

Statusartikel

Nye behandlingsstrategier ved assisteret befrugtning

Cecilia Kiehn Myrup, Nathalie Friis Wang, Kristine Løssl & Anja Pinborg

Fertilitetsklinikken, Københavns Universitetshospital – Rigshospitalet

Ugeskr Læger 2025;187:V06240389. doi: 10.61409/V06240389

HOVEDBUDSKABER

Ved vitrifikation nedfryses embryoner lynhurtigt modsat den tidligere anvendte slow-freeze-metode.

Overlevelsen for disse embryoner er > 95% med fødselsrater som for ikkenedfrosne embryoner.

Brugen af vitrifikation har fremmet strategier for fertilitetsbehandling, der bl.a. letter udførelsen af genetisk testning.

Det faldende fødselstal i Danmark får i disse tider stor mediebevågenhed, samtidigt med at der generelt i Europa ses en udvikling mod et øget antal fertilitetsbehandlinger [1]. I 2024 kom det udvidede gratis behandlingstilbud fra tre til seks IVF-ICSI-forsøg i finansloven, og ydermere lovede statsminister *Mette Frederiksen* i sin nytårstale den 1. januar 2024, at gratis hjælp til barn nummer to også er på vej. Sidstnævnte kræver en lovændring, som formentlig træder i kraft 1. december 2024 [2].

Bevågenheden er med rette, for danske kvinder får i gennemsnit 1,5 børn, og fødselsraten er dermed på det laveste niveau i 37 år [3]. En af hovedårsagerne til dette er den stigende alder hos førstegangsforældre, som i 2023 slog rekord på gennemsnitligt 30 år for kvinder og næsten 32 år for mænd [4]. Danmark er derudover et af de lande, hvor flest par modtager fertilitetsbehandling, og mere end hvert 10. barn fødes nu med hjælp heraf [5]. Det høje tal skyldes ikke kun nedsat fertilitet, men også tilgængeligheden af fertilitetsbehandling i det offentlige danske sundhedsvæsen, som er væsentligt bedre end i andre europæiske lande. Foruden en øget tilgængelighed er der også sket vigtige teknologiske fremskridt, siden det første barn undfanget med IVF-behandling blev født i Danmark i 1983.

Særligt introduktionen af vitrifikation som frysemetode ved nedfrysning af befrugtede og delte æg, altså embryoner, har banet vejen for nye behandlingsstrategier.

Denne artikel har til formål at belyse to af de vigtigste teknologiske fremskridt, nemlig vitrifikation og blastocystdyrkning, samt afledte behandlingsstrategier heraf. Fokus vil være på totalfrys, gonadotropin-releasing hormone (GnRH)-agonist som ægløsningssprøjte, oplægning af ét enkelt embryon ad gangen samt udførelsen af præimplantationsgenetisk testning.

Frysemetoder

Kryopræservasjon er en betegnelse for nedfrysning og opbevaring af biologisk materiale med opretholdt levedygtighed. Siden fødslen af det første barn efter kryopræservasjon og optøning af et embryon i 1983 [6] og

optøning af et humant æg med efterfølgende befrugtning i 1986 [7] har udviklingen af nye behandlingsstrategier været eksponentiel.

Fordelen ved kryopræservation i fertilitetsbehandling er, at evt. overskydende embryoner kan gemmes til senere brug, hvorved den kumulerede chance for at få et barn øges uden ny hormonstimulation og ægudtagning. Udfordringen ved kryopræservation er at forhindre dannelsen af intracellulære iskrystaller, som er skadelige for cellerne og medvirker til, at de ikke overlever nedfrysnings- og optøningsprocessen [8].

Til nedfrysning af humane æg eller embryoner har man gennem tiden anvendt to forskellige nedfrysningsteknikker: slow-freeze og vitrifikation.

Slow-freeze var den først udviklede og anvendte teknik. Ved slow-freeze bliver embryonets vækstmedie tilsat kryoprotektanter, der bevirker, at cellerne bliver dehydrerede. Herefter nedkøles embryonet langsomt med omkring 0,3-1 °C/min, indtil temperaturen når ned omkring -30 til -70 °C. For blastocyster (embryoner efter 5-7 dages dyrkning) er overlevelsen ved slow-freeze 57-89% [9, 10].

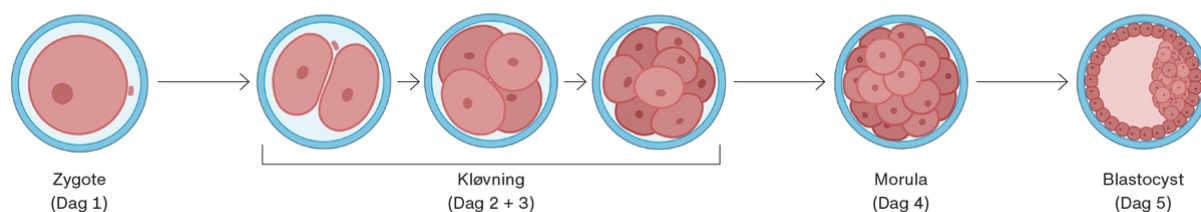
Ved vitrifikation derimod tilsættes høje koncentrationer af kryoprotektanter og herefter flydende nitrogen til embryonet, hvorved nedkølingen sker med hastigheder på op til 20.000 °C/min, og embryonet køles ned til -196 °C i løbet af få sekunder [8].

I modsætning til slow-freeze, hvor molekyler samler sig i krystalgitre, sker nedfrysningen ved vitrifikation så hurtigt, at molekylerne ikke når at ændre position [11]. Herved ændres tilstand fra væskeform til fast form ultrahurtigt, og der opnås en glaslignende tilstand, som navnet »vitrum«, der udspringer af det latinske ord for glas, antyder [12].

Overlevelsen for blastocyster ved vitrifikation er i dag tæt på 100% [9, 10], hvilket har forbedret mulighederne inden for fertilitetsbehandling og bevirket, at antallet af behandlinger med frosne embryoner er steget markant de seneste år. Frysebehandlinger udgjorde i Danmark i år 2021 ca. 42% af alle fertilitetsbehandlinger mod bare 13% i 2001 [13].

Den gode overlevelse af nedfrosne embryoner skyldes ud over vitrifikation, at de nu ofte dyrkes til blastocyststadiet (**Figur 1**). På dette stadium fås en bedre selektion af embryonerne, og de er mere modstandsdygtige for nedfrysning og optøning.

FIGUR 1 Det befrugtede ægs udvikling til blastocyst. Illustration udarbejdet ved hjælp af Biorender.com.



Anvendelsen af vitrifikation tog fart i 2007-2009 og er rent tidsmæssigt gået hånd i hånd med blastocystdyrkning.

Nedenfor vil nogle af de behandlingsstrategier, som er opstået på baggrund af vitrifikation og blastocystdyrkning, blive gennemgået.

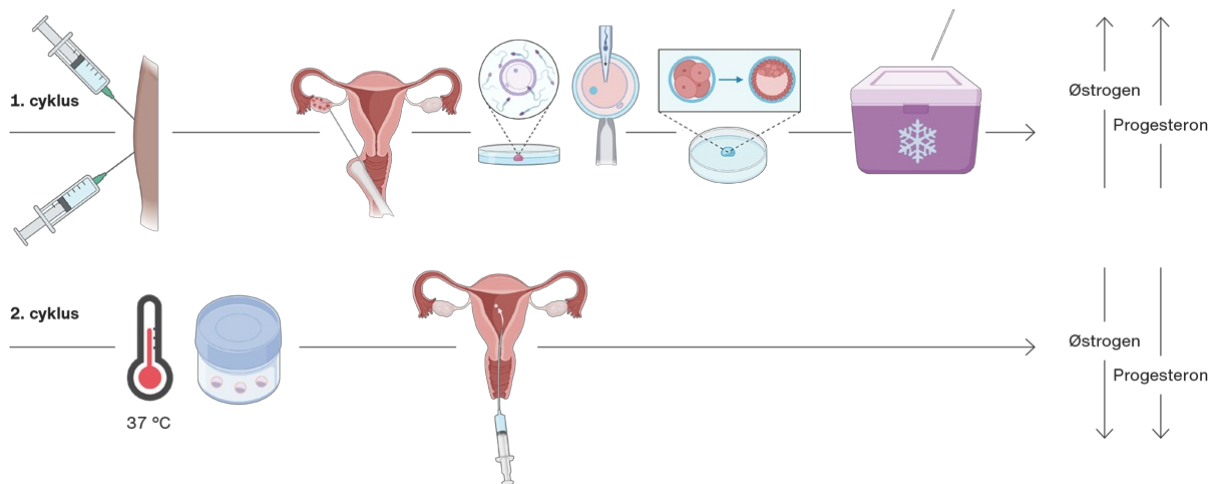
Totalfrys

Som en del af den hormonelle ovariestimulation i fertilitetsbehandling får patienterne tilføjet suprafysiologiske mængder af gonadotropiner i form af follikelstimulerende hormon (FSH) eller en kombination af FSH og luteiniserende hormon (LH). Formålet er at stimulere til vækst af flere follikler pr. behandling, men

hormonstimulationen menes at kunne have en negativ indvirkning på endometriets evne til at understøtte implantationen af det befrugtede æg [14].

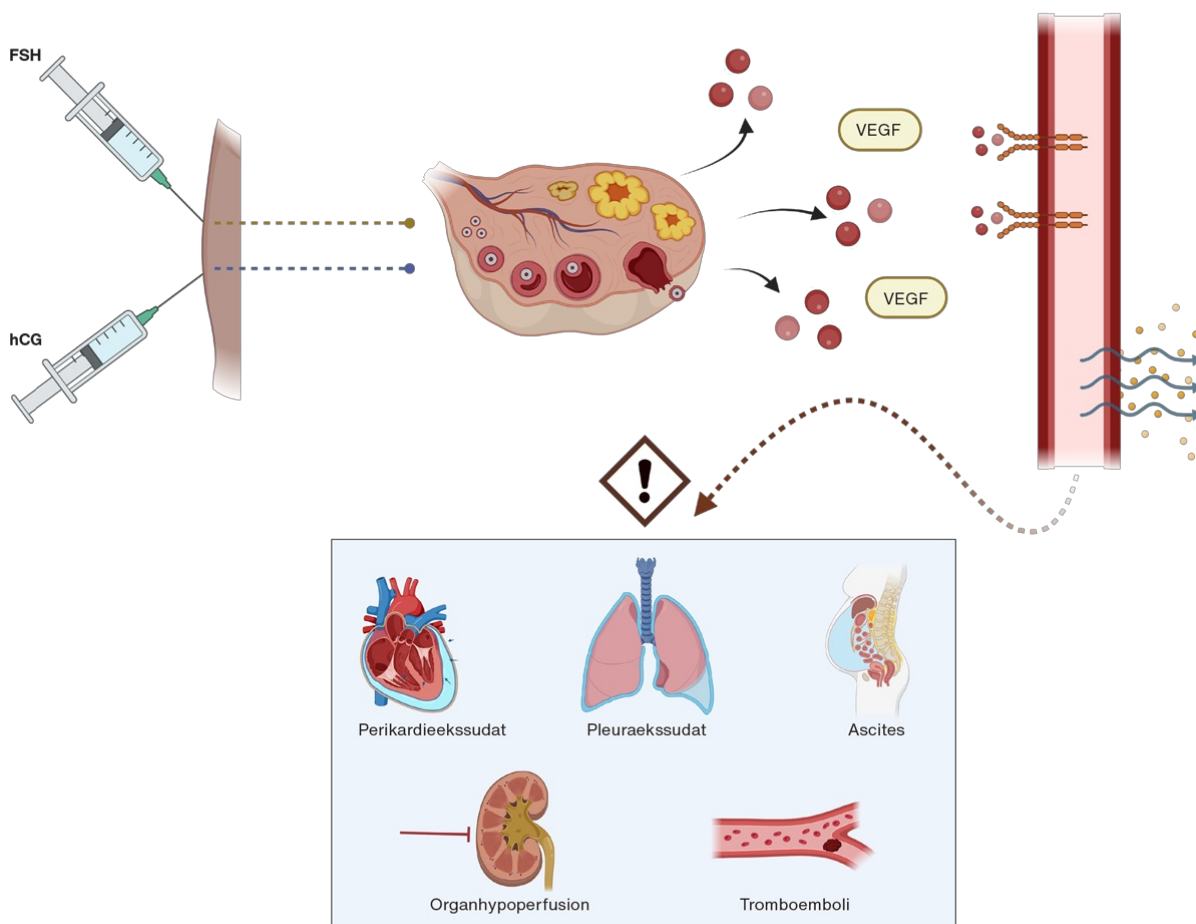
I forbindelse med indførelsen af vitrifikation blev det udbredt verden over at foretage elektiv totalfrys, også benævnt »freeze all«, altså nedfrysning af alle embryoner med henblik på oplægning i en senere menstruationscyklus for at undgå negative konsekvenser af homonbehandlingen (Figur 2).

FIGUR 2 I første cyklus, hvor mængden af hormoner er suprafysiologisk, udtages, befrugtes og nedfryses æggene. Ægoplægningen foretages i en efterfølgende cyklus, hvor mængden af hormoner er faldet. Hermed nedsættes risikoen for ovarielet hyperstimulationssyndrom. Illustration udarbejdet ved hjælp af Biorender.com.



Flere store randomiserede studier har vist, at der ikke er signifikant højere fødselsrater ved anvendelse af totalfrys sammenlignet med oplægningen af friske blastocyster, hvorfor elektiv totalfrys ikke anvendes rutinemæssigt i Danmark [15-17]. I år 2021 udgjorde totalfryscyklus 16,9% af alle opstartede cykler i Danmark [13]. Samme studier har dog vist, at risikoen for ovarielet hyperstimulationssyndrom (OHSS) (Figur 3) reduceres ved totalfrys, hvilket har åbnet døren for en ny måde at håndtere risikoen for OHSS på [15].

FIGUR 3 Mekanismen bag ovarielet hyperstimulationssyndrom (OHSS). OHSS er en tilstand, hvor frigivelsen af vasoaktive substanser, bl.a. vascular endothelial growth factor (VEGF), fra ovarierne øger karpermeabiliteten, hvilket medfører en udsivning af væske og plasma-proteiner til det ekstracellulære rum. Dette medfører ascites, pleura- og perikardieekssudat samt hypovolæmi og hæmokoncentration. I svære tilfælde kan tilstanden medføre organhypoperfusion, respiratory distress syndrome og tromboemboli. Illustration udarbejdet ved hjælp af Biorender.com.



FSH = follikelstimulerende hormon; hCG = humant choriogonadotropin.

Ovarielet hyperstimulationssyndrom

Særligt patienter med polycystisk ovariesyndrom (PCOS) er i forøget risiko for at udvikle OHSS, da de har mange follikler og responderer kraftigt på den hormonelle stimulationsbehandling med gonadotropiner [18]. Studier har vist, at risikoen for moderat til svær OHSS for patienter med PCOS falder signifikant ved brug af totalfrysstrategien, samtidig med at den kumulerede levendefødselsrate for denne patientgruppe er uændret i forhold til behandling med oplægning af friske embryoner [19].

Gonadotropin releasing hormone-agonist som ægløsningsprøje

Risikoen for OHSS kan reduceres yderligere ved brug af en GnRH-agonist som ægløsningsprøje (trigger) frem for den traditionelt anvendte humant choriogonadotropin (hCG)-trigger. HCG-triggeren binder til samme receptor som LH, men da hCG har en længere halveringstid end naturligt LH, er stimulationen kraftigere og længerevarende og kan medvirke til opretholdelse af eventuelt OHSS [20]. Når en GnRH-agonist trigger i stedet for anvendes, stimuleres GnRH-receptorer i hypofysen, hvorved ægløsningen fremkaldes af et mere fysiologisk, endogent LH-peak [20]. Da GnRH-agonisttriggeren blev introduceret, sås markant lavere graviditetsrater, da behovet for totalfrys eller en intensiveret form for lutealfasestøtte ikke var kendt. Lutealfasestøtte indebærer

tilførsel af hormoner efter ægoplægningen for at understøtte endometriets udvikling [20]. Totalfrys og lutealfasestøtteprotokoller er nu så effektive, at der ses sammenlignelige graviditetsrater for de to typer triggere samtidig med en nærmest ikkeeksisterende risiko for OHSS hos patienter med mange voksende follikler [21]. Dette har gjort, at OHSS-frie forløb er inden for rækkevidde.

Elektiv oplægning af ét embryo

Forud for rutinemæssig anvendelse af kryopræservasjon blev der ofte oplagt to eller flere embryoner ad gangen for at sikre størst mulig graviditetschance, og da overskydende embryoner risikerede at gå tabt ved suboptimal fryseteknik (slow-freeze). Dette resulterede i en høj forekomst af flerfoldsgraviditeter samt en deraf afledt øget risiko for præterm fødsel, cerebral parese og sectio caesarea [22].

De gode overlevelseshastigheder efter vitrifikation og optøning har faciliteret en gradvis overgang til elektiv oplægning af ét embryo (eSET) verden over. Ved eSET oplægges ét enkelt embryo i modsætning til elektiv dobbelt embryotransfer (eDET), hvor to embryoner oplægges samtidigt. Valget mellem eSET og eDET giver fortsat anledning til debat. Studier har sammenlignet eDET med »gentagen eSET«, hvor oplægningen af ét frisk embryo efterfølges af oplægningen af ét friskt eller frossent embryo i efterfølgende cykler indtil opnået graviditet.

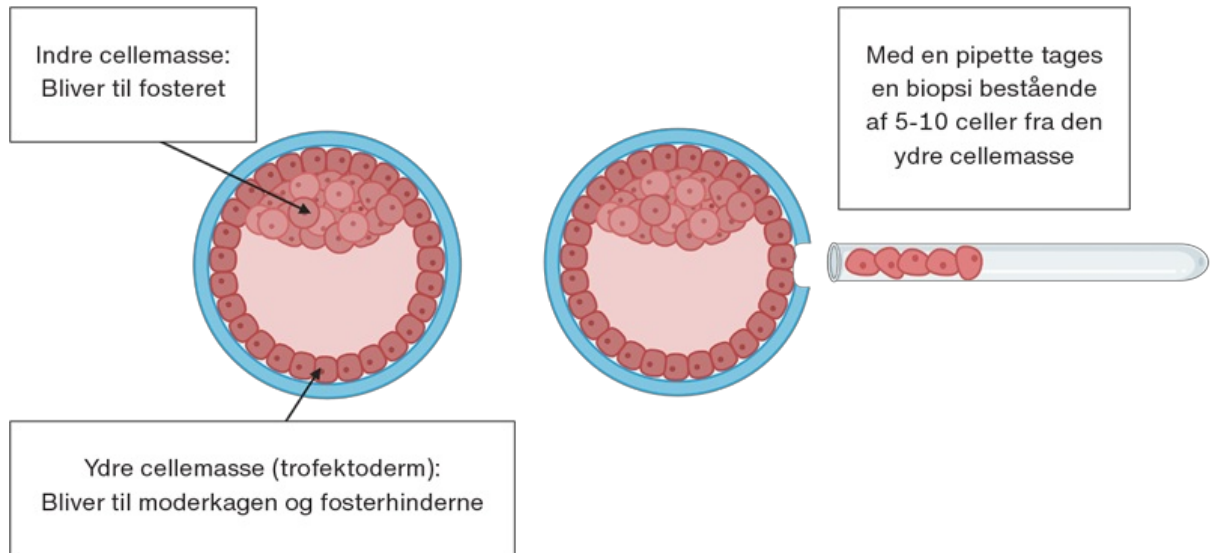
Der ses, at ved anvendelse af gentagen eSET er der ingen signifikant forskel i levendefødselsraten, som er 42% for eDET og 34-46% for gentagen eSET [23]. Samtidig med dette falder risikoen for tvillingegraviditet markant fra 13% til 0-3% [23]. I 2015 blev det påbudt af Sundhedsministeriet, at oplægning skal ske med ét embryo, i særlige tilfælde to, men aldrig tre [24].

Tvillingeraten efter assisteret befrugtning i Danmark er i dag < 3% mod næsten 23% for 20 år siden [13].

Præimplantationsgenetisk testning

Brugen af vitrifikation har også revolutioneret muligheden for at udføre præimplantationsgenetisk testning (PGT), hvor embryoet inden oplægning undersøges for forskellige genetiske abnormiteter. Der kan udføres PGT-M for test af monogene sygdomme, hvor der undersøges for en kendt monogen sygdom, og embryoner med kendt disposition frasorteres, f.eks. cystisk fibrose. Der kan også foretages PGT-SR, som tilbydes par med kendte strukturelle rearrangementer, hvor variationer i mængden af kromosommateriale undersøges, og embryoner med forkert kromosommængde kasseres. Ved PGT-A undersøges for aneuploidi, som er den hyppigste årsag til graviditetstab [25]. Ved PGT-A er formålet at udvælge embryoner med korrekt kromosomantal og størst potentiale for at medføre fødsel af et raskt barn samt nedsætte risikoen for spontan abort [25, 26]. PGT-biopsien foretages i dag fortrinsvist i blastocyststadiet på 5.-7.-dagen efter ægudtagningen ved en biopsi bestående af 5-10 celler fra den ydre cellemasse, trofektodermen, som senere bliver til moderkagen (**Figur 4**). Tidligere blev mange biopsier taget på tredjedagen for at muliggøre den genetiske undersøgelse, inden ægget skulle tilbagelægges fem dage efter ægudtagningen for at opnå størst mulig graviditetschance. Dog medførte dette øget risiko for fejldiagnosticering på grund af en høj grad af mosaïcisme i embryoet i dette udviklingsstadium samt en risiko for at skade embryoet [27, 28].

FIGUR 4 Proceduren for præimplantationsgenetisk testning. Illustration udarbejdet ved hjælp af Biorender.com.



Med vitrifikation kan embryoet biopteres på dag 5-7 og herefter nedfryses med gode overlevelseschancer og god tid til at undersøge biopsien. Blastocysten kan herefter tilbagelægges 1-2 cykler senere eller kasseres afhængigt af svaret.

I Danmark foretages PGT-M og PGT-SR på udvalgte patienter med kendt øget risiko for at få et alvorligt sygt barn, mens det indtil nu kun er lovligt at foretage PGT-A i videnskabeligt protokollert regi, bl.a. ved høj maternel alder (> 37 år), gentagen fejlslagen implantation og gentagen tidlig abort [29]. Der foreligger endnu ikke nogen studier fra de indeholdende cost-benefit-analyser ved anvendelse af PGT-A i et offentligt sundhedssystem [30]. Dog pågår der nu på landets tre PGT-centre på Rigshospitalet, Herlev og Aalborg et stort randomiseret studie med henblik på at vise, om PGT-A er omkostningseffektivt til patienter > 37 år. Hvis det skulle vise sig at være tilfældet, er håbet, at den danske regering vil ændre lovgivningen, så PGT-A må anvendes til udvalgte patientgrupper.

Konklusion

Det har altså været banebrydende for assisteret befrugtning at anvende blastocystdyrkning og vitrifikation, da metoderne har affødt en række nye muligheder inden for fertilitetsbehandling. Bl.a. hos patienter i øget risiko for OHSS, som ved anvendelse af GnRH-agonist trigger og totalfrys stort set kan eliminere risikoen for udvikling af OHSS, uden at den kumulerede fødselsrate pr. ægudtagning reduceres.

Vitrifikation og blastocystdyrkning har også banet vejen for implementeringen af eSET-strategien med det formål at forhindre flerfoldsgraviditeter, og metoderne har optimeret resultaterne ved PGT.

Korrespondance *Cecilia Kiehn Myrup*. E-mail: cecilia_myrup@yahoo.com

Antaget 7. november 2024

Publiceret på ugeskriftet.dk 20. januar 2025

Interessekonflikter Der er anført potentielle interessekonflikter. Forfatternes ICMJE-formularer er tilgængelige sammen med artiklen på ugeskriftet.dk

Referencer findes i artiklen publiceret på ugeskriftet.dk

Artikelreference Ugeskr Læger 2025;187:V06240389

doi [10.61409/V06240389](https://doi.org/10.61409/V06240389)

Open Access under Creative Commons License [CC BY-NC-ND 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)

SUMMARY

New treatment strategies in assisted reproduction

This review elucidates the roles of vitrification and blastocyst culture in assisted reproductive technology. Vitrification exploits ultra-fast cooling rates to preserve embryos and avoid cell-damaging ice crystals. With the cultivation of the embryo to the blastocyst stage, survival- and pregnancy rates are now comparable to those achieved with fresh embryos. This has provided numerous advantages, and this review will focus on the management of ovarian hyperstimulation syndrome, the use of gonadotropin-releasing hormone-agonist trigger, elective single embryo transfer, and preimplantation genetic testing.

REFERENCER

1. European IVF Monitoring Consortium (EIM) for the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE); Smeenk J, Wyns C, De Geyter C et al. ART in Europe, 2019: results generated from European registries by ESHRE†. *Human Reprod.* 2023;38(12):2321-2338. <https://doi.org/10.1093/HUMREP/DEAD197>
2. Indenrigs- og Sundhedsministeriet. Regeringen vil sætte et trecifret millionbeløb af til at bekæmpe barnløshed, 2024. <https://www.ism.dk/nyheder/2024/januar/regeringen-vil-saette-et-trecifret-millionbelob-af-til-at-bekaempe-barnloeshed> (25. maj 2024)
3. Danmarks Statistik. Fertilitet, 2023. <https://www.dst.dk/da/Statistik/emner/borgere/befolkning/fertilitet> (26. nov 2024)
4. Danmarks Statistik. Fødsler, 2023. <https://www.dst.dk/da/Statistik/emner/borgere/befolkning/foedsler> (26. nov 2024)
5. eSundhed. Assisteret reproduktion (IVF), 2024. <https://www.esundhed.dk/Emner/Graviditet-foedsler-og-boern/Assisteret-reproduktion-IVF> (7. maj 2024)
6. Trounson A, Mohr L. Human pregnancy following cryopreservation, thawing and transfer of an eight-cell embryo. *Nature.* 1983;305(5936):707-709. <https://doi.org/10.1038/305707A0>
7. Chen C. Pregnancy after human oocyte cryopreservation. *Lancet.* 1986;1(8486):884-6. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(86\)90989-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(86)90989-X)
8. Rienzi L, Gracia C, Maggiulli R et al. Oocyte, embryo and blastocyst cryopreservation in ART: systematic review and meta-analysis comparing slow-freezing versus vitrification to produce evidence for the development of global guidance. *Hum Reprod Update.* 2017;23(2):139-155. <https://doi.org/10.1093/HUMUPD/DMW038>
9. Edgar DH, Gook DA. A critical appraisal of cryopreservation (slow cooling versus vitrification) of human oocytes and embryos. *Hum Reprod Update.* 2012;18(5):536-54. <https://doi.org/10.1093/HUMUPD/DMS016>
10. Kolibianakis EM, Venetis CA, Tarlatzis BC. Cryopreservation of human embryos by vitrification or slow freezing: which one is better? *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2009;21(3):270-4. <https://doi.org/10.1097/GCO.0B013E3283297DD6>
11. Bojic S, Murray A, Bentley BL et al. Winter is coming: the future of cryopreservation. *BMC Biol.* 2021;19(1):56. <https://doi.org/10.1186/S12915-021-00976-8>
12. LEX Danmarks Nationalleksikon. Vitrifikation, 2009. <https://denstoredanske.lex.dk/vitrifikation> (26. nov 2024)
13. Dansk Fertilitetselskab. Dataark pr. år, 2022. <https://fertilitetselskab.dk/dataark-pr-aar/> (26. nov 2024)
14. Bourgain C, Devroey P. The endometrium in stimulated cycles for IVF. *Hum Reprod Update.* 2023;9(6):515-22. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmg045>
15. Shi Y, Sun Y, Hao C et al. Transfer of fresh versus frozen embryos in ovulatory women. *N Engl J Med.* 2018;378(2):126-136.

- <https://doi.org/10.1056/NEJMOA1705334>. Erratum: N Engl J Med. 2021;385(19): 1824.
<https://doi.org/10.1056/NEJMx190017>
16. Vuong LN, Dang VQ, Ho TM et al. IVF transfer of fresh or frozen embryos in women without polycystic ovaries. N Engl J Med. 2018;378(2):137-147. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1703768>
 17. Stormlund S, Sopa N, Zedeler A et al. Freeze-all versus fresh blastocyst transfer strategy during in vitro fertilisation in women with regular menstrual cycles: multicentre randomised controlled trial. BMJ. 2020;370:m2519. <https://doi.org/10.1136/BMJ.M2519>
 18. Tummon I, Gavrilova-Jordan L, Allemand MC, Session D. Polycystic ovaries and ovarian hyperstimulation syndrome: a systematic review*. Acta Obstet Gynecol Scand. 2005;84(7):611-6. <https://doi.org/10.1111/j.0001-6349.2005.00788.x>
 19. Zaat T, Zagers M, Mol F et al. Fresh versus frozen embryo transfers in assisted reproduction. Cochrane Database Syst Rev. 2021;2021;2(2):CD011184. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD011184.PUB3>
 20. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine; Prevention and treatment of moderate and severe ovarian hyperstimulation syndrome: a guideline. Fertil Steril. 2016;106(7):1634-1647. <https://doi.org/10.1016/J.FERTNSTERT.2016.08.048>
 21. Humaidan P, Kol S, Papanikolaou EG. GnRH agonist for triggering of final oocyte maturation: time for a change of practice? Hum Reprod Update. 2011;17(4):510-24. <https://doi.org/10.1093/HUMUPD/DMR008>
 22. De Neubourg D, Dancet EAF, Pinborg A. Single-embryo transfer implies quality of care in reproductive medicine. Reprod Biomed Online. 2022;45(5):899-905. <https://doi.org/10.1016/J.RBMO.2022.04.001>
 23. Kamath MS, Mascarenhas M, Kirubakaran R, Bhattacharya S. Number of embryos for transfer following in vitro fertilisation or intra-cytoplasmic sperm injection. Cochrane Database Systematic Reviews. 2020;2020(8):CD003416. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD003416.PUB5>
 24. Dansk Fertilitetselskab. Kliniske guidelines arkiv. <https://fertilitetselskab.dk/kliniske-guidelines-arkiv/> (26. nov 2024)
 25. Hassold T, Chen N, Funkhouser J et al. A cytogenetic study of 1000 spontaneous abortions. Ann Hum Genet. 1980;44(2):151-164. <https://doi.org/10.1111/J.1469-1809.1980.TB00955.X>
 26. Harper JC, Wilton L, Traeger-Synodinos J et al. The ESHRE PGD Consortium: 10 years of data collection. Hum Reprod Update. 2012;18(3):234-47. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmr052>
 27. Munné S, Sandalinas M, Escudero T et al. Chromosome mosaicism in cleavage-stage human embryos: evidence of a maternal age effect. Reprod Biomed Online. 4(3):223-32. [https://doi.org/10.1016/S1472-6483\(10\)61810-X](https://doi.org/10.1016/S1472-6483(10)61810-X)
 28. Scott Jr RT, Upham KM, Forman EJ et al. Cleavage-stage biopsy significantly impairs human embryonic implantation potential while blastocyst biopsy does not: a randomized and paired clinical trial. Fertil Steril. 2013;100:624-630. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.04.039>
 29. Løssl K, Bentzen JG, Petersen MR et al. Præimplantationsgenetisk testning. Ugeskr Læger. 2021;183:V04210378. 6. nov 2024)
 30. Hreinsson J, Lundin K, Iwarsson E et al. Preimplantation genetic testing legislation and accessibility in the Nordic countries. Acta Obstet Gynecol Scand. 2020;99(6):716-721. <https://doi.org/10.1111/aogs.13831>