit der Kryokonservierung und Transplantation von Ovarialgewebe an deutschsprachigen reproduktionsmedizinischen Zentren geben.

### ABSTRACT

The cryopreservation of ovarian tissue with subsequent transplantation of the tissue represents an established method of fertility protection for female patients who have to undergo gonadotoxic therapy. The procedure can be performed at any point in the cycle and thus generally does not lead to any delay in oncological therapy. With the aid of this procedure,

\* gleichberechtigte Autorenschaft

more than 130 births to date worldwide have been able to be recorded. The birth rate is currently approximately 30% and it can be assumed that this will increase through the further optimisation of the cryopreservation and surgical technique.

The concept paper presented here is intended to provide guidance for managing cryopreservation and transplantation of ovarian tissue to German-speaking reproductive medicine centres.

## Einleitung

Aufgrund von Fortschritten in der medikamentösen, systemischen (Chemotherapie, zielgerichtete Therapie) und lokoregionalen Therapie (Operation, Strahlentherapie) hat sich die Überlebensrate bei malignen und nicht malignen Erkrankungen signifikant verbessert. Die Behandlungen führen jedoch häufig zu einer partiellen oder kompletten Schädigung der Gonadenfunktion mit einem möglichen Keimzellverlust. Daher ist es wichtig, Patientinnen vor einer gonadotoxischen Therapie hinsichtlich ihres Fertilitätserhalts zu beraten. Inzwischen existiert eine Vielzahl an fertilitätsprotektiven Techniken, die eine realistische Chance auf eine spätere Schwangerschaft bieten. Neben der Transposition der Gonaden vor einer Radiotherapie, dem medikamentösen Gonadenschutz durch GnRH-Analoga und die Kryokonservierung von fertilisierten und unfertilisierten Oozyten, stellt die Entnahme und Kryokonservierung von Ovarialgewebe eine vielversprechende Option für Mädchen und Frauen dar [1–3].

Die Kryokonservierung von ovariellen Gewebe mit anschließender Transplantation ist eine Methode des Fertilitätserhalts, die sehr kurzfristig vor einer zytotoxischen Therapie durchgeführt werden kann. Sie kann zu jedem Zykluszeitpunkt erfolgen und führt somit meistens zu keiner Verzögerung der onkologischen Therapie [4, 5]. Seit den ersten Geburten nach einer Ovarialgewebetransplantation 2004 weltweit [6] und 2011 in Deutschland [7] findet das Verfahren zunehmend Anwendung im klinischen Alltag. Im FertiPROTEKT-Netzwerk (Deutschland, Österreich und Schweiz) wurden bis Januar 2018 bei 126 Frauen 163 Transplantationen durchgeführt [8]. Die Zahlen aus Deutschland sind vergleichbar mit den Erfolgen im internationalen Ausland. Insgesamt wurden bis jetzt weltweit über 130 Geburten nach orthotoper Transplantation von kryokonserviertem Ovarialgewebe erzielt [8–12]. Die Geburtenrate beträgt derzeit ca. 30–35% und es ist von einer weiteren Steigerung durch eine Optimierung der Kryokonservierung und Operationstechnik auszugehen [13]. Die Transplantation von kryokonserviertem ovariellen Gewebe ist somit eine etablierte Möglichkeit der Fertilitätsprotektion für onkologische Patientinnen [14–16].

Das hier vorgelegte Konzeptpapier soll Handlungsempfehlungen für den Umgang mit der Entnahme, dem Transport, der Kryokonservierung und der Transplantation von Ovarialgewebe an deutschsprachigen reproduktionsmedizinischen Zentren und damit an Zentren des Netzwerks FertiPROTEKT geben. Hierdurch soll die Qualität der Kryokonservierung und Transplantation von Ovarialgewebe an den einzelnen Zentren sichergestellt werden, mit dem Ziel, einen optimalen und gleichbleibenden Standard zu bieten.

Es handelt sich hierbei nicht um Empfehlungen im Sinne einer Leitlinie, sondern um einen gemeinsamen Beschluss von führenden Experten auf dem Gebiet der Entnahme, Kryokonservierung

und Transplantation von Ovarialgewebe. Daher entspricht die Nomenklatur nicht den Empfehlungsgradierungen einer Leitlinie.

## Entnahme von Ovarialgewebe

### Bei wem und bis zu welchem Alter sollte Ovarialgewebe entnommen werden?

Die Chancen für eine spätere Schwangerschaft sind umso größer, je höher die Ovarialreserve, d. h. die Follikeldichte im kryokonservierten und transplantierten Ovarialgewebe ist [17, 18]. Die Edinburgh-Kriterien geben eine Altersgrenze von 35 Jahren an [19], andere internationale Veröffentlichungen sprechen von einem Höchstalter von 40 Jahren [20]. In einer Veröffentlichung von van der Ven et al. lagen die Schwangerschaftsraten nach Transplantation von Ovarialgewebe bei 33% bei Frauen, die zum Zeitpunkt der Kryokonservierung unter 35 Jahren waren im Vergleich zu 18% bei Frauen, die zum Zeitpunkt der Kryokonservierung über 35 Jahren waren. Bei Frauen über 40 Jahren konnte keine Schwangerschaft erzielt werden [8].

Die Kryokonservierung von Ovarialgewebe ist auch bei prä- und peripubertären Mädchen durchführbar [21]. Es gibt Fallberichte, dass durch eine Transplantation von präpubertärem Ovarialgewebe eine Induktion der Pubertät erzielt werden kann [22, 23]. Zudem liegt ein Fallbericht einer Geburt nach Transplantation von kryokonserviertem prämenarchalem Gewebe vor [24]. Dies zeigt, dass eine Transplantation nach präpubertärer Kryokonservierung von Ovarialgewebe zu Schwangerschaften führen kann. Allerdings muss in diesem Zusammenhang berücksichtigt werden, dass die Patientin zum Zeitpunkt der Gewebeentnahme bereits 13 Jahre alt war mit beginnender Thelarche [24]. Des Weiteren gibt es einen Pressebericht über eine Geburt nach Transplantation von Ovarialgewebe, welches vor der Menarche im Alter von 9 Jahren kryokonserviert wurde [25]. Die Indikation zur Kryokonservierung von Ovarialgewebe bei prä- und peripubertären Mädchen ist derzeit noch unklar und erfordert eine individuelle Abwägung sowohl der Art der Therapie als auch der gonadotoxischen Dosis [1].

### GEMEINSAMER BESCHLUSS

Die Kryokonservierung von Ovarialgewebe soll vor Beginn einer gonadotoxischen Therapie nur bei Mädchen und bei Frauen bis zu einem Alter von 40 Jahren erfolgen. Im Einzelfall sollte auch bei präpubertären Mädchen unter Berücksichtigung der gonadotoxischen Therapie und der Risiken des operativen Eingriffes eine Ovarikryokonservierung in Erwägung gezogen werden.

## Bei welcher Chemotherapie bzw. ab welchem Risiko für eine prämatüre Ovarialinsuffizienz (POI) sollte Ovarialgewebe entnommen werden?

Die Kryokonservierung von Ovarialgewebe empfiehlt sich bei Frauen, bei denen durch eine onkologische, hämatologische oder andere Grunderkrankung eine direkte oder indirekte Gefährdung des Funktionserhalts der Ovarien besteht [4]. Dies trifft insbesondere bei einer unmittelbar bevorstehenden gonadotoxischen Chemotherapie oder einer Bestrahlung im kleinen Becken zu.

Die Entnahme und Kryokonservierung von Ovarialgewebe sollte vor allem Frauen mit einem hohen und intermediären Risiko für eine prämatüre Ovarialinsuffizienz (POI) angeboten werden. Aber auch bei Frauen mit einem niedrigen Risiko für eine permanente Amenorrhö sollte diese Option mit der Patientin diskutiert werden. Hierbei sollte berücksichtigt werden, dass ein Risiko für eine POI von  $\leq 20\%$  bedeutet, dass jede 5. Frau, die eines dieser Chemotherapie-Regime erhält, Gefahr läuft, eine POI zu erleiden. Die ovarialtoxischen Wirkungen verschiedener Chemotherapeutika und einer Radiatio können den Tabellen (► **Tab. 1** und **2**) der S2k-Leitlinie „Fertilitätserhalt bei onkologischen Therapien“ entnommen werden [1].

### GEMEINSAMER BESCHLUSS

Die Kryokonservierung von Ovarialgewebe sollte bei einem hohen oder intermediären, im Einzelfall auch bei einem niedrigen Risiko für eine prämatüre Ovarialinsuffizienz durch eine gonadotoxische Therapie angeboten werden.

### Wie sollte das Gewebe entnommen werden?

Der Goldstandard zur Entnahme von Ovarialgewebe ist die Laparoskopie. Eine Laparotomie sollte nur durchgeführt werden, wenn diese im Rahmen der onkologischen Grunderkrankungen notwendig ist. Bei der Entnahme von Ovarialgewebe sollte unter bestimmten Bedingungen (vgl. ► **Abb. 1**) eine Chromopertubation erfolgen. Falls sich ein einseitiger Tubenverschluss zeigt, sollte auf dieser Seite das Ovarialgewebe entnommen werden, um auf der Seite mit der offenen Tube das potenziell noch funktionierende Ovarialgewebe zu erhalten. Tritt kein POI ein, bietet sich dort später ein optimaler Ort für eine Transplantation. Jedoch ist möglichst darauf zu achten, dass ovarielle Gewebe nicht auf der Seite eines Corpus luteum, eines präovulatorischen Follikels oder bei bestehenden Ovarialzysten entnommen wird, da die Follikeldichte des zu kryokonservierenden Ovarialgewebes möglicherweise hier eingeschränkt ist und die Kortexqualität in jedem Fall.

Das Ovarialgewebe sollte mit einer Schere ohne elektrische Koagulation abgesetzt werden [27–29]. Die Blutstillung der Wundfläche sollte am verbleibenden Ovar ohne zusätzliche Nekrosen zu bilden erfolgen. Zu den verschiedenen Techniken (Koagulation, Naht) liegen keine evidenzbasierten Studien vor (► **Abb. 2**).

Die operativen Risiken der Entnahme von Ovarialgewebe sind gering [27–29]. Ein erhöhtes Risiko für Infektionen und Blutungen besteht nur abhängig von der onkologischen Erkrankung. Bei der Entnahme von Ovarialgewebe ist mit einer Komplikation pro 500 Laparoskopien zu rechnen, die eine operative Revision erforderlich macht [30].

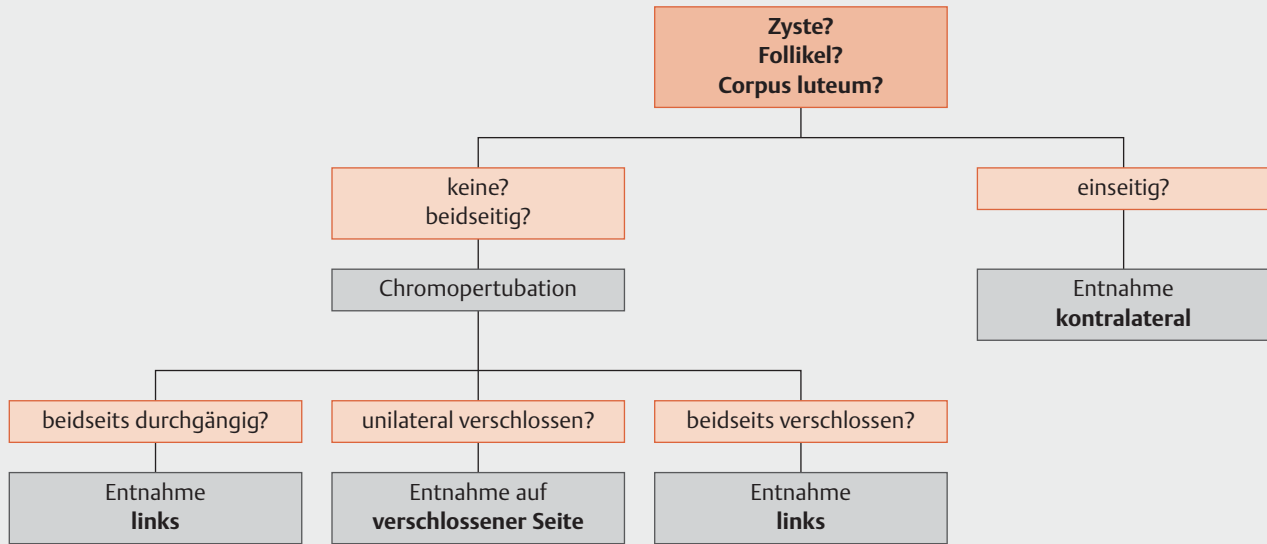
► **Tab. 1** Ovarialtoxische Wirkung verschiedener Chemotherapeutika [1].

Risiko	Regime/Substanz
hohes Risiko (> 80%iges Risiko für eine permanente Amenorrhö)	<ul style="list-style-type: none"> <li>CMF, CEF, CAF, TAC × 6 bei Frauen <math>\geq 40</math> Jahre</li> <li>Konditionierung für Stammzelltransplantation (insbesondere alkylanzienbasierte myeloablative Konditionierung mit Busulfan, Cyclophosphamid, Melphalan)</li> <li>BEACOPP × 6–8 bei Frauen &gt; 35 Jahre</li> </ul>
intermediäres Risiko (40–60%iges Risiko für eine permanente Amenorrhö)	<ul style="list-style-type: none"> <li>CMF, CEF, CAF, TAC × 6 bei Frauen 30–39 Jahre</li> <li>AC × 4 bei Frauen <math>\geq 40</math> Jahre</li> <li>AC oder EC × 4 → Taxan</li> <li>BEACOPP × 6–8 bei Frauen 25–35 Jahre</li> <li>CHOP × 6 bei Frauen <math>\geq 35</math> Jahre</li> <li>Knochen- und Weichteilsarkom-typische Therapie</li> </ul>
niedriges Risiko (< 20%iges Risiko für eine permanente Amenorrhö)	<ul style="list-style-type: none"> <li>CMF, CEF, CAF, TAC × 6 bei Frauen <math>\leq 30</math> Jahre</li> <li>AC × 4 bei Frauen <math>\leq 40</math> Jahre</li> <li>BEACOPP × 6–8 bei Frauen &lt; 25 Jahre</li> <li>ABVD × 2–4</li> <li>CHOP × 6 bei Frauen &lt; 35 Jahre</li> <li>CVP</li> <li>AML-typische Therapie (Anthrazyklin/Cytarabin)</li> <li>ALL-typische Therapie (multi-agent)</li> <li>FOLFOX bei Frauen <math>\leq 40</math> Jahre</li> </ul>
sehr niedriges oder kein Risiko für eine permanente Amenorrhö	<ul style="list-style-type: none"> <li>Methotrexat</li> <li>Fluorouracil</li> <li>Vincristin</li> </ul>

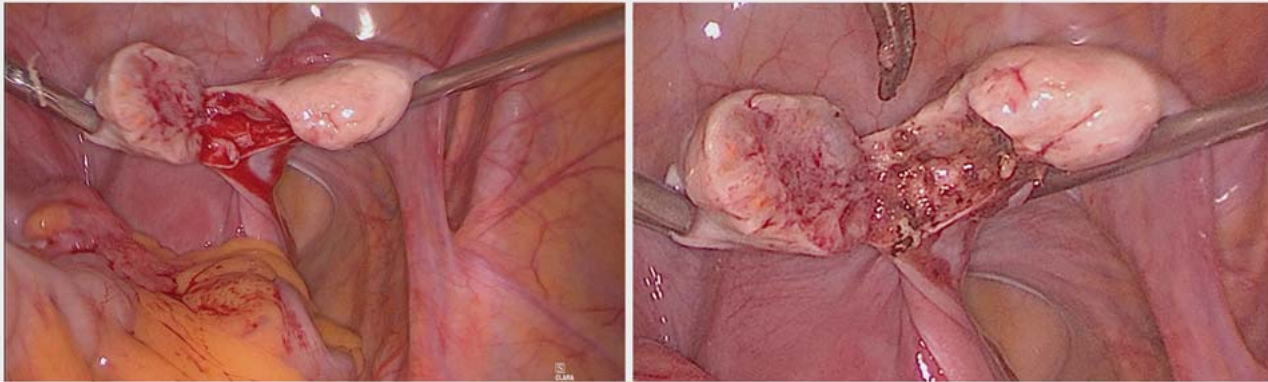
► **Tab. 2** Gonadotoxizität bei Radiatio des Ovars und Risiko einer Ovarialinsuffizienz (modifiziert nach [26]).

effektive sterilisierende Dosis (ESD)	ovarielle Strahlendosis (Gy)
keine relevanten Effekte	0,6
keine relevanten Effekte mit < 40 Jahren	1,5
0 Jahre	20,3
10 Jahre	18,4
20 Jahre	16,5
30 Jahre	14,3
40 Jahre	6

Eine histologische Untersuchung einer Referenzprobe des entnommenen Ovarialgewebes zum Ausschluss von malignen Zellen und zum Nachweis von Follikeln (mindestens 2 × 2 mm großes Gewebestück vom entnommenen Ovarialgewebe) sollte vom entnehmenden Zentrum durchgeführt und dokumentiert werden. Risiken einer ovariellen Metastasierung und den sich daraus ableitenden Konsequenzen können der S2k-Leitlinie „Fertilitätserhalt bei onkologischen Erkrankungen“ entnommen werden [1].



► **Abb. 1** Algorithmus zur Entnahme des Eierstockgewebes.



► **Abb. 2** Entnahme von Ovarialgewebe per LSK (Bild aus Frauenklinik Erlangen).

#### GEMEINSAMER BESCHLUSS

- Goldstandard zur Entnahme von Ovarialgewebe ist die Laparoskopie.
- Eine Laparotomie sollte nur erfolgen, wenn diese im Rahmen der onkologischen Grunderkrankungen notwendig ist.
- Das Ovarialgewebe sollte mit einer Schere abgesetzt und Blutungsquellen erst danach gezielt koaguliert (Punkt-koagulation) werden.
- Eine Histologie zum Ausschluss maligner Zellen des Ovarialgewebes (mind. 2 × 2 mm) muss vom entnehmenden Zentrum durchgeführt werden.

#### Wie viel Ovarialgewebe sollte entnommen werden?

Von einem Ovar sollten antimesenterial mindestens die Hälfte bis zwei Drittel des Organs entnommen werden [27–29] (► **Abb. 2**). Eine beidseitige Entnahme an den Ovarien sollte als Ausnahme (z. B. bei beidseitigen Ovarialzysten) erachtet werden, Biopsien sind aufgrund der geringen Materialmenge nicht durchzuführen [27–29]. Die Patientin sollte auch über die Möglichkeit einer einseitigen Ovariectomie informiert werden, insbesondere bei einem hohen Risiko für eine POI. Daten zeigen, dass nach einer einseitigen Ovariectomie die Menopause etwa 1 Jahr früher eintreten kann [31].

**GEMEINSAMER BESCHLUSS**

Es sollten mindestens die Hälfte bis zwei Drittel eines Ovars (bevorzugt ohne Ovarialpathologien) entnommen werden. Eine beidseitige Entnahme sollte nur in Ausnahmefällen durchgeführt werden. Biopsien sind nicht zu empfehlen.

## Transport von Ovarialgewebe

### Wie und bei welcher Temperatur sollte Ovarialgewebe nach der Entnahme und vor der Kryokonservierung transportiert werden?

Diejenigen Einrichtungen, die nicht die Möglichkeiten besitzen, eine Kryokonservierung von Ovarialgewebe selbst durchzuführen, können das ovarielle Gewebe für die Gewebeerarbeitung an spezialisierte Zentren mit angeschlossener Kryobank senden [32].

Für die meisten Organ- und Gewebetransporte (z. B. Niere, Leber) werden in der Regel niedrige Temperaturen gewählt. Die Datenlage hinsichtlich des Transports von Ovarialgewebe ist begrenzt. In den wenigen durchgeführten Untersuchungen variierte die Transporttemperatur zwischen 4–37 °C (10–13). Die meisten Studien zeigen, dass bei niedrigen Temperaturen, um die 4 °C, die besten Bedingungen herrschen. Niedrige Temperaturen sorgen in dem entsprechenden Gewebe/Organ dafür, dass der zelluläre Metabolismus herabgesetzt wird. In diesem Zusammenhang werden auch der Bedarf und gleichzeitig der Verbrauch von Sauerstoff reduziert.

Für den Transport von Ovarialgewebe gibt es geeignete Transportbehälter mit speziellen Kühlakkupaaaren. Der Transportbehälter gewährleistet eine stetige Kühlung des Gewebes während des Transports bei 4 °C und wird von der jeweiligen Kryobank zur Verfügung gestellt (► **Abb. 3**).

**GEMEINSAMER BESCHLUSS**

Der Transport von ovariellem Gewebe vor der Kryokonservierung sollte gekühlt (4–8 °C) in speziellen Transportbehältern erfolgen.

### Wie lange kann Ovarialgewebe vor der Kryokonservierung transportiert werden (Transportzeitraum)?

Die Transportbox kann tagsüber per Tagkurierdienst oder über Nacht per Expresskurierdienst verschickt werden. Wie lange der Transport des Gewebes maximal sein kann, ohne dass mit einem erheblichen Verlust von Follikeln zu rechnen ist, ist derzeit noch nicht ausreichend belegt. Untersuchungen zeigen, dass die Hypothermie des ovariellen Gewebes in verschiedenen Transportzeiträumen bis zu 24 Stunden andauern kann, ohne die Follikelreserve nachhaltig zu schädigen [33–36].

**GEMEINSAMER BESCHLUSS**

Ein Transport von Ovarialgewebe von bis zu 24 Stunden vor der Kryokonservierung ist möglich.

### Welches Transportmedium sollte verwendet werden?

In der Literatur sind verschiedene Transportmedien von unterschiedlichen Arbeitsgruppen beschrieben [35–38]. Ausreichende Untersuchungen, die zeigen, welches Transportmedium am besten geeignet ist, gibt es nicht. Bei Organ- und Gewebetransplantationen ist Custodiol® ein zertifiziertes und zugelassenes Medium, welches unter gekühlten Bedingungen (4–8 °C) Anwendung finden muss [39].

**GEMEINSAMER BESCHLUSS**

Als Transportmedium sollte Custodiol® oder ein vergleichbares Medium unter gekühlten Bedingungen (4–8 °C) verwendet werden.

## Kryokonservierung von Ovarialgewebe

### Slow-Freezing vs. Vitrifikation?

Generell werden in der Reproduktionsmedizin 2 Einfriertechniken angewandt: das langsame Einfrierverfahren, ein Kryokonservierungsverfahren mit Äquilibration, und die Vitrifikation, ein Einfrierverfahren ohne Äquilibration [32]. Beide Methoden finden weltweit bei der Kryokonservierung von Ovarialgewebe Anwendung. Aufgrund der besseren Datenlage in der Routine wird aktuell das Slow-Freezing-Verfahren empfohlen [1, 5, 40]. Bis auf 2 veröffentlichte Geburten nach Transplantation von vitrifiziertem ovariellen Gewebe wurde das Gewebe bei allen anderen Geburten langsam eingefroren [41, 42]. Der künftige Stellenwert der Vitrifikation lässt sich aufgrund der aktuellen Datenlage noch nicht einschätzen und für einen universellen klinischen Einsatz sind Validierungen notwendig [43].

Das langsame Einfrieren mit Kühlraten von 0,3 °C/min bedarf der Anwendung von Gefriergeräten. In einem computergesteuerten Slow-Freezing-Verfahren werden die Proben nach einem modifizierten Programm [44] so heruntergekühlt, dass sie im Anschluss in einer Stickstoffgasphase (bei –190 °C) unbegrenzt gelagert werden können. Eine eindeutige Identifizierung der gelagerten Proben ist zu gewährleisten, z. B. durch Anwendung des Europäischen Singlecodes oder eines vergleichbaren Kodiersystems.

**GEMEINSAMER BESCHLUSS**

Ovarialgewebe sollte derzeit aufgrund der besseren Datenlage in der Routine mit dem etabliertem Slow-Freezing-Verfahren kryokonserviert werden.





► **Abb. 3** Transportbehälter für Ovarialgewebe.



► **Abb. 4** Zugeschnittene Ovarialgewebestücke.

### Wie sollte das Ovarialgewebe aufbereitet werden?

Für die Aufbereitung des ovariellen Gewebes vor dem Einfrieren sollte nach den Standards eines IVF-Labors ein geeigneter Raum mit einer sterilen Klasse-II-Laminar-Air-Flow-Einheit zur Verfügung stehen, in welcher präpariert werden kann. Bei der gekühlten Präparation ist vorsichtig die Medulla ovarii vom Cortex ovarii ab zu präparieren, wobei ein dünner Reststromaanteil belassen werden sollte, damit später ein optimaler Ansatzpunkt zur Neovaskularisierung der Transplantate gegeben ist [43]. In Abhängigkeit von der Größe und Qualität sollten aus dem fertig präparierten Kortex Ovarialgewebestücke von  $3 \times 2 \times 1$  mm bis maximal  $4 \times 8 \times 1$  mm zugeschnitten werden (► **Abb. 4**). Die Größe der Stücke sollten im Transplantationsprotokoll aufgeführt werden.

#### GEMEINSAMER BESCHLUSS

- Die Aufbereitung des Ovarialgewebes soll in einem geeigneten Raum unter einer sterilen Klasse-II-Laminar-Air-Flow erfolgen.
- Die Ovarialgewebestücke sollten eine Größe von  $3 \times 2 \times 1$  mm bis maximal  $4 \times 8 \times 1$  mm haben. Die Größe der Ovarialgewebestücke sollte im Transplantationsprotokoll aufgeführt werden.

### Welches Einfriermedium sollte verwendet werden?

Die Wahl des eingesetzten Kryoprotektivums ist ein wichtiger Punkt, der maßgeblich dafür verantwortlich ist, ob eine Kryokonservierung erfolgreich verläuft. Glycerin, Ethylenglykol, DMSO und Propandiol in Kombination mit entsprechenden Trägermedien und einem Proteinzusatz stehen hierbei zur Auswahl [34, 36, 45, 46]. Unter Verwendung der Kryoprotektiva Ethylenglykol, Propandiol oder DMSO lassen sich ähnlich gute Überlebensraten der Keimzellen sowie intakte Gewebemorphologien und Zellstrukturen nach Kryokonservierung und anschließendem Auftauen nachweisen, Glycerin schnitt in Untersuchungen am schlechtesten ab [34, 36, 45, 46]. International ist DMSO das am häufigsten einge-

setzte und etablierteste Kryoprotektivum für Ovarialgewebe [41, 47, 48].

#### GEMEINSAMER BESCHLUSS

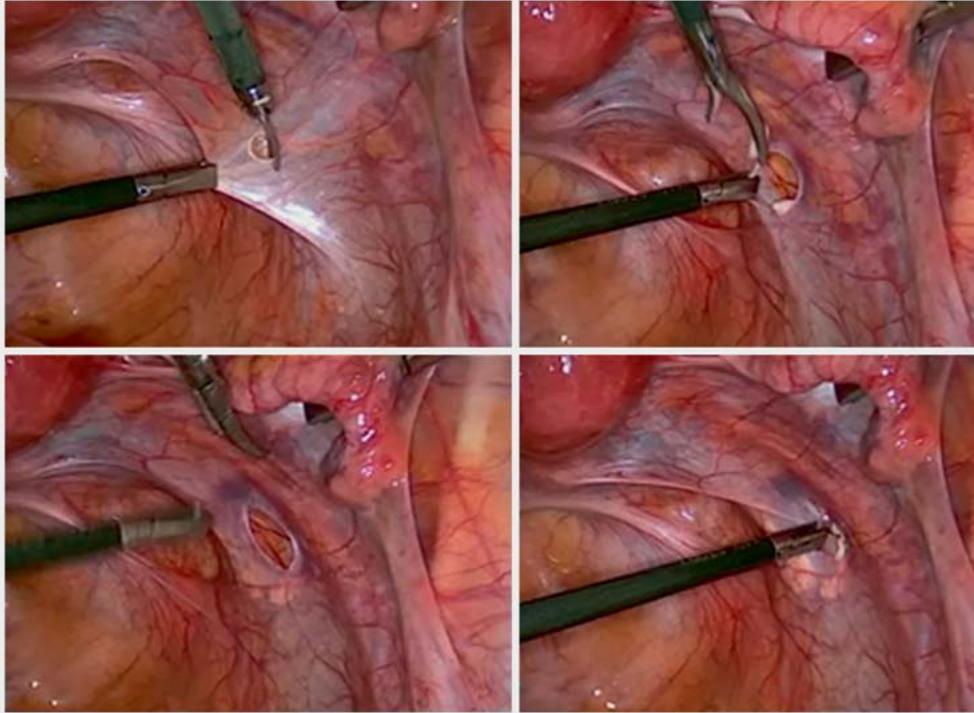
Als Kryoprotektivum kann DMSO oder alternativ Ethylenglykol verwendet werden.

### Vitalitätstestung des Ovarialgewebes?

Sowohl vor der Kryokonservierung als auch in Vorbereitung auf eine Transplantation bei einem prämaturnen Ovarialversagen nach zytotoxischer Therapie wird das präparierte Ovarialgewebe zur Qualitätssicherung untersucht. Die Untersuchungen stellen sicher, dass die Entnahme des Gewebes, dessen Transport/Aufbereitung und auch die Kryokonservierung bzw. der Auftau zu keiner relevanten Schädigung des Gewebes geführt haben – genauso wird daraus ein mögliches Kortexpotenzial (Anzahl primordiale Follikel in einem bestimmten Areal) einer jeden Patientin individuell bestimmt.

Methodisch werden dazu im Rahmen der Präparation des entnommenen Ovarialgewebes kleine genormte Biopsiestanzen aus verschiedenen Randbereichen angefertigt, die nach einem Gewebeverdau und einer Calcein-Acetoxy-methylester-Färbung oder einem Live-Dead-Assay auf die Anzahl vitaler Primordialfollikel analysiert werden. Die Konzentration vitaler Primordialfollikel sowie der Anti-Müller-Hormon-Wert im Serum, der antrale Follikelcount und das Alter der Patientin (alles ermittelt zum Zeitpunkt der Ovarialgewebesenahme bzw. vor Beginn der zytotoxischen Therapie) werden als Parameter zur Bestimmung der Fertilitätsreserve angesehen – aber auch zur späteren Festlegung der Anzahl der zu transplantierenden Ovarialkortexstückchen.

Zur Validierung einer ovarialgewebeverarbeitenden Einrichtung empfiehlt das Netzwerk *FertiPROTEKT* den kryokonservierenden Zentren, ihre Einfriertechnik durch eine Xenotransplantation von Ovarialgewebe auf immundefiziente Severe-combined-Immunodeficiency-(SCID)-Mäuse überprüfen zu lassen, bevor sie die Kryokonservierung von Ovarialgewebe in der klinischen Routi-



► **Abb. 5** Orthotope Transplantation von Ovarialgewebe in eine peritoneale Tasche des Beckenperitoneums der Fossa ovarica.

ne anbieten. Hierdurch kann gezeigt werden, dass die Follikel nach Kryokonservierung und Auftauen ein qualitatives Entwicklungspotenzial/Follikelwachstum aufweisen.

#### GEMEINSAMER BESCHLUSS

Eine Vitalitätstestung mit einem geeigneten Assay sollte vor dem Einfrieren und vor der Transplantation erfolgen.

## Transplantation von Ovarialgewebe

### Wann sollte Ovarialgewebe transplantiert werden und bis zu welchem Alter?

Eine Transplantation von Ovarialgewebe sollte nach erfolgreicher onkologischer Therapie bei Patientinnen mit manifestem Kinderwunsch und bei Versagen der Ovarialfunktion zur Wiederaufnahme der Follikulogenese und Herbeiführung einer Schwangerschaft erfolgen [49]. Auch bei Patientinnen mit noch regelmäßigem Zyklus, aber eingeschränkter ovarieller Reserve kann eine Transplantation erwogen werden. Eine Transplantation zur Wiederherstellung einer langjährigen Ovarialfunktion, die eine ggf. erforderliche Hormonersatztherapie ersetzen würde, ist aufgrund der begrenzten Aktivität des transplantierten Gewebes nicht primär zu empfehlen [50]. Vor einer Transplantation, insbesondere wenn kein POI vorliegt und dennoch eine Transplantation erwogen wird, sollte eine Basisabklärung von Sterilitätsursachen bei

dem Paar durchgeführt werden, um weitere Sterilitätsursachen auszuschließen bzw. zu beheben oder in die weitere Therapieplanung einzubeziehen.

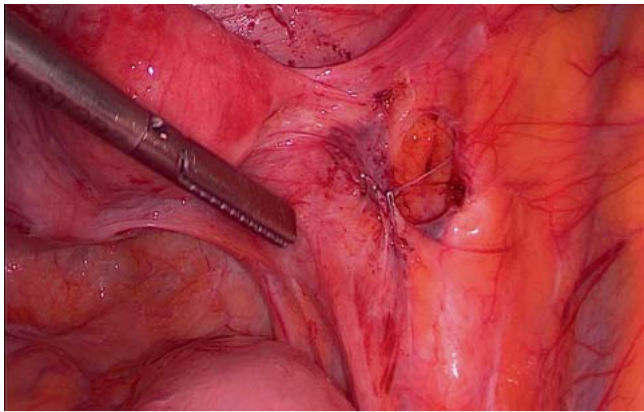
Als Altersgrenze für eine Transplantation sollten 45 Jahre nicht überschritten werden [51]. Wann frühestens nach einer onkologischen Therapie eine Transplantation zu empfehlen ist, ist abhängig von der onkologischen Grunderkrankung und sollte individuell zusammen mit den behandelnden Onkologen unter Berücksichtigung des Alters der Patientin und der onkologischen Prognose festgelegt werden.

#### GEMEINSAMER BESCHLUSS

- Eine Transplantation von Ovarialgewebe sollte bei Frauen mit manifestem Kinderwunsch und Versagen der Ovarialfunktion (Amenorrhö/Oligomenorrhö), bis zu einem Alter von 45 Jahren durchgeführt werden.
- Vor einer Transplantation sollte eine Basisabklärung von Sterilitätsursachen durchgeführt werden.

### Wie sollte das Ovarialgewebe transplantiert werden (Operationstechnik und Transplantationsort)?

Die Transplantation von Ovarialgewebe erfolgt in der Regel per Laparoskopie [27–29]. Im klinischen Alltag wird vornehmlich die orthotope Transplantation angewandt. Bei der orthotopen Transplantation wird das Ovarialgewebe entweder in die Beckenwand kaudodorsal der Ovarien oder in/auf das Ovar transplantiert. In-



► **Abb. 6** Markierung des Transplantationsortes mit Titan-Clips.

ternational werden unterschiedliche orthotope Transplantationstechniken beschrieben [27–29]. Welche der Techniken und welche Lokalisationen zu den höchsten Schwangerschaftschancen führen, ist noch unklar.

Für eine Transplantation unter das Beckenperitoneum sprechen die bessere Durchblutung in der Beckenwand im Vergleich zur Situation im meist stark atrophischen Ovar und die operativ einfache Durchführbarkeit (und das hiermit geringe operative Risiko für die Patientin).

Das parietale Peritoneum der Fossa ovarica wird hierfür über eine Länge von ca. 0,5–1 cm inzidiert. Eine subperitoneale Tasche wird stumpf präpariert und die Gewebestücke in die Tasche implantiert. Die Gewebestücke sollten möglichst nebeneinander und nicht übereinander liegen (► **Abb. 5**). In dem Falle, dass das Ovarialgewebe wieder entnommen werden soll (z. B. bei einem erhöhten Risiko für eine Prädisposition), sollte eine Markierung des Gewebes z. B. mit Titan-Clips erfolgen (► **Abb. 6**). Die Dokumentation des Ortes der Transplantation ist zu gewährleisten.

Bei einer Transplantation in/auf das Ovar wird auf die entsprechende Literatur verwiesen [2, 27].

Generell empfiehlt es sich nicht, das gesamte kryokonservierte Material auf einmal zu transplantieren, sondern nur ca. ein Drittel bis die Hälfte des vorhandenen Gewebes, um bei erneutem Verlust der ovariellen Funktion Gewebe in Reserve zu haben [1]. Hier

ist aber auch das Alter der Patientin bei Ovartransplantation zu berücksichtigen.

Bei der orthotopen Transplantation unter das Beckenperitoneum ist eine natürliche Schwangerschaft prinzipiell möglich. Daher sollte bei der Transplantation von Ovarialgewebe eine Fertilitätsbeurteilung (tubare, uterine und extrauterine Faktoren) und ggf. Korrektur erfolgen [1]; d. h. bei der Transplantation des Ovarialgewebes empfiehlt es sich, die Durchgängigkeit der Eileiter mithilfe einer „Chromo“-Pertubation (mit NaCl) zu prüfen und ebenso eine Hysteroskopie zum Ausschluss von Polypen, Myomen, Adhäsionen oder einer chronischen Endometritis zu erwägen. Die Transplantation erfolgt auf der Seite, auf der die Tube offen und die anatomischen Verhältnisse am günstigsten sind (► **Abb. 7**).

Die Operationsrisiken sind vergleichbar mit den Risiken bei anderen laparoskopischen Eingriffen. Mögliche Risiken sind eine Nachblutung oder eine Wundinfektion, die in < 1% der Fälle auftreten [27–29].

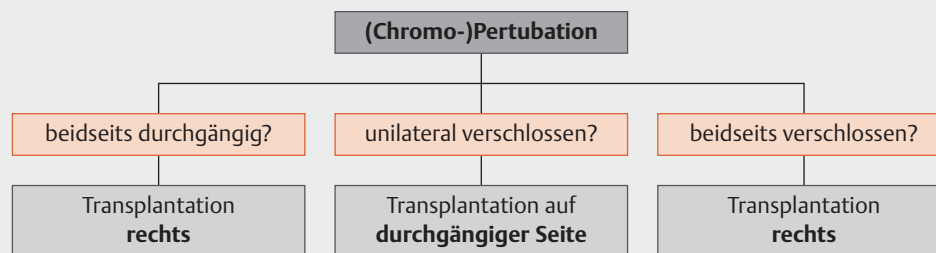
#### GEMEINSAMER BESCHLUSS

- Die Transplantation von ovariellen Gewebe erfolgt laparoskopisch.
- Bei der Transplantation sollte eine „Chromo“-Pertubation (z. B. mit NaCl) durchgeführt werden.
- Hierzu erfolgt eine blutarme Präparation einer Tasche im Beckenperitoneum und die Einführung des Ovarialgewebes in diese Tasche.
- Falls das ovarielle Gewebepräparat später wieder entnommen werden soll, empfiehlt sich eine Markierung (z. B. Titan-Clips) des Transplantationsortes.

## Nachsorge transplanteder Patientinnen

### Wie sollte die Nachsorge erfolgen?

Die ovarielle Funktion kann in 80–85% der Fälle mithilfe der Transplantationen des ovariellen Gewebes wiederhergestellt werden [15]. Bis das transplantierte Ovarialgewebe Zeichen der Wiederaufnahme seiner Funktion aufweist (FSH-Abfall, Östradiol-Anstieg), dauert es 2 bis 6 Monate [48]. Eine Spontanschwanger-



► **Abb. 7** Algorithmus zur Wahl der Transplantationsseite.



schaft kann angestrebt werden, wenn die Tuben offen sind und keine anderen relevanten Sterilitätsfaktoren vorliegen. Der Patientin kann zur Erhöhung der Konzeptionswahrscheinlichkeit ein Zyklusmonitoring mit Ovulationsinduktion durch HCG im Rahmen eines Verkehrs zum optimalen Zeitpunkt angeboten werden. Bei verschlossenen Tuben oder anderen Sterilitätsfaktoren müssen Techniken der assistierten Reproduktionsmedizin (IVF; ICSI) angewandt werden. Bei einer hohen Follikeldichte (antraler Follikelcount und AMH) kann in Abhängigkeit des Alters der Patientin bzw. der onkologischen Grunderkrankung eine Gonadotropinstimulation erwogen werden, um den Schwangerschaftseintritt ggf. zu beschleunigen. Alternativ können auch in mehreren Spontanzyklen oder stimulierten Zyklen die gewonnenen Eizellen vitrifiziert werden, sodass ein Eizellpool geschaffen wird für die spätere Anwendung im Rahmen einer assistierten reproduktionsmedizinischen Technik [52]. Zur Erhöhung der Implantationsrate vor allem bei Ganzkörperbestrahlung und Bestrahlung des kleinen Beckens können weiter diagnostische Maßnahmen, wie z. B. eine Endometriumsdiagnostik zur Analyse des endometrialen Rezeptivitätsprofils, angeboten werden. Nach einem Jahr sind ca. zwei Drittel der Transplantate noch aktiv. Die Gewebetransplantate, die initial eine gute Aktivität zeigten, sind meist über mehrere Jahre aktiv. Die mittlere Dauer der Ovarfunktion nach Transplantation beträgt im Durchschnitt ca. 4–7 Jahre, ist jedoch abhängig von der Follikelanzahl im Ovarialgewebe und vom Alter der Frau zum Zeitpunkt der Kryokonservierung [11]. Zeigen sich ca. ½ Jahr nach Transplantation keine Aktivitätszeichen, sollte eine weitere Transplantation kryokonservierten Ovarialgewebes erwogen werden.

#### GEMEINSAMER BESCHLUSS

- Patientinnen mit einer Amenorrhö sollte 8–10 Wochen nach der Transplantation bis zum Nachweis von Aktivitätszeichen monatlich eine Blutanalyse (FSH, Estradiol, Progesteron) und alle 2 Monate eine Ultraschalluntersuchung angeboten werden.
- Bei Aktivitätszeichen des transplantierten Ovarialgewebes empfiehlt sich nach Abklärung anderer Sterilitätsursachen, ein Zyklusmonitoring zur Erhöhung der Schwangerschaftschancen durchzuführen.
- Bei Patientinnen mit Sterilitätsursachen (z. B. tubare Sterilität, reduzierte männliche Fertilität) müssen ART-Maßnahmen erfolgen.
- Patientinnen, die noch einen aktiven Zyklus vor Transplantation hatten, sollte 8–10 Wochen nach Transplantation ein monatliches Zyklusmonitoring angeboten werden.
- Eine Stimulation kann in Abhängigkeit von der individuellen Situation (Follikeldichte, Anzahl der Konzeptionsversuche, Tumorentität) erwogen werden.

#### Interessenkonflikt

Die Autoren geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

#### Literatur

- [1] Fertility preservation for patients with malignant disease. Guideline of the DGGG, DGU and DGRM (S2k-Level, AWMF Registry No. 015/082, November 2017). Online: <http://www.awmf.org/leitlinien/detail/II/015-082.html>; Stand: 13.06.2018
- [2] von Wolff M, Germeyer A, Liebenthron J et al. Practical recommendations for fertility preservation in women by the FertiPROTEKT network. Part II: fertility preservation techniques. *Arch Gynecol Obstet* 2018; 297: 257–267
- [3] Winkler-Crepaz K, Bottcher B, Toth B et al. What is new in 2017? Update on fertility preservation in cancer patients. *Minerva Endocrinol* 2017; 42: 331–339
- [4] Martinez F; International Society for Fertility Preservation–ESHRE–ASRM Expert Working Group. Update on fertility preservation from the Barcelona International Society for Fertility Preservation-ESHRE-ASRM 2015 expert meeting: indications, results and future perspectives. *Fertil Steril* 2017; 108: 407–415.e11
- [5] Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine. Ovarian tissue cryopreservation: a committee opinion. *Fertil Steril* 2014; 101: 1237–1243
- [6] Donnez J, Dolmans MM, Demylle D et al. Livebirth after orthotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. *Lancet* 2004; 364: 1405–1410
- [7] Muller A, Keller K, Wacker J et al. Retransplantation of cryopreserved ovarian tissue: the first live birth in Germany. *Dtsch Arztebl Int* 2012; 109: 8–13
- [8] Van der Ven H, Liebenthron J, Beckmann M et al. Ninety-five orthotopic transplantations in 74 women of ovarian tissue after cytotoxic treatment in a fertility preservation network: tissue activity, pregnancy and delivery rates. *Hum Reprod* 2016; 31: 2031–2041
- [9] Jensen AK, Macklon KT, Fedder J et al. 86 successful births and 9 ongoing pregnancies worldwide in women transplanted with frozen-thawed ovarian tissue: focus on birth and perinatal outcome in 40 of these children. *J Assist Reprod Genet* 2017; 34: 325–336
- [10] Pacheco F, Oktay K. Current Success and Efficiency of Autologous Ovarian Transplantation: A Meta-Analysis. *Reprod Sci* 2017; 24: 1111–1120
- [11] Donnez J, Dolmans MM. Ovarian cortex transplantation: 60 reported live births brings the success and worldwide expansion of the technique towards routine clinical practice. *J Assist Reprod Genet* 2015; 32: 1167–1170
- [12] Dittrich R, Hackl J, Lotz L et al. Pregnancies and live births after 20 transplantations of cryopreserved ovarian tissue in a single center. *Fertil Steril* 2015; 103: 462–468
- [13] Jadoul P, Guilmain A, Squifflet J et al. Efficacy of ovarian tissue cryopreservation for fertility preservation: lessons learned from 545 cases. *Hum Reprod* 2017; 32: 1046–1054
- [14] Lotz L, Maktabi A, Hoffmann I et al. Ovarian tissue cryopreservation and retransplantation – what do patients think about it? *Reprod Biomed Online* 2016. doi:10.1016/j.rbmo.2015.12.012
- [15] Gellert SE, Pors SE, Kristensen SG et al. Transplantation of frozen-thawed ovarian tissue: an update on worldwide activity published in peer-reviewed papers and on the Danish cohort. *J Assist Reprod Genet* 2018. doi:10.1007/s10815-018-1144-2
- [16] Pacheco F, Oktay K. Current Success and Efficiency of Autologous Ovarian Transplantation: A Meta-Analysis. *Reprod Sci* 2017; 24: 1111–1120
- [17] von Wolff M, Montag M, Dittrich R et al. Fertility preservation in women – a practical guide to preservation techniques and therapeutic strategies in breast cancer, Hodgkin’s lymphoma and borderline ovarian tumours by the fertility preservation network FertiPROTEKT. *Arch Gynecol Obstet* 2011; 284: 427–435

- [18] Dittrich R, Mueller A, Binder H et al. First retransplantation of cryopreserved ovarian tissue following cancer therapy in Germany. *Dtsch Arztebl Int* 2008; 105: 274–278
- [19] Wallace WH, Smith AG, Kelsey TW et al. Fertility preservation for girls and young women with cancer: population-based validation of criteria for ovarian tissue cryopreservation. *Lancet Oncol* 2014; 15: 1129–1136
- [20] Schuring AN, Fehm T, Behringer K et al. Practical recommendations for fertility preservation in women by the FertiPROTEKT network. Part I: Indications for fertility preservation. *Arch Gynecol Obstet* 2018; 297: 241–255
- [21] Jensen AK, Rechnitzer C, Macklon KT et al. Cryopreservation of ovarian tissue for fertility preservation in a large cohort of young girls: focus on pubertal development. *Hum Reprod* 2017; 32: 154–164
- [22] Anderson RA, Hindmarsh PC, Wallace WH. Induction of puberty by autograft of cryopreserved ovarian tissue in a patient previously treated for Ewing sarcoma. *Eur J Cancer* 2013; 49: 2960–2961
- [23] Poirot C, Abirached F, Prades M et al. Induction of puberty by autograft of cryopreserved ovarian tissue. *Lancet* 2012; 379: 588
- [24] Demeestere I, Simon P, Dedeken L et al. Live birth after autograft of ovarian tissue cryopreserved during childhood. *Hum Reprod* 2015; 30: 2107–2109
- [25] Senthilingam M. Women is first to have baby with ovaries frozen in childhood. CNN-Meldung vom 16. Dezember 2016. Online: <http://daebl.de/UX32>; Stand: 01.05.2018
- [26] Wallace WH, Thomson AB, Saran F et al. Predicting age of ovarian failure after radiation to a field that includes the ovaries. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2005; 62: 738–744
- [27] Beckmann MW, Dittrich R, Lotz L et al. Fertility protection: complications of surgery and results of removal and transplantation of ovarian tissue. *Reprod Biomed Online* 2018; 36: 188–196
- [28] Beckmann MW, Dittrich R, Lotz L et al. Operative techniques and complications of extraction and transplantation of ovarian tissue: the Erlangen experience. *Arch Gynecol Obstet* 2017; 295: 1033–1039
- [29] Beckmann MW, Dittrich R, Findeklee S et al. Surgical Aspects of Ovarian Tissue Removal and Ovarian Tissue Transplantation for Fertility Preservation. *Geburtsh Frauenheilk* 2016; 76: 1057–1064
- [30] von Wolff M, Dittrich R, Liebenthron J et al. Fertility-preservation counselling and treatment for medical reasons: data from a multinational network of over 5000 women. *Reprod Biomed Online* 2015; 31: 605–612
- [31] Rosendahl M, Simonsen MK, Kjer JJ. The influence of unilateral oophorectomy on the age of menopause. *Climacteric* 2017; 20: 540–544
- [32] Liebenthron J, Montag M. Chapter 15 Development of a Nationwide Network for Ovarian Tissue Cryopreservation. *Methods Mol Biol* 2017; 1568: 205–220
- [33] Schmidt KL, Ernst E, Byskov AG et al. Survival of primordial follicles following prolonged transportation of ovarian tissue prior to cryopreservation. *Hum Reprod* 2003; 18: 2654–2659
- [34] Dittrich R, Lotz L, Keck G et al. Live birth after ovarian tissue autotransplantation following overnight transportation before cryopreservation. *Fertil Steril* 2012; 97: 387–390
- [35] Klocke S, Tappehorn C, Griesinger G. Effects of supra-zero storage on human ovarian cortex prior to vitrification-warming. *Reprod Biomed Online* 2014; 29: 251–258
- [36] Rosendahl M, Timmermans Wielenga V, Nedergaard L et al. Cryopreservation of ovarian tissue for fertility preservation: no evidence of malignant cell contamination in ovarian tissue from patients with breast cancer. *Fertil Steril* 2011; 95: 2158–2161
- [37] Gastal GD, Alves BG, Alves KA et al. Ovarian fragment sizes affect viability and morphology of preantral follicles during storage at 4 degrees C. *Reproduction* 2017; 153: 577–587
- [38] Dittrich R, Lotz L, Keck G et al. Live birth after ovarian tissue autotransplantation following overnight transportation before cryopreservation. *Fertil Steril* 2012; 97: 387–390
- [39] Bastings L, Liebenthron J, Westphal JR et al. Efficacy of ovarian tissue cryopreservation in a major European center. *J Assist Reprod Genet* 2014; 31: 1003–1012
- [40] Rodriguez-Wallberg KA, Tanbo T, Tinkanen H et al. Ovarian tissue cryopreservation and transplantation among alternatives for fertility preservation in the Nordic countries – compilation of 20 years of multicenter experience. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2016; 95: 1015–1026
- [41] Meirow D, Roness H, Kristensen SG et al. Optimizing outcomes from ovarian tissue cryopreservation and transplantation; activation versus preservation. *Hum Reprod* 2015; 30: 2453–2456
- [42] Shi Q, Xie Y, Wang Y et al. Vitrification versus slow freezing for human ovarian tissue cryopreservation: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep* 2017; 7: 8538
- [43] Donnez J, Dolmans MM. Ovarian tissue freezing: current status. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2015; 27: 222–230
- [44] Gosden RG, Baird DT, Wade JC et al. Restoration of fertility to oophorectomized sheep by ovarian autografts stored at – 196 degrees C. *Hum Reprod* 1994; 9: 597–603
- [45] Newton H, Aubard Y, Rutherford A et al. Low temperature storage and grafting of human ovarian tissue. *Hum Reprod* 1996; 11: 1487–1491
- [46] Bastings L, Westphal JR, Beerendonk CC et al. Clinically applied procedures for human ovarian tissue cryopreservation result in different levels of efficacy and efficiency. *J Assist Reprod Genet* 2016; 33: 1605–1614
- [47] Dolmans MM, Jadoul P, Gilliaux S et al. A review of 15 years of ovarian tissue bank activities. *J Assist Reprod Genet* 2013; 30: 305–314
- [48] Donnez J, Dolmans MM, Pellicer A et al. Restoration of ovarian activity and pregnancy after transplantation of cryopreserved ovarian tissue: a review of 60 cases of reimplantation. *Fertil Steril* 2013; 99: 1503–1513
- [49] Donnez J, Dolmans MM. Transplantation of ovarian tissue. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2014; 28: 1188–1197
- [50] von Wolff M, Dittrich R, Stute P. Transplantation of ovarian tissue to postpone menopause – is it really more advantageous for women’s health than menopause hormone therapy? *Reprod Biomed Online* 2015; 31: 827
- [51] Rodriguez-Wallberg KA, Tanbo T, Tinkanen H et al. Ovarian tissue cryopreservation and transplantation among alternatives for fertility preservation in the Nordic countries – compilation of 20 years of multicenter experience. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2016; 95: 1015–1026
- [52] Cobo A, Garrido N, Crespo J et al. Accumulation of oocytes: a new strategy for managing low-responder patients. *Reprod Biomed Online* 2012; 24: 424–432