

Aus der Frauenklinik  
der Universitätskliniken des Saarlandes, Homburg/Saar  
Direktor: Prof. Dr. med. E.-F. Solomayer

---

# Einflussfaktoren auf die Schwangerschafts- und Geburtsrate vor / nach Kryokonservation bei ICSI /IVF

## DISSERTATION

zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Medizin

Medizinische Fakultät  
Universität des Saarlandes  
2011

vorgelegt von:  
Mareike Schmidt-Bachmann  
geboren am 03.02.1984  
in Saarbrücken-Dudweiler

# Inhaltsverzeichnis

|   |           |
|---|-----------|
| <b>Inhaltsverzeichnis</b>   | <b>2</b>  |
| <b>Abkürzungsverzeichnis</b>                                      | <b>6</b>  |
| <b>Abbildungsverzeichnis/Tabellenverzeichnis</b>                  | <b>8</b>  |
| <b>Zusammenfassung</b>  | <b>11</b> |
| <b>Summary</b>  | <b>13</b> |
| <br>  |           |
| <b>1. Einleitung</b>  | <b>15</b> |
| <b>1.1 Einführung</b>   | <b>15</b> |
| <b>1.2 Historischer Überblick der Reproduktionsmedizin</b>        | <b>16</b> |
| <b>1.3 Einflussfaktoren auf die Kryokonservierung</b>             | <b>18</b> |
| 1.3.1 Einfluss der Medien auf die Überlebensrate der Eizellen     | 18        |
| 1.3.2 Einfluss der Temperatur auf die Überlebensrate der Eizellen | 19        |
| 1.3.3 Einfluss des Seedings auf die Überlebensrate der Eizellen   | 21        |
| <b>1.4 Unterschiede der Friervorgänge</b>                         | <b>22</b> |
| 1.4.1 Das langsame Verfahren                                      | 22        |
| 1.4.2 Die Vitrifikation   | 22        |
| <b>1.5 Einfluss des Alters der Frau auf die Eizellen</b>          | <b>23</b> |
| <b>1.6 Einfluss von Sterilitätsursachen auf die Eizellen</b>      | <b>24</b> |
| 1.6.1 Ursache weiblicher Fertilitätsstörungen                     | 24        |
| 1.6.1.1 Tubare Sterilität   | 26        |
| 1.6.1.2 Endometriose bedingte Sterilität                          | 26        |
| 1.6.1.3 PCO-bedingte Sterilität                                   | 27        |
| 1.6.2 Ursache männlicher Fertilitätsstörungen                     | 29        |
| <b>1.7 Einfluss der Hormonbehandlungen auf die Eizellen</b>       | <b>31</b> |
| 1.7.1 Langes Protokoll  | 31        |
| 1.7.2 Kurzes Protokoll  | 33        |
| 1.7.3 Behandlung mit FSH  | 34        |
| 1.7.4 Behandlung mit hMG  | 35        |
| 1.7.5 Behandlung mit r-FSH und hMG                                | 35        |
| <b>1.8 Einfluss des Lebensstils auf die Eizellen</b>              | <b>36</b> |
| 1.8.1 Einfluss von Nikotin auf die Eizellen                       | 36        |
| 1.8.2 Einfluss des BMI auf die Eizellen                           | 37        |
| 1.8.2.1 Einfluss von Über- und Untergewicht auf die Eizellen      | 37        |
| <b>1.9 Einfluss der Lagerungsdauer auf die Eizellen</b>           | <b>39</b> |

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1.10. Einfluss der Spermienqualität auf die Eizellen</b>                           | <b>40</b> |
| <b>1.11 Indikationen für IVF und ICSI</b>   | <b>41</b> |
| 1.11.1 Indikationen für IVF   | 41        |
| 1.11.2 Indikationen für ICSI  | 41        |
| <b>1.12 Eigene Fragestellung</b>  | <b>42</b> |
| <br>  |           |
| <b>2. Material und Methoden</b>   | <b>43</b> |
| <b>2.1 Datenerfassung und Datenauswertung</b>   | <b>43</b> |
| <b>2.2 Patientenkollektiv</b>   | <b>43</b> |
| <b>2.3 Patientenalter</b>   | <b>44</b> |
| <b>2.4 BMI</b>  | <b>46</b> |
| <b>2.5 Nikotinkonsum</b>  | <b>46</b> |
| <b>2.6 ICSI und IVF Behandlungen</b>  | <b>46</b> |
| <b>2.7 Indikationen zur Kinderwunschbehandlung der Patienten/ Sterilitätsursachen</b> | <b>47</b> |
| <b>2.8 Kinderwunschsprechstunde und Voruntersuchung</b>                               | <b>48</b> |
| <b>2.9 Sterilitätsbehandlung</b>  | <b>50</b> |
| 2.9.1 Stimulationsschema  | 51        |
| 2.9.2 Follikelpunktion und Eizelleaufbereitung  | 52        |
| 2.9.3 Spermengewinnung und Spermienaufbereitung                                       | 53        |
| 2.9.3.1 Swim-up Verfahren   | 54        |
| 2.9.3.2 Mini Swim-up Verfahren  | 54        |
| 2.9.3.3 Isolate Verfahren   | 55        |
| 2.9.3.4 Percoll Verfahren   | 55        |
| 2.9.3.5 Pure Sperm Verfahren  | 55        |
| 2.9.3.6 Glaswolle Verfahren   | 56        |
| 2.9.3.7 Gewinnung von Hodengewebe   | 56        |
| 2.9.3.7.1 Aufbereitung nativen TESE-Materials   | 56        |
| 2.9.3.7.2 Aufbereitung von tiefgefrorenen und wiederaufgetauten TESE-Materials        | 57        |
| 2.9.3.8 Fertilisation mittels IVF oder ICSI   | 57        |
| 2.9.3.8.1 IVF   | 58        |
| 2.9.3.8.2 ICSI  | 58        |
| 2.9.4 Transfer der Eizelle und Schwangerschaftstest                                   | 60        |
| <b>2.10 Kryokonservierung der Eizelle</b>   | <b>61</b> |
| <b>2.11 Kryotransfer der Eizelle</b>  | <b>62</b> |
| 2.11.1 Vorbereitung der Patientin zum Eizelletransfer/ KAUFMANN-Schema                | 62        |
| 2.11.2 Auftauen der Eizellen  | 63        |
| 2.11.3 Transfer der kryokonservierten Eizelle und Schwangerschaftstest                | 63        |

|  |           |
|--|-----------|
| <b>3. Ergebnisse</b>   | <b>64</b> |
| <b>3.1 Patientenkollektiv</b>  | <b>64</b> |
| <b>3.2 Zusammenhang zwischen dem Alter der Patientin und den ART-Ergebnissen von PN-Zellen sowie der Schwangerschafts- und Geburtsrate</b>                   | <b>65</b> |
| 3.2.1 Vergleich der Eizelleparameter bezüglich der Altersgruppen   | 65        |
| 3.2.2 Paarweiser Vergleich der Altersgruppen   | 66        |
| 3.2.3 Einfluss des Alters der Patientin auf die Schwangerschafts- und Geburtsrate während eines Behandlungszyklus  | 66        |
| <b>3.3 Einfluss des BMI der Patientin auf die ART-Ergebnisse der PN-Zellen sowie auf die Schwangerschafts- und Geburtsrate</b>                               | <b>69</b> |
| 3.3.1-2 Einfluss des BMI auf ART-Ergebnisse, Schwangerschafts-/ Geburtsrate  | 69        |
| <b>3.4 Auswirkungen der kontrollierten ovariellen Hyperstimulation auf die ART-Ergebnisse der PN-Zellen, sowie auf die Schwangerschafts- und Geburtsrate</b> | <b>73</b> |
| 3.4.1 Auswirkung der kontrollierten ovariellen Hyperstimulation auf die ART-Ergebnisse der PN-Zellen   | 73        |
| 3.4.2 Schwangerschaftshäufigkeit bei den einzelnen Stimulationsformen  | 75        |
| <b>3.5 Nikotinkonsum und dessen Auswirkung auf die Eizelleparameter</b>  | <b>76</b> |
| 3.5.1 Einfluss des Nikotinkonsums auf die ART-Ergebnisse der PN-Zellen   | 76        |
| 3.5.2 Einfluss des Nikotinkonsums auf die Schwangerschafts- und Geburtsrate  | 77        |
| <b>3.6 Zusammenhang zwischen den Verfahren ICSI/IVF und den Werten; Eizelleparameter, Alter, BMI</b>   | <b>79</b> |
| 3.6.1 Zusammenhang zwischen den reproduktiven Verfahren ICSI/IVF und den ART-Ergebnissen der PN-Zellen   | 79        |
| 3.6.2 Schwangerschafts- und Geburtsrate bei ICSI/IVF   | 79        |
| <b>3.7 Einfluss der Sterilitätsursachen auf die ICSI/IVF Therapie</b>  | <b>80</b> |
| 3.7.1 Zusammenhang der Sterilitätsursachen und der Eizelleparameter, BMI, Alter  | 80        |
| 3.7.2 Einfluss der Sterilitätsursachen auf die Schwangerschafts- und Geburtsrate   | 82        |
| <b>3.8 Überprüfung des Zusammenhangs der Anzahl der transferierten Eizellen und der Schwangerschaftsrate in einem frischen und einem Kryotransferzyklus</b>  | <b>83</b> |
| 3.8.1 Zusammenhang zwischen der Zahl der transferierten Eizellen und der resultierenden Schwangerschafts- und Geburtsrate im Rahmen eines frischen Zyklus    | 83        |
| 3.8.2 Zusammenhang zwischen der Zahl der transferierten Eizellen und der resultierenden Schwangerschafts- und Geburtsrate im Rahmen eines Kryotransferzyklus | 86        |
| <b>3.9 Schwangerschafts- und Geburtsraten nach einem Kryotransferzyklus</b>  | <b>89</b> |
| <b>3.10 Ovarielle Hyperstimulation und ihre Einflussfaktoren bei ICSI/IVF</b>  | <b>90</b> |
| 3.10.1 Einfluss der ovariellen Hyperstimulation auf die Schwangerschafts- und Geburtsrate nach Kryotransfer  | 90        |

|  |            |
|--|------------|
| 3.10.2 Zusammenhang zwischen OHSS und der Zellstadienzahl nach Kryotransfer  | 91         |
| <b>3.11 Zellstadienzahl</b>  | <b>92</b>  |
| 3.11.1 Zusammenhang zwischen der Zellstadienzahl und der Schwangerschafts- sowie der Geburtsrate in einem frischen ICSI/IVF-Zyklus                     | 92         |
| 3.11.2 Zusammenhang zwischen der Zellstadienzahl und der Schwangerschafts- sowie der Geburtsrate in einem Kryotransferzyklus                           | 93         |
| <b>3.12 Auswirkung der Hormonsupplementation auf die Schwangerschafts- und Geburtsrate in einem Kryotransferzyklus</b>                                 | <b>94</b>  |
| <b>4. Diskussion</b>   | <b>95</b>  |
| 4.1 Einfluss des Alters der Patientin auf die ART-Ergebnisse von PN-Zellen sowie auf die Schwangerschafts- und Geburtsrate                             | 95         |
| 4.2 Einfluss des BMI der Patientin auf die ART-Ergebnisse der PN-Zellen sowie auf die Schwangerschafts- und Geburtsrate                                | 96         |
| 4.3 Auswirkungen der kontrollierten ovariellen Hyperstimulation auf die ART-Ergebnisse der PN-Zellen, sowie auf die Schwangerschafts- und Geburtsrate  | 97         |
| 4.4 Einfluss des Nikotinkonsums auf die ART-Ergebnisse der PN-Zellen, die Schwangerschafts- und Geburtsrate  | 99         |
| 4.5 Zusammenhang zwischen den Verfahren ICSI/IVF und den Werten; Eizelleparameter, Alter, BMI  | 100        |
| 4.6 Einfluss der Sterilitätsursachen auf die ART-Ergebnisse der PN-Zellen, Schwangerschafts- und Geburtsrate   | 102        |
| 4.7-8 Zusammenhang der Anzahl der transferierten Eizellen und der Schwangerschafts-/ Geburtsrate in einem Kryotransferzyklus und einem frischen Zyklus | 103        |
| 4.9 Ovarielle Hyperstimulation und ihre Einflussfaktoren bei ICSI/IVF  | 104        |
| 4.10-11 Zusammenhang Zellstadienzahl und Schwangerschafts-/ Geburtsrate in einem frischen Zyklus und einem Kryotransferzyklus                          | 105        |
| 4.12 Auswirkung der Hormonsupplementation auf die Schwangerschafts- und Geburtsrate in einem Kryotransferzyklus  | 107        |
| <b>5. Literaturverzeichnis</b>   | <b>108</b> |
| <b>6. Dank</b>   | <b>121</b> |
| <b>7. Lebenslauf</b>   | <b>122</b> |

## Abkürzungsverzeichnis

ART= assistierte Reproduktionstechnik

β-HCG = Humanes Chorion-Gonadotropin

BMI = Body Mass Index

DHEA= Dehydroepiandrosteron

DMSO= Dimethylsulfoxid

DNA= Deoxyribonucleic acid

E2= Östradiol

EMA= European Medicines Agency

FSH = Follikelstimulierendes Hormon

fT3= Triiodthyronin

fT4= Thyroxin

GnRH= Gonadotropin Releasing-Hormon

HIV= Humanes Immundefizienz-Virus

hMG = Humanes Menopausales Gonadotropin

HOS-Test= Hypoosmotischer Spermien-schwelltest

ICSI= Intrazytoplasmatische Spermieninjektion

IE= Internationale Einheit

IVF = In- Vitro-Fertilisation

LH= Luteinisierendes Hormon

MAR-Test= Mixed Antiglobulin Reaction Test

MESA= Microsurgical Epididymal Sperm Aspiration

MW= Mittelwert

N= Anzahl

OHSS = Ovarielles Hyperstimulationssyndrom

PBS= Phosphate Buffered Saline

PCO= Polyzystisches Ovarialsyndrom

PESA = Percutaneous Sperm Aspiration

PN= Pronucleus

r-hFSH= recombinantes Follikelstimulierendes Hormon

RIA= Radioimmunassay

SD= Standardabweichung

TESA= Testicular Sperm Aspiration

TRH= Thyreotropin Releasing Hormon

TSH =Thyreotropin

VZO= Verkehr zum optimalen Zeitpunkt

## **Abbildungsverzeichnis**

|   |           |
|---|-----------|
| <b>Abbildung 1:</b> Schematische Darstellung Kryokonservierung / Auftauen Embryos nach Mangala Telang 2007 _____                            | <b>19</b> |
| <b>Abbildung 2:</b> Sonographische Darstellung polyzystisches Ovar nach Stauber 2005 _____  | <b>28</b> |
| <b>Abbildung 3:</b> Langes Protokoll- ovarielle Stimulation nach Fischl 2000 _____  | <b>32</b> |
| <b>Abbildung 4:</b> Kurzes Protokoll- ovarielle Stimulation nach Fischl 2000 _____  | <b>33</b> |
| <b>Abbildung 5:</b> Histogramm: Altersverteilung der Patientinnen _____   | <b>44</b> |
| <b>Abbildung 6:</b> Histogramm: Altersverteilung der Patienten _____  | <b>45</b> |
| <b>Abbildung 7:</b> Kreisdiagramm: Sterilitätsursachen der Patienten _____  | <b>47</b> |
| <b>Abbildung 8:</b> Korrelationsdiagramm: Alter der Patientinnen und Schwangerschaftsrate _____   | <b>67</b> |
| <b>Abbildung 9:</b> Korrelationsdiagramm: Alter der Patientinnen und Geburtsrate _____  | <b>68</b> |
| <b>Abbildung 10:</b> Korrelationsdiagramm: BMI der Patientinnen und Schwangerschaftsrate _____  | <b>71</b> |
| <b>Abbildung 11:</b> Korrelationsdiagramm: BMI der Patientinnen und Geburtsrate _____   | <b>72</b> |
| <b>Abbildung 12:</b> Balkendiagramm: Schwangerschafts- und Geburtsrate im Bezug zum Nikotinkonsum _____                                     | <b>78</b> |
| <b>Abbildung 13:</b> Balkendiagramm: Anzahl der transferierten Eizellen im Bezug zur Schwangerschaftsrate in einem frischen Zyklus _____    | <b>84</b> |
| <b>Abbildung 14:</b> Balkendiagramm: Anzahl der transferierten Eizellen im Bezug zur Geburtsrate in einem frischen Zyklus _____             | <b>85</b> |
| <b>Abbildung 15:</b> Balkendiagramm: Anzahl der transferierten Eizellen im Bezug zur Schwangerschaftsrate in einem Kryotransferzyklus _____ | <b>87</b> |
| <b>Abbildung 16:</b> Balkendiagramm: Anzahl der transferierten Eizellen im Bezug zur Geburtsrate in einem Kryotransferzyklus _____          | <b>88</b> |



## Tabellenverzeichnis

|  |           |
|--|-----------|
| <b>Tabelle 1:</b> Voruntersuchungen im Rahmen der Kinderwunschtherapie _____   | <b>49</b> |
| <b>Tabelle 2:</b> Häufigkeitsverteilung der Stimulationsformen _____   | <b>51</b> |
| <b>Tabelle 3:</b> Normwerte Ejakulat nach der WHO 1992_____  | <b>53</b> |
| <b>Tabelle 4:</b> Andrologische Subfertilität _____  | <b>57</b> |
| <b>Tabelle 5:</b> Gesamtübersicht Patientenkollektiv _____   | <b>64</b> |
| <b>Tabelle 6:</b> Vergleich der Altersgruppen / ART-Ergebnisse der PN-Zellen _____   | <b>65</b> |
| <b>Tabelle 7:</b> Paarweiser Vergleich der Altersgruppen _____   | <b>66</b> |
| <b>Tabelle 8:</b> Kreuztabelle: Zusammenhang zwischen dem Alter der Patientinnen und der Schwangerschafts-, Geburtsrate _____  | <b>66</b> |
| <b>Tabelle 9:</b> Vergleich der BMI-Gruppen bezüglich der ART-Ergebnisse der PN-Zellen _____   | <b>69</b> |
| <b>Tabelle 10:</b> Kreuztabelle: Zusammenhang zwischen dem BMI der Patientinnen und der Schwangerschafts-, Geburtsrate _____   | <b>70</b> |
| <b>Tabelle 11:</b> Stimulationsformen der Patientinnen _____   | <b>73</b> |
| <b>Tabelle 12:</b> Vergleich der unterschiedlichen ovariellen Hyperstimulationsformen anhand der ART-Ergebnisse der PN-Zellen _____  | <b>73</b> |
| <b>Tabelle 13:</b> Paarweiser Vergleich der drei Stimulationsprotokolle hinsichtlich ihrer Signifikanz _____   | <b>74</b> |
| <b>Tabelle 14:</b> Kreuztabelle: Zusammenhang zwischen den kontrollierten ovariellen Stimulationsprotokollen und der Schwangerschafts-, Geburtsrate vor dem Kryotransfer von PN-Zellen _____ | <b>75</b> |
| <b>Tabelle 15:</b> Nikotinkonsum der Patientinnen _____  | <b>76</b> |
| <b>Tabelle 16:</b> Zusammenhang zwischen dem Nikotinkonsum und den ART-Ergebnisse der PN-Zellen _____  | <b>76</b> |
| <b>Tabelle 17:</b> Kreuztabelle: Zusammenhang zwischen dem Konsum von Nikotin und der Schwangerschafts-, Geburtsrate _____   | <b>77</b> |
| <b>Tabelle 18:</b> Vergleich zwischen ICSI/IVF und den ART-Ergebnissen der PN-Zellen, sowie Alter, BMI _____   | <b>79</b> |
| <b>Tabelle 19:</b> Kreuztabelle: Schwangerschafts-, Geburtsraten bei ICSI/IVF _____  | <b>79</b> |
| <b>Tabelle 20:</b> Vergleich der Sterilitätsursachen anhand der ART-Ergebnisse der PN-Zellen _____   | <b>80</b> |

|   |           |
|---|-----------|
| <b>Tabelle 21:</b> Gruppenvergleich der Sterilitätsursachen bezüglich ihrer Signifikanz bei befruchteten und kryokonservierten Eizelleparametern _____      | <b>81</b> |
| <b>Tabelle 22:</b> Kreuztabelle: Zusammenhng zwischen den Sterilitätsursachen der Patientinnen und der Schwangerschafts-, Geburtsrate _____                 | <b>82</b> |
| <b>Tabelle 23:</b> Zusammenhang zwischen der Zahl der transferierten Eizellen und der Schwangerschafts-, Geburtsrate in einem frischen Zyklus _____         | <b>83</b> |
| <b>Tabelle 24:</b> Zusammenhang zwischen der Zahl der transferierten Eizellen und der Schwangerschafts- sowie Geburtsrate in einem Kryotransferzyklus _____ | <b>86</b> |
| <b>Tabelle 25:</b> Kreuztabelle: Schwangerschafts- und Geburtsraten nach einem Kryotransferzyklus _____   | <b>89</b> |
| <b>Tabelle 26:</b> Kreuztabelle: Zusammenhang zwischen OHSS und der Schwangerschafts-, Geburtsrate _____  | <b>90</b> |
| <b>Tabelle 27:</b> Kreuztabelle: Zusammenhang zwischen OHSS und der Zellstadienzahl _____   | <b>91</b> |
| <b>Tabelle 28:</b> Kreuztabelle: Zusammenhang zwischen der Zellstadienzahl und der Schwangerschafts-, Geburtsrate in einem frischen Zyklus _____            | <b>92</b> |
| <b>Tabelle 29:</b> Kreuztabelle: Zusammenhang Schwangerschafts- und Geburtshäufigkeit im Bezug zur Zellstadienzahl im Kryotransferzyklus _____              | <b>93</b> |
| <b>Tabelle 30:</b> Kreuztabelle: Zusammenhang zwischen Stimulationsform und Schwangerschafts-, Geburtsrate in einem Kryotransferzyklus _____                | <b>94</b> |

## Zusammenfassung

Die Anzahl der Paare mit ungewollter Kinderlosigkeit nahm in den letzten Jahrzehnten vor allem in den Industrieländern zu. Es wird geschätzt dass, ungefähr 15% der Menschen im fortpflanzungsfähigen Alter an einem Problem der Kinderlosigkeit leiden. Die Gründe hierfür sind vielfältig.

Hierbei sind das Alter der Frau und die Lebensgewohnheiten allerdings die Hauptgründe.

Die assistierten, reproduktiven Techniken (ART) nahmen stetig zu, daher verbesserten sich auch die Ergebnisse der Kinderwunschtherapie. Folglich ist eine Verbesserung der ART ein kontinuierlicher Prozess um die besten Ergebnisse zu erzielen. Die hormonelle Therapie zur kontrollierten ovariellen Hyperstimulation, die Kulturmedien der Eizellen, die Verarbeitung der Eizellen im Labor, die Kryokonservierung der Eizellen und die für die Verarbeitung benötigte Ausstattung zeigen hierbei eine ständige Veränderung.

In der vorliegenden Studie wurde die Auswirkung von vielen Faktoren wie Hormontherapie, das Alter der Frau, der Nikotinkonsum und die Interaktion zwischen diesen Faktoren und den Ergebnissen der ART-Therapie (Befruchtungs-, Teilungs-, Schwangerschaftsrate) der Frauen, die sich einer ART –Therapie unterzogen, untersucht . Hierzu wurden die Überlebens-, Teilungs- und Schwangerschaftsraten der gefrorenen, aufgetauten PN-Zellen untersucht, um die Faktoren zu bestimmen, die einen Einfluss auf die Qualität und Stabilität der Eizellen während des Frier- und Tautvorganges nehmen könnten.

Für diese retrospektive Studie wurden die Daten von 298 Paaren im Zeitraum zwischen 02/08/1995 und 30/06/2008 ausgewertet, die sich an der Universitätsfrauenklinik Homburg-Saar einer Kinderwunschtherapie unterzogen.

Die Schwangerschafts- und Geburtsraten waren nach der herkömmlichen in vitro Fertilisation (IVF) und der intracytoplasmatischen Spermien Injektion (ICSI) gleich ( $p= 0.200$ ;  $p= 0.112$ ). Darüber hinaus zeigten das Alter der Frauen, der Body mass index (BMI) der Nikotinkonsum die kontrollierte ovarielle Hyperstimulation (COHSS) und die Art der Sterilität weder bei IVF noch bei ICSI einen signifikanten Einfluss auf die Schwangerschafts- und Geburtsrate vor und nach der Kryokonservierung.

Jedoch wurden in beiden untersuchten Gruppen, sowohl bei IVF als auch bei ICSI, bei den Frauen, die mit r-FSH stimuliert wurden, bessere Ergebnisse erzielt im Vergleich zu denen, die mit r-FSH und hMG behandelt wurden.

Darüber hinaus zeigte sich zwischen der Anzahl der transferierten Embryos und der Schwangerschaftsrate in einem frischen Zyklus ein signifikanter Zusammenhang ( $p= 0.014$ ).

Hierbei ist es nennenswert, dass das deutsche Embryonenschutzgesetz nur den Transfer von  $\leq 3$  Embryonen in einem Zyklus erlaubt.

Die Auswirkungen der kontrollierten ovariellen Hyperstimulation auf das Auftreten eines ovariellen Hyperstimulationssyndrom während der Vorbereitungen der Patienten für eine ART-Therapie wurden untersucht.

Dennoch zeigte das Stadium der Überstimulation keinen Einfluss auf die Zellteilungsrate der PN-Zellen nach dem Frier-Tauprozess ( $p = 0.338$ ).

Die Qualität der Embryonen, beurteilt durch die Zellstadienzahl nach dem Frieren/Auftauen der PN-Stadien-Embryos, zeigt eine signifikante Korrelation mit der Schwangerschaftsrate ( $p = 0,045$ ) und könnte als der wichtigste Faktor der Einschätzung einer Schwangerschaft in dem Frier- und Tautvorgang betrachtet werden.

Abgesehen davon zeigt die kurze Hormontherapie vor und nach dem Transfer der gefrorenen, aufgetauten PN-Embryos eine signifikante Korrelation mit der Schwangerschafts- ( $p=0.033$ ) und Geburtsrate ( $p= 0.0001$ ).

## **Summary**

The number of undesired childless increased in the last couple of decades, especially in the industrial countries. It is estimated that about 15% of the people in the reproductive age suffer of childless problem. The reason for that is multifactor.

However, the age of the women and the life style are the main reason. The assisted reproductive techniques (ART) steadily increased and consequently the results of the childless problem therapy improved. However, a refinement of the ART is a continuous process in order to obtain the best results. The hormone therapy for controlled ovarian hyperstimulation, the culture media of the gamete, the gamete handling in the laboratory, the cryopreservation of gametes and the necessary equipments showed revolutionary progress.

In the present study, the effect of many factors like hormone therapy, the age of the women, the nicotine consumption and the interaction between these factors on the ART outcome (fertilization, cleavage, pregnancy) of women who undergoing ART therapy were studied. Besides, the survival cleavage and pregnancy rates of frozen thawed pronucleous oocytes were investigated in order to determine the factors which may be influence the oocytes quality and stability during freeze thaw procedure.

For this retrospective study we analyzed the data of 298 couples between 02/08/1995 and 06/30/2008 which underwent therapy of childlessness at the university clinic of obstetrics and gynaecology at Homburg/Saar.

The pregnancy and birth rats were similar after standard in vitro fertilization (IVF) and intracytoplasmic sperm injection (ICSI) ( $p=0.200$ ;  $p=0.112$ ).

Moreover, the age of the women, body mass indexes (BMI), smoking, controlled ovarian hyper stimulation syndrome (COHSS) and the aetiology of sterility showed no significant influence on pregnancy and birth rate before and after cryopreservation of women who underwent either IVF or ICSI therapy.

However, women who received rec. Follicle stimulating Hormones (r-FSH) showed significantly better results in comparison to those who treated with rFSH + Human menopausal gonadotrophin (HMG) in both investigated group IVF and ICSI.

In addition, the mean number of transferred embryos per cycle showed a significant correlation with pregnancy rate only in fresh cycle ( $p=0.014$ ). It is noteworthy to mention here that the germ embryos protection law allowed the transfer of  $\leq 3$  embryos in one cycle.

The effect of controlled ovarian hyper stimulation during the preparation of the patients to ART therapy on the incidence of ovarian hyperstimulation syndrome was investigated.

However, the stage of OHSS showed no influence on the pronuclear cells cleavage rate after freeze-thawing procedure ( $p=0.338$ ).

The embryos quality assessed by embryos blastomers number after freeze thawing of pronucleous stage embryo showed a correlate significantly with pregnancy rate ( $p=0,045$ ) and could be consider the most important factor for pregnancy estimation in freeze-thaw program. Besides, the hormone supplement therapy short before and after transfer of frozen-thawed pronucleous stage embryos showed a significantly correlate with the pregnancy ( $p=0.033$ ) and birth rate ( $p=0.0001$ ).

# Einleitung

## 1.1 Einführung

Der in zunehmender Tendenz unerfüllte Kinderwunsch vieler Paare lässt das Interesse an der Reproduktionsmedizin, besonders in den Industrienationen stetig wachsen.

Von ungewollter Kinderlosigkeit spricht man, wenn nach ein bis zwei Jahren regelmäßigen, ungeschützten Geschlechtsverkehrs keine Schwangerschaft eingetreten ist. Dies betrifft ca. 15% der Paare (STAUBER 2001), in Deutschland sind rund 2 Millionen Paare betroffen, etwa jede 6. bis 7. Ehe ist ungewollt kinderlos. Die Tendenz der ungewollten Kinderlosigkeit verzeichnet in Europa einen leichten Anstieg (FISCHL 2000).

Verschiedene Faktoren können einen unerfüllten Kinderwunsch bedingen.

Die Gründe für die Sterilität eines Kinderwunschaars verteilen sich mit jeweils 30-40% gleichermaßen auf Mann und Frau. Bei 15-30% der betroffenen Paare liegt die ungewollte Kinderlosigkeit an beiden Partnern, wobei sich in den übrigen 5-10% keine verifizierbare Ursache finden lässt.

Unterschieden wird die primäre Infertilität, hierbei ist noch nie eine Schwangerschaft eingetreten, von der sekundären Infertilität. Bei der sekundären Infertilität ist eine erneute Schwangerschaft nach einer vorausgegangenen Geburt nicht eingetreten.

Zudem hat sich die Rolle der Frau in der Gesellschaft im Laufe des letzten Jahrhunderts grundlegend verändert. Statistiken zeigen, dass aufgrund einer neuen Lebensplandefinition Frauen meist später ihr erstes Kind bekommen. Während im Jahre 1981 lediglich 4% der Erstgebärenden älter als 35 Jahre waren, betrug die Zahl im Jahre 2000 immerhin schon 23% (SCHNEIDER 2003). Doch mit dem höheren Alter wächst auch das Risiko einer ungewollten Kinderlosigkeit. Der Einfluss von verändertem Sexualverhalten, mit dem Anstieg der Zahl der Geschlechtspartner und dem dadurch erhöhten Risiko gegenüber sexueller Infektionskrankheiten (z.B. Infektion mit Chlamydien) stellt einen ebenso deutlichen Risikofaktor für einen unerfüllten Kinderwunsch dar.

Auch Umweltbelastungen, Belastungen durch Schadstoffe müssen neben anderen Faktoren für eine zunehmende Infertilität in Betracht gezogen werden (STECK 2001).

Umso mehr rückt die Bedeutung der Reproduktionsmedizin in den Vordergrund, es wird geschätzt, dass sich im Jahr 1998 knapp 90.000 Frauen einer künstlichen Befruchtung (Homologe Insemination und IVF/ICSI Behandlung) unterzogen haben (HÄUSLER, VON ZAHN 2003). Die Anzahl der Behandlungen stieg in den folgenden Jahren, bis sie nach der 2004 in Kraft getretenen Gesundheitsreform, nach der Paare die Behandlung nun zur Hälfte selbst zahlen mussten, rapide abnahm. Im Jahr 2008 gab es noch 72 053 Behandlungen in Deutschland, im Jahr 2009 75 662 erfasste Zyklen (Deutsches IVF- Register 2010).

## 1.2 Historischer Überblick der Reproduktionsmedizin

Historisch gesehen begann die Reproduktionsmedizin im 18./19. Jahrhundert.

Vor allem im Interesse der Viehzucht wurden vielfach Versuche der Embryonenübertragung durchgeführt.

1890 erreichte Walter Heape den ersten Embryonentransfer von natürlich befruchteten Eizellen an einem Kaninchen.

1959 gelang es dem an der Worcester Foundation for Experimental Biology in Strewsbury tätigen Chinesen Minh Chenh Chang (1908-1991) eine Schwangerschaft nach extrakorporaler Befruchtung und Embryotransfer bei einem Kaninchen zu erzielen (ORLAND 1999).

Weitere experimentelle Entwicklungen, wie das Heranreifen mehrerer Eizellen in einem Zyklus (PINCUS 1940), oder Verbesserungen in Hormonbestimmungstechniken mittels radioimmunologischer Methoden (RIA) (BERSON und YALOW 1962) führten schließlich Stück für Stück zur Entwicklung der In-vitro-Fertilisation (IVF) beim Menschen. (BAVISTER 2002)

Als Durchbruch in der Reproduktionsmedizin ist die Geburt von Louise Brown am 25.07.1978 anzusehen, welche als erstes „Retortenbaby“ nach einem erfolgreichen IVF-Zyklus vom 12.11.1977 in Cambridge per Kaiserschnitt das Licht der Welt erblickte (STEPTEO und EDWARD 1978). Nur vier Jahre später wurde das erste deutsche Retortenbaby am 16.4.1982 in der Frauenklinik der Universität Erlangen-Nürnberg geboren.

Im Jahre 1992 kam durch das Verfahren der intrazytoplasmatischen Spermieninjektion, ICSI eine weitere Behandlungsmöglichkeit hinzu (PALERMO et al. 1992). Vervollständigt durch die Anwendungen der Verfahren MESA (microsurgical epididymal sperm aspiration), TESA (testicular sperm aspiration) und PESA (percutaneous sperm aspiration) gelang es nunmehr Devroey und Silber et. al (1995) auch Paaren mit einer unzureichenden Spermaqualität zu ihrem Kinderwunsch zu verhelfen.

Laut einer Statistik des Berlin-Institutes für Bevölkerung und Entwicklung kamen alleine dank der Reproduktionsmedizin zwischen 1997 und 2005 insgesamt rund 95000 Kinder zur Welt. Dies entspricht einer Zahl von durchschnittlich 10000 Babys pro Jahr.

Dieser Erfolg ist auch auf die Möglichkeit der Kryokonservierung von Spermien, sowie des Transfers von zuvor kryokonservierten Eizellen zurückzuführen.

Die Geschichte der Kryokonservierung geht auf die Forschungen von Polge, Smith und Parkes im Jahre 1949 zurück. Polge et al. gelang es erstmals Spermatozoen des Huhns nach Exposition sehr niedriger Temperaturen in einem vitalen Zustand zu erhalten (POLGE et al.1949).



In der folgenden Zeit gelang es, die kryokonservierenden Möglichkeiten von Glycerol nachzuweisen. Versuche zur Kryokonservierung unfertilisierter Oozyten wurden bereits im Jahre 1952 durchgeführt (SMITH 1952).

1986 berichtete C. Chen erstmals über eine Schwangerschaft, die nach dem Auftauen von Eizellen und der Fertilisation mittels IVF etabliert werden konnte (CHEN 1986).

Anfang der 1970er Jahre wurden so genannte Kryoprotektiva entwickelt, welche die Zellen beim Friervorgang schützen sollen. Die ersten Kryoprotektiva machten ein Einfrieren von Mäuse- und Schafembryonen möglich (WITTINGHAM et al. 1972; WILMUT 1972; WILLADSEN 1977).

Im Jahre 1983 gelang es erstmals eine Schwangerschaft bei einem Menschen nach Transfer eines achtzelligen kryokonservierten Embryos zu erreichen (TROUNSON und MOHR 1983).

Zwei Jahre später publizierte Cohen et al. die erste Schwangerschaft nach Transfer eines kryokonservierten Embryos im Blastozystenstadium (COHEN et al. 1985).

Im Laufe der Jahre gelang es durch die Kryokonservierung von Spermien und Eizellen eine neue Art der Behandlungsverfahren für Kinderwunschaare zu etablieren.

Erstmals war es möglich, Männern und Frauen Hoffnung auf eine eigene Familie zu geben, welche in ihrer Anamnese eine Chemotherapie, eine Bestrahlungstherapie oder eine radikale Operation vorzeigten.

Das Risiko von Drillings- und Vierlingsschwangerschaften wurde durch die gezielte Anzahl an transferierten Eizellen dezimiert.

Das Verfahren der Kryokonservierung im Vorkernstadium im alltäglichen Gebrauch führte zur Erleichterung in der Behandlung infertiler Frauen. Eine erneute Stimulation und Punktion nach einem misslungenen, ersten Transferversuch oder einem Abort konnte bei zuvor kryokonservierten Eizellen vermieden werden. Überzählige Vorkernstadien fanden somit im weiteren Verlauf einen Nutzen, ohne dass sie vernichtet werden mussten.

Frauen mit einem ovariellen Hyperstimulationssyndrom (OHSS) konnten nunmehr nach vorheriger Embryonenkryokonservierung durch einen späteren Embryotransfer behandelt werden.

Diese neuen Behandlungserfolge etablierten die immense Bedeutung der Kryokonservation in der Reproduktionsmedizin.

Im Folgenden sollen verschiedene Einflussfaktoren auf die erfolgreiche Kryokonservierung von Eizellen diskutiert werden.

## **1.3 Einflussfaktoren auf die Kryokonservierung**

### **1.3.1 Einfluss der Medien auf die Überlebensrate von Eizellen**

Das Einfrieren von Spermien und Oozyten stellt aus kryobiologischer Sicht eine große Herausforderung dar. Ein wichtiger biophysikalischer Zellschädigungsmechanismus während der Kryokonservierung besteht in der intrazellulären Kristallisation. Um eine solche Eisbildung zu verhindern muss der Zelle das intrazelluläre Wasser entzogen, die Zelle dehydriert werden. Mit Hilfe von speziell entwickelten Medien, so genannten Kryoprotektiva, in welchen die Zellen beim Einfriervorgang eingelagert werden, soll ein Überleben gesichert werden.

Die Zusammensetzung dieser Kryomedien besteht meist aus einer gepufferten Salzlösung (z.B. PBS) und enthält neben Antibiotika und Serum aufsteigende Konzentrationen von Propandiol oder DMSO (MONTAG et al. 2007).

Man kann die Kryoprotektiva in zwei Gruppen einteilen. Zum einen gibt es zellpenetrierende Substanzen, wie 1,2 Propandiol, DMSO, Glyzin. Diese sind in multimolarer Konzentration geeignet lebende Zellen von Tiefgefrierschäden zu schützen. Zum anderen wären noch die nicht penetrierenden Stoffe, wie Polyvinylpyrrolidon, Sucrose, Trehalose zu nennen, die bei schnellen Einfrier- und Auftauraten bereits in niedrigen Konzentrationen kryoprotektiv wirken (MERYMAN 1971).

Der gesamte Frierprozess hängt von dem Ausmaß der Membranpermeabilität, der Art der Kryoprotektiva und dem Volumen der einzufrierenden Zelle ab.

Die komplette Frierperiode beginnt bei Raumtemperatur und endet bei  $-196^{\circ}\text{C}$  (MANGOLI und MANGOLI 2007).

Neben dem Schutz vor der Eiskristallbildung bieten Kryoprotektiva während des Auftauens einen Schutz für den Embryo, der Wassereinstrom in die Zelle während der Auftauphase wird verringert. Somit bleibt der Embryo vor einer zu starken und zu schnellen Rehydrierung geschützt (ZECH et al. 2002). Die Kryoprotektiva werden in der Auftauphase schnell und sorgfältig in 3-4 Schritten entfernt, hierbei wird die Konzentration der zugeführten Substanzen in jedem Schritt reduziert (MANGOLI und MANGOLI 2007).

In Anbetracht dieser Vorgänge sind Kryoprotektiva für die erfolgreiche Kryokonservierung von enormer Bedeutung.

Aufgrund ihrer biologischen, sowie physikalisch-chemischen Eigenschaften und Wirkungen stellt ihre Toxizität jedoch einen begrenzenden Faktor in ihrer Anwendung in der Kryobiologie dar. Neben ihrer Toxizität können vor allem auch im Auftauprozess durch die Kryoprotektiva Schäden entstehen, welche sich von den normalen „Kryoschäden“, die beim Friervorgang entstehen, abgrenzen.

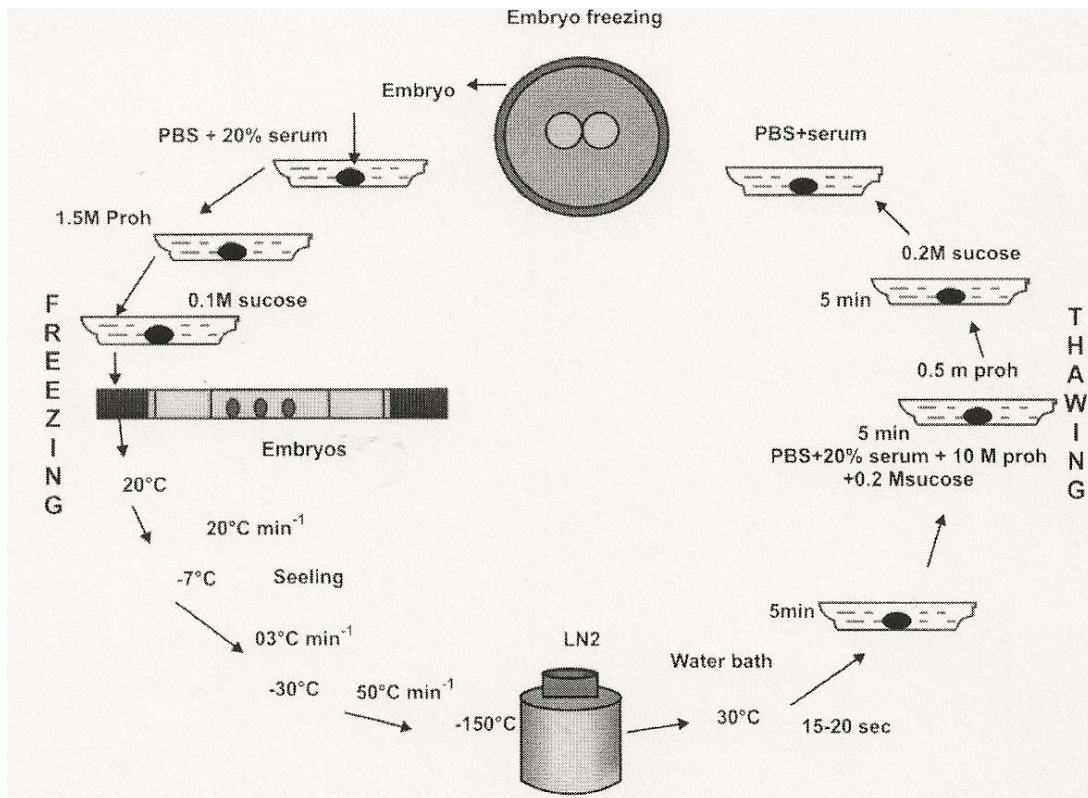


Abb. 1: Schematische Darstellung Kryokonservierung / Auftauen von Embryos  
(nach Mangala Telang 2007)

### 1.3.2 Einfluss der Temperatur auf die Überlebensrate von Eizellen

Die Temperatur hat einen großen Einflussfaktor auf die Überlebensrate von Oozyten. Eine wichtige Folge von Temperaturveränderungen konnte an Hand der meiotischen Spindel der Eizelle dargestellt werden.

Die meiotische Spindel ist für die Anordnung der Chromosomen in der Metaphaseplatte verantwortlich. Die korrekte Verteilung der Chromosomen während der meiotischen Teilung wird durch die Spindel bedingt. Durch ihren Aufbau aus Mikrotubuli ist sie besonders anfällig für Temperaturschwankungen. Schon eine geringfügige Temperaturänderung um wenige Grad (37° auf 40°) kann eine Reduktion der Mikrotubulizahl sowie eine Dislokation der Spindel bedingen. Infolgedessen depolymerisiert die Spindel, wenn die Temperatur von den optimalen 37°C deutlich abweicht.

Dieser Zustand ist bei kurzzeitiger Temperaturänderung durchaus noch reversibel.

Dauert die Temperaturschwankung allerdings länger als 10 Minuten bei Raumtemperatur an, ist eine vollständige Erholung nicht mehr möglich (EBNER et al. 2005).

Somit ist die Integrität der Spindel ein guter Maßstab für den Temperaturstatus einer Eizelle, sie stellt zudem auch einen Indikator für die Qualität einer kryokonservierten Eizelle dar. Ein Fehlen der Spindel bedingt demnach eine deutlich reduzierte Befruchtungsrate und korreliert mit einem schlechteren Entwicklungspotential des Embryos. Aus diesem Grund ist es besonders wichtig auf ein genaues Abkühlungsverhältnis während der Kryokonservierung zu achten. Läuft die Abkühlung langsam genug ab, verlässt das Wasser die Zelle schnell genug, um eine ausreichende Konzentration der intrazellulären Lösungen zu erreichen und damit ein sogenanntes „supercooling“ zu verhindern. Infolgedessen dehydrieren die Zellen, und die intrazelluläre Kristallisation wird verhindert. Erfolgt hingegen die Abkühlung zu langsam, schrumpfen die Zellen sehr stark und sind damit den erhöhten intrazellulären Konzentrationen an Kryomedien vor dem Erreichen der eutektischen Temperatur erheblich länger ausgesetzt. Dies kann wiederum zu einer Zellschädigung führen. Das sogenannte „slow-cooling“, auch als „equilibrium-freezing“ bezeichnet, hat als Konzept die Äquilibration der Zellen in einer relativ niedrigen Kryoprotektiva-Konzentration von ungefähr 1,5 M. Zusammen mit der Dehydrierung während des Einfrierens (0,3 bis 2°C/min), gelingt es durch die niedrigere Konzentration an Kryomedien eine geringere Zelltoxizität zu erreichen. Eine Alternative zum konventionellen Einfrieren stellt die Vitrifikation dar. Die Vitrifikation beruht auf dem direkten Kontakt zwischen Kryoprotektiva und flüssigem Stickstoff (-196°C). Eine Äquilibration ist hierbei nicht erforderlich. Durch das direkte Eintauchen der Proben in den flüssigen Stickstoff und die Verwendung kleiner Volumina an Kryoprotektiva werden hohe Einfriergeschwindigkeiten von 15000 bis 30000 °C/min erreicht. Eine Kristallisation wird verhindert und anstelle dessen ein glasförmiger, vitriöser Zustand verursacht (NAWROTH et al. 2004).

### 1.3.3 Einfluss des Seeding auf die Überlebensrate von Eizellen

Das Hauptrisiko während des Vorganges der Kryokonservierung besteht in der Schädigung der Zellen durch die extremen Temperaturwechsel zwischen der Einfrier- und der Auftauperiode. Es besteht daher während der Übergangsphase zwischen dem flüssigen und festen Zustand ein Risiko der Eiskristallbildung, diese wirkt sich negativ auf die Zellqualität aus.

Um diese Zellschädigung zu verhindern bedient man sich neben den erwähnten Kryoprotektiva auch dem Seedingverfahren.

Seeding bedeutet die gezielte Induktion einer Eiskristallbildung in der Nähe des normalen Gefrierpunktes einer wässrigen Lösung, um ein Super-Cooling zu verhindern.

Die Eisbildung wird durch das Seeding kontrolliert, es wird die Bildung von großen Eiskristallen induziert, welche sich nur sehr langsam in der Lösung ausbreiten. Durch die fortschreitende Eiskristallbildung ergibt sich eine Trennung des Wassers von den gelösten Stoffen. Dies hat zur Folge, dass die Konzentration der gelösten Stoffe intrazellulär ansteigt. Der Gefrierpunkt liegt dadurch intrazellulär niedriger als extrazellulär. Auf diese Art und Weise wird das Risiko, dass Eiskristalle auch in intrazelluläre Kompartimente wandern reduziert (LIEBERMANN und TUCKER 2004). Eine spontane Eiskristallbildung wird verhindert.

Das Seeding kann zwischen  $-5^{\circ}\text{C}$  und  $-7^{\circ}\text{C}$  induziert werden, es ermöglicht somit eine Reduktion der schädlichen Effekte während den Temperaturschwankungen des Vorganges der Kryokonservierung.

## **1.4 Unterschiede der Friervorgänge**

Bei der Kryokonservierung werden grundsätzlich zwei Friervorgänge, das langsame Verfahren und das schnelle Einfrierverfahren unterschieden.

Ziel der unterschiedlichen Verfahren ist es, die zu frierenden Bestandteile, Spermien, Eizellen, Gewebe möglichst schonend zu behandeln, um die schädigenden Effekte, die beim Abkühlen entstehen zu minimieren. In Folge der Regulierung der Abkühlungsrate und Auswahl des Kryoprotektivums während des Friervorganges kann der komplette Vorgang standardisiert und optimiert werden.

So wird die Rate an metabolischen Störungen, irreversiblen Schädigungen der Lipoproteinkomplexe sowie die erhöhte Löslichkeit für Gase, ein erhöhter osmotischer Druck verhindert, das zu frierende Medium weniger in seiner eigentlichen Struktur verändert ( ZECH et al. 2002).

### **1.4.1 Das langsame Verfahren**

Das langsame Verfahren „Slowly cooling“ erfolgt mit Hilfe computergesteuerter Apparate. Eine Abkühlrate von beispielsweise  $-0,3^{\circ}\text{C}$  pro Minute kann hier fest eingestellt und gewährleistet werden. Beim langsamen Verfahren wird nur eine geringe Gabe von Kryoprotektiva (ca. 10%) den zu frierenden Medien zugesetzt, damit wird eine Minimierung des chemischen Schadens beim Frierprozess erreicht. Bedingt durch die Eiskristallbildung (siehe Seedingverfahren) limitieren die mechanischen Schäden hierbei den positiven Erfolg auf das Gewebe (ZECH et al. 2002).

### **1.4.2 Die Vitrifikation**

Das zu frierende Medium wird bei diesem Friervorgang direkt in flüssigen Stickstoff eingetaucht. Das Verfahren auch „PLUNGING“ genannt erreicht hierbei eine Abkühlrate von  $-2000$  bis  $-20000^{\circ}\text{C}$  pro Minute. Die Zellen gehen hierbei direkt in einen amorphen Zustand über. Limitierend in diesem Verfahren ist eine höhere Gabe von Kryoprotektiva (40-60%) im Vergleich zum langsamen Verfahren, es resultieren demnach eher chemische Schäden (ZECH et al. 2002).

Im Gegensatz zu langsamen Friervorgängen wird bei diesem Verfahren die komplette Lösung nicht verändert, das Wasser fällt nicht aus, es werden keine Eiskristalle gebildet. Ethylene Glycol ist die am meisten angewandte Substanz der Kryoprotektiva bei der Vitrifikation (MANGOLI und MANGOLI 2007).

## 1.5 Einfluss des Alters der Frau auf die Eizellen

Die Eizellen der Frau werden im Gegensatz zu den Spermien nicht immer neu gebildet. In der Embryonalphase entstehen aus den so genannten Urkeimzellen im Ovar bis zu maximal 6 Millionen Oogonien. Davon differenzieren sich zwischen dem 3.-7. Fetalmonat bis zu 2 Millionen Oogonien zu primären Oozyten, die ihre 1. Reifeteilung begonnen haben und im Diktyotänstadium bis kurz vor der Ovulation arretiert bleiben. Bis zu Beginn der Pubertät, vermindert sich die Zahl der primären Oozyten auf etwa 40000, wovon wiederum nur ca. 400 zur Ovulation gelangen (TESCHNER und VON ZUMBUSCH-WEYERSTAHL 2001). Das ovarielle Alter steht damit in einem direkten Zusammenhang mit der Abnahme der Befruchtungsrate, einem geringeren Ansprechen auf eine hormonelle Stimulation und einer Abnahme der Oozytenqualität, welche eine geringere Erfolgsrate nach den Verfahren ICSI und IVF mit sich zieht (MICHELMANN und HINNEY 2000).

Beim Mann hingegen beträgt die Entwicklung eines Samenfadens bis zur endgültigen Ausreifung und dem Verlassen des Hodens drei Monate. Bei einem gesunden Mann werden pro Tag ca. 100 Millionen Spermien produziert.

Demzufolge führt die Alterung der Eizellen zu einer erhebliche Anzahl chromosomaler Veränderungen, die zu einer ausbleibenden Befruchtung oder Einnistung führen können. Es kommt mit dem steigenden Alter der Frau bei der Reifeteilung immer häufiger zu Fehlverteilungen der chromosomalen Struktur, die mit dem Leben nicht vereinbar sind (LUDWIG und RABE 2004). Die klinische Schwangerschaftsrate nach Transfer und die Implantationsrate des Embryos gehen deutlich mit dem Alter der Patientinnen zurück. Sind es bei Patientinnen unter dreißig Jahren noch 29,4 % und 18,9%, bei Frauen zwischen dreißig und fünfunddreißig Jahren 19,8% und 14,3%, so haben Patientinnen zwischen sechsunddreißig und neununddreißig Jahren nur noch eine Schwangerschaftsrate von 17,1% und eine Implantationsrate von 9,0%. Während bei Frauen über vierzig Jahren die Schwangerschaftsrate sogar auf 12,8% und die Implantationsrate auf 7,4% abgesunken ist. Im Gegensatz dazu stieg die Rate an Spontanaborten im Alter an (SZAMATOWICZ und GROCHOWSKI 1998).

## 1.6 Einfluss von Sterilitätsursachen auf die Eizellen

Der Begriff Sterilität verkörpert einen Zustand der Unfruchtbarkeit, lehrbuchmäßig wird dieser Begriff verwendet, wenn der Zeitraum des Bemühens schwanger zu werden 2 Jahre übersteigt (FISCHL 2000).

Der Sterilität liegen eine Reihe von Ursachen, sowohl männlicher als auch weiblicher Seite zu Grunde. Schätzungen zufolge verteilen sich diese zu 50% auf die Frau, zu 30% auf den Mann und zu 20% auf beide Partner (TAUBERT 1998).

Neben den konventionellen Ursachen der Sterilität, die im Folgenden aufgelistet sind, spielen wohl auch der Einfluss von parakrinen Substanzen, der Stellenwert von immunologischen Vorgängen, die Genetik von Zytokinen im Embryo eine Rolle bei der Sterilitätsdiagnostik. Diese müssen aber in weiteren wissenschaftlichen Verfahren noch genauer betrachtet werden (FISCHL 2000).

### 1.6.1 Ursachen weiblicher Fertilitätsstörungen

In Anlehnung an STAUBER (2001) sind folgende Ursachen für weibliche Fertilitätsstörungen zu nennen:

#### 1.) Ovarielle Sterilitätsursachen:

-Hypothalamisch-hypophysäre Ovarialinsuffizienz z.B. durch Stress, Hochleistungssport, Anorexia nervosa, Hypophysentumore

-Normogonadotrope, normoprolaktinämische Ovarialinsuffizienz (anovulatorische Zyklen, Corpus-luteum-Insuffizienz, Amenorrhoe)

-Hyperandrogenämische Ovarialinsuffizienz (gesteigerte Androgenproduktion mit den möglichen Folgen der Sterilität, Virilisierungserscheinungen, polyzystischen Ovarien)

-Hypergonadotrope Ovarialinsuffizienz (erhöhter FSH-Spiegel z.B. bei Gonadendysgenesien, Ullrich-Turner-Syndrom)

-Erhöhte Prolaktinspiegel durch ein Prolaktinom oder Einnahme von Dopaminantagonisten

#### 2.) Tubare Sterilität:

-Adnexitiden nach Infektion durch Chlamydien, Gonorrhoe, Lues oder Urogenitaltuberkulose

-Endometriose



3.) Uterine Sterilität:

- Fehlbildungen wie z.B. der Uterus bicornis, Uterussepten oder die Hypoplasie des Uterus führen häufig zu Fehlgeburten
- Synechien im Cavum uteri durch Infektionen oder wiederholte Kürettage
- Myome

4.) Zervikale Sterilitätsursachen:

- Anatomische Ursachen wie alte Zervixrisse, lokale Veränderungen durch chronische Entzündungen
- Störungen des Zervixschleim
- Östrogenmangel (veränderter Aufbau und Sekretion der Zervixschleimhaut, beeinträchtigte Kapazitationsfähigkeit der Spermien)

5.) Vaginale Sterilitätsursachen:

- Fehlbildungen, rezidivierende Kolpitis oder funktionelle Anomalien (Vaginismus)

6.) Extragenitale Sterilitätsursachen:

- Tumore der Hypophyse
- Schilddrüsenerkrankungen
- Diabetes mellitus
- Störungen der Nebennierenrinde
- Medikamente

7.) Psychische Sterilitätsursachen

Auf die Sterilitätsursachen durch Endometriose, polyzystische Ovarien, tubare Sterilität wird nun im Folgenden näher eingegangen.

### **1.6.1.1 Tubare Sterilität**

Nach STAUBER (2001) bedingt eine tubare Sterilität einen Verschluss oder eine Beweglichkeitsstörung der Tuben. Es handelt sich bei der tubaren Sterilität mit einer relativen Häufigkeit von 30%, um die zweithäufigste Sterilitätsform bei der Frau. Der Sterilität geht meist eine Adnexitis voraus. Durch die Entzündung kommt es zu Veränderungen der Tubenschleimhaut und zu Verwachsungen innerhalb des Lumens, die den Eitransport verhindern. Nicht selten kommt es auch zu einem kompletten Verschluss der Tube. Auch eine Endometriose kann einen Tubenverschluss oder eine Adhäsion verursachen.

### **1.6.1.2 Endometriose bedingte Sterilität**

Unter Endometriose versteht man das Auftreten von Gebärmutter Schleimhaut außerhalb der Gebärmutter. Zwischen der Ausdehnung der Herde und dem Ausmaß der Beschwerden gibt es nicht immer ein direktes Verhältnis.

Die Endometriose wird nach der internationalen Klassifizierung der American Fertility Society in vier Krankheitsstadien eingeteilt.

Studien zufolge besteht ein gehäuftes, gemeinsames Auftreten von Endometriose und Sterilität (STRATHY et al. 1982).

Höhergradige Endometriosestadien führen zu einem vermehrten Auftreten von Adhäsionen und zu einer mechanischen Beeinträchtigung der Fertilität.

Bei geringgradigen Endometriosestadien kann es durch endokrine Störungen, negative Faktoren im Douglas-Sekret, immunologische Störungen, Störungen der Eireifung und Fertilisation, sowie einer erhöhten Rate von Frühaborten zu einer Beeinträchtigung der Fertilität kommen (SCHWEPPE und KÜPKER 1998).

Die Therapie der Wahl ist auch hier die IVF.

Im Gegensatz zu anderen IVF- Patientinnen führt die Verwendung von GnRH bei Patientinnen mit Endometriose zu einer erhöhten Schwangerschafts- und Geburtsrate (MOHAMED et al. 2011).

### 1.6.1.3 PCO bedingte Sterilität

NORMAN et al. (2007) sind der Annahme, dass weltweit eine von fünfzehn Frauen von einem Syndrom polyzystischer Ovarien, PCO, betroffen ist. PCO ist Studien zufolge eine weit verbreitete endokrinologische Erkrankung. ADAMS et al. (1986) publizierten, dass Frauen, die eine Oligomenorrhoe aufweisen, zu 87% an einer PCO erkrankt sind. Ebenso 92% der Frauen mit einem normalen Menstruationszyklus und zusätzlichen Hirsurtismuserscheinungen. Über 50% der Patientinnen mit einer erhöhten Abortneigung sind an einer PCO erkrankt (SAGLE et al. 1988 ; REGAN et al. 1990).

Zusätzlich erkannten POLSON et al. (1988), CLAYTON et al. (1992), FARQUHAR et al. (1994), dass 21-23% der normalen, weiblichen Bevölkerung ein PCO aufweisen, welches im Ultraschall diagnostiziert werden konnte.

Im Hinblick auf die Paare mit Kinderwunsch, wird PCO als die häufigste Ursache einer Unfruchtbarkeit aufgrund von Zyklusstörungen gehandelt. Bei Frauen mit Anovulation ist in 30-40% der Fälle ein PCO als Ursache zu finden (FISCHL 2000)

Zu den Kriterien eines PCO-Syndromes gehören nach der Definition der Konferenz der „European Society of Human Reproduction and Embryology“ (ESHRE) und der „American Society for Reproductive Medicine“ (ASRM), Rotterdam 2003, Polyzystische Ovarien (Zysten in den Eierstöcken), Oligoovulation und, oder Anovulation (chronische Zyklusstörungen in Form von Oligoorhoe, Amenorrhoe), sowie Virilisierung als klinisches Bild des Hyperandrogenismus.

Es liegt anhand der Klassifikation ein PCO-Syndrom vor, wenn zwei dieser drei Kriterien erfüllt sind.

Im Hinblick auf die IVF führt diese bei Patienten mit einem PCO-Syndrom zu einem überdurchschnittlich hohen Risiko eines ovariellen Überstimulationssyndroms (WOLFF et al. 2008). Auf eine konsequente Überwachung der Patientinnen in einem Stimulationszyklus darf daher nicht verzichtet werden. Frauen mit einem überdurchschnittlich hohen Risiko sollte daher kein humanes Chroiongonadotropin verabreicht werden (FISCHL 2000).

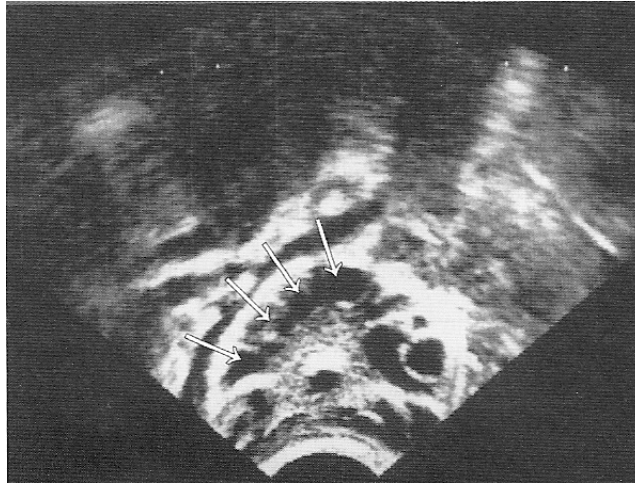


Abb. 2: Sonographische Darstellung polyzystisches Ovar  
(nach Stauber 2005)

Nach TESCHNER und HINRICHSSEN (2005) ist die Ursache für das Auftreten eines PCO-Syndroms noch weitestgehend ungeklärt. Auf pathophysiologischer Ebene liegt aller Wahrscheinlichkeit nach eine mangelnde Aktivität von Aromatasen in der Granulosaschicht zugrunde, die im gesunden Ovar durch FSH stimuliert werden. Beim PCO-Syndrom hingegen blockiert die hyaline Verdichtung der Lamina basalis die Wirkung des FSH. Die Granulosazellen befinden sich durch die mangelnde Stimulation in einem Regressionszustand. Infolge des gleichzeitigen gonadotropen Dauerstimulus mit LH entgleist die Steroidbiosynthese im Ovar, es werden mehr Androgene gebildet. Der Androgenüberschuss bedingt wiederum die erneute Verdickung der Lamina basalis. Ein Kreislauf findet statt, woraus sich vermehrt Zyklusstörungen mit einer erhöhten Rate an Unfruchtbarkeit ergeben.

Zur Behandlung der Unfruchtbarkeit gilt die IVF derzeit als Therapie der Wahl.

Als ein neuer Behandlungsansatz gilt derzeit die in vitro-Maturation (IVM), ein Vorteil gegenüber der IVF ist die fehlende Hormonstimulation, daher wird das Risiko eines OHSS limitiert (FISCHL 2000)

## 1.6.2 Ursachen männlicher Fertilitätsstörungen

Die Ursache eines unerfüllten Kinderwunsches bei Paaren wird in 40% der Fälle durch eine männliche Infertilität hervorgerufen.

Das primäre Ziel des Andrologen ist hierbei die Abklärung und Therapie der männlichen Fertilitätsstörungen, wobei eine natürliche Befruchtung angestrebt werden sollte (PLAS, RIEDL 2000).

In Anlehnung an HOFMANN (2003) sind folgende Ursachen für männliche Fertilitätsstörungen zu nennen:

1.) Primäre angeborene Hodenschäden:

- chromosomale Anomalien (z.B. Klinefelter-Syndrom)
- Spermatozoendefekt wie z.B. Globozoospermie (Fehlen des Akrosoms), Immotile-Cilia-Syndrom (Bewegungsunfähigkeit der Spermien)
- Maldescensus testis
- Störungen der Testosteron-Biosynthese
- 5 $\alpha$ -Reduktasemangel oder Androgenrezeptordefekte

2.) Primär erworbene Hodenschäden:

- Tubulusinsuffizienz (Schädigung des Keimepithels) durch z.B. Medikamente, Virusinfektionen, Traumen, Wärmeschäden und Durchblutungsstörungen
- Leydigzellinsuffizienz

3.) Sekundäre Hodenschäden:

- Störungen der übergeordneten hormonellen Regulationszentren im Hypothalamus oder Hypophysenvorderlappen

4.) Extratestikuläre genitale Störungen:

- Verschlüsse oder Stenosen der ableitenden Samenwege
- Störungen des Spermatozoentransportes z.B. durch Medikamente oder bei retrograder Ejakulation
- Störungen der akzessorischen Geschlechtsdrüsen
- Varikozele

5.) Immunologische Ursachen:

-Bildung von Spermatozoen Antikörper kann zur Agglutination der Spermatozoen im Seminalplasma führen und auch die Penetration der Spermien durch den Zervixmuskel erschweren

6.) Psychische Ursachen:

-Beispielsweise eine gestörte Partnerbeziehung

7.) Idiopathische Sterilität:

- bei ca. einem Drittel der infertilen Männer bleibt die Ursache ungeklärt

## **1.7 Einfluss der Hormonbehandlung auf die Eizellen**

Unterschiedliche Behandlungsschemata zur kontrollierten ovariellen Hyperstimulation werden zur Zeit im klinischen Alltag angewandt. In Abhängigkeit der GnRH-Gabe werden die Stimulationsschemata in sehr kurze („ultra short“), kurze („short“), lange („long“) und ultra lange („ultra long“) Protokolle eingeteilt. Im Folgenden werden die häufigsten Hormonbehandlungsprotokolle erläutert.

### **1.7.1 Langes Protokoll**

GnRH-Agonisten wurden in den späten 1980er Jahren in der IVF in der Ovulationstherapie eingeführt und haben sich seitdem in den meisten Zentren weltweit als Standard-Behandlung etabliert (BARLOW 1998).

Sehr häufig wird das Lange Protokoll („long protocol“) angewendet. Von den unterschiedlichen Arten der Eizellenstimulation durch GnRH-Analoga hat das lange Protokoll die besten, klinischen Schwangerschaftsraten. Auch bezüglich der Anzahl der gewonnenen Eizellen und transferierten Embryonen hat sich das lange Protokoll als erfolgreicher erwiesen (FELBERBAUM und DIEDRICH 2000).

Es gibt zwei unterschiedliche Verabreichungsarten für die GnRH-Analoga. Einerseits besteht die Möglichkeit der täglichen, geringen Dosisgabe, oder aber auch die längere Depotdosisgabe (ALBUQUERQUE et al. 2003).

Das lange Protokoll gliedert sich in mehrere Behandlungsphasen.

In der Mitte der zweiten Zyklushälfte kommt es zu einer Downregulation durch GnRH-Analoga. Hierdurch soll eine Unterdrückung der Hypophysenfunktion erreicht werden. Infolgedessen gelingt es einen vorzeitigen LH-Anstieg mit einer verfrühten Ovulation zu vermeiden. Damit kann eine von der körpereigenen Hormonproduktion weitestgehend unabhängige Stimulation der Ovarien erfolgen (LUDWIG 2002).

Ziel ist eine Desensitivierung der Hypophyse vor Beginn der HMG-Stimulation.

Circa 2 Wochen nach Beginn der GnRH-Agonistenmedikation ist eine Abkopplung der hypothalamo-hypophysär-ovariellen Achse erreicht.

Nach etwa zwei Wochen wird durch eine Östradiol- und HCG-Bestimmung, sowie durch einen Ultraschall mit Zystenausschluss die zweite Phase eingeleitet. Sind die Hormone FSH, LH, Östradiol ausreichend supprimiert (LH < 10mIU/ml, Östradiol < 50pg/ml), werden nun zusätzlich zur Downregulation Gonadotropine HMG (Menogon R) oder FSH (Gonal-F R, Puregon R) verabreicht. Diese sollen zur Follikelreifung beitragen.

Eine erste Kontrolle der wachsenden Follikel mittels Sonographie, sowie des Östradiols erfolgt zwischen dem 5. und 7. Stimulationstag. Sind die Follikel ausgereift bei einem Durchmesser von ca. 20 mm und ein Östradiolwert von ca. 300-400 pg/ml pro Follikel >18 mm, wird durch HCG-Gabe die Ovulation ausgelöst, im Anschluss erfolgt die Follikelpunktion (FELBERBAUM und DIEDRICH 2000).

Frauen mit einer normalen Ovarialfunktion reagieren auf diese Stimulationsform deutlich stärker als bei anderen Protokollen. Die Folge sind erhöhte Raten von Überstimulationssyndromen (OHSS).

Obwohl durch das lange Protokoll eine höhere Rate an gewonnenen Eizellen, transferierten Embryonen und eine höhere Schwangerschaftsrate nachgewiesen werden konnte, birgt diese Stimulationsform auch Risiken.

Zusammenfassend lassen sich die Nachteile des langen Protokolls in die Bildung von Ovarialzysten, in ein erhöhtes ovarielles Überstimulationssyndrom (OHSS) sowie in Hormonentzugserscheinungen im Sinne von postmenopausalen Beschwerden gliedern. Zudem können spätere Zyklen gestört werden. Es kann ein erhöhter Bedarf an Gonadotropinen entstehen, was zu einem erheblichen Kostenfaktor beiträgt (LUDWIG und RABE 2004).

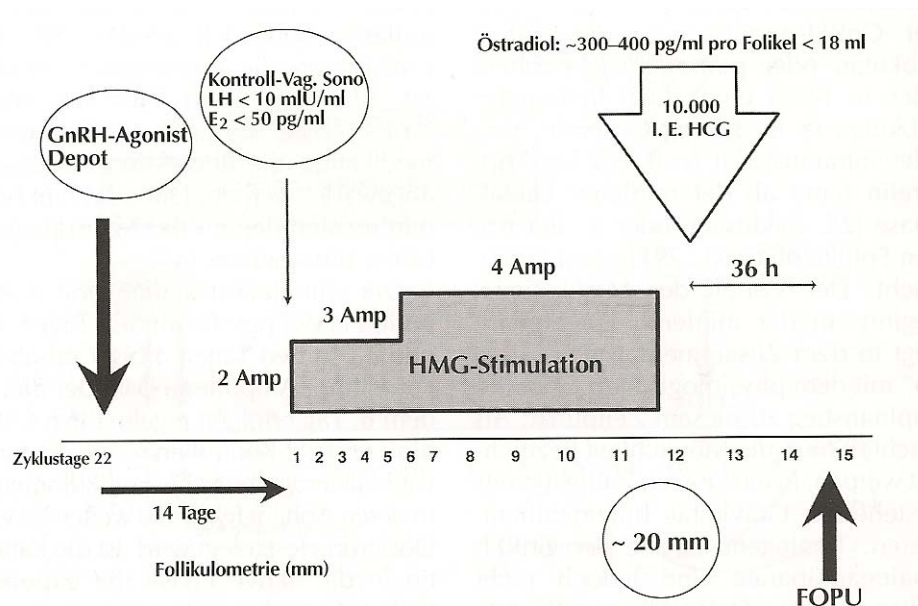


Abb. 3: Langes Protokoll –ovarielle Stimulation nach Vorbehandlung mit GnRH – Agonisten (nach Fischl 2000)



### 1.7.2 Kurzes Protokoll

Das kurze Protokoll („short protocol“), beginnt meist mit einer GnRH-Agonisten Gabe ab dem 1. Zyklustag subkutan oder pernasal bis zur Ovulationsauslösung durch HCG. Diese kurzwirksamen Medikamente bewirken eine Downregulation. Die HMG-Stimulation der Eierstöcke beginnt 2-3Tage nach der ersten Agonistengabe.

Der weitere Verlauf gestaltet sich wie beim langen Protokoll, jedoch mit dem Unterschied, dass die Medikation der Downregulation vor der Punktion abgesetzt wird.

Ein Vorteil des kurzen Protokolls besteht durch den so genannten „Flare-up“-Effekt, bei dem es zu einer initial erhöhte Gonadotropinsekretion kommt. Es entsteht hierbei ein zusätzlicher Stimulationseffekt auf die Follikel.

Ein vorzeitiger LH-Anstieg wird vermieden, der Stimulationszyklus wird nur unwesentlich oder überhaupt nicht verlängert (FELBERBAUM und DIEDRICH 2000).

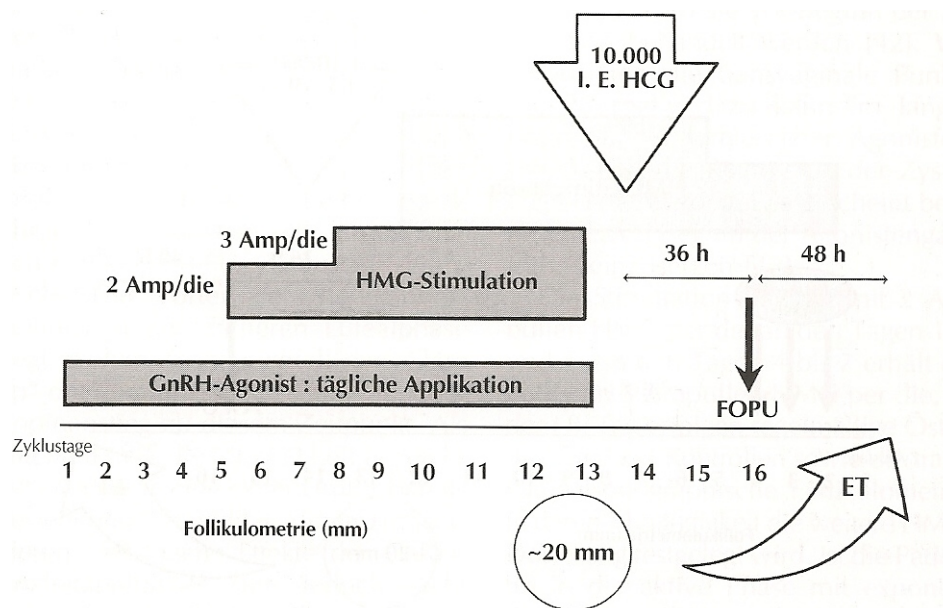


Abb. 4: Kurzes Protokoll- ovarielle Stimulation nach Vorbehandlung mit GnRH-Agonisten (nach Fischl 2000)

### 1.7.3 Behandlung mit FSH

Das follikelstimulierende Hormon (FSH), auch Follitropin genannt, ist von seiner Struktur her ein Glykoprotein, ein Sexualhormon (Gonadotropin) und wird bei der Frau, wie auch beim Mann im Vorderlappen der Hirnanhangdrüse, der Adenohypophyse gebildet. Es besteht aus einer alpha-Untereinheit ( $\alpha$ -FSH) mit 92 Aminosäuren und einer  $\beta$ -Untereinheit ( $\beta$ -FSH) mit 111 Aminosäuren. Charakteristisch für das FSH ist hierbei die  $\beta$ -Untereinheit. Die  $\alpha$ -Untereinheit lässt sich strukturmäßig hingegen auch in anderen Hormonen, wie im Humanen Choriongonadotropin (hCG), im luteinisierenden Hormon (LH) oder im Thyreotropin (TSH) finden. (UNIPROT CONSORTIUM 2007). In der Fertilisationsbehandlung kommt es dahingehend zum Tragen, da es unter anderem bei der Frau zum Eizellenwachstum im Eierstock und der Eizellenreifung beiträgt. Die Ausschüttung des FSH wird durch das GnRH reguliert.

Zur therapeutischen Anwendung wird das Follitropin alfa (INN) genutzt, das struktur- und wirkungsmäßig dem körpereigenen FSH gleichzusetzen ist. Seit 1996 besteht in Deutschland die Möglichkeit der Therapie mit rekombinant hergestellten follikelstimulierenden Hormonen (r-FSH). Aufgrund der Züchtung aus einer einzigen, kontrollierten, konstanten und gut charakterisierten Zell-Linie, bietet dieses FSH-Molekül hinsichtlich viraler und proteinärer Kontamination das größtmögliche Maß an Sicherheit (LUDWIG et al. 2004).

Das genetisch hergestellte r-hFSH besticht durch eine konstante Qualität. Durch die fehlende Fremdeiweißbelastung besteht zudem keine Gefahr einer allergischen Reaktion. Hinsichtlich der Zulassungsbestimmungen der EMEA von 1999 ist r-hFSH aufgrund seiner niedrigeren Gesamtdosis und der kürzeren Behandlungsdauer wirksamer als urinäres FSH anzusehen (LUDWIG et al. 2004). Dennoch ist bei der Verwendung von r-hFSH auf ein strenges Zyklusmonitoring zu achten, um die Zeichen eines ovariellen Hyperstimulationssyndroms durch die Wachstumsanregung des Ovars nicht zu übersehen.

#### **1.7.4 Behandlung mit hMG**

hMG ist ein Human Menopausal Gonadotropin, welches zu gleichen Teilen aus LH- und FSH-Aktivität besteht. Die wesentlich längere Halbwertszeit des FSH-Anteils im direkten Vergleich zum LH-Anteil hingegen bewirkt, dass Menogon in erster Linie FSH-Wirkung besitzt. Das hMG führt zur direkten Stimulation der Follikel im Ovar. Es kommt zu einer gesteigerten Östrogenproduktion. Hierdurch wird das Endometrium zur Proliferation angeregt, die Implantation und die Nidation der befruchteten Oozyte werden durch die Wirkung des hMG erhöht. Es besteht allerdings durch die Möglichkeit eines vorzeitigen LH-Anstiegs die Gefahr eines ovariellen Überstimulationssyndroms (OHSS), welches unter einem strengen Zyklusmonitoring überwacht werden kann. Gewonnen wird hMG aus dem Urin postmenopausaler Frauen. Das hMG ist demnach mit einem erhöhten Anteil an Fremdeiweißen durchsetzt, was eine intramuskuläre Injektion notwendig macht, um eine allergische Reaktion zu umgehen. Erweiternd wurde im Jahr 2000 die Behandlung mit hMG in gereinigter Form als hMG-HP eingeführt. Diese enthält neben FSH eine geringere Menge von LH und humanes Choriongonadotropin (hCG) um die gewünschte Wirkung des LH von 75 IE zu erzielen (LUDWIG und RABE 2004). Abschließend ist zu erwähnen, dass die Zusammensetzung und die Wirkung sowie die Aktivität der hMG-Hormonprodukten aufgrund der Chargenabhängigkeit deutliche Unterschiede aufweisen kann.

#### **1.7.5 Behandlung mit r-hFSH und hMG**

Zusammenfassend ist zu erwähnen, dass die niedrig dosierte Gonadotropinstimulation mit humanem Menopausengonadotropin (hMG) oder rekombinantem humane FSH (r-hFSH) bei anovulatorischen Zyklen zur Verbesserung der Konzeptionschancen bei einer Lutealphaseninsuffizienz oder bei unregelmäßigen Zyklen eingesetzt werden kann. Hierbei ist eine Anpassung der Gonadotropindosis hinsichtlich der individuellen Situation der Patientin unerlässlich, um ein Mehrlingsrisiko zu minimieren (LUDWIG und NAWROTH 2007).

Vergleicht man die unterschiedlichen Formen der Hormonbehandlung, so ist nach einer Studie zur Wirksamkeitsprüfung von r-hFSH hinsichtlich urinärem hMG (LUDWIG et al. 2004) eindeutig dem r-hFSH den Vorzug zu geben. Die relative Differenz in der Geburtenrate betrug hierbei 16,6% zugunsten des r-hFSH im Vergleich zu urinärem hMG. Auch hinsichtlich des Substanzverbrauches war r-hFSH dem hMG überlegen, hierbei wurden pro Zyklus als auch pro Schwangerschaft und pro Geburt deutlich weniger an Substanz gebraucht. Insgesamt wurden hierbei pro Gruppe in der u-hMG Gruppe 39,5% mehr Gonadotropine benötigt als in der r-hFSH Gruppe.

## **1.8 Einfluss des Lebensstils auf die Eizellen**

### **1.8.1 Einfluss von Nikotin auf die Eizellen**

Die Anzahl der Raucherinnen im reproduktiven Alter in Europa hat in den letzten Jahrzehnten zugenommen, sie betrug im Jahr 2006 33% (HUISMANN et al. 2005).

Neben einem negativen Einfluss auf Uterus und Plazenta wirkt sich Nikotin auch negativ auf die Eizellen aus.

Der Konsum von Nikotin geht zudem mit einer geringeren Fertilitätsrate und einer höheren Versagensquote der IVF einher (DECHANET et al. 2011).

Nach BÓDIS et al. (1997) wird speziell der Kontrollmechanismus intraovarieller Prozesse, welcher für die normale Lutealfunktion zuständig ist, durch Nikotin beeinflusst.

Nikotin führt zu einer Reduktion der Anzahl der heranreifenden Follikel im Ovar (ZENZES et al. 1997).

Infolgedessen kommt es auch zu einer geringeren Fertilität von Raucherinnen (BAIRD, WILCOX, 1985; HULL et al. 2000). Nach ZENZES et al. (1995) korreliert die Anzahl der Zigaretten pro Tag mit der Anzahl an diploiden Oocyten. Ihre Studien zeigten, dass externe Faktoren wie der Einfluss von Nikotin sich riskant auf die Entwicklung der heranreifenden Eizellen und der daraus resultierenden Embryonen auswirken.

Regelmäßiges Rauchen wirkt sich zudem auch auf die Menopause aus, so kommen Raucherinnen früher in die Menopause als Nichtraucherinnen (ZENZES et al. 2000; JICK und PORTER 1977).

Insgesamt hat der ständige Konsum von Nikotin somit einen entscheidenden Einfluss auf die Qualität, Reifung, Implantation von Eizellen.

Auch im Hinblick auf die reproduktiven Therapien, wie IVF, stellt Nikotin einen entscheidenden Faktor dar. So bewirkt es ein höheres Risiko von ektopen Schwangerschaften, eine geringere Geburtsrate. Es wirkt sich negativ auf die Anzahl der gewonnenen Eizellen und auf die Fertilitätsrate aus (DECHANET et al. 2011).

### **1.8.2 Einfluss des BMI auf die Eizellen**

Unter dem Body-Mass-Index (BMI) versteht man das Verhältnis zwischen Gewicht und Körpergröße zum Quadrat. Nach der BMI-Klassifikation ist ein BMI von unter 19 bei Frauen als Untergewicht, von 20 - 24 als Normalgewicht, von 24 –30 als Übergewicht und von über 30 als Fettsucht klassifiziert.

Der Beginn und die Aufrechterhaltung reproduktiver Funktionen hängen bei der Frau mit einem optimalen Körpergewicht zusammen. Untergewicht, Übergewicht und Fettleibigkeit, stehen im Zusammenhang mit einem erhöhten Risiko an anovulatorischer Infertilität (RICH-EDWARDS et al. 2002).

Es wird angenommen, dass die reduzierte Fruchtbarkeit von unter- und übergewichtigen Frauen mit metabolischen und endokrinen Änderungen zusammenhängt, welche unter anderem einen Einfluss auf den Steroid Metabolismus, sowie auf die veränderte Sekretion und Funktion von Insulin und anderen Hormonen, wie Leptin, Resistin, Ghrelin oder Adiponectin haben. Diese Änderungen können einen Einfluss auf das Wachstum der Follikel, die Entwicklung, sowie die Einnistung der Embryonen haben (FEDORCSÁK et al. 2004). So zeigten MUNZ et al. (2005), dass die Serumkonzentration von Albumin und Bilirubin durch den BMI beeinflusst werden, infolgedessen ein Übergewicht mit einem BMI > 25 einen negativen Einfluss auf den Ausgang einer IVF Behandlung mit einer verringerten Schwangerschaftsrate hat.

#### **1.8.2.1 Einfluss von Über- und Untergewicht auf die Eizellen**

Das Gewicht hat einen deutlichen Einfluss auf die Qualität von Eizellen.

Studien zufolge korreliert der Body-Mass-Index (BMI) mit dem Alter. METWALLY et al. (2007) fiel auf, dass bei Frauen, die zum Zeitpunkt der Kinderwunschbehandlung jünger als 35 Jahre waren, das Übergewicht einen großen Einfluss auf den Ausgang der Behandlung hatte. Es konnte ein signifikanter Unterschied zwischen Frauen mit Übergewicht unter 35 Jahre und Frauen mit Übergewicht über 35 Jahre nachgewiesen werden. Die durchschnittliche Qualität der Embryonen, die Zahl der verwendbaren Embryonen und die Zahl der für die Kryokonservierung zur Verfügung stehenden Embryonen war bei den Frauen unter 35 Jahren mit Übergewicht signifikant niedriger.

Bei einem Alter über 36 Jahre konnte nur ein geringer Einfluss des BMI auf die Fruchtbarkeit nachgewiesen werden (SNEED et al. 2008).

Nach HUGUES (2008) ist der BMI zudem ein bedeutender Aussagewert über die Ansprechrate einer ovariellen Stimulation. In IVF und ICSI Zyklen wird das Übergewicht mit einer Minderung der Anzahl von Eizellen in Verbindung gebracht.

Adipositas wird mit einer geringeren Chance von Lebendgeburten nach IVF- und ICSI-Zyklen, sowie einem verminderten Ansprechen auf ovarielle Stimulation in Verbindung gebracht (FEDORCSÁK et al. 2004).

Zudem haben über- und untergewichtige Frauen eine signifikant schlechtere Eizellenqualität (WITTEMER et al. 2000).

Eine Annäherung von über-, untergewichtigen Patientinnen an ein Normalgewicht vor der Sterilitätstherapie führt zu einer Verbesserung der Fertilitätsraten und sollte dahingehend auch angestrebt werden.

## 1.9 Einfluss der Lagerungsdauer auf die Eizellen

In Deutschland ist nur das Einfrieren von befruchteten Eizellen im Vorkernstadium erlaubt. Nach dem deutschen Recht sind die Eizellen Eigentum des Paares, dieses alleine entscheidet, wann die Eizellen vernichtet werden (Embryonenschutzgesetz, Bundesgesetzblatt I 1990).

Die Lagerungsdauer wird in der Regel meist durch den finanziellen Aspekt begrenzt, den Besitzern der Eizellen, entstehen durch den hohen apparativen und personellen Aufwand nicht unerhebliche Kosten, deren Vergütung nach dem Bundessozialgericht seit dem 21.09.2010 (AZ: B 1 KR 26/09) nicht zum Leistungskatalog der gesetzlichen Krankenkassen gehört.

Neben dem finanziellen Aspekt steht zudem die Frage nach Qualitätsunterschieden der Eizellen im Rahmen einer langen Kryokonservierung, die durch die Zugabe von chemischen Lösungen bedingt sein können.

Die Eizellen werden bei  $-196\text{ °C}$  in flüssigem Stickstoff tief gefroren, durch die niedrigen Temperaturen findet keine Zellaktivität mehr statt, demnach ist es egal ob eine Eizelle 2 Monate oder 20 Jahre eingefroren ist. In der Regel liegt die Zeit der Kryokonservierung aber zwischen 5-10 Jahren (LOCKWOOD et al. 2008).

Durch die modernen Einfrierverfahren der Vitrifikation wird zudem versucht die Überlebensrate der Eizellen weiter zu maximieren.

RIGGS et al. (2010) zeigten in ihren Untersuchungen über einen Zeitraum von 1987-2007, dass die Dauer der Kryokonservierung keinen Einfluss auf die Überlebensrate der Eizellen, die Schwangerschaftsrate oder Geburtsrate hat.

## 1.10 Einfluss der Spermienqualität auf die Eizellen

Über den Einfluss der Spermaqualität, eventueller Schäden bezüglich der DNA des Spermas auf die Eizellen, sowie den Einfluss der Spermaqualität auf das Reproduktionsergebnis wurde vielfach diskutiert. Es gibt bezüglich dieses Themenkomplexes unterschiedliche Auffassungen. So beschrieben ZINI et al. (2005) in ihrer Studie in Anlehnung an frühere Veröffentlichungen, dass sie keinen Zusammenhang zwischen DNA-Schäden des Spermas und der Fertilitätsrate bei ICSI und IVF beobachten konnten. Ebenso konnte anhand ihrer Studie kein Zusammenhang zwischen den DNA-Schäden und der Schwangerschaftsrate der Patienten gefunden werden.

ZINI et al. (2008) hingegen zeigten in ihrer Studie, dass es einen direkten Zusammenhang zwischen den Sperma-DNA-Schäden und der Spontanenabortrate bei IVF und IVF/ICSI gibt. Darüber hinaus veröffentlichten HAMMADEH et al. (1999), dass die verminderte Fertilitätsrate bei der Nutzung tief gefrorener / aufgetauter Spermien im Rahmen einer Behandlung mit IVF/ICSI durch die Chromatin Kondensation beeinflusst wird. Diese stellt einen sensitiven Parameter im Hinblick auf die Frierschäden der Spermien dar.

Im Hinblick auf eine Vorhersage der Fertilitäts-, Implantations- und Schwangerschaftsrate bei TESE-ICSI-Verfahren dient allerdings weder der Parameter der Chromatin Kondensation noch die Morphologie der aus den Hoden gewonnen Spermien (HAMMADEH et al. 1999)



## 1.11 Indikationen für IVF- ICSI

### 1.11.1 Indikationen für IVF

Die klassischen Indikationen für IVF sind Paare mit einem tubaren Faktor in ihrer Kinderwunschanamnese. Bei einer durchgeführten IVF hat die Funktion der Tuben keine Bedeutung. Neben dem tubaren Faktor werden unter anderem auch die Endometriose, wie auch die idiopathische Sterilität, ein pathologischer Zyklus und der Zervixfaktor als Indikationen für eine IVF aufgeführt.

Im Hinblick auf die Sterilitätsursachen beim Mann wird ein eingeschränktes Spermogramm, sowie urogenitale Auffälligkeiten als Indikation für eine Behandlung mittels IVF angesehen (Gesundheitsberichtserstattung des Bundes 2004; DIEDRICH et al. 1992).

### 1.11.2 Indikationen für ICSI

Folgende Indikationen können eine intrazytoplasmatische Spermieninjektion nach KÜPKER et al. (1998) bedingen, ergänzt durch die relativen Indikationen für ICSI von STROWITZKI (2000).

#### **Indikationen für ICSI**

(KÜPKER et al. 1998)

Akrosomdefekte

Ausgeprägte Asthenozoospermie

Chromatinstörung

Erfolglose IVF-Behandlung

Gewinnung einer geringen Eizelleanzahl nach Punktion

Immunologische Sterilität

Krypto-/Nekrozoospermie

Retrograde Ejakulation /Anejakulation

#### **Relative Indikationen für ICSI**

(STROWITZKI 2000)

Gering-/ mäßiggradige andrologische Subfertilität

Reinsemination mit ICSI bei unfertilisierten Eizellen innerhalb einer IVF

Verminderte Motilität bei kryokonservierten Spermien

Verminderte Eizellenqualität

## **1.12 Eigene Fragestellung**

Ziel dieser Arbeit ist es, den Einfluss verschiedener Faktoren und deren Wechselwirkungen auf die Fertilitäts-, Teilungs- und Überlebensrate der Eizellen, sowie auf die Schwangerschafts- und Geburtsrate vor und nach Kryokonservation, Auftauen darzulegen.

## **Material und Methoden**

### **2.1 Datenerfassung und Datenauswertung**

Für die Datenerfassung der Kinderwunschpatienten dienten die Krankenblätter und die Behandlungsbogen des IVF-Labors der Universitätsfrauenklinik des Saarlandes.

Aus Datenschutzgründen wurde im Vorfeld jedem Patienten eine Codenummer vergeben. Zur Auswertung wurden die Daten in das Tabellenkalkulationsprogramm Excel 2000 übertragen und in eine tabellarische Form gebracht.

Die statistische Auswertungen und Berechnungen erfolgte mit dem Programm SPSS 15.0 für Windows.

Die Berechnung der Patientenkollektive erfolgte anhand der deskriptiven Statistik mit der Angabe von Mittelwert, Standardabweichung, Minimum und Maximum.

Beim Vergleich zweier unabhängiger Variablen wurde der Mann-Whitney U-Test verwendet. Zur Testung mehrerer unabhängiger Variablen wurde die Auswertung anhand des Kruskal-Wallis-H-Test durchgeführt.

Weitere Auswertungen wurden mit Hilfe von Kreuztabellen erstellt und durch den Chi-Quadrat-Test auf signifikante Unterschiede geprüft. Hier wurde für alle Tests ein Signifikanzniveau von  $\alpha = 0,05$  festgelegt. Zur genauen Signifikanztestung wurde der Oneway Anova Test angewandt.

Die Korrelationsberechnungen wurden mit Hilfe des Spearman-Rho Testes durchgeführt. Die vorliegende Tabellen und Grafiken entstanden mit dem Programm SPSS Version 15.0 für Windows und Windows Version 2000-2003.

### **2.2 Patientenkollektiv**

In die vorliegende Studie wurden Patientenpaare der Kinderwunschsprechstunde der Universitätsfrauenklinik des Saarlandes aufgenommen.

Einschlusskriterium war eine Sterilitätsbehandlung einschließlich einer Kryokonservierung von Eizellen und mindestens einem anschließenden Kryotransfer.

Die vorliegenden Kriterien erfüllten 298 Paare. Die folgenden statistischen Berechnungen der Studie beziehen sich auf die erhobenen Datenwerte dieser 298 Patientinnen und deren Partnern.

Der Behandlungszeitraum, in dem die Daten der retrospektiven Studie erhoben wurden, reicht vom 2.8.1995 bis zum 30.06.08.

## 2.3 Patientenalter

### 2.3.1 Patientinnenalter

Das durchschnittliche Alter der Patientinnen lag bei 33,05 Jahren. Das Alter der jüngsten Frau in der Kinderwunschbehandlung betrug 19 Jahre, das der ältesten Patientin 45 Jahre.

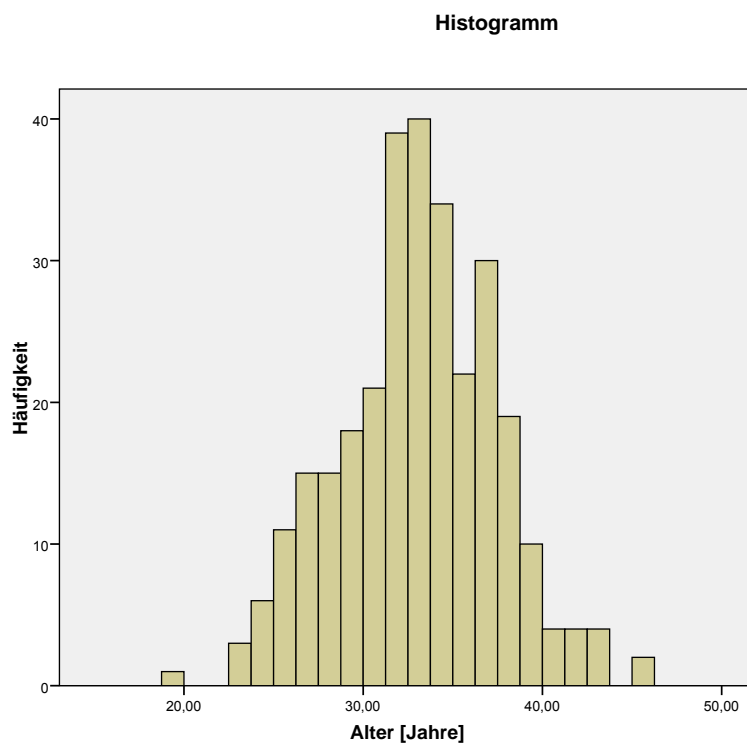


Abb. 5: Histogramm: Altersverteilung der Patientinnen

### 2.3.2 Patientenalter

Das durchschnittliche Alter der Partner lag bei 36,49 Jahren, hierbei war der jüngste Mann 22 Jahre alt und der älteste 67 Jahre alt.

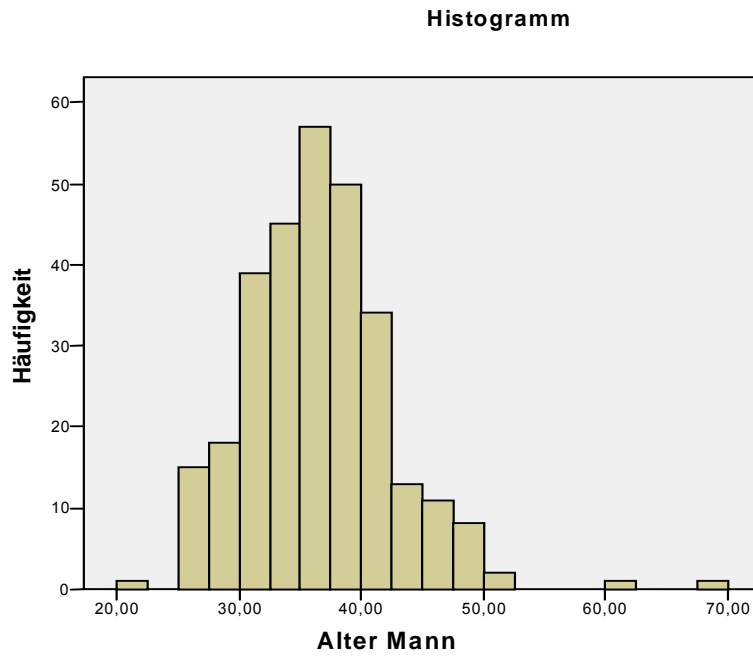


Abb. 6: Histogramm: Altersverteilung der Patienten

## **2.4 Body Mass Index**

Der durchschnittliche BMI der Frauen betrug 23,43.

Die Männer hingegen erreichten einen BMI-Durchschnitt von 26,56.

## **2.5 Nikotinkonsum**

50 Patientinnen waren Raucher, eine Quote von 16,9%. Die weitaus größere Anzahl von 246 Patientinnen waren Nichtraucher, eine Quote von 83,1%. Von zwei Patientinnen fehlten bezüglich ihres Nikotinkonsums die Angaben. Die Männerraucherquote betrug 85 Raucher, 28,7%, die der Nichtraucher mit 211 Männern, 71,3%. Auch bei den Männern fehlten zwei Personenangaben bezüglich des Nikotinkonsums.

## **2.6 ICSI und IVF Behandlungen**

Die 298 Patienten durchliefen insgesamt 632 Behandlungszyklen.

Davon waren 430 ICSI-Behandlungen (68%) und 202 IVF-Behandlungen (32%).

Von den Behandlungszyklen konnten insgesamt 6855 Eizellen gewonnen werden. Von den 6855 Eizellen blieben 3981 befruchtete Eizellen übrig. 1260 Eizellen wurden in dem frischen Zyklus transferiert. 2485 Eizellen wurden eingefroren.

1997 Eizellen wurden im Rahmen der Kryotransferbehandlung aufgetaut und insgesamt 1189 Eizellen anschließend den Patientinnen transferiert.

Die Anzahl aller Kryotransfers im Zeitraum von August 1995 bis Juni 2008 betrug 683.

## 2.7 Indikationen zur Kinderwunschbehandlung der Patienten / Sterilitätsursachen

Von den 298 Patienten waren bei 262 Patienten Sterilitätsursachen bekannt. Davon lagen 36,6 % Prozent bei der Frau, 52,3% Prozent bei dem Mann, 4,2% Prozent bei beiden Geschlechtern und 6,9% waren idiopathische Sterilitätsursachen.

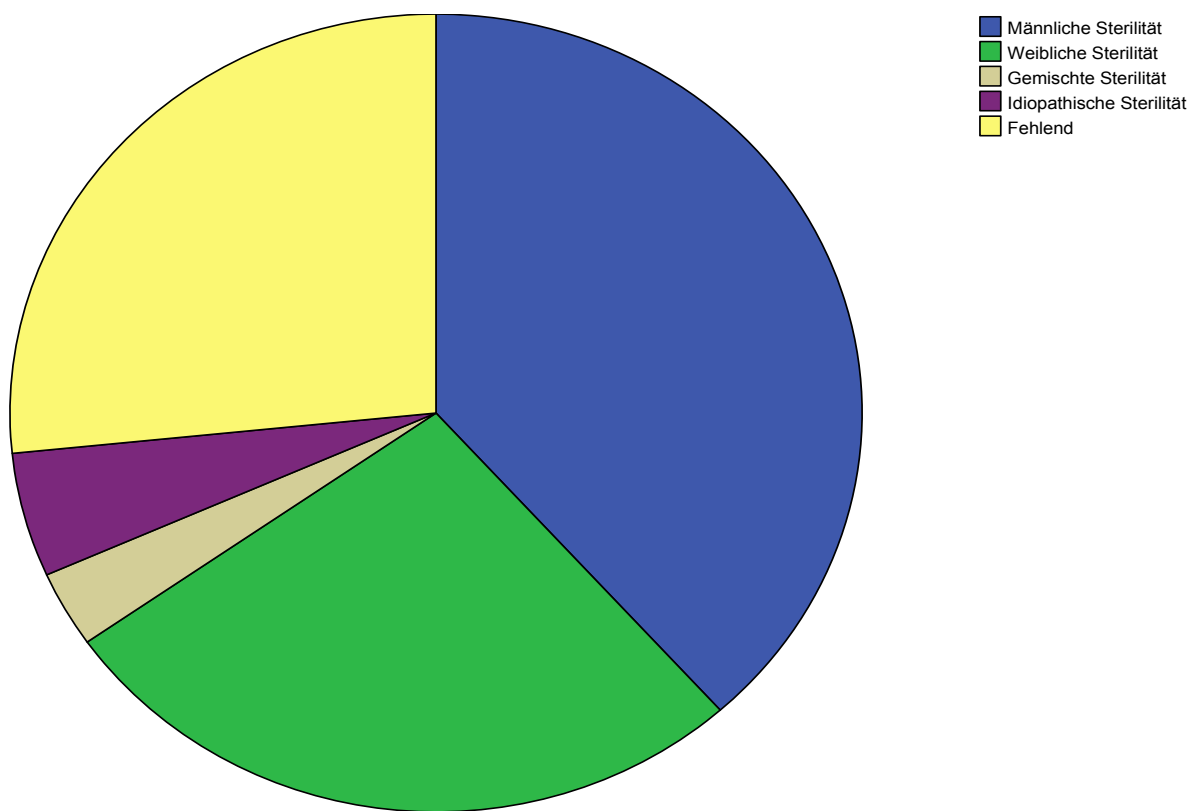


Abb. 7: Kreisdiagramm: Sterilitätsursachen der Patienten

Die Ursachen der weiblichen Sterilitätsindikation reichten von Endometriose, Hormonveränderungen, Uterusanomalien, Tubenpathologien, PCO-Syndrom bis hin zu Myomen.

## **2.8 Kinderwunschsprechstunde und Voruntersuchung**

Die Behandlung der Patientinnen und ihrer Partner begann mit einem ersten Beratungsgespräch in der Kinderwunschsprechstunde des Universitätsklinikums Homburg. In diesem Beratungsgespräch wurde zunächst eine ausführliche Anamnese des Paares erhoben. Neben der Frage nach der Kinderwunschdauer, der bisherigen Behandlungen, der Suchtanamnese (Alkohol, Nikotin) des Paares, der Feststellung von Größe und Gewicht wurde auch eine allgemeine und gynäkologische Anamnese der Frau sowie eine allgemeine und andrologische Anamnese des Mannes durchgeführt.

Zu der Anamnese der Frau gehörten die Frage nach dem Menstruationszyklus, nach dem Menstruationsbeginn, nach der Regelmäßigkeit der Menstruation, nach der Menstruationsdauer, nach bisherigen gynäkologischen Erkrankungen, nach vorherigen Verhütungsschemata, sowie eine allgemeine Erkrankungsanamnese, eine spezielle Migräne und Allergianamnese, eine Medikamentenanamnese, eine Familienanamnese und die Frage nach bisherigen Operationen.

Die Anamnese des Mannes umfasste die Feststellung von urologischen Problemen, Infektionen in der Vergangenheit, eine Familienanamnese, eine Krankheitsanamnese, eine Medikamentenanamnese sowie die Frage nach bisherigen Operationen.

In dem Beratungsgespräch wurden dem Paar die Voruntersuchungen erläutert, die für die Festlegung eines Behandlungsschemas durchgeführt werden müssen.



Tabelle 1: Voruntersuchungen im Rahmen der Kinderwunschtherapie

| Voruntersuchungen der Frau   | Voruntersuchungen des Mannes   |
|--|--|
| <p>→gynäkologische Untersuchung in der Zyklusmitte, Zyklusmonitoring mit Abstrich zur Untersuchung auf pathologische Bakterien, Chlamydia trachomatis</p> <p>→Blutentnahme zwischen dem 3. und 7. Zyklustag</p> <p>→Hormonbestimmung von TSH, fT3, fT4, FSH, LH, E2, Prolaktin, Testosteron, DHEA, Androstendion, TRH</p> <p>→Infektionsserologie von Hepatitis B, Hepatitis C, HIV</p> <p>→Bestimmung des Rötelaantikörpertiters</p> <p>→Prüfung der Tubendurchgängigkeit</p> <p>→Test auf Antispermatozoenantikörper</p> | <p>→ urologische Untersuchung des Mannes</p> <p>→Spermiogramm im IVF-Labor</p> <p>→Infektionsserologie von Hepatitis B, Hepatitis C, HIV</p> <p>→bei Azoospermie: Untersuchung des Mukoviszidosegens</p> |

Verschiedene Therapieoptionen wurden den Paaren erläutert. Neben dem Verkehr zum optimalen Zeitpunkt (VZO), der Insemination im Spontanzyklus oder unter einer milden Stimulation, wurden auch die Möglichkeiten der künstlichen Befruchtung im Rahmen einer invitro Fertilisation (IVF), oder einer intracytoplasmatischen Spermieninjektion (ICSI) besprochen.

Es erfolgte eine ausführliche Aufklärung über die Risiken und Komplikationen einer Sterilitätstherapie.

Risiken wie die Gefahr einer ovariellen Hyperstimulation (OHSS), die Gefahr von Infektionen, sowie von Nerven- und Gefäßverletzungen bei der Follikelpunktion wurden angesprochen.

Ebenso wurde die Möglichkeit einer Mehrlingsschwangerschaft durch Einnistung mehrerer befruchteter Eizellen im Uterus als Konsequenz einer Sterilitätstherapie erläutert.

Im Anschluss wurde auf die gesetzlichen Gegebenheiten in Deutschland im Rahmen des Eizelletransfers hingewiesen. Frauen über dem 35. Lebensjahr dürfen demnach maximal drei Zellen in die Gebärmutter eingepflanzt werden. Frauen, die das 35. Lebensjahr noch nicht erreicht haben, bekommen zwei Zellen zum Transfer.

Zudem erfolgte eine Erläuterung der finanziellen Kosten und deren Teilübernahme durch die jeweiligen Krankenkassen. Bis zum Jahre 2003 wurden vier Behandlungszyklen von den Krankenkassen übernommen. Seit dem Jahre 2003 hingegen übernehmen die Krankenkassen hierbei nur noch die Hälfte von drei Behandlungszyklen, der Rest muss von den Patienten selbst getragen werden. Die Kosten sind im § 27a SGB V geregelt. Im Anschluss wurde den Paaren die Möglichkeit gewährt selbst noch offene Fragen anzusprechen.

## **2.9 Sterilitätsbehandlung**

Lagen die Untersuchungsergebnisse der Frau und die andrologische Auswertung, das Spermogramm des Mannes, durch das IVF-Labor der Frauenklinik vor, wurde nun ein Behandlungsschema für das Paar festgelegt. Bis auf den VZO und die Insemination im spontanen Zyklus erforderten alle anderen Verfahren eine Stimulation der Patientin.

Durch das Zyklusmonitoring mit Hilfe der transvaginalen Sonographie und der Hormonbestimmung der Patientin wurde der passende Zeitpunkt zum Stimulationsbeginn ausgewählt.

Die Sterilitätsbehandlung im Rahmen eines IVF- oder ICSI-Zyklus lässt sich in verschiedene Einzelschritte gliedern ; darunter gehören die Zyklusstimulation mit Ovarstimulation und Ovulationsinduktion, die labortechnische Eizelleaufbereitung, die Kultivierung und Befruchtung der Eizelle, der Eizelletransfer, der biochemische Schwangerschaftstest, und ggf. die Kryokonservierung der Eizelle.

### 2.9.1 Stimulationsschema

In der Mitte des Zyklus wurde die Stimulation nach dem so genannten „long protocol“, wie schon in der Einleitung erwähnt, begonnen. Ziel war hierbei zunächst die „Down Regulation“ der eigenen Hormonproduktion durch ein GNRH-Analoga. Die verwendeten Präparate waren Decapeptyl, Synarela, Suprecur und Zoladex. Nach circa vierzehn Tagen kam es dann zu einer Menstruationsblutung bei der Patientin. Beginnend mit dem dritten Tag der Blutung wurde die Patientin zusätzlich zu den GNRH-Analoga mit einem Gonadotropin behandelt.

Die gewählten Gonadotropine umfassten hierbei:

→**HMG**

→**rekombinantes FSH**

→**Mischstimulation** aus HMG und rekombinarem FSH. So genannte low-responder, Frauen, die auf eine Stimulationsform nicht genügend ansprachen, wurden mit einer Mischstimulation aus HMG und FSH behandelt.

Die verwendeten Präparate reichten hierbei von Gonal F, Luveris bis hin zu Puregon. In Homburg wurden vier verschiedene Stimulationsformen an den Patientinnen angewandt. Hierbei wurde unterschieden zwischen HMG, HMG und Fertinorm HP®, rekombinarem FSH sowie einer Mischstimulation aus Gonal ® oder Puregon ® und HMG. Die Verteilung gliederte sich wie folgt:

Tab. 2: Häufigkeitsverteilung der Stimulationsformen

| <b>Stimulationsform</b>                         | <b>Häufigkeit der Stimulation</b> | <b>Prozentuale Anzahl der Stimulation</b> |
|---|-----------------------------------|---|
| HMG   | 29                                | 4,6                                       |
| Rekombinantes FSH                               | 379                               | 60,2                                      |
| Misch-Stimulation (Gonal ® oder Puregon® + HMG) | 222                               | 35,2                                      |

Nach sieben bis acht Tagen wurde die Patientin zur sonographischen Follikelkontrolle in das Kinderwunschzentrum bestellt. Hierbei wurden die Anzahl der gereiften Follikel und deren Größe begutachtet.

Hatten die Follikel eine Größe von über 18mm erreicht, wurde mit Hilfe von 10 000 IE i.m. eines humanen Choriongonadotropins ( $\beta$ -HCG) der Eisprung ausgelöst.

→ **$\beta$ -HCG**, wird aus dem Harn schwangerer Frauen gewonnen, in dem es physiologisch vorkommt. Struktur und funktionsmäßig besteht eine Ähnlichkeit zu LH, eine Ovulation wird ausgelöst.

Als Präparat wurde Ovitrelle eingesetzt.

Waren die Follikel kleiner als 18mm, erfolgte eine weitere FSH-Gabe unter sonographischer Kontrolle der Follikel.

### **2.9.2 Follikelpunktion und Eizelleaufbereitung**

Sechsendreißig Stunden nach Gabe des  $\beta$ -HCG wurden der Patientin im ambulanten, Verfahren unter Analgosedierung die Eizelle entnommen. Hierbei wurden die Follikel transvaginal und ultraschallgesteuert mit einer Kanüle punktiert und deren Inhalt mit Hilfe einer Vakuumpumpe abgesaugt.

Nach der Abpunktion der Follikelflüssigkeit wurden die Eizellen durch die Spülung mit einer HAM'S F-10 Lösung extrahiert und in einer Nährlösung, bei 37°C und einer CO<sub>2</sub> Konzentration von 6% inkubiert, bis alle Zellen geerntet waren.

Im Anschluss kam es zum Putzen der Eizellen, dabei wurde der Cumulus oophorus und die Corona radiata mechanisch und enzymatisch von der Eizelle gelöst. Die Eizellen wurden hierzu in einer Nährlösung mit 80 IE Hyaluronidase eingelegt. Mit Hilfe einer dünnen Glaskapillare wurde im Anschluss der Cumulus oophorus von den Eizellen getrennt. Dieser Vorgang soll verhindern, dass keine mütterliche DNA bei der Injektion des Spermiums in die Eizelle gelangt.

Nach diesem Verfahren befand sich nur noch die Zona pellucida um die Eizellen.

Abschließend wurden die Eizellen mehrfach in einer HAM'S F-10 Lösung mit 10%igem Humanalbumin gewaschen. Alternativ zu dem Humanalbumin konnte auch 10-15%iges, inaktiviertes Patientenserum zu den Eizellen transferiert werden. Die Eizellen ruhten nun circa eine halbe Stunde, bevor der Reifegrad mikroskopisch festgestellt wurde.

Die Eizellen wurden erst injiziert wenn sie sich im Metaphase II Stadium befanden. Hierbei wurde das erste Polkörperchen ausgestoßen. Hatte eine Eizelle noch nicht das Metaphase II Stadium erreicht, wurde das Polkörperchen noch nicht abgestoßen (M I Stadium), oder war noch das Keimbläschen vorhanden (germinal vesicle), so musste sie unter 5 %igem CO<sub>2</sub> weiter inkubiert werden.

### 2.9.3 Spermengewinnung und Spermienaufbereitung

Am Tag der Follikelpunktion wurde, nach einer Abstinenz von drei bis vier Tagen, das Ejakulat des Partners durch Masturbation gewonnen.

Das Nativsperma ließ man zunächst eine halbe Stunde auf einer Wärmeplatte bei 37 °C ruhen. Schließlich wurde die Spermaprobe in der Neubauer-Zählkammer hinsichtlich ihrer Spermienkonzentration und deren Motilität beurteilt. Nach der Bestimmung des pH-Wertes folgte die Klassifizierung des Spermioogrammes nach den gültigen WHO-Kriterien.

Tab. 3: Normwerte Ejakulat nach der WHO 1992

|                               |  |
|-------------------------------|--|
| <b>Volumen</b>                | ≥2ml   |
| <b>pH-Wert</b>                | 7,2-7,8                                      |
| <b>Viskosität</b>             | viskös ← → nicht viskös                      |
| <b>Spermatozoendichte</b>     | ≥20 Mio/ml                                   |
| <b>Motilität</b>              | global > 50, progressiv >25                  |
| <b>Morphologie</b>            | ≥30% normale Spermatozoen                    |
| <b>Vitalität</b>              | ≥50%   |
| <b>Leukozyten</b>             | <1 Mio/ml                                    |
| <b>MAR-Test</b>               | ≤10% Spermien mit adhärenen Partikeln        |
| <b>Eosin-Test (Vitalität)</b> | ≥75% vitale Spermien, ohne Farbstoff (Eosin) |
| <b>HOS-Test</b>               | >60% geschwollene Spermenschwänze            |

Im Anschluss an die Klassifizierung wurde die Spermaprobe im Labor aufbereitet. Substanzen im Seminalplasma können einen ungünstigen Einfluss auf die Kapazitation und die Akrosomenreaktion nehmen, daher wurde versucht labortechnisch eine Trennung von Seminalplasma und Spermien zu erreichen, um möglichst die motilsten und die vitalsten Spermien für die nachfolgenden Fertilisationsprozesse zu gewinnen.

Zu Beginn wurden die Spermien nach einer dreißigminütigen Verflüssigungsphase zentrifugiert. Im Anschluss wurden die Spermien je nach Aufbereitungsphase gewaschen, zentrifugiert oder durch Trennungsvorgänge mit Hilfe von Gradienten, Adhärenz oder Filtration vom Seminalplasma abgehoben. Hierzu standen die Spermienaufbereitungsverfahren; Swim-Up, Mini-Swim-Up, Isolate, Percoll, Mini-Percoll, Pure-Sperm und Glaswolle zur Verfügung.

### **2.9.3.1 Swim-up Verfahren**

Hierzu wird das gewonnene Ejakulat in einem Verhältnis von 1:1 oder 1:4 mit einem Kulturmedium (HAM'S F-10 Lösung Biotech GmbH + Humanalbumin CSL Behring, Marburg) vermischt und bei 500 U/min für 10 Minuten zentrifugiert. Der entstandene Überstand wurde verworfen.

Das verbliebene Sediment wurde danach erneut mit 1ml Kulturmedium überschichtet und für 1-2h bei 37°C und 6% CO<sub>2</sub> inkubiert. Die motilen Spermien schwimmen in dieser Zeit an die Oberfläche und können somit nach der Inkubationszeit vorsichtig abpipettiert und für die folgenden Fertilisationsprozesse verwendet zu werden.

### **2.9.3.2 Mini Swim-up Verfahren**

Das gewonnene Ejakulat wurde in einem sterilen 10ml Reagenzglas bei 500 U/min für 10 Minuten zentrifugiert. Das Sediment wurde danach mit 1ml Kulturmedium resuspendiert und in ein Eppendorf-Röhrchen umgefüllt. Es folgte eine weitere Zentrifugation bei 500 U/min für 3-5 Minuten. Der entstandene Überstand wurde verworfen und das Pellet mit 20-50µl Medium erneut überschichtet und bei 37°C und 6% CO<sub>2</sub> für 1-2 Stunden inkubiert. Auch hier konnten im Anschluss die motilsten Spermien im Überstand vorsichtig abpipettiert für die weitere Verarbeitung gewonnen werden.

### **2.9.3.3 Isolate Verfahren**

Das Isolate Verfahren basiert auf einem Dichtegradienten, der die motilen, vitalen Spermien von den toten Spermien trennt. Hierzu werden zunächst die benötigten Isolate Medien „Lower Layer“ und „Upper Layer“ (Irvine Scientific, Santa Ana) bei einer Raumtemperatur von 37°C erwärmt. Im Anschluss wird 1,5-2,0 ml der „Lower Layer“ Lösung mit einer sterilen Pipette in ein steriles Eppendorfgefäß überführt. Vorsichtig wird schließlich die gleiche Menge der „Upper Layer“ Lösung über die erste Lösung geschichtet.

Nachdem 1,5-2,0ml frischen Ejakulates dazugegeben wurden, wird das Eppendorfgefäß bei 200-300 U/min für 10-20 Minuten zentrifugiert. Nach der Abhebung des Überstandes wird dann das Pellet mit 2,0-3,0 ml Medium gewaschen, indem es bei ca. 200 U/min für 8-10 Minuten zentrifugiert wird. Dieser Vorgang wird ein zweites Mal wiederholt. Danach sind die Spermien für die weitere Verwendung bereit.

### **2.9.3.4 Percoll Verfahren**

Mit Hilfe von Dichteunterschieden werden bei der Dichtengradientenzentrifugation die vitalen von den avitalen Spermien getrennt. Zu drei Percoll-Lösungen (Percoll sterile, Amersham Pharmacia Biotech AB) unterschiedlicher Konzentration (90%, 70% und 40%) wurde 1ml Sperma vorsichtig über die oberste Konzentration gegeben und bei 1800-2000 U/min für circa 20 Minuten zentrifugiert. Im Anschluss wurde der Überstand abgehoben und verworfen, das zurückgebliebene Pellet wurde mit Medium überschichtet, schräg in den Inkubator verfrachtet und für 2 Stunden inkubiert. Anschließend konnten die Spermien in der Oberschicht für weitere Fertilisationsprozesse gewonnen werden.

### **2.9.3.5 Pure Sperm Verfahren**

Auch dieses Verfahren basiert auf einer Spermiseparationsmethode mit Hilfe unterschiedlicher Dichtegradienten. Hierzu werden aus einer 100%igen Gebrauchslösung (PureSperm 100, Nidacon International AB, Mölndal, Schweden) mit Hilfe von Kulturmedium 2ml 80%ige und 40%ige Lösungen hergestellt. Die nun hergestellten Lösungen wurden in ein steriles Konusröhrchen (PP-Test tubes, Cellstar, Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen) mit einer abnehmenden Dichte (unten 80%, oben 40%) übereinander pipettiert. Nach der Zugabe von 1ml Sperma wurde das Gemisch bei 300 U/min für 20 Minuten zentrifugiert.

Der entstandene Überstand wurde verworfen, das Sediment mit Kulturmedium resuspendiert und für 10 Minuten bei 300 U/min zentrifugiert. Nach einer Wiederholung des letzten Schrittes wurde das gewaschene Pellet erneut mit Kulturmedium überschichtet und für 2 Stunden inkubiert. Im Anschluss konnten die motilen Spermien in der Oberschicht abpipettiert und für weitere Verfahren verwendet werden.

#### **2.9.3.6 Glaswolle**

Das Sperma wurde hierzu vollständig verflüssigt und mit einem Medium 1:3 verdünnt. Im Anschluss wurde das Gemisch für 10 Minuten bei 300-500U/min zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen und das Pellet mit 1ml Medium resuspendiert und anschließend wieder zentrifugiert. Nach einer weiteren Resuspension mit 0,5ml Medium und einer Zentrifugation wurden die gewaschenen und konzentrierten Spermien auf eine Glaswolle aufgebracht, die sich in einer Spritze (30mg/3ml auf einer Dicke von 3mm gepresst) befand. Mit Hilfe der Schwerkraft passierte das Sperma nun diesen Filter, die toten, membrandefekten Spermien blieben hierbei in der Glaswolle hängen. Somit wurden die vitalen von den avitalen Spermien getrennt und konnten weiter verarbeitet werden.

#### **2.9.3.7 Gewinnung von Hodengewebe**

Konnten keine Spermien durch Masturbation gewonnen werden, bestand die Möglichkeit der testikulären Spermienextraktion (TESE). Hierbei wurde chirurgisch aus einem der beiden Hoden ein kleines Gewebstück gewonnen.

##### **2.9.3.7.1 Aufbereitung nativen TESE-Materials**

Das gewonnene Hodengewebe wurde in einem sterilen Röhrchen mit 3ml Kulturmedium (HAM'S F-10) inkubiert und nach dem Eingriff auf dem schnellsten Weg in das IVF-Labor gebracht. Im Labor erfolgte die Zerkleinerung unter mikroskopischer Sicht mit einer Schere. Hierbei wurde versucht die Spermien aus den Samenkanälchen zu gewinnen. Im Anschluss wurde das zerstückelte Gewebe für 15-30 Minuten bei 37°C inkubiert. Mit Hilfe eines sterilen Zellsiebes wurden nun die Lösung und die Gewebstücke getrennt. Es folgte eine mikroskopische Überprüfung auf das Vorhandensein lebensfähiger Spermien.



### 2.9.3.7.2 Aufbereitung tief gefrorenen und wieder aufgetauten TESE-Materials

Nach dem Auftauen des Biopsates in einem vorgewärmten Wasserbad bei 37°C wurden die Gewebstücke in 1ml Kulturmedium bei 37°C gesetzt. Im Anschluss wurden die Gewebstücke mit einer Schere zerkleinert und für circa 30 Minuten bei 37°C inkubiert. Nach der Trennung der Gewebstücke von der Suspension durch einen Filter wurde die Flüssigkeit bei 800 U/min für 10 Minuten zentrifugiert. Es folgte die Verwerfung des Überstandes. Ein Teil des Pellets wurde daraufhin in einem 5µl Tropfen IVF Universal Medium (Medi Cult, Dänemark) unter Mineralöl inkubiert. Hierbei konnten die beweglichen Spermien aus dem Gewebe diffundieren. Diese Spermien wurden danach abpipettiert und in 5µl einer 10%igen Polyvinylpyrolidon-Lösung transferriert.

### 2.9.3.8 Fertilisation mittels IVF oder ICSI

Waren die reinen Spermien gewonnen, wurde nochmals, nach den Richtlinien der WHO die Konzentration und die Motilität bestimmt. Anhand der Parameter und der Indikationsliste nach KÜPKER et. al (1998) und STROWITZKI (2000) s. Kapitel 1.11.2 wurde die weitere Prozedur bei andrologischer Subfertilität mit den Paaren besprochen.

Tab. 4: Andrologische Subfertilität

|                                |  |
|--------------------------------|--|
| Leichte andrologische Störung  | 10-20 Millionen Spermien/ ml<br>30-40% Motilität<br>16-20% Morphologie |
| Mittlere andrologische Störung | 5-10 Millionen Spermien/ ml<br>20-30% Motilität<br>10-16% Morphologie  |
| Schwere andrologische Störung  | 0-5 Millionen Spermien/ ml<br>0-20% Motilität<br>0-10% Morphologie     |

Bei einer leichten Störung wurde zunächst die Durchführung einer intrauterinen Insemination (IUI) bis zu sechs Mal empfohlen. Bei einem Misserfolg wurde das IVF-Verfahren angewandt. Brachte dies nach zwei Durchgängen kein positives Ergebnis, entschied man sich für das ICSI-Verfahren.

Bei einer mittleren Störung versuchte man nur dreimal das IUI, im Anschluss ein IVF. War der Embryotransfer hierbei erfolglos, wurde das ICSI-Verfahren durchgeführt.

Patienten mit einer schweren Störung wurde direkt die Durchführung eines ICSI-Verfahrens empfohlen, je nach Ausgangslage eventuell sogar ein Mesa oder Tese.

#### **2.9.3.8.1 IVF**

Bei der IVF gab man zu den inkubierten Oozyten direkt die aufbereiteten Spermien hinzu. Die Spermien mussten hier selbst den Weg in die Oozyten finden.

#### **2.9.3.8.2 ICSI**

Zu den Indikationen für eine ICSI-Therapie zählten:

- Spermienkonzentration < 1 Million / ml
- Globozoospermie (Spermien ohne Akrosom)
- Hohe abnormale Spermienmorphologie (>85%)
- Mangelhafte Spermienmobilität (=axonale Defekte oder abnormale Entwicklung der Geißel)
- Antispermien-AK im Samen
- Ausbleibende Befruchtung nach zwei aufeinanderfolgenden Standard IVF-Behandlungen

Bei der ICSI erfolgte der Vorgang der Injektion des Spermiums unter 200-400 facher mikroskopischer Vergrößerung direkt in das Zytoplasma der Oozyten. Auf diese Weise wurden die Spermienmembran der Zona pellucida und die Oolemma Interaktion, die bei einer natürlichen Befruchtung als selektive Barriere agieren, künstlich umgangen. Hierzu benötigte man zunächst eine Petrischale (Falcon, BD Biosciences, Franklin Lakes, USA) in deren Mitte mehrere Tropfen von jeweils 3 µl einer 10%igen Polyvinylpyrrolidon Lösung (PVP-Medium, MediCult, Jylinge, Dänemark) aufgereiht werden. Dies dient zur Verhinderung des Anhaftens der Spermatozoen an der Injektionspipette. Zudem wird hierdurch die Eigenmotilität der Spermatozoen gebremst.

Nach der weiteren Präparation dieser PVP-Tropfen mit jeweils 1µl des aufbereiteten Spermias wurden beidseits der Tropfenreihe die Oozyten platziert. Hierzu dient 5µl Kulturmedium. Im Anschluss erfolgte die Überschichtung der kompletten Petrischale mit Mineralöl (OVOIL-100, Vitrolife, Schweden)

Unter einem Interphase Differentialmikroskop mit integrierter Wärmeplatte (Nikon/Narishige, Modell IM-69, Japan) wurde im Anschluss ein optimales, morphologisch normal wirkendes und motiles Spermium ausgewählt. Mit Hilfe des Mikromanipulator Sets, einer Injektionspipette (Nikon/Narishige, Modell MM-188, Japan) gelang es, das Spermium zu immobilisieren. Hierzu wurde mit der Spitze der Injektionspipette die Geißel verletzt.

Nach der Aspiration des immobilen Spermiums in die Injektionspipette, wurde die Oozyte mit einer Haltepipette (MPH-MED-35, Holding Micropipets, Humagen, Charlottesville, USA) fixiert. Ziel hierbei ist es, die Oozyte in einer Stellung zu fixieren, dass das Polkörperchen bei 6 Uhr oder 12 Uhr zu liegen kommt. Auf diese Weise versucht man eine Verletzung der Meiosespindel, die in diesem Bereich vermutet wird, während des Injektionsvorganges zu verhindern.

Im Anschluss folgte die Injektion des Spermiums in einer 3 Uhr Position. Hierbei aspirierte man etwas Zytoplasma, welches dann behutsam mit dem Spermium in die Eizelle eingebracht wurde. Es folgte das vorsichtige Zurückziehen der Injektionspipette.

Nachdem mehrmaligen Waschen der Oozyten in Kulturmedium, wurden diese anschließend für 18-24 Stunden bei 37°C und 6%igem CO<sub>2</sub> in G-IVF Plus (Vitrolife, Kugsbacka, Schweden) inkubiert.

Später erfolgte die Kontrolle der Oozyten auf die Anzeichen einer Befruchtung, mit Hilfe des Pronucleus-Scorings der Vorkerne. Präsentierten sich männliche und weibliche Anteile der Vorkerne, sprach man nun von einer befruchteten Eizelle. Nach Ludwig M, Rabe T 2004 werden zwischen 50 und 75% der Eizellen in der Regel befruchtet. Die Befruchtungsrate hängt demnach ab von der Zahl und Qualität der Eizelle, dem Alter der Patientin und dem Stimulationsprotokoll. Zusätzlich stellen die Qualität der Spermien und die Laborqualität entscheidende Parameter in der Befruchtungsrate dar.

Bei einem positiven Vorkernbefund wurde die Eizelle erneut für 24 Stunden in dem G-1 v5 Plus Medium (Vitrolife, Schweden) inkubiert, bevor eine weitere Begutachtung erfolgte. Eine Weiterkultivierung war auf die Anzahl von drei Oozyten beschränkt, bestand der Wunsch seitens der Patienten, konnten die übrigen Oozyten kryokonserviert werden.

#### **2.9.4 Transfer der Eizelle und Schwangerschaftstest**

Hatte sich die Eizelle nach den oben genannten 24 Stunden geteilt, sprach man von einem Embryo.

In dieser Phase, drei Tage nach der Follikelpunktion, war nun der Transfer möglich. Vor dem Transfer wurden die Oozyten in ein G-2 v5 PLUS Medium (Vitrolife, Schweden) umgesetzt.

In Homburg findet der Transfer der befruchteten Eizelle maximal vier Tage nach der Follikelpunktion statt.

In Anlehnung an das deutsche Embryonenschutzgesetz (§1 Abs. 1 Nr.3) wurden in einem Zyklus nicht mehr als drei Embryonen transferiert.

Hierzu wurde nach einer gründlichen Desinfektion der Scheide, die Portio eingestellt und die Embryonen mit Hilfe eines sterilen Einmalkatheters (Embryo Transfer Katheter Set, Labotect GmbH, Göttingen) in das Uteruskavum transferiert. Die optimale Transferstelle scheint hierbei etwa 2 cm unterhalb des Fundus uteri zu liegen. Es folgte die Kontrolle des Katheters, dass sich kein Embryo mehr im Katheter befand.

Nach einem erfolgreichen Transfer wurde der Patientin zur Lutealphasenunterstützung ein Progesteronzäpfchen verabreicht. Dieses soll die Einnistung der Eizelle in der Gebärmutter erleichtern. Das Progesteronzäpfchen wurde bei einem positiven Schwangerschaftsverlauf erst in der 12. Schwangerschaftswoche abgesetzt.

12 Tage nach dem Transfer wurde die Patientin zur Hormonkontrolle einbestellt. Ergibt der HCG-Wert hierbei eine Größe von über 40 IE, spricht man von einer biochemischen Schwangerschaft. Sind hingegen die HCG-Werte nicht angestiegen, muss der Patientin mitgeteilt werden, dass aus dem Transfer keine Schwangerschaft entstanden ist.

Ab der 12. Schwangerschaftswoche, nach Bestimmung der Herztonaktion, spricht man von einer intakten Schwangerschaft.

## 2.10 Kryokonservierung der Eizellen

Erreichte man während eines Stimulationszyklus, dass mehr als drei reife Eizellen aus dem Zyklus hervorgingen, konnte das Paar sich für eine Kryokonservierung entscheiden. Das deutsche Embryonenschutzgesetz verbietet ein Verwerfen großer Teile von Embryonen, auch das Verfahren der Embryonenforschung ist hierzulande unzulässig. Die Möglichkeit der Kryokonservierung gewährleistet überzählige Embryonen zu bewahren. Hierbei wurden die überzähligen Eizellen im Vorkernstadium eingefroren. Man setzte die Eizellen zunächst für 10 Minuten in die Einfrierlösung 1, im Anschluss für 10 Minuten in die Einfrierlösung 2 und danach in die Einfrierlösung 3. Ziel ist es hierbei die Zellen langsam an die Umgebung und den osmotischen Druckes zu gewöhnen, ohne sie zum Platzen zu bringen.

Nachdem die Zellen sich in Lösung 3 befanden, konnten sie problemlos in so genannte MINITÜB umgesetzt werden. Diese wurden dann mit Hilfe einer kleinen Metallkugel oder Plastikkugel verschlossen. Es folgte die Etikettierung (LABEXPERT) der Kassetten. Im Anschluss wurden die Kassetten in das Kryogerät (Kryo 10 Planer, Messer Griesheim) umgesetzt. Nach der Einstellung des Eizellefrierprogrammes folgte schrittweise die langsame Kryokonservierung. Die Eizellen wurden am Anfang hierzu um 2°C/min abgekühlt, bis eine Temperatur von -7°C erreicht wurde. Bei dieser Temperatur erfolgte der Vorgang des Seeding für ca. 10 Minuten. Im Anschluss kühlte die Temperatur sich um 0,3°C pro Minute ab, bis eine Temperatur von -30°C erreicht wurde. Von dieser Temperatur aus, betragen die Kühlungsschritte nun 20°C pro Minute, bis zu einer Zieltemperatur von unter -170°C.

Die Kassetten mit den gefrorenen Oozyten wurden dann in eine Kryotonne (Messer, Griesheim) überführt und ihre Lagerung protokolliert.

### Einfrier-Medien

Lösung 1: 100 ml PBS- Gebrauchslösung

Lösung 2: 1,5 M ; 1,2 Propandiol in PBS

(Ansatz: 86,3 ml PBS + 13,7 ml Propandiol)

Lösung 3: 1,5 M; 1,2 Propandiol und 0,1 M Saccharose

(Ansatz: 86,3 ml PBS + 13,7 ml Propandiol + 4,2 g Saccharose)

Die Lösungen wurden steril filtriert, mit 10% inaktiviertem Patientenserum verdünnt, in 4 ml Röhren gefüllt und bei -20°C bis zum Gebrauch tiefgefroren.

## **2.11 Kryotransfer der Eizellen**

### **2.11.1 Vorbereitung der Patientin zum Eizelletransfer / KAUFMANN-Schema**

Ist es im Vorfeld gelungen PN-Stadien zu kryokonservieren. Entschloss sich ein Paar zu einem Transfer ihrer zuvor kryokonservierten Oozyten, so wurden die Patienten auf diesen vorbereitet. Der Transfer erfolgte bei ovulatorischen Zyklen von einer Länge zwischen 26 und 35 Tagen entweder im Spontanzyklus, oder aber die Frau wurde zuvor hormonell stimuliert. Diese hormonelle Stimulation richtete sich nach dem sogenannten KAUFMANN-Schema

Das Ziel des KAUFMANN-Schemas war hierbei eine zyklusgerechte Substitution von Östrogenen und Gestagenen zum Aufbau der Endometriumschleimhaut.

Bei geringen Zyklusstörungen, Oligomenorrhoe oder anovulatorischen Zyklen wurde die Patientin mit Clomifen zwischen dem 3. und 8. Zyklustag stimuliert. Zum Ovulationszeitpunkt wurde die Ovulation mit 10.000 IE  $\beta$ -HCG (z.B. mit Ovitrelle) ausgelöst. Einen Tag danach war der Eizelletransfer nun möglich.

Frauen, die hingegen eine schwere Zyklusstörung aufwiesen, mussten schon im Vorzyklus mit einer Therapie beginnen.

Hierzu wurde mit Hilfe von GnRH-Analoga um den 20. Zyklustag im Vorzyklus mit einer Down-Regulation der Hypophyse begonnen.

Verwendete Präparate waren hierbei; Decapeptyl 0,1, Synarela, Suprecur und Zoladex Gyn. Nach ca. 14 Tagen folgte die Stimulation mit einem Östradiolderivat in einer ansteigenden Dosierung. Östradiolderivate, die in Homburg eingesetzt wurden, waren hierbei Estradiol, Gynokadin, Merimono.

Eine Substitution der gesamten Ovarialfunktion durch Östrogengabe vom 5.-25. Zyklustag und zusätzlicher Gestagengabe vom 16.-25. Zyklustag wurde durchgeführt (SCHMIDT-MATTHISEN, WALLWIENER 2005).

Mit Hilfe sonografischer Kontrolle wurde der Zeitpunkt für den Transfer der Eizellen bestimmt.

Erreichte man eine Endometriumsdicke von mindestens 8 mm, wurden der Patientin täglich vaginale Progesteronzäpfchen (Utrogest, Crinone 8%) zur Lutealphasenunterstützung verabreicht. Die Oozyten konnten nun für den Transfer vorbereitet werden.

Hatte das Endometrium hingegen noch nicht die optimale Dicke erreicht, so musste die Proliferationsphase unter sonografischer Kontrolle verlängert werden.

### **2.11.2 Auftauen der Eizellen**

Nach dem Aufsuchen der richtigen Eizellekassette und Vergleich der Patientendaten mit den Kassettenetiketten, wurden die Straws in einen Übergangsbhälter mit flüssigem Stickstoff überführt. Aus diesem flüssigen Stickstoff legte man sie später für 10 Sekunden in ein Wasserbad bei 37°C. Der Inhalt der Minitubes wurde im Anschluss in eine Petrischale umgefüllt.

Danach folgte die schrittweise Rehydrierung in Auftaulösungen mit abnehmender Gefrierschutzmittelkonzentration. Zuerst wurden die Eizellen in die Auftaulösung 1 für 10 Minuten gegeben, im Anschluss für weitere 10 Minuten in die Auftaulösung 2 und folgend in die Auftaulösung 3. War man danach bei der Auftaulösung 4 angelangt, erfolgte das problemlose Umsetzen aus dieser Lösung in das Kulturmedium. Die Zellen wurden hinsichtlich ihres PN-Stadiums unter dem Mikroskop begutachtet.

Nach dem Auftauen war ein direkter Transfer der Zellen im PN-Stadium in dem Medium G2-v5 plus möglich. Die Oozyten konnten aber auch noch in dem Medium G1 weiterkultiviert werden, bevor man sie ins G2-v5 plus umsetzte um sie zu transferieren.

#### Auftau-Medien

Lösung 1: 1M 1,2-Propandiol, 0,2 M Saccharose in PBS

(Ansatz: 90,9 ml PBS + 9,1 Propandiol + 8,2 Saccharose)

Lösung 2: 0,5 M 1,2-Propandiol, 0,2 M Saccharose in PBS

(Ansatz: Mischung aus Lösung 1 und Lösung 3 im Verhältnis 1:1)

Lösung 3: 0,2 M Saccharose in PBS

(Ansatz: 100 ml PBS + 8,2 g Saccharose)

Lösung 4: 100 ml PBS- Gebrauchslösung

Die Lösungen wurden steril filtriert, mit 10% inaktiviertem Patientenserum verdünnt, in 4 ml Röhren gefüllt und bei -20°C bis zu ihrem Gebrauch tiefgefroren.

### **2.11.3 Transfer der kryokonservierten Eizellen und Schwangerschaftstest**

In Anlehnung an Kapitel 2.9.4 erfolgte auf gleiche Weise der Transfer der kryokonservierten Eizelle, sowie die hormonelle Blutbestimmung des b-HCG nach einem Verlauf von zwei Wochen.

## Ergebnisse

### 3.1 Patientenkollektiv

Die folgende Tabelle bietet einen Überblick über die Patientinnendaten, neben dem Alter und dem BMI wurde auch für jede Patientin ein Durchschnittswert ihrer Eizelleparameter aufgeführt, da nicht jede Patientin die gleiche Anzahl von Behandlungszyklen aufwies.

Tab. 5: Gesamtübersicht Patientenkollektiv

|                                   | MW±SD              | Median | Minimum | Maximum |
|-----------------------------------|--------------------|--------|---------|---------|
| Alter [Jahre]                     | 33,05±4,38 [n=298] | 33,21  | 19,92   | 45,50   |
| BMI [kg/m <sup>2</sup> ]          | 23,43±4,05 [n=289] | 22,58  | 16,81   | 39,19   |
| Anzahl gewonnener Eizellen        | 11,61±5,19 [n=298] | 10,50  | 2,00    | 31,00   |
| Anzahl befruchteter Eizellen      | 7,03±3,50 [n=298]  | 6,00   | 2,00    | 22,00   |
| Anzahl transferierter Eizellen    | 1,94±,66 [n=298]   | 2,00   | 0,00    | 3,00    |
| Anzahl kryokonservierter Eizellen | 4,82±3,73 [n=298]  | 4,00   | 0,40    | 20,00   |

Insgesamt wurden 298 Patientinnen untersucht, die im Durchschnitt 33,05±4,38 Jahre alt waren, wovon die älteste ein Alter von 45,50 und die Jüngste ein Alter von 19,92 hatte. Der durchschnittliche BMI konnte nur bei 289 Patientinnen ermittelt werden, der Mittelwert mit Standardabweichung lag hier bei 23,43±4,05, mit einem Maximum von 39,19 und einem Minimum von 16,81.

Bei den 298 Patientinnen wurden im Mittel 11,61±5,19 Eizellen gewonnen, die höchste Anzahl der Eizellen betrug hier 31,00 und die geringste Anzahl 2,00. Bei den befruchteten Eizellen mit einem Mittelwert mit Standardabweichung von 7,03±3,50 betrug das Maximum der befruchteten Eizellen 22,00 und das Minimum 2,00 Eizellen. Es wurden den Patientinnen im Schnitt 1,94±0,66 Eizellen transferiert, mit einem Maximum von 3,00 Eizellen und ein Minimum von 0,00 Eizellen.

Die Anzahl der kryokonservierten Eizellen betrug im Schnitt 4,82±3,73 Eizellen, wobei als Maximum hier ein Wert von 20,00 Eizellen und als Minimum ein Wert von 0,40 Eizellen erreicht wurde.



## 3.2 Zusammenhang zwischen dem Alter der Patientin und den ART-Ergebnissen von PN-Zellen sowie der Schwangerschafts- und Geburtsrate

### 3.2.1 Vergleiche der Eizelleparameter bezüglich der Altersgruppen

In den folgenden Tabellen werden die einzelnen Altersgruppen (Altersgruppe 1 (Patientinnen zwischen 18 und 30 Jahre), Altersgruppe 2 (Patientinnen zwischen 31 und 35 Jahren) und Altersgruppe 3 (Patientinnen zwischen 36 und 50 Jahren) bezüglich ihrer ART-Ergebnisse der PN-Zellen (gewonnene Eizellen, befruchtete Eizellen, transferierte Eizellen, kryokonservierte Eizellen) miteinander verglichen.

Tab. 6: Vergleich der Altersgruppen anhand der ART-Ergebnisse der PN-Zellen

|                                   | G 1 (18 - 30)<br>[n=69] | G 2 (31 -35)<br>[n=135] | G 3 (36 - 50)<br>[n=93] | p-Wert |
|-----------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|--------|
|                                   | MW±SD                   | MW±SD                   | MW±SD                   |        |
| Anzahl gewonnener Eizellen        | 12,69±5,06              | 11,56±5,18              | 10,88±5,23              | 0,09   |
| Anzahl befruchteter Eizellen      | 7,65±3,86               | 6,93±3,46               | 6,75±3,26               | 0,24   |
| Anzahl transferierter Eizellen    | 1,76±0,73               | 1,93±0,59               | 2,09±0,68               | 0,01   |
| Anzahl kryokonservierter Eizellen | 5,56±4,25               | 4,79±3,66               | 4,33±3,38               | 0,12   |

Es zeigte sich bezüglich der Anzahl der gewonnenen Eizellen folgendes Ergebnis: In der Altersgruppe G1 (12,69±5,06) in der Altersgruppe G2 (11,56±5,18) im Vergleich hierzu die Altersgruppe G3 (10,88±5,33).

Die Anzahl der befruchteten Eizellen unterschied sich folgendermaßen bezüglich der Altersgruppen: In der Altersgruppe G1 (7,65±3,86), in der Altersgruppe G2 (6,93±3,46) in der Altersgruppe G3 (6,75±3,27).

Hinsichtlich der transferierten Eizellen betrug die Verteilung in der Altersgruppe G1 (1,76 ±0,73), in der Altersgruppe G2 (1,93±0,59) in der Altersgruppe G3 (2,09±0,68). In der Anzahl der kryokonservierten Eizellen bestanden folgende Mittelwert- und Standardabweichungen zwischen den Altersgruppen: Altersgruppe G1 (5,56±4,25), Altersgruppe G2 (4,79±3,66), Altersgruppe G3 (4,33±3,39).

Bei der Anzahl der transferierten Eizellen konnte ein signifikanter Unterschied mit p=0,01 zwischen den Altersgruppen nachgewiesen werden.

### 3.2.2 Paarweiser Vergleich der Altersgruppen

Tab. 7: Paarweiser Vergleich der Altersgruppen

| Vergleich der Altersgruppe | Anzahl gewonnener Eizellen<br>p-Wert | Anzahl befruchteter Eizellen<br>p-Wert | Anzahl transferierter Eizellen<br>p-Wert | Anzahl kryokonservierter Eizellen<br>p-Wert |
|----------------------------|--------------------------------------|--|--|---|
| G1-G2                      | 0,423                                | 0,500                                  | 0,270                                    | 0,493                                       |
| G1-G3                      | 0,083                                | 0,325                                  | 0,005                                    | 0,117                                       |
| G2-G3                      | 0,976                                | 1,000                                  | 0,173                                    | 1,000                                       |

Es zeigte sich beim Vergleich der Altersgruppen G1 (18-30 Jahre), G2 (31-35Jahre), G3 (36-50Jahre) bezüglich ihrer p-Werte ein signifikanter Unterschied zwischen der Altersgruppe G1 und G3 anhand der transferierten Eizellen, mit  $p=0,005$ . Alle anderen Parameter waren nicht signifikant.

### 3.2.3 Einfluss des Alters der Patientin auf die Schwangerschafts- und Geburtsrate während eines Behandlungszyklus

Tab. 8: Zusammenhang zwischen dem Alter der Patientinnen und der Schwangerschafts-, Geburtsrate

| Altersgruppe [Jahre] | Schwangerschaftsrate    | Geburtsrate            |
|----------------------|-------------------------|------------------------|
| G 1 (18-30)          | (n= 123)<br>23 (18,7%)  | (n= 120)<br>13 (10,8%) |
| G 2 (31-35)          | (n= 271)<br>59 (21,8%)  | (n= 257)<br>21 (8,2%)  |
| G 3 (36 -50)         | (n= 237)<br>40 (16,9%)  | (n= 224)<br>8 (3,6%)   |
| Gesamt               | (n= 631)<br>122 (19,3%) | (n= 601)<br>42 (7,0%)  |
| p-Wert               | 0,371                   | 0,026                  |

Es konnte mit  $p=0,371$ ,  $p=0,026$  ein signifikanter Einfluss des Alters auf die Geburtsrate festgestellt werden. Die Schwangerschaftsrate bleibt vom Alter der Patientin unbeeinflusst.

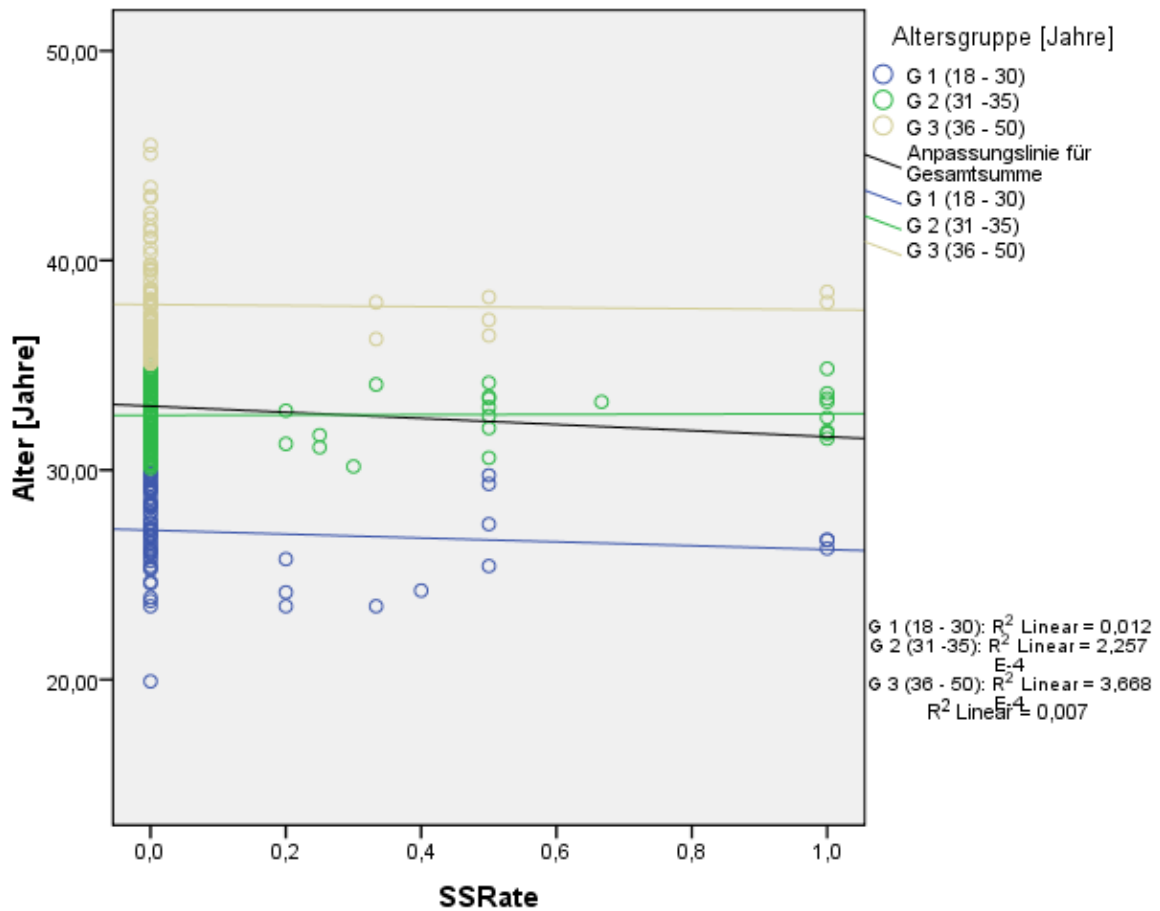


Abb. 8: Korrelationsdiagramm: Alter der Patientinnen und der Schwangerschaftsrate

Eine Korrelationsberechnung mittels Spearman-Rho stellte mit 0,118 keinen Zusammenhang zwischen dem Alter der Patientinnen und der Schwangerschaftsrate da.

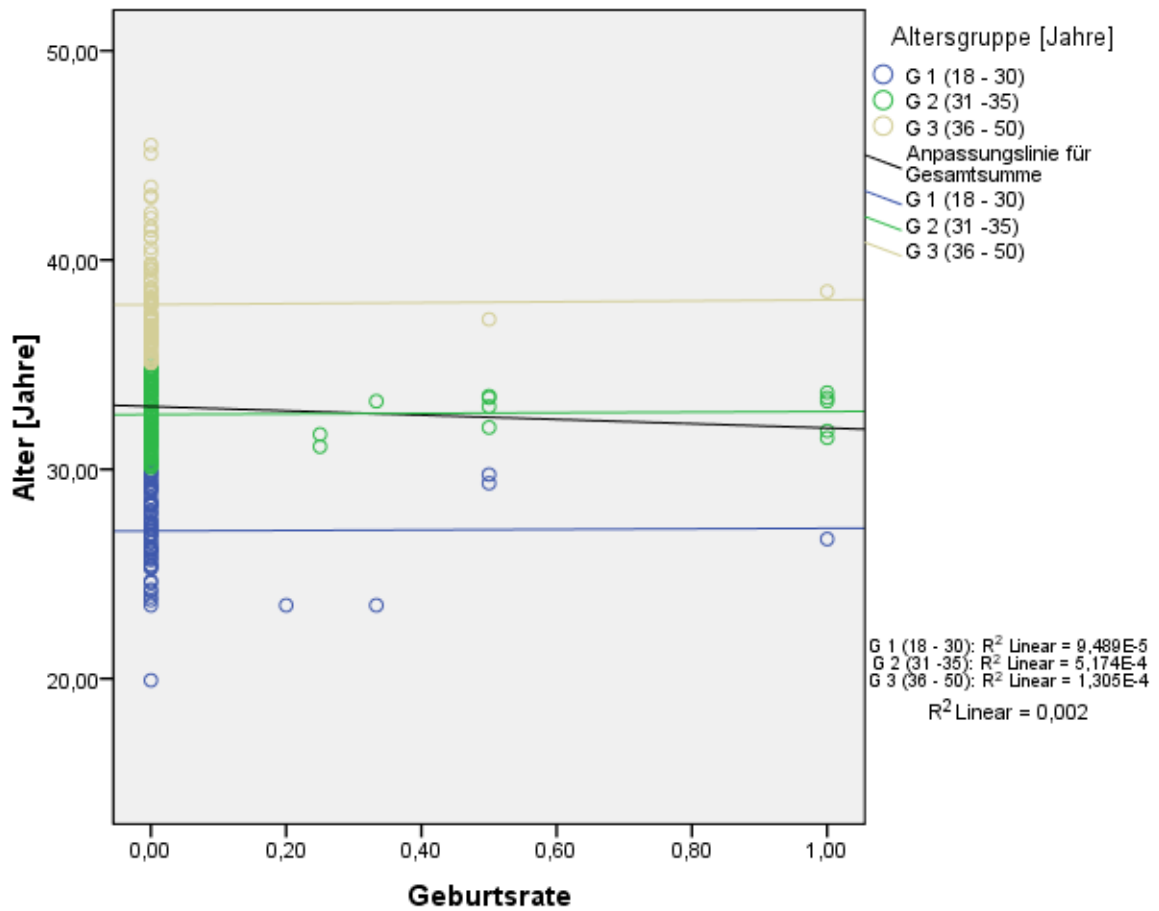


Abb. 9: Korrelationsdiagramm: Alter der Patientinnen und der Geburtsrate

Die Berechnung der Korrelation zwischen dem Alter der Patientinnen und der Geburtsrate zeigte nach Spearman-Rho mit einem Korrelationskoeffizienten von 0,084 keinen Zusammenhang zwischen diesen Parametern.

### 3.3 Einfluss des BMI der Patientin auf die ART-Ergebnisse der PN-Zellen sowie auf die Schwangerschafts- und Geburtsrate

#### 3.3.1 Vergleich der ART-Ergebnisse der PN-Zellen bezüglich der BMI-Gruppen

In der folgenden Tabelle werden die einzelnen BMI Gruppen (BMI-Gruppe 1 (BMI zwischen 0 und 19), BMI-Gruppe 2 (BMI zwischen 19,01 und 24), BMI-Gruppe 3 (BMI zwischen 24,01 und 30) und BMI Gruppe 4 (BMI zwischen 30,01 und 50)) bezüglich der ART-Ergebnisse der PN-Zellen (gewonnene Eizellen, befruchtete Eizellen, transferierte Eizellen, kryokonservierte Eizellen) miteinander verglichen.

Tab. 9: Vergleich der BMI-Gruppen bezüglich der ART-Ergebnisse von PN-Zellen

|                                   | G 1<br>(0-19)<br>[n=19] | G 2<br>(20-24)<br>[n=172] | G 3<br>(25-30)<br>[n=76] | G 4<br>(31-50)<br>[n=22] | p-Wert |
|-----------------------------------|-------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|--------|
|                                   | MW±SD                   | MW±SD                     | MW±SD                    | MW±SD                    |        |
| Anzahl gewonnener Eizellen        | 11,16±4,87              | 11,59±5,05                | 11,33±5,50               | 11,19±4,74               | 0,96   |
| Anzahl befruchteter Eizellen      | 7,79±4,19               | 7,10±3,55                 | 6,59±3,36                | 6,39±2,87                | 0,43   |
| Anzahl transferierter Eizellen    | 1,98±0,81               | 1,94±0,57                 | 1,95±0,76                | 1,78±0,73                | 0,72   |
| Anzahl kryokonservierter Eizellen | 5,70±4,44               | 4,79±3,76                 | 4,48±3,66                | 4,38±3,08                | 0,60   |

Bezüglich der Anzahl der gewonnenen Eizellen zeigte sich folgendes Ergebnis zwischen den vier BMI-Gruppen: BMI-Gruppe 1 (11,16±4,87), BMI-Gruppe 2 (11,6±5,05), BMI-Gruppe 3 (11,33±5,50) sowie BMI-Gruppe 4 (11,19±4,74).

Hinsichtlich der Anzahl der befruchteten Eizellen stellte sich folgende Verteilung dar:

BMI-Gruppe 1 (7,79±4,19), BMI-Gruppe 2 (7,10±3,55),

BMI-Gruppe 3 (6,59 ±3,36), sowie BMI-Gruppe 4 (6,39±2,87).

Die Mittelwerte und Standardabweichungen zwischen den Gruppen, hinsichtlich der Anzahl an transferierten Eizellen betragen: BMI-Gruppe 1 (1,98±0,81), BMI-Gruppe 2 (1,94 ±0,57), BMI-Gruppe 3 (1,95±0,76), sowie BMI-Gruppe 4 (1,78±0,73).

Die Verteilung der Ergebnisse bei der Anzahl der kryokonservierten Eizellen brachte folgende Auswertung: BMI-Gruppe 1 (5,70±4,44), BMI-Gruppe 2 (4,79±3,76), BMI-Gruppe 3 (4,48±3,66), sowie BMI-Gruppe 4 (4,38±3,08).

Es konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem BMI und den ART-Ergebnissen der PN-Zellen gefunden werden.

### 3.3.2 Auswirkung des BMI auf die Schwangerschafts- und Geburtsrate

Tab. 10: Kreuztabelle: Zusammenhang zwischen dem BMI der Patientinnen und der Schwangerschafts-, Geburtsrate

| BMI-Gruppe [kg/m2] | Schwangerschaftsrate    | Geburtsrate           |
|--------------------|-------------------------|-----------------------|
| G 1 (0-19)         | (n= 31)<br>7 (22,6%)    | (n=27)<br>2 (7,4%)    |
| G 2 (20-24)        | (n= 367)<br>72 (19,6%)  | (n= 350)<br>29 (8,3%) |
| G 3 (25-30)        | (n= 177)<br>33 (18,6%)  | (n= 169)<br>10 (5,9%) |
| G 4 (31-50)        | (n= 46)<br>7 (15,2%)    | (n= 45)<br>0 (0,0%)   |
| Gesamt             | (n= 621)<br>119 (19,2%) | (n= 591)<br>41 (6,9%) |
| p-Wert             | 0,855                   | 0,156                 |

Mit  $p = 0,156$  stellte sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem BMI der Patientin und einer daraus erhöhten oder erniedrigten Geburtsrate dar.

Auch bei der Überprüfung des Zusammenhanges bezüglich der Schwangerschaftsrate konnte mit  $p=0,855$  kein signifikanter Zusammenhang festgestellt werden.

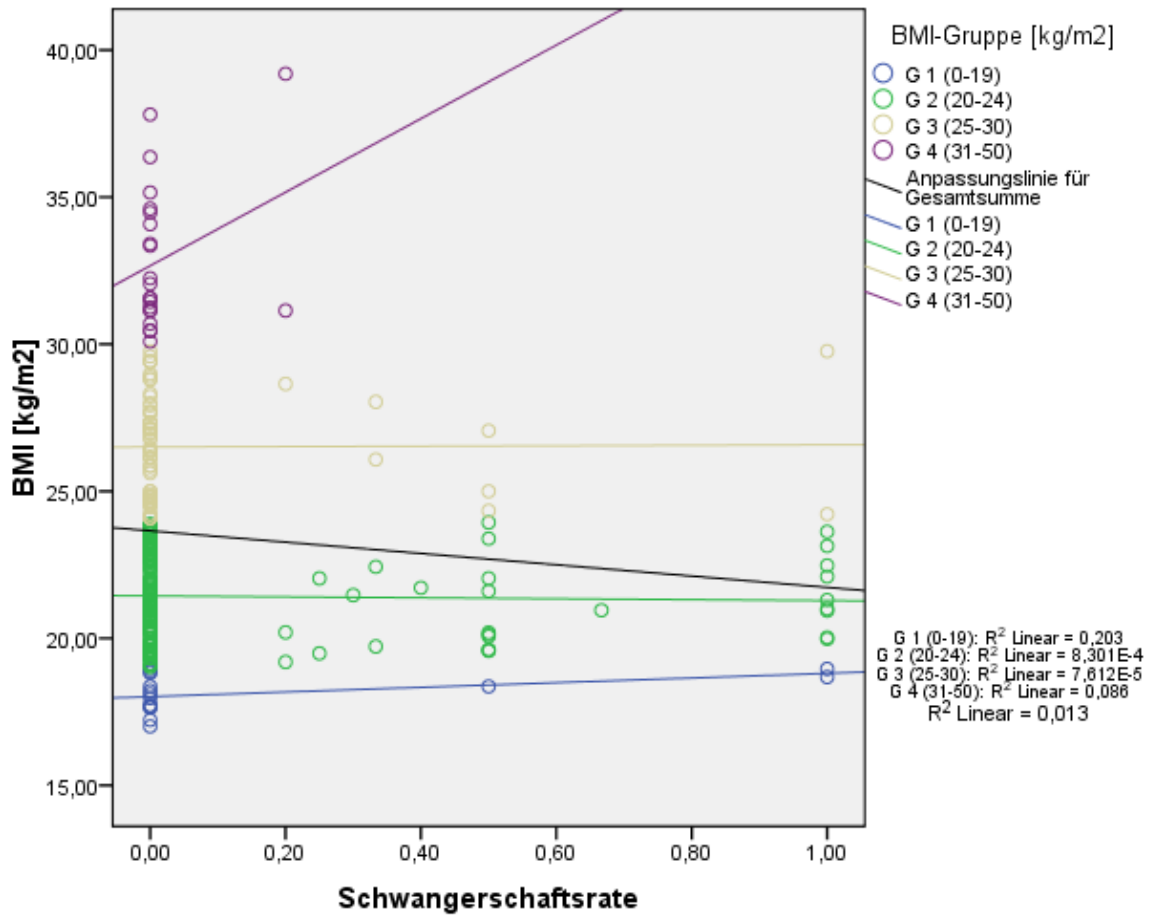


Abb. 10: Korrelationsdiagramm: BMI der Patientinnen und Schwangerschaftsrate

Eine Korrelationsberechnung mittels Spearman-Rho stellte mit 0,111 keinen Zusammenhang zwischen dem BMI der Patientinnen und der Schwangerschaftsrate da.

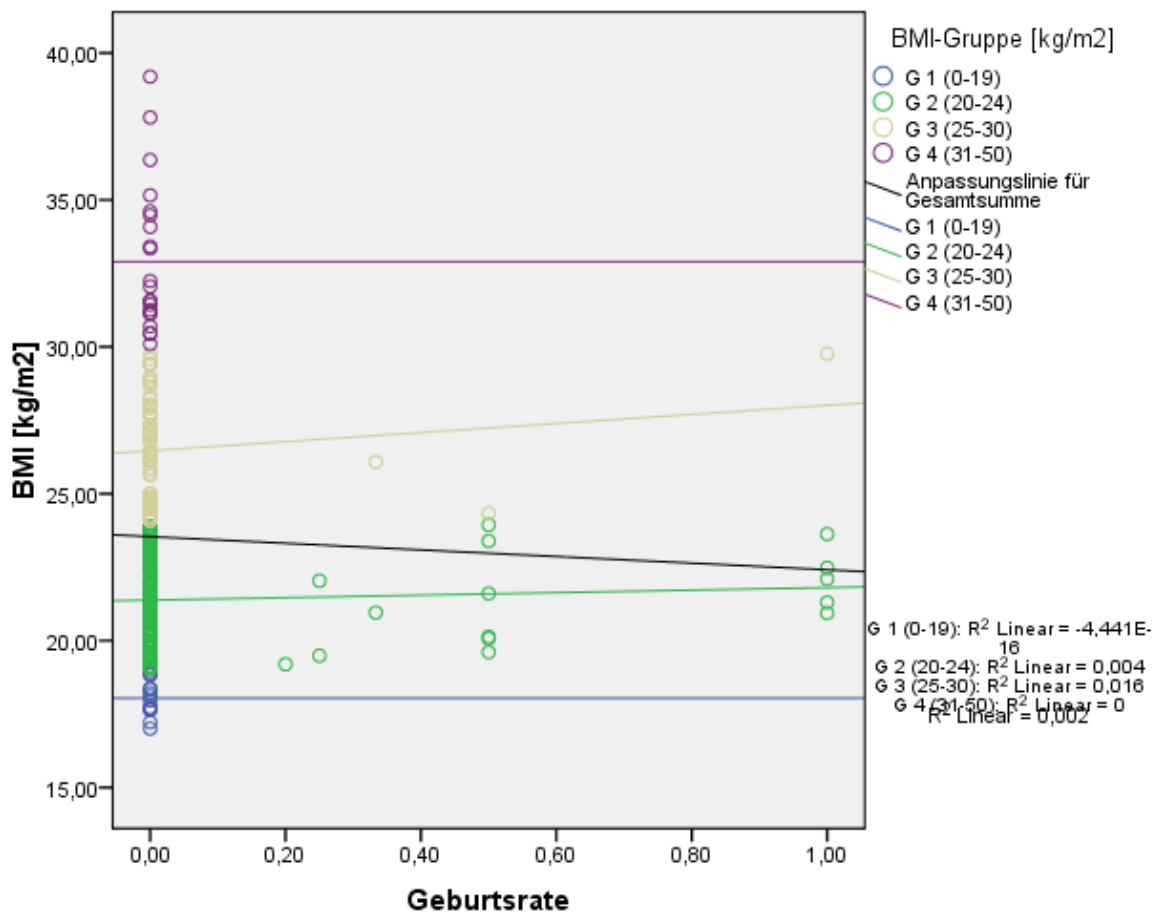


Abb. 11: Korrelationsdiagramm: BMI der Patientinnen und Geburtsrate

Die Berechnung der Korrelation zwischen dem BMI der Patientinnen und der Geburtsrate zeigte nach Spearman-Rho mit einem Korrelationskoeffizienten von 0,065 keinen Zusammenhang zwischen diesen Parametern.



### 3.4 Auswirkungen der kontrollierten ovariellen Hyperstimulation auf die ART-Ergebnisse der PN-Zellen, sowie auf die Schwangerschafts- und Geburtsrate

#### 3.4.1 Auswirkung der kontrollierten ovariellen Hyperstimulation auf die ART-Ergebnisse der PN-Zellen

Folgende Stimulationsformen wurden bei den Patientinnen in die Auswertung mit einbezogen:

Tab. 11: Stimulationsformen der Patientinnen

| Stimulationsform                         | Anzahl der Patientinnen mit dieser Stimulationsform |         |
|--|---|---------|
| Stimulationsform 1 mit HMG               | 29  | (4,6%)  |
| Stimulationsform 2 mit rekombinantem FSH | 379   | (60,2%) |
| Stimulationsform 3 Mischstimulation      | 222   | (35,2%) |

Tab. 12: Vergleich der verschiedenen kontrollierten ovariellen Hyperstimulationsformen anhand der ART-Ergebnissen der PN-Zellen

|                                   | G 1<br>(HMG)<br>[n=29] | G 2<br>(rFSH)<br>[n=379] | G 3<br>(HMG+rFSH)<br>[n=222] | p-Wert |
|-----------------------------------|------------------------|--------------------------|------------------------------|--------|
|                                   | MW±SD                  | MW±SD                    | MW±SD                        |        |
| Anzahl gewonnener Eizellen        | 9,1±4,19               | 11,41±6,00               | 9,99±4,92                    | 0,003  |
| Anzahl befruchteter Eizellen      | 5,21±3,19              | 6,74±4,14                | 5,67±3,46                    | 0,002  |
| Anzahl transferierter Eizellen    | 1,9±1,01               | 1,91±0,84                | 2,13±0,80                    | 0,009  |
| Anzahl kryokonservierter Eizellen | 3,14±3,41              | 4,31±4,34                | 3,36±3,47                    | 0,011  |

Hinsichtlich der drei Stimulationsprotokolle mit HMG, rekombinantem FSH oder der beiden Präparaten zusammen, konnten signifikante Unterschiede im Bezug auf die Eizelleparameter gefunden werden. Die Ergebnisse betragen, bezüglich der gewonnenen Eizellen  $p=0,003$ , bezüglich der befruchtete Eizellen  $p=0,002$ , bezüglich der transferierten Eizellen  $p=0,009$ , bezüglich der kryokonservierten Eizellen  $p=0,011$ .

Diese Signifikanzunterschiede wurden genauer überprüft. Die drei Stimulationsgruppen wurden hierbei jeweils paarweise verglichen.

Tab. 13: Paarweiser Vergleich der drei Stimulationsprotokolle hinsichtlich ihrer Signifikanz

| Vergleich der Altersgruppe | Anzahl gewonnener Eizellen<br>p-Wert | Anzahl befruchteter Eizellen<br>p-Wert | Anzahl transferierter Eizellen<br>p-Wert | Anzahl kryokonservierter Eizellen<br>p-Wert |
|----------------------------|--------------------------------------|--|--|---|
| G1-G2                      | 0,096                                | 0,123                                  | 1,000                                    | 0,390                                       |
| G1-G3                      | 1,000                                | 1,000                                  | 0,490                                    | 1,000                                       |
| G2-G3                      | 0,008                                | 0,004                                  | 0,008                                    | 0,015                                       |

Es zeigte sich ein signifikanter Unterschied bezüglich aller ART-Ergebnisse der PN-Zellen zwischen der Gruppe 2 (rFSH) und der Gruppe 3 (rFSH+HMG). Die übrigen Ergebnisse waren nicht signifikant.

### 3.4.2 Schwangerschaftshäufigkeit bei den einzelnen Stimulationsformen

Folgende Tabelle zeigt die Anzahl der Schwangerschafts- und Geburtsraten bei den einzelnen Stimulationsprotokollen.

Tab. 14: Zusammenhang zwischen den kontrollierten ovariellen Stimulationsprotokollen und der Schwangerschafts-, Geburtsrate vor dem Kryotransfer

| Stimulationsgruppe | Schwangerschaftsrate    | Geburtsrate           |
|--------------------|-------------------------|-----------------------|
| G 1 (HMG)          | (n=29)<br>5 (17,2%)     | (n=25)<br>0 (0,0%)    |
| G 2 (rFSH)         | (n=379 )<br>75 (19,8%)  | (n=366)<br>28 (7,7%)  |
| G 3 (HMG+rFSH)     | (n=221)<br>42 (19,0%)   | (n=208)<br>14 (6,7%)  |
| Gesamt             | (n=629 )<br>122 (19,4%) | (n=599 )<br>42 (7,0%) |
| p-Wert             | 0,930                   | 0,343                 |

Es konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen einem Stimulationsprotokoll der kontrollierten ovariellen Hyperstimulation und der Schwangerschaftsrate ( $p=0,930$ ) oder der Geburtsrate ( $p= 0,343$ ) festgestellt werden.

### 3.5 Nikotinkonsum und dessen Auswirkung auf die Eizelleparameter

Im Folgenden werden die Eizelleparameter hinsichtlich des Nikotinkonsums zwischen Raucherinnen und Nichtraucherinnen verglichen. Ebenso wird die Anzahl der resultierenden Schwangerschaften zwischen den Raucherinnen und den Nichtraucherinnen verglichen. Tabelle 15 stellt die Verteilung der Patientinnen hinsichtlich ihres Nikotinkonsums dar. Bei zwei Patientinnen fehlten diesbezüglich die Angaben.

Tab. 15: Nikotinkonsum der Patientinnen

|                     | Häufigkeit (n) | Prozent (%) |
|---------------------|----------------|-------------|
| Raucherinnen        | 50             | 16,9        |
| Nichtraucherinnen   | 246            | 83,1        |
| <b>Gesamtanzahl</b> | 296            | 100         |

#### 3.5.1 Einfluss des Nikotinkonsums auf die ART-Ergebnisse der PN-Zellen

Tab. 16: Zusammenhang zwischen dem Nikotinkonsum und den ART-Ergebnisse der PN-Zellen

|                                   | Raucher<br>[n=110] | Nichtraucher<br>[n=520] | p-Wert |
|-----------------------------------|--------------------|-------------------------|--------|
|                                   | MW±SD              | MW±SD                   |        |
| Anzahl gewonnener Eizellen        | 11,55±5,85         | 10,64±5,54              | 0,12   |
| Anzahl befruchteter Eizellen      | 6,75±4,16          | 6,17±3,85               | 0,16   |
| Anzahl transferierter Eizellen    | 1,95±0,84          | 2,0±0,84                | 0,64   |
| Anzahl kryokonservierter Eizellen | 4,28±4,48          | 3,83±3,94               | 0,28   |

Anhand der Signifikanzprüfung konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Konsum von Nikotin und den Eizelleparametern festgestellt werden.

### 3.5.2 Einfluss des Nikotinkonsums auf die Schwangerschafts- und Geburtsrate

Tab. 17: Kreuztabelle: Zusammenhang zwischen dem Konsum von Nikotin und der Schwangerschafts-, Geburtsrate

| <b>Nikotinkonsum<br/>(&gt;20 Zigaretten/Tag)</b> | <b>Schwangerschaftsrate</b> | <b>Geburtsrate</b>    |
|--|-----------------------------|-----------------------|
| Raucherinnen (50)                                | (n=110 )<br>18 (16,4%)      | (n= 104)<br>7 (6,7%)  |
| Nichtraucherinnen (246)                          | (n= 519)<br>103 (19,8%)     | (n= 495)<br>35 (7,1%) |
| Gesamt   | (n= 629)<br>121 (19,2%)     | (n= 599)<br>42 (7,0%) |
| p-Wert   | 0,400                       | 0,902                 |

Die Nichtraucherinnen erreichten hinsichtlich der Schwangerschaftsrate einen Wert von 19,8%, von den Raucherinnen hingegen wurden nur 16,4% schwanger.

Mit  $p= 0,400$  bestand somit kein direkter Zusammenhang zwischen dem Nikotinkonsum der Patientin und der Schwangerschaftsrate.

Bezüglich der Signifikanzprüfung zwischen dem Konsum von Nikotin seitens der Patientinnen und der Geburtsrate konnte mit  $p= 0,902$  ebenfalls kein direkter Einfluss des Nikotinkonsums auf die Geburtsrate nachgewiesen werden.

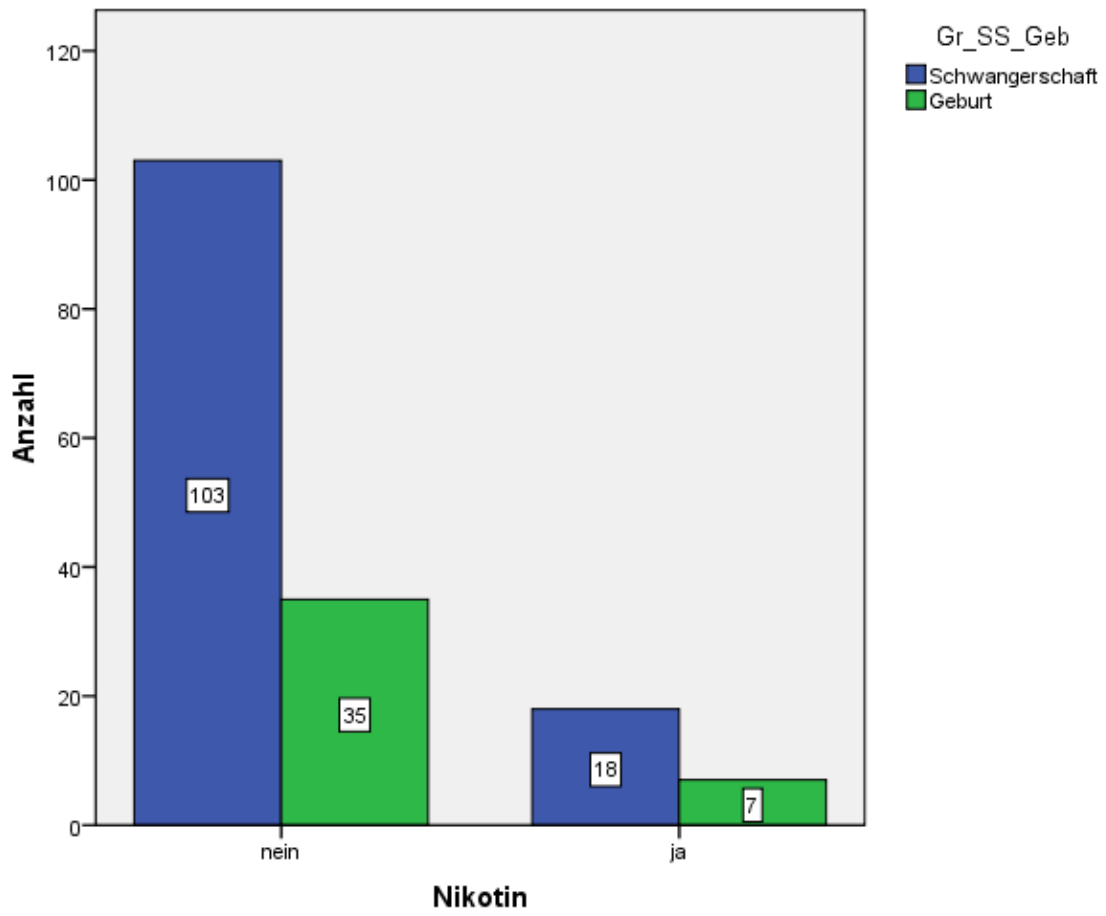


Abb. 12: Balkendiagramm: Schwangerschafts- und Geburtsrate im Bezug zum Nikotinkonsum

### 3.6 Zusammenhang zwischen den Verfahren ICSI / IVF und den Werten; Eizelleparameter, Alter, BMI

#### 3.6.1 Zusammenhang zwischen den reproduktiven Verfahren ICSI/IVF und den ART-Ergebnissen der PN-Zellen

Tab. 18: Vergleich zwischen ICSI/IVF und den ART-Ergebnissen der PN-Zellen, sowie Alter, BMI

|                                   | ICSI             | IVF              | p-Wert |
|-----------------------------------|------------------|------------------|--------|
|                                   | MW±SD<br>(n=429) | MW±SD<br>(n=202) |        |
| Alter [Jahre]                     | 33,58±4,47       | 34,11±4,07       | 0,151  |
| BMI [kg/m <sup>2</sup> ]          | 23,29±3,95       | 24,18±4,02       | 0,009  |
| Anzahl gewonnener Eizellen        | 10,74±5,33       | 10,87±6,08       | 0,799  |
| Anzahl befruchteter Eizellen      | 6,14±3,32        | 6,56±4,96        | 0,212  |
| Anzahl transferierter Eizellen    | 2,07±0,76        | 1,84±0,96        | 0,001  |
| Anzahl kryokonservierter Eizellen | 3,75±3,57        | 4,25±4,89        | 0,146  |

Ein signifikanter Zusammenhang zwischen den Verfahren ICSI und IVF konnte im Bezug auf den BMI ( $p=0,009$ ) und die Anzahl der transferierten Eizellen ( $p=0,001$ ) gefunden werden.

#### 3.6.2 Schwangerschafts- und Geburtsraten bei ICSI und IVF

Tab.19: Kreuztabelle: Schwangerschafts- und Geburtsraten bei ICSI und IVF

| Reproduktive Verfahren | Schwangerschaftsrate    | Geburtsrate          |
|------------------------|-------------------------|----------------------|
| ICSI                   | (n= 429)<br>89 (20,7%)  | (n=405)<br>33 (8,1%) |
| IVF                    | (n= 201)<br>33 (16,4%)  | (n=195)<br>9 (4,6%)  |
| Gesamt                 | (n= 630)<br>122 (19,4%) | (n=600)<br>42 (7%)   |
| p-Wert                 | 0,200                   | 0,112                |

Die Prüfung der reproduktiven Verfahren bezüglich der Schwangerschaftsrate ( $p=0,200$ ) und der Geburtsrate ( $p=0,112$ ) stellte keinen signifikanten Zusammenhang dar.

### 3.7 Einfluss der Sterilitätsursachen auf die ICSI / IVF Therapie

#### 3.7.1 Zusammenhang der Sterilitätsursachen und der Eizelleparameter, BMI, Alter

Tab. 20: Vergleich der Sterilitätsursachen anhand der ART-Ergebnisse der PN-Zellen

|                                   | G 1<br>(männlich)<br>[n=299] | G 2<br>(weiblich)<br>[n=193] | G3<br>(gemischt)<br>[n=19] | G 4<br>(idiopathisch)<br>[n=43] | p-Wert |
|-----------------------------------|------------------------------|------------------------------|----------------------------|---------------------------------|--------|
|                                   | MW±SD                        | MW±SD                        | MW±SD                      | MW±SD                           |        |
| Alter [Jahre]                     | 33,68±4,79                   | 34,13±4,04                   | 32,39±3,94                 | 33,39±3,07                      | 0,30   |
| BMI [kg/m <sup>2</sup> ]          | 23,53±4,1                    | 23,23±3,22                   | 24,35±4,98                 | 23,92±4,19                      | 0,52   |
| Anzahl gewonnener Eizellen        | 10,54±5,22                   | 11,13±6,17                   | 11,63±7,25                 | 11,17±5,02                      | 0,60   |
| Anzahl befruchteter Eizellen      | 5,89±3,46                    | 7,08±4,62                    | 5,68±3,43                  | 5,90±3,51                       | 0,01   |
| Anzahl transferierter Eizellen    | 2,01±0,80                    | 1,98±0,90                    | 1,74±1,05                  | 2,12±0,80                       | 0,42   |
| Anzahl kryokonservierter Eizellen | 3,57±3,57                    | 4,57±4,77                    | 3,53±3,72                  | 3,33±3,78                       | 0,04   |



Es wurden vier Gruppen bezüglich der Sterilitätsursachen gebildet: G1 (männliche Sterilitätsursachen), G2 (weibliche Sterilitätsursachen) G3 (männliche + weibliche Sterilitätsursachen) und G4 (idiopathische Sterilitätsursachen). Es zeigten sich nur bei den Parametern befruchtete ( $p= 0,01$ ) und kryokonservierte ( $p=0,04$ ) Eizellen signifikante Unterschiede.

Die vier Gruppen wurden im Anschluss auf ihre Signifikanz untereinander überprüft.

Tab. 21: Gruppenvergleich der Sterilitätsursachen bezüglich ihrer Signifikanz bei befruchteten und kryokonservierten Eizelleparametern

| Vergleich der Altersgruppe | Anzahl befruchteter Eizellen<br>p-Wert | Anzahl kryokonservierter Eizellen<br>p-Wert |
|----------------------------|--|---|
| G1-G2                      | 0,006                                  | 0,046                                       |
| G1-G3                      | 1,000                                  | 1,000                                       |
| G1-G4                      | 1,000                                  | 1,000                                       |
| G2-G3                      | 0,830                                  | 1,000                                       |
| G2-G4                      | 0,470                                  | 0,411                                       |
| G3-G4                      | 1,000                                  | 1,000                                       |

Die Gruppen G1 (männliche) und G2 (weibliche) der Sterilitätsursachen unterschieden sich signifikant in der Anzahl der befruchteten ( $p=0,006$ ) und kryokonservierten ( $p=0,046$ ) Eizellen.

### 3.7.2 Einfluss der Sterilitätsursachen auf die Schwangerschafts- und Geburtsrate

Tab. 22: Zusammenhang der Sterilitätsursachen der Patientinnen und der Schwangerschafts-, Geburtsrate

| <b>Sterilitätsursachen</b> | <b>Schwangerschaftsrate</b> | <b>Geburtsrate</b>   |
|----------------------------|-----------------------------|----------------------|
| Männliche Sterilität       | (n=299 )<br>60 (20,1%)      | (n=281)<br>24 (8,5%) |
| Weibliche Sterilität       | (n= 193)<br>34 (17,6%)      | (n=186)<br>8 (4,3%)  |
| Gemischte Sterilität       | (n= 19)<br>4 (21,1%)        | (n=19)<br>2 (10,5%)  |
| Idiopathische Sterilität   | (n=42)<br>8 (19%)           | (n=41)<br>3 (7,3%)   |
| Gesamt                     | (n=553)<br>106 (19,2%)      | (n=527)<br>37 (7,0%) |
| p-Wert                     | 0,919                       | 0,325                |

Es zeigte sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen den Sterilitätsursachen und der Schwangerschaftsrate ( $p=0,919$ ) oder Geburtsrate ( $p=0,325$ ).

### 3.8 Überprüfung des Zusammenhangs der Anzahl der transferierten Eizellen und der Schwangerschaftsrate in einem frischen Zyklus und einem Kryotransferzyklus

#### 3.8.1 Zusammenhang zwischen der Zahl der transferierten Eizellen und der resultierenden Schwangerschafts- und Geburtsrate im Rahmen eines frischen Zyklus

Tab. 23: Zusammenhang zwischen der Zahl der transferierten Eizellen und der Schwangerschafts-, Geburtsrate in einem frischen Zyklus

| Anzahl der transferierten Eizellen | Schwangerschaftsrate   | Geburtsrate           |
|------------------------------------|------------------------|-----------------------|
| 1 transferierte EZ                 | (n=72 )<br>12 (16,7%)  | (n=71)<br>3 (4,2%)    |
| 2 transferierte EZ                 | (n= 342)<br>62 (18,1%) | (n=329)<br>23 (7,0%)  |
| 3 transferierte EZ                 | (n= 167)<br>48 (28,7%) | (n=151)<br>16 (10,6%) |
| Gesamt                             | (n=581)<br>122 (21,0%) | (n=551)<br>42 (7,6%)  |
| p-Wert                             | 0,014                  | 0,197                 |

Mit  $p=0,014$  zeigte sich nur bei der Schwangerschaftsrate innerhalb eines frischen Zyklus ein signifikanter Zusammenhang im Bezug zur Anzahl der transferierten Eizellen.

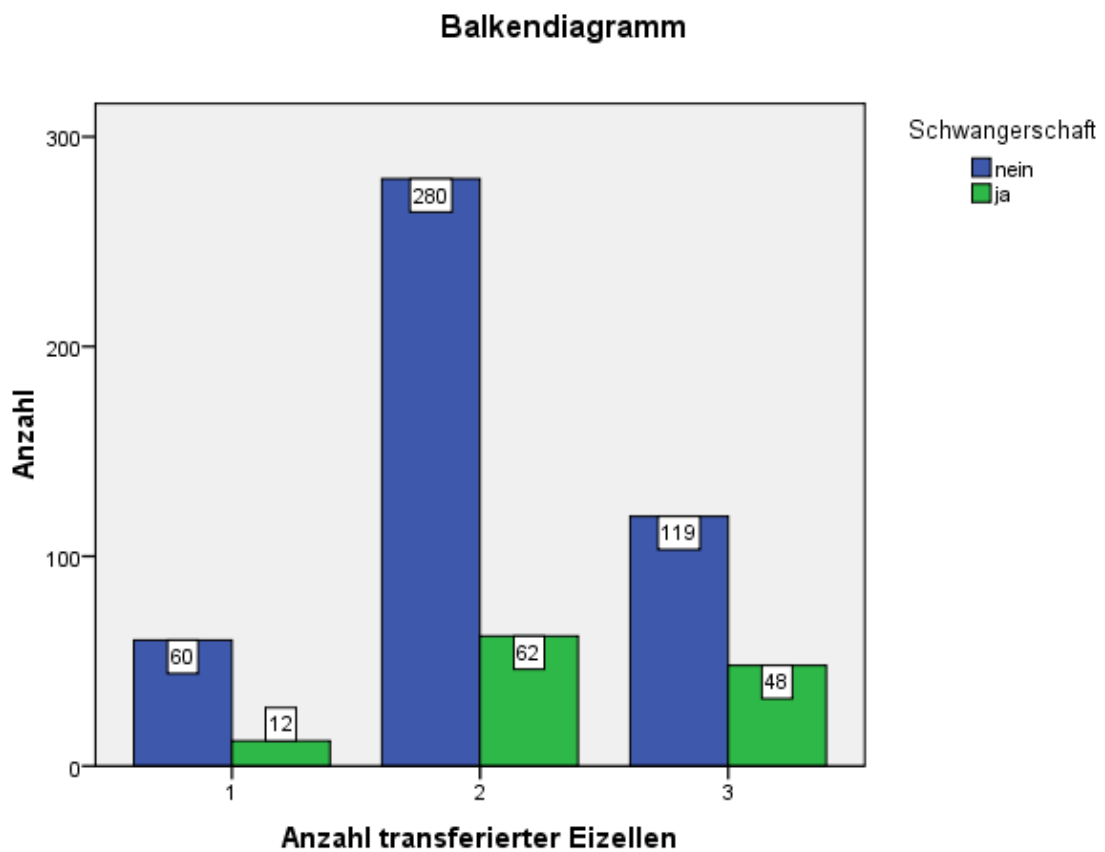


Abb. 13: Balkendiagramm: Anzahl der transferierten Eizellen im Bezug zur Schwangerschaftsrate in einem frischen Zyklus

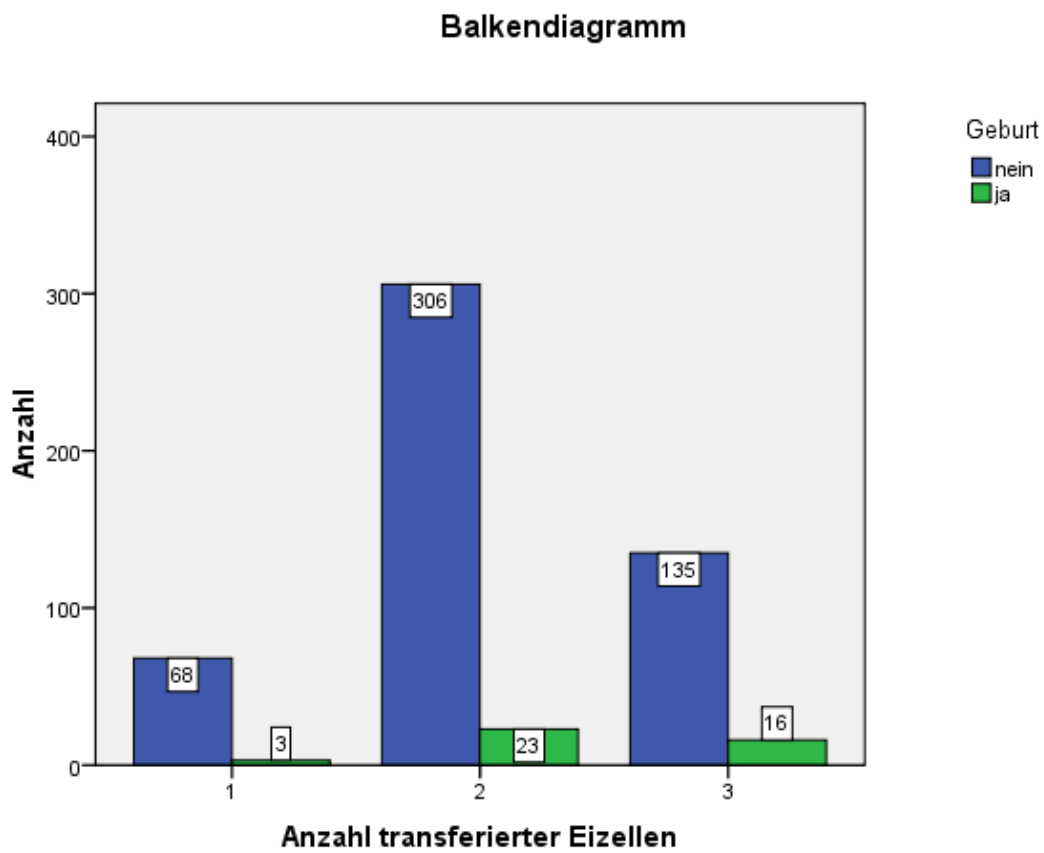


Abb. 14: Balkendiagramm: Anzahl der transferierten Eizellen im Bezug zur Geburtsrate in einem frischen Zyklus

### 3.8.2 Zusammenhang zwischen der Anzahl der transferierten Eizellen und der Schwangerschafts- und Geburtsrate im Rahmen eines Kryotransferzyklus

Tab. 24: Zusammenhang zwischen der Zahl der transferierten Eizellen und der Schwangerschafts- sowie Geburtsrate in einem Kryotransferzyklus

| Anzahl der transferierten Eizellen | Schwangerschaftsrate   | Geburtsrate          |
|------------------------------------|------------------------|----------------------|
| 1 transferierte EZ                 | (n=92 )<br>4 (4,3%)    | (n=92)<br>3 (3,3%)   |
| 2 transferierte EZ                 | (n= 274)<br>26 (9,5%)  | (n=271)<br>11 (4,1%) |
| 3 transferierte EZ                 | (n= 137)<br>18 (13,1%) | (n=135)<br>6 (4,4%)  |
| Gesamt                             | (n=503)<br>48 (9,5%)   | (n=498)<br>20 (4,0%) |
| p-Wert                             | 0,085                  | 0,904                |

Es zeigte sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Zahl der transferierten Eizellen und der Schwangerschafts- sowie Geburtsrate in einem Kryotransferzyklus.

**Balkendiagramm**

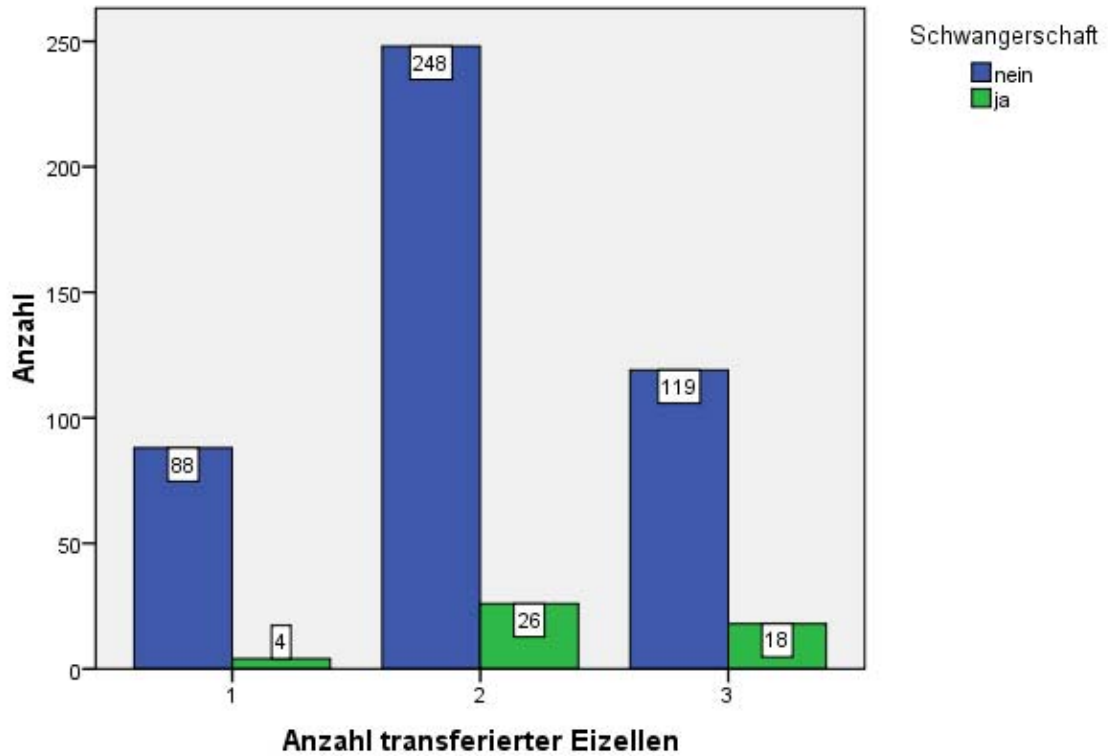


Abb. 15: Balkendiagramm: Anzahl der transferierten Eizellen im Bezug zur Schwangerschaftsrate in einem Kryotransferzyklus

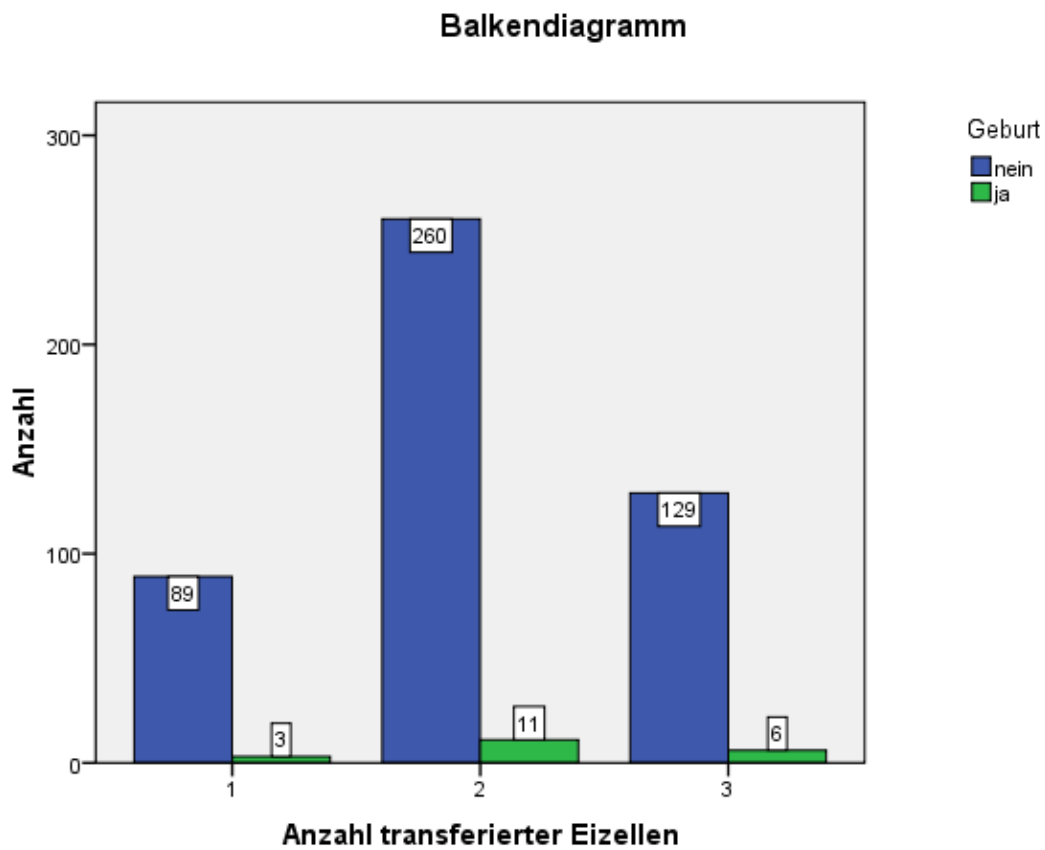


Abb. 16: Balkendiagramm: Anzahl der transferierten Eizellen im Bezug zur Geburtsrate in einem Kryotransferzyklus



### 3.9 Schwangerschafts- und Geburtsraten nach einem Kryotransferzyklus

Tab. 25: Schwangerschafts- und Geburtsraten nach einem Kryotransferzyklus

|        | <b>Schwangerschaft</b> | <b>Geburt</b> |
|--------|------------------------|---------------|
| Ja     | 48 (8,7%)              | 20 (3,7%)     |
| Nein   | 504 (91,3%)            | 527 (96,3%)   |
| Gesamt | 552 (100%)             | 547 (100%)    |

Anhand der ausgewerteten Daten betrug die Schwangerschaftsrate während eines Kryotransferzyklus 8,7% und die Geburtsrate nach einem Kryotransferzyklus 3,7%.

### 3.10 Ovarielle Hyperstimulation und ihre Einflussfaktoren bei ICSI/IVF

#### 3.10.1 Einfluss einer ovariellen Hyperstimulation auf die Schwangerschaftsrate und Geburtsrate nach Kryotransfer

Tab. 26: Zusammenhang zwischen OHSS und der Schwangerschafts-, Geburtsrate

| OHSS   | Schwangerschaftsrate | Geburtsrate           |
|--------|----------------------|-----------------------|
| Ja     | (n=47)<br>4 (8,5%)   | (n= 46)<br>2 (4,3%)   |
| Nein   | (n=505)<br>44 (8,7%) | (n= 501)<br>18 (3,6%) |
| Gesamt | (n=552)<br>48 (8,7%) | (n= 547)<br>20 (3,7%) |
| p-Wert | 1,000                | 0,681                 |

Es besteht mit  $p=1,000$  kein signifikanter Zusammenhang zwischen einer ovariellen Hyperstimulation und der Schwangerschaftsrate. OHSS hat demnach keinen eindeutigen Einfluss auf den positiven Ausgang eines Kryotransfers. Auch bei der Geburtsrate konnte mit  $p=0,681$  kein signifikanter Zusammenhang zwischen OHSS und der Geburtsrate nachgewiesen werden.

### 3.10.2 Zusammenhang zwischen OHSS und der Zellstadienzahl nach Kryotransfer

Tab.27: Kreuztabelle: Zusammenhang zwischen OHSS und Zellstadienzahl

| Zellstadienzahl  | Kein OHSS               | OHSS                  |
|------------------|-------------------------|-----------------------|
| PN               | (n= 116)<br>111 (95,7%) | (n=116)<br>5 (4,3%)   |
| 2-Zell Stadium   | (n= 139)<br>127 (91,4%) | (n=139)<br>12 (8,6%)  |
| 4-Zell Stadium   | (n=166)<br>149 (89,9%)  | (n=166)<br>17 (10,2%) |
| > 4-Zell Stadium | (n= 132)<br>120 (90,9%) | (n=132)<br>12 (9,1%)  |
| Gesamt           | (n= 553)<br>507 (91,7%) | (n= 553)<br>46 (8,3%) |

Die Überprüfung der Signifikanz zeigte mit  $p= 0,338$  keinen Einfluss der ovariellen Hyperstimulation auf das Zellstadium der Eizellen.

### 3.11 Zellstadienzahl

#### 3.11.1 Zusammenhang zwischen der Zellstadienzahl und Schwangerschafts- sowie Geburtsrate in einem frischen ICSI/IVF Zyklus

Tab. 28: Zusammenhang zwischen der Zellstadienzahl und der Schwangerschafts-, Geburtsrate in einem frischen Zyklus

| Zellstadienzahl  | Schwangerschaftsrate   | Geburtsrate           |
|------------------|------------------------|-----------------------|
| 2-Zell Stadium   | (n=75)<br>12 (16,0%)   | (n=73)<br>1 (1,4%)    |
| 4-Zell Stadium   | (n= 238)<br>48 (20,2%) | (n=225)<br>18 (18,9%) |
| > 4-Zell Stadium | (n=247)<br>59 (23,9%)  | (n=232)<br>21 (19,1%) |
| Gesamt           | (n=560)<br>119 (21,3%) | (n=530)<br>14 (7,5%)  |
| p-Wert           | 0,297                  | 0,090                 |

Mit  $p=0,297$  und  $p=0,090$  zeigte sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Zellstadienzahl und der Schwangerschafts- und Geburtsrate in einem frischen IVF-ICSI Zyklus.

### 3.11.2 Zusammenhang zwischen der Zellstadienzahl und Schwangerschafts- sowie Geburtsrate in einem Kryotransferzyklus

Tab. 29: Zusammenhang Schwangerschafts- und Geburtshäufigkeit im Bezug zur Zellstadienzahl im Kryotransferzyklus

| Zellstadienzahl  | Schwangerschaftsrate  | Geburtsrate          |
|------------------|-----------------------|----------------------|
| PN               | (n=103)<br>5 (4,9%)   | (n=103)<br>2 (1,9%)  |
| 2-Zell Stadium   | (n=125)<br>10 (8,0%)  | (n=123)<br>5 (4,1%)  |
| 4-Zell Stadium   | (n= 147)<br>14 (9,5%) | (n=145)<br>8 (5,5%)  |
| > 4-Zell Stadium | (n=114)<br>18 (15,8%) | (n=113)<br>5 (4,4%)  |
| Gesamt           | (n=489)<br>47 (9,6%)  | (n=484)<br>20 (4,1%) |
| p-Wert           | 0,045                 | 0,581                |

Es zeigte sich mit  $p = 0,045$  ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Zellstadienzahl und der Schwangerschaftsrate in einem Kryotransferzyklus.

Bei der Geburtsrate zeigte sich mit  $p = 0,581$  kein signifikanter Zusammenhang.

### 3.12 Auswirkung der Hormonsupplementation auf die Schwangerschafts- und Geburtsrate in einem Kryotransferzyklus

Tab.30: Zusammenhang zwischen Stimulationsform und Schwangerschafts-, Geburtsrate in einem Kryotransferzyklus

| Stimulationsform | Schwangerschaftsrate | Geburtsrate          |
|------------------|----------------------|----------------------|
| Kaufmann-Schema  | (n=360)<br>30 (8,3%) | (n=355)<br>8 (2,3%)  |
| Spontanes Schema | (n=173)<br>15 (8,7%) | (n=173)<br>9 (5,2%)  |
| Andere Schemata  | (n= 9)<br>3 (33,3%)  | (n=9)<br>3 (33,3%)   |
| Gesamt           | (n=542)<br>48 (8,9%) | (n=537)<br>20 (3,7%) |
| p-Wert           | 0,033                | 0,000                |

Bei der Prüfung der Signifikanz mit  $p= 0,033$  zeigte sich ein Zusammenhang zwischen der Stimulationsform und der Schwangerschaftsrate.

Auch bei der Prüfung bezüglich des Zusammenhanges zwischen der Stimulationsform und der Geburtsrate nach Kryotransfer konnte mit  $p=0,000$  eine Signifikanz nachgewiesen werden.

## Diskussion

### **4.1 Einfluss des Alters der Patientin auf die ART-Ergebnisse von PN-Zellen sowie auf die Schwangerschafts- und Geburtsrate**

Die Einflüsse des Alters der Patientin in der Kinderwunschsprechstunde auf die Schwangerschaftsrate, Geburtsrate und die Eizelleparameter sind schon lange Zeit bekannt. Kontroverse Diskussionen wurden zum Thema des Alters der zu behandelnden Patientinnen geführt.

In dieser Arbeit wurden die Patientinnen anhand ihres Alters bei der Behandlung in drei verschiedene Altersgruppen (Altersgruppe 1 (18-30 Jahre), Altersgruppe 2 (30,01-35 Jahre) und Altersgruppe 3 (35,01- 50 Jahre) eingeteilt und bezüglich der oben genannten Parameter miteinander verglichen.

Anhand der überprüften Eizelleparameter, siehe Tabelle 6, zeigte sich, dass in der Altersgruppe 1 mit der Kinderwunschtherapie im Durchschnitt mehr Eizellen gewonnen ( $12,69 \pm 5,06$ ), befruchtet ( $7,65 \pm 3,86$ ) und kryokonserviert ( $5,56 \pm 4,25$ ) wurden. In der Altersgruppe 3 hingegen wurde eine höhere Rate an transferierten Eizellen ( $2,09 \pm 0,68$ ) beobachtet.

Beim Vergleich der Altersgruppen (Tabelle 7) untereinander zeigte sich ein signifikanter Unterschied bezüglich der transferierten Eizellen zwischen der Gruppe G1 und G3 ( $p=0,005$ ). Dies erklärt sich aus den Vorgaben des deutschen Embryonenschutzgesetzes, hiernach werden Frauen bis zu einem Alter von 35 Jahren nur 2 Embryonen eingesetzt und Frauen über 35 Jahren 3 Embryonen beim Transfer eingesetzt.

KDOUS et al. (2008) demonstrierten, dass die besten Schwangerschaftsraten in einem Patientenalter zwischen 25-35 Jahren erzielt wurden. Auch war die Anzahl der gewonnenen und transferierten Eizellen in dieser Altersgruppe höher im Vergleich zu älteren Patientinnen. Im Einklang hierzu stehen die Ergebnisse von GOMES et al. (2009), obgleich hier die Qualität der Embryonen der Frauen unterschiedlichen Alters, keine Unterschiede aufwies, zeigten sich dennoch Unterschiede bezüglich der gewonnenen, transferierten Eizellen und der Schwangerschaftsrate innerhalb der drei Altersgruppen.

Es kommt zu einer Abnahme der Implantationsrate, der Schwangerschaftsrate und gegenteilig hierzu zu einer Zunahme der Abortrate bei Frauen vor allem jenseits des 40. Lebensjahrs (WANG et al. 2005).

Die Abnahme der Fruchtbarkeit im höheren Alter scheint in einem Zusammenhang zu den erschöpften ovariellen Reserven und der schlechteren Eizellequalität zu stehen (HOURVITZ et al. 2009). In ihrer Arbeit ergab sich neben einer geringeren Schwangerschafts- und Geburtsrate eine Zunahme von Aborten bei Patientinnen mit einem Alter von über 42 Jahren.

Ein ähnliches Ergebnis konnte durch unsere Arbeit gezeigt werden, in der vorliegenden Studie, Tabelle 8, mit  $p=0,371$  und  $p=0,026$  besteht ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Alter der Patientin und der Geburtsrate. Mit steigendem Alter nimmt demnach die Rate der positiven Kinderwunschbehandlungen gemessen anhand der Entbindungen ab. Auf die Schwangerschaftsrate hingegen nahm das Alter der Patientin keinen Einfluss. Es bleibt zu diskutieren, ob bei dieser deutlichen Entwicklung eine Kinderwunschbehandlung mittels IVF /ICSI bei Frauen jenseits des 42. Lebensjahres durchgeführt werden sollte, HOURVITZ et al. (2009) vertreten die Meinung, dass IVF-Behandlungen beschränkt auf das Alter von  $< 42$  Jahre durchgeführt werden sollten, da nur hier von einem adäquaten ovariellen Ansprechen ausgegangen werden kann. Das Alter der Patientinnen in der Kinderwunschbehandlung ist den Studien zufolge ein wichtiger prognostischer Faktor für die Behandlung, welcher in die Wahl des geeigneten Behandlungsverfahrens einbezogen werden muss.

#### **4.2 Einfluss des BMI der Patientin auf die ART-Ergebnisse der PN-Zellen sowie auf die Schwangerschafts- und Geburtsrate**

Das Über- und Untergewicht eine negative Auswirkung auf die unterschiedlichen Organsysteme hat, ist bekannt. Über die direkte Auswirkung des Über- und Untergewichtes auf die reproduktionsmedizinische Verfahren galt es mit dieser Studie zu untersuchen. SNEED et al. (2008) demonstrierten einen altersabhängigen Einfluss des BMI bei Kinderwunschpatientinnen. Bei jüngeren Patientinnen haben Veränderungen im BMI einen sehr negativen Einfluss auf die Fruchtbarkeit. Dieser Einfluss reguliert sich dann je älter die Frauen werden. Im Alter von über 36 Jahren hat der BMI nur noch einen geringen Einfluss auf die Fruchtbarkeit. TAMER und SENTURK (2009) beobachteten in ihrer Studie, dass das Übergewicht sich bei den Kinderwunschpatientinnen negativ auf den Erfolg der reproduktiven Techniken auswirkt. Patientinnen mit einem  $BMI > 30$  haben eine signifikant höhere Anzahl an endometrialen Polypen als Patientinnen mit einem  $BMI < 30$ . Darüber hinaus wird empfohlen, dass Patientinnen mit einem  $BMI > 30$  hysteroskopiert werden, da ein steigender BMI ein wichtiger Faktor für die Entstehung von endometrialen Polypen ist (ONALAN et al. 2009).

Bei Patientinnen, die jünger als 35 Jahre waren und sich einem IVF/ICSI Zyklus unterzogen, hatte das Übergewicht der Patientinnen einen negativen Einfluss auf die Qualität der Embryonen. Die Qualität der Eizellen selbst wurde nicht beeinflusst (METWALLY et al. 2007).



In der vorliegenden Studie wurden ähnliche Ergebnisse beobachtet. Die Patientinnen wurden bezüglich ihres BMI in drei Gruppen aufgeteilt, siehe Tabelle 9, Gruppe 1 (BMI 0-19), Gruppe 2 (BMI 19,01-24), Gruppe 3 (BMI 24,01-30) und Gruppe 4 (BMI 30,01-50) wurden hinsichtlich ihres Einflusses auf die Eizellequalität, gemessen anhand der gewonnenen (p=0,96), befruchteten (p=0,43), transferierten (p=0,72) und kryokonservierten (p=0,60) Eizellen, sowie der Schwangerschafts- und Geburtsrate untersucht. Es zeigten sich keine statistisch signifikanten Unterschiede bezüglich der ART-Ergebnisse im Hinblick auf das Körpergewicht der Patientinnen. Eine Patientin mit höherem BMI hatte im direkten Vergleich demnach keine schlechtere Eizellequalität als eine Patientin mit weniger Körpergewicht. Betrachtet man nun die Schwangerschaftsrate (p=0,855) und Geburtsrate (p=0,156) im Zusammenhang mit dem BMI, so konnte auch bei dieser Überprüfung kein signifikantes Ergebnis beobachtet werden (Tabelle 10). Das Gewicht der Patientinnen nimmt, den vorliegenden Studien zufolge, keinen direkten Einfluss auf die Take Home Babyrate einer Kinderwunschbehandlung. Anlässlich der bisher in anderen Studien untersuchten unterschiedlichen Auswirkungen des Unter-Übergewichtes auf den Organismus und metabolische Faktoren, sollten die Patientinnen auch im Hinblick auf den Gesamtorganismus in der Kinderwunschbehandlung, zur Erzielung optimaler Bedingungen ein Normgewicht anstreben.

#### **4.3 Auswirkungen der kontrollierten ovariellen Hyperstimulation auf die ART-Ergebnisse der PN-Zellen, sowie auf die Schwangerschafts- und Geburtsrate**

Unterschiedliche Formen der kontrollierten ovariellen Hyperstimulation der Patientinnen werden im Rahmen der reproduktiven Verfahren bei IVF und ICSI durchgeführt. Die häufigsten Stimulationsformen, die in diesem Zusammenhang miteinander verglichen werden, sind die Stimulation mittels human Menopausal Gonadotropin (hMG) und recombinant Follicle Stimulation Hormon (rFSH).

In der vorliegenden Dissertation wurden die Stimulationsgruppen in Gruppe 1 (Stimulation mit hMG), Gruppe 2 (Stimulation mit rFSH) und Gruppe 3 (Stimulation mit hMG und rFSH) eingeteilt und der Einfluss der Stimulationsformen auf die Eizelleparameter, die Schwangerschafts- und Geburtsrate untersucht (Tabelle 11,12).

Bezüglich des Themas der unterschiedlichen Stimulationsprotokolle und deren Einfluss auf IVF und ICSI sind in der Literatur bisher schon vielfache Beobachtungen mit kontroversen Ergebnissen veröffentlicht worden.

Ein signifikanter Unterschied der drei Stimulationsgruppen anhand der Überprüfung der ART-Ergebnisse bei den gewonnenen Eizellen  $p=0,003$ , den befruchteten Eizellen  $p=0,002$ , den transferierten Eizellen  $p=0,009$  und den kryokonservierten Eizellen,  $p=0,011$  wurde in der vorliegenden Studie nachgewiesen (Tabelle 12). Diese Signifikanzunterschiede wurden in einem weiteren Verfahren näher betrachtet, indem die drei Stimulationsgruppen gegeneinander verglichen wurden, siehe Tabelle 13.

Hierbei zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen der Stimulationsgruppe 2 (rFSH) und der Stimulationsgruppe 3 (rFSH+hMG) bezüglich aller Eizelleparameter. Die Werte waren wie folgt verteilt: Gewonnene Eizellen  $p=0,008$ , befruchtete Eizellen  $p=0,004$ , transferierte Eizellen  $p=0,008$  und schließlich kryokonservierte Eizellen  $p=0,015$ .

Dass eine Mischstimulation durchaus von Vorteil sein kann, präsentierten auch REQUENA et al. (2010) in ihrer Arbeit. Während es bei der Stimulation mit hMG und rFSH keinen Unterschied in der Schwangerschaftsrate gab, war die Rate an Embryonen und gewonnenen Eizellen in der Gruppe der Mischstimulation signifikant höher im Vergleich zur Einzelstimulation mit rFSH, allerdings nicht im Vergleich zur Einzelstimulation mit high purified human Menopausal Gonadotropin (hp-hMG). Dies stand im Einklang mit den vorliegenden Ergebnissen dieser Dissertation.

Bei der Überprüfung des Zusammenhanges eines konkreten Stimulationsregimes und der daraus resultierenden Schwangerschaftsrate konnte anhand von Testungen, siehe Tabelle 14, mit  $p=0,930$  kein signifikantes Ergebnis festgestellt werden. JEE et al. (2010) kamen bei der Untersuchung ihrer Daten zu ähnlichen Ergebnissen, so konnte keine Überlegenheit von Gonal-F zu Menopur bewiesen werden, weder die Schwangerschafts- noch die Geburtsrate zeigten Unterschiede bezüglich der Stimulation.

Die Behandlung mit hMG führt im Vergleich zu der Behandlung mit rFSH zu einer geringeren Anzahl von gewonnenen Eizellen, einem geringeren Auftreten von Überstimulation und einer vergleichbaren Schwangerschaftsrate (HOMPES et al. 2008).

Diese Meinung teilen ORVIETO et al. (2009) nicht, ihre Ergebnisse zeigen eine signifikant höhere Anzahl an Embryonen, eine höhere Implantationsrate und eine höhere Schwangerschaftsrate bei Patientinnen mit einer Stimulation mittels hMG und einer hohen basalen FSH/LH Rate, im Vergleich zur Stimulation mit rFSH.

Die vorliegenden Daten bezüglich der Geburtsrate, lieferten mit  $p=0,343$ , Tabelle 14, ebenfalls keinen signifikanten Unterschied bei der Verwendung eines bestimmten Hormons zur ovariellen Stimulation. Es konnte keine Überlegenheit von hp-hMG gegen rFSH nachgewiesen werden.

PLATTEAU et al. (2008) postulierten, dass eine ovarielle Stimulation mit hp-hMG nach einem langen Protokoll bei IVF-Zyklen signifikant höhere Geburtsraten erzielt als eine ovarielle Stimulation mit rFSH alleine. AL-INANY et al. (2008) diskutierten, dass hMG in Anbetracht der klinischen Ergebnisse mit gleicher Sicherheit für die Patientin während des Reproduktionszyklus besser ist als rFSH. Kontrovers zu diesen Veröffentlichungen beobachteten BJERCKE et al. (2010), gleiche Schwangerschafts- und Geburtsraten im Vergleich zwischen hMG und rFSH. Sie konnten keinen signifikanten Unterschied zwischen der ovariellen Stimulation mit hMG und rFSH nachweisen. Ihre Veröffentlichung stimmt daher mit den uns vorliegenden Ergebnissen überein.

Im direkten Vergleich waren sie der Meinung, dass Patientinnen, die mit rFSH behandelt wurden, mit einer kürzeren Stimulation, einer geringeren Einnahme von Gonadotropinen und einer höheren Rate von Eizellen und Embryos einhergingen. Im Bezug auf ihre klinische Wirksamkeit waren auch hier rFSH und hMG gleich, was auch durch die vorliegende Arbeit nicht widerlegt wurde. Es wird in den vorliegenden Studien eine Überlegenheit der Stimulationsgruppe 3 in Anbetracht der ART-Ergebnisse dargestellt. Für die positive Entwicklung einer Schwangerschaft und folgend einer besseren Geburtsrate kann jedoch kein eindeutiges Ergebnis erzielt werden, da die Gruppe 3 eine so geringe Anzahl aufwies, dass eine größere Patientinnenanzahl untersucht werden muss um dieses Ergebnis zu bestätigen.

#### **4.4 Einfluss des Nikotinkonsums auf die ART-Ergebnisse der PN-Zellen, sowie auf die Schwangerschafts- und Geburtsrate**

Über den Einfluss des Nikotinkonsums auf die ART-Ergebnisse wurde in der Vergangenheit erst wenig diskutiert.

Bei Paaren, die auf natürlichem Wege schwanger werden, wird der Konsum von Nikotin weitestgehend als limitierender Befruchtungsfaktor angesehen. Über den Einfluss des Nikotinkonsums hingegen in einem Behandlungszyklus von IVF/ICSI gibt es unterschiedliche Auffassungen. Während WRIGHT et al. (2006) in ihrer Studie keinen messbaren Einfluss des Konsums von Nikotin auf den Erfolg von IVF feststellen konnten, weder die Schwangerschaftsrate, die Geburtsrate noch andere Faktoren durch das Nikotin beeinflusst wurden, zeigten SOARES et al. (2006) in ihrer Arbeit, dass starke Raucher (>10 Zigaretten/Tag) eine geringere Schwangerschaftsrate aufwiesen als im Vergleich hierzu schwache Raucher (0-10 Zigaretten/Tag).

Weiterhin reduziert der Konsum von Nikotin die Ansprechbarkeit des Uterus. So geht der Konsum von Nikotin mit geringeren Erfolgsaussichten in einem Reproduktionszyklus hinsichtlich der Schwangerschaftsrate und dem ovariellen Ansprechen sowie einer veränderten Eizellerreserve einher (FREOUR et al. 2008).

Der vorliegenden Dissertation zufolge waren 16,9% der in dieser Studie untersuchten Patientinnen Raucherinnen (Tabelle 15). Hinsichtlich der Eizelleparameter, gewonnene ( $p=0,12$ ), befruchtete ( $p=0,16$ ), transferierte ( $p=0,64$ ) und kryokonservierte Eizellen ( $p=0,28$ ) (Tabelle 16) konnte anhand der Signifikanzprüfung kein Unterschied zwischen den Gruppen Raucherinnen und Nichtraucherinnen nachgewiesen werden. Es bestand kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Konsum von Nikotin und den Eizelleparametern.

Erstaunlich war auch die Auswertung bezüglich einer verminderten Schwangerschafts- und Geburtsrate bei der Gruppe der rauchenden Patientinnen. Diese zeigte im Gegensatz zu den Ergebnissen von FREOUR et al. (2008) keinen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Nikotinkonsum und der Schwangerschafts- und Geburtsrate. Betrachtet man die Schwangerschaftsrate ( $p=0,400$ ) ebenso die Geburtsrate ( $p=0,902$ ), so konnte den vorliegenden Studien zufolge, keine niedrigere Schwangerschafts- oder Geburtsrate zwischen den Raucherinnen und den Nichtraucherinnen festgestellt werden (Tabelle 14).

Auch wenn ein signifikant negativer Einfluss des Nikotins auf die Eizellefaktoren, Schwangerschafts- und Geburtsrate in dieser Dissertation nicht nachgewiesen werden konnte, ist den Patienten aufgrund der negativen Wirkung auf den übrigen Organismus, den Schwangerschaftsverlauf, die Durchblutungssituation des Uterus und weiteren Gesundheit limitierenden Folgen für das ungeborene Kind der Versuch einer Nikotinabstinenz anzuraten.

#### **4.5 Zusammenhang zwischen den Verfahren ICSI / IVF und den Werten; Eizelleparameter, Alter, BMI , Schwangerschafts- und Geburtsrate**

In dieser Studie wurden die beiden reproduktionsmedizinischen Verfahren IVF und ICSI bezüglich der Eizelleparameter miteinander verglichen.

Es konnte kein signifikanter Unterschied bezüglich der Hauptparameter gewonnene ( $p=0,799$ ), befruchtete ( $p=0,212$ ) und kryokonservierte ( $p=0,146$ ) Eizellen gefunden werden. Eine Überlegenheit der beiden Techniken gegeneinander, was die Eizelleparameter betrifft, besteht demnach nicht.

Betrachtet man hingegen noch die Untergruppen transferierte Eizellen und den Zusammenhang zwischen BMI und den Verfahren ICSI und IVF, so wie in der Tabelle 18

gezeigt, besteht ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen den oben genannten Verfahren und dem BMI ( $p=0,009$ ) sowie zwischen ICSI, IVF und der Anzahl der transferierten Eizellen ( $p=0,001$ ).

Es interessierte uns die Frage, ob einem der beiden Verfahren ein Vorteil hinsichtlich der Schwangerschafts- und Geburtsrate gegeben werden kann. Die Überprüfung ergab mit  $p = 0,20$  Schwangerschaftsrate und  $p=0,112$  Geburtsrate keinen signifikanten Zusammenhang zwischen den Verfahrensgruppen ICSI und IVF und einer daraus entstandenen Schwangerschaftsrate bei einzelnen Schwangerschaftsraten von: ICSI (20,7%) und IVF (16,4%), oder einer daraus entstandenen Geburtsrate bei einzelnen Geburtsraten von: ICSI (8,1%) und IVF (4,6%).

Diese Ergebnisse stimmen mit den Beobachtungen SHI et al. (2010) überein. Sie konnten ebenfalls keine Unterschiede bezüglich der Implantationsrate und der Schwangerschaftsrate zwischen ICSI und IVF postulieren.

BHATTACHARYA et al. (2001) kamen bei ihren Untersuchungen zum gleichen Ergebnis. Betrachtet man die klinischen Auswertungen bei nicht männlich bedingter Sterilität, so ist das Verfahren mit ICSI dem der IVF nicht überlegen.

Kombinierte man hingegen beide Verfahren, erhält man eine ansteigende Befruchtungsrates mit guten klinischen Ergebnissen bei Patienten mit einer lang andauernden Unfruchtbarkeit. Beim Vergleich zwischen ICSI und IVF konnten keine Unterschiede in der Implantations-, Schwangerschafts- und Fehlgeburtsrate gefunden werden. ICSI erzielt demnach keine besseren Erfolge (BORINI et al. 2009).

OU et al. (2010) waren hingegen der Auffassung, dass durch die Anwendung von ICSI bei einer sehr geringen Anzahl von gewonnenen Oozyten im Vergleich zum konventionellen Verfahren mit IVF eine höhere Befruchtungsrates erzielt werden kann. Jedoch unterschieden sich auch hier die Schwangerschafts-, Implantations- und Geburtsrate nicht signifikant.

Im Gegensatz zu den vorliegenden Ergebnissen stehen die Veröffentlichungen von TAYLOR et al. (2008). Ihren Daten nach erbringt die Durchführung eines konventionellen IVF-Verfahrens eine höhere Befruchtungsrates als die Therapie mit ICSI. Während diese veröffentlichten, dass durch das Verfahren mit IVF im Vergleich zu ICSI eine höhere Anzahl an Embryonen zum Transfer oder zur Kryokonservation gewonnen wurde, gingen YOELI et al. (2000) bei ihren Untersuchungen noch einen Schritt weiter. Sie demonstrierten, dass das IVF Verfahren zu einer signifikant höheren Schwangerschaftsrate im Vergleich zu ICSI führt.

#### **4.6 Einfluss der Sterilitätsursachen auf die ART-Ergebnisse der PN-Zellen, Schwangerschafts- und Geburtsrate**

Man unterscheidet weibliche, männliche und idiopathische Sterilitätsursachen in der reproduktiven Medizin. Während die männlichen und idiopathischen Sterilitätsursachen keinen Einfluss auf die Eizelleparameter nehmen, war es ein Ziel dieser Arbeit den Einfluss der weiblichen Sterilitätsursachen auf die Eizelleparameter, Schwangerschafts- und Geburtsrate darzulegen.

Es zeigten sich nur bei den Parametern befruchtete ( $p=0,01$ ) und kryokonservierte ( $p=0,04$ ) Eizellen signifikante Unterschiede bezüglich der Sterilitätsursachen der Paare, die anderen Parameter waren nicht signifikant (Tabelle 20).

Bei der anschließenden Überprüfung der vier Gruppen auf ihre Signifikanz untereinander zeigten die vorliegenden Studien nur einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen G1 (männliche) und G2 (weibliche) Sterilität bezüglich der Anzahl der befruchteten ( $p=0,006$ ) und kryokonservierten ( $p=0,046$ ) Eizellen (Tabelle 20).

Dies hängt vermutlich mit dem Spermienparameter des Partners zusammen. Lässt sich eine Eizelle durch in der Qualität minderwertige Spermienparameter schlechter befruchten, so spielt dies scheinbar auch im Rahmen der Kryokonservierung eine Rolle.

Neben der Beeinflussung der ART-Ergebnisse der PN-Zellen wurde der Einfluss der Sterilitätsursachen auf die Schwangerschafts-/Geburtsrate der Patientinnen in dieser Arbeit untersucht (Tabelle 22). Auch hier wurde mit  $p=0,919$  (Schwangerschaftsrate) und  $p=0,325$  (Geburtsrate) kein signifikanter Zusammenhang nachgewiesen.

Die unterschiedlichen Tatsachen, ob Patienten eine männliche, weibliche, gemischte oder idiopathische Sterilitätsursache aufwiesen, führen scheinbar nicht zu einer verminderten Schwangerschaftsrate oder Geburtsrate. Es konnte kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen den Sterilitätsursachen und der Schwangerschafts-, Geburtsrate nachgewiesen werden.

#### **4.7– 4.8 Zusammenhang der Anzahl der transferierten Eizellen und der Schwangerschafts- /Geburtsrate in einem Kryotransferzyklus und einem frischen Zyklus**

Die deutsche Gesetzgebung sieht mit dem Embryonenschutzgesetz einen Transfer von bis zu 3 Eizellen im Rahmen einer Kinderwunschbehandlung vor. Eine nicht unerhebliche Anzahl der Patientinnen lässt sich aufgrund dieser Gesetzgebung im Ausland behandeln, wo eine Mehrzahl an Eizellen der Frau transferiert wird.

Die Anzahl der gewonnenen und transferierten Eizellen spielt eine Rolle für den Erfolg einer Schwangerschaft (CETIN MT et al. 2010).

Es stellte sich dahingehend die Frage, wie viele Eizellen im Rahmen eines Eizelletransfers für einen optimalen Ausgangspunkt einer Schwangerschaft nötig sind.

Der Zusammenhang zwischen der Anzahl der transferierten Embryonen und der resultierenden Schwangerschaftsrate wurde in der vorliegenden Dissertation analysiert. Es bestätigte sich mit  $p=0,014$  nur bei der Schwangerschaftsrate innerhalb eines frischen Zyklus ein signifikanter Zusammenhang in Bezug zur Anzahl der transferierten Eizellen (Tabelle 23). Es konnte ein Zusammenhang der Schwangerschaftsrate mit der Anzahl der transferierten Eizellen nachgewiesen werden. Es bleibt hingegen zu diskutieren, ob die Risiken, die sich durch den Transfer von mehreren Eizellen ergeben, nicht den Behandlungserfolg limitieren. Mit der Anzahl der transferierten Eizellen steigt auch das Risiko einer Mehrlingsschwangerschaft.

GIANNINI et al. (2004) zeigten einen Zusammenhang der Anzahl der transferierten Eizellen mit der Schwangerschaftsrate. Hier wurde bei Patientinnen > 35 Jahre eine höhere Schwangerschafts- und Implantationsrate bei dem Transfer von zwei im Vergleich zum Transfer von drei Eizellen beobachtet, bei einer gleich bleibenden Rate von Mehrlingsschwangerschaften.

Eine zusätzliche Steigerung der Schwangerschaftsrate kann durch den Transfer von kryokonservierten anstelle frischer Eizellen erzielt werden (SONG et al. 2009).

Auch diese Aussage galt es zu überprüfen. Der vorliegenden Arbeit zufolge gab es allerdings im Rahmen eines Kryotransfers keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der Anzahl der transferierten Eizellen und einer resultierenden Schwangerschaftsrate ( $p=0,085$ ) (Tabelle 24).

Über den Einfluss auf die Schwangerschaftsrate hinaus wurde der Zusammenhang zwischen der Anzahl der transferierten Eizellen und der Geburtsrate in einem frischen und einem Kryotransferzyklus untersucht. Hier zeigte sich mit  $p=0,197$  im frischen Zyklus und  $p=0,904$  im Kryotransferzyklus kein signifikanter Zusammenhang zwischen diesen beiden (Tabelle 23,24).

Obgleich sich mit der Variation der Anzahl des Eizelletransfers in einem frischen Zyklus eine höhere Schwangerschaftsrate erreichen lässt, bleibt die Geburtsrate davon unabhängig. Eine größere Anzahl an transferierten Embryonen erbringt keine bessere Take Home Babyrate. Im Hinblick auf die steigende Rate von Mehrlingsschwangerschaften bei steigender Embryotransferanzahl sollten daher nur 2-3 Embryonen, ähnlich der Weisung des Embryonenschutzgesetzes, den Patientinnen transferiert werden. Von Kurztrips in andere Länder mit gelockerten Bestimmungen hinsichtlich des Embryonentransfers ist den Patientinnen infolge dieser statistischen Auswertungen abzuraten.

#### **4.9 Ovarielle Hyperstimulation und ihre Einflussfaktoren bei ICSI/IVF**

Durch die Gabe von Gonadotropinen während der Kinderwunschbehandlung kann es zu einem ovariellen Hyperstimulationssyndrom (OHSS) kommen. Man unterscheidet hierbei eine leichte, mäßige und eine schweren Form (GOLAN et al. 1989). Neben allgemeinen Auswirkungen auf den weiblichen Metabolismus, wie Erhöhung der Thrombosegefahr, Nierenversagen, Erhöhung des onkotischen Druckes mit der Gefahr von Ergüssen, kann das OHSS auch negative Einflüsse auf die Eizellequalität haben. Durch das vermehrte Heranreifen der Eizellen, werden zum Teil sehr viele Eizellen mit einer geringeren Qualität gewonnen. Dies legt die Vermutung nahe, dass die verminderte Eizellequalität bei Patientinnen mit OHSS zu einer signifikant geringeren Schwangerschafts- und Geburtsrate führt.

In diesem Zusammenhang durchgeführte Studien zeigten, dass die Implantations- und Schwangerschaftsrate durch das OHSS nicht beeinflusst werden. Die verminderte Qualität der Eizellen führt zwar zu einer geringeren Befruchtungsrate, die Implantationsrate und die Schwangerschaftsrate bei OHSS und den Kontrollgruppen war hingegen gleich (ABOULGHAR et al. 1997, FÁBREQUES et al. 2004).

In der vorliegenden Arbeit galt es, diese Einschätzung zu überprüfen. Tabelle 26 zeigt, dass mit  $p=1,000$  kein signifikanter Zusammenhang zwischen einer ovariellen Hyperstimulation und der Schwangerschaftsrate besteht. OHSS hat demnach keinen eindeutigen Einfluss auf den positiven Ausgang eines Kryotransfers. Auch bei der Geburtsrate konnte mit  $p=0,681$  kein signifikanter Zusammenhang zwischen OHSS und der Geburtsrate nachgewiesen werden.

Des weitern wurde mit  $p=0,338$  (Tabelle 27) keine signifikante Auswirkung der ovariellen Hyperstimulation auf das Zellstadium der Eizellen festgestellt.



Im Gegensatz dazu stehen Studien von LUKE et al. (2010). Diese demonstrierten, dass das ovarielle Hyperstimulationssyndrom mit einer höheren Wahrscheinlichkeit für die Entstehung von Schwangerschaften, Mehrlingsschwangerschaften, eventuell auch mit einem höheren Risiko für Schwangerschaftskomplikationen einhergeht.

Neben den schädlichen Auswirkungen, die das OHSS der Patientin verursacht, ist die Gefahr der Risikoschwangerschaften, Schwangerschaftskomplikationen, wie Schwangerschaftsdiabetes, Ablösung der Plazenta, Frühgeburt und niedriges Geburtsgewicht bei Patientinnen mit OHSS erhöht (RAZIEL et al. 2009).

Das Ausmaß der negativen Einflussfaktoren des OHSS auf IVF und ICSI einerseits und die Patientinnen andererseits zwingt die Reproduktionsmedizin die Stimulationsprotokolle der ovariellen Hyperstimulation so gering wie möglich zu wählen, um ein übermäßiges Ansprechen der Ovarien auf die Gonadotropine zu verhindern. Auch wenn der vorliegenden Auswertung nach kein eindeutiger Einfluss des OHSS auf die Zellstadienzahl, Schwangerschafts- und Geburtsrate nach besteht, verursachen die übrigen Risiken erhebliche Gefahren für die Patientinnen und müssen limitiert werden.

#### **4.10-11 Zusammenhang Zellstadienzahl und Schwangerschafts-/Geburtsrate in einem frischen Zyklus und einem Kryotransferzyklus**

Der Embryotransfer im Verfahren von IVF-ICSI findet in Deutschland meist im 4-Zellstadium statt, da hierzulande nach dem Embryonenschutzgesetz nur drei Embryonen transferiert werden dürfen, eine Auswahl im Embryonalstadium gesetzlich nicht zulässig ist. Hierdurch können bis zu 3 Eizellen, in der Regel jedoch 1-2 Eizellen transferiert werden, was unter Umständen zu einer höheren Rate an Mehrlingsschwangerschaften führen kann. Eine in vitro Kultivierung der Embryonen ist generell bis zu maximal 5 Tagen möglich. In anderen europäischen Ländern liegt es an der Tagesordnung, Embryonen im Blastocystenstadium selektiv nach ihrem Wachstum zu transferieren. Hierbei bevorzugt man den Single-Embryo Transfer, bei dem meist ein ausgewählter, qualitativ hochwertiger Embryo transferiert wird. PORAT et al. (2010) demonstrierten, dass 6 Tage alte Embryonen, Blastocysten signifikant bessere klinische Erfolge erzielten als drei Tage alte befruchtete Eizellen. Zu diskutieren ist die Frage, ob ein höheres Zellstadium zu statistisch höheren Schwangerschafts-Geburtsraten führt. Dies veranlasste die Überprüfung eines Zusammenhanges zwischen den Faktoren der Zellstadienzahl und der Schwangerschafts-/Geburtsrate. Hierbei wurden ein frischer Zyklus und ein Kryotransferzyklus getrennt voneinander betrachtet.

Die statistische Auswertung der Schwangerschaftsrate des frischen Zyklus mit  $p=0,297$ , sowie der Geburtsrate im frischen Zyklus mit  $p=0,090$  demonstrierte keinen signifikanten Zusammenhang zwischen Zellstadienzahl und der überprüften Parameter in einem ICSI/IVF Zyklus.

Allerdings konnte im Rahmen des Kryotransferzyklus mit  $p=0,045$  (Tabelle 29), ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Zellstadienzahl und der Schwangerschaftsrate nachgewiesen werden.

Die Geburtsrate bleibt mit  $p=0,581$  von der Zellstadienzahl unverändert.

Dies hängt sicherlich mit den Erkenntnissen von ZHOU et al. (2009) und TATPATI et al. (2010) zusammen. Ihren Ergebnissen zufolge führt die Kryokonservation aller Pronuklei der in einem Zyklus gewonnenen Eizellen zu einer deutlich zunehmenden Schwangerschafts-/ Geburtsrate. Somit ist der Kryotransfer hier der entscheidende Faktor.

SURREY et al. (2010) gingen in ihrer Veröffentlichung noch einen Schritt weiter. Ihrer Meinung nach führt die Kryokonservation von Blastocysten zu einer höheren Implantations- und Geburtsrate als die von Pronucleusstadien.

Neben den gängigen invasiven Verfahren der präimplantativen Diagnostik in Deutschland, der Embryonenselektion im Ausland werden in Zukunft gerade auch im Hinblick auf die Gesetzgebung des Embryonenschutzgesetzes Verfahren gesucht werden müssen, die nicht invasiv zur Auswahl von geeigneten Eizellen, Eizellestadien führen. Ein Beispiel hierfür wäre die Erforschung von Eizellenmarkern, wie die mikroskopische Untersuchung der mitotischen Spindel. KILANI et al. (2009) analysierten einen Unterschied der Spindelbeschaffenheit bei Eizellen, die in einer Schwangerschaft endeten, und denen, die keinen klinischen Erfolg erbrachten. Solche Marker weiter ausreifen zu lassen, neue zu identifizieren, erleichtert die Selektion zum Teil schon im Frühstadium. Qualitätsmäßig minderwertige Eizellen müssen nicht erst weiterreifen, und schließlich transferiert werden.

#### **4.12 Auswirkung der Hormonsupplementation auf die Schwangerschafts- und Geburtsrate in einem Kryotransferzyklus**

In der Überprüfung der kontrollierten ovariellen Hyperstimulation in einem Kryotransferzyklus und der resultierenden Schwangerschaftsrate zeigte sich mit  $p=0,033$  ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Stimulationsprotokoll und der Schwangerschaftsrate. Zudem konnte auch ein signifikanter Zusammenhang hinsichtlich der Geburtsrate mit  $p=0,000$  nachgewiesen werden.

Verschiedene Varianten der Hormonsupplementation im Rahmen eines Kryotransferzyklus haben mittlerweile in die täglichen Behandlungsstrategien Einzug gehalten.

Man unterscheidet hierbei Stimulationen im normalen Zyklus und Stimulationen im künstlichen Zyklus. Ein Nachteil der Stimulation im normalen Zyklus mittels sehr potenter Gonadotropinen ergibt sich aus den Risiken einer Überstimulation mit den Folgen eines OHSS, gelegentlich kombiniert mit einem Aszites und Hydrothorax sowie der gesteigerten Anzahl von Mehrlingsschwangerschaften durch zusätzliche in vivo Schwangerschaften. Dies erfordert die engmaschige sonografische Kontrolle der Patientinnen, eine genaue Terminierung ist daher nicht möglich. Aufgrund dieser Risiken postulierten HOEPFNER et al. (2000) den Vorteil eines künstlich stimulierten Zyklus während eines Kryotransfers, neben der genauen zeitlichen Planung, des günstigeren finanziellen Faktors, dem einfachen Handling wurde auch eine höhere Schwangerschaftsrate im Rahmen künstlich stimulierter Zyklen im Vergleich zu normal stimulierten Zyklen des Kryotransfers beobachtet.

REEKA et al. (2001) kamen zur Schlussfolgerung dass sowohl Spontanzyklen als auch Zyklen mit nur leichter Stimulationsbehandlung günstige Voraussetzungen für das Eintreten einer Schwangerschaft nach Kryotransfer seien. Der Kryotransfer im artifiziellen Zyklus führt ihrer Meinung nach zu einer deutlich niedrigeren Schwangerschaftsrate, wobei hier nur Patientinnen untersucht wurden, die für einen Spontanzyklus nicht in Frage kamen.

Diese Studien müssten in der Zukunft unabhängig von den einzelnen Pharmaunternehmen mit einer größeren Fallzahl an Patientinnen und der Auswirkung auf die Take Home Babyrate analysiert werden, um eine genaue Risiko- und Nutzenabwägung der einzelnen Hormonpräparaten gegenüber einem Spontanzyklus demonstrieren zu können.

## Literaturverzeichnis

- 1) Aboulghar MA, Mansour RT, Serour GI, Ramzy AM, Amin YM (1997)  
Oocyte quality in patients with severe ovarian hyperstimulation syndrome.  
Fertil. Steril. 68:1017-1021
- 2) Adams J, Polson DW, Franks S (1986) Prevalence of polycystic ovaries in women  
with anovulation and idiopathic hirsutism. Br. Med. J. 293: 355-359
- 3) Albuquerque LE, Saconato HM, Maciel MC (2003) Depot versus daily  
administration of gonadotrophin releasing hormone agonist protocols for pituitary  
desensitization in assisted reproduction cycles. Hum. Reprod. 18:2008-2017
- 4) Al-Inany HG, Abou-Setta AM, Aboulghar MA, Mansour RT, Serour GI (2008)  
Efficacy and safety of human menopausal gonadotrophins versus recombinant  
FSH: a meta-analysis. Reprod. Biomed. Online 16: 81-88
- 5) Anger JT, Gilbert BR, Goldstein M (2003) J. Urol. 170: 1079-1084
- 6) Baird WM, Hooven LA, Mahadevon B (2005) Carcinogenic polycyclic aromatic  
hydrocarbon- DNA adducts and mechanism of action. Environ. Mol. Mutagen. 45:  
106-114
- 7) Barlow DH (1998) GnRH agonists and in vitro fertilization. J. Reprod. Med. 43: 245-  
251
- 8) Bavister BD (2002) Early history of in vitro fertilization. Reproduction 124: 181-186
- 9) Bhattacharya S, Hamilton MP, Shaaban M, Khalaf Y, Seddler M, Ghobara T,  
Braude P, Kennedy R, Rutherford A, Hartshorne G, Templeton A (2001)  
Conventional in-vitro fertilization versus intracytoplasmic sperm injection for the  
treatment of non-male-factor infertility: a randomised controlled trial. Lancet 357:  
2075-2079
- 10) Berson SA, Yalow RS (1982) Immunoassay of plasma insulin. Ciba Foundation  
Colloquia on Endocrinology 14: 182-211

- 11) Bjercke S, Tanbo T, Abyholm T, Omland A, Opøien HK, Fedorscak P (2010) Clinical outcome following stimulation with highly purified hMG or recombinant FSH in patients undergoing their first treatment cycle of IVF or ICSI. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 89: 1053-1060
- 12) Bódis J, Hanf V, Török A, Tinneberg HR, Borsay P, Szabó I (1997) Influence of nicotine on progesterone and estradiol production of cultured human granulosa cells. *Early Pregnancy* 3: 34-37
- 13) Borini A, Gambardella A, Bonu MA, Dal Prato L, Sciajno R, Bianchi L, Cttoli M (2009) Comparison of IVF and ICSI when only few oocytes are available for insemination. *Reprod. Biomed. Online* 19: 270-275
- 14) Bühler K (2010) *DIR Jahrbuch 2009. J. Reprod. Med. Endokrinol.* 7: 470-497
- 15) Cetin MT, Kumtepe Y, Kiran H, Sydaoglu G (2010) Factors affecting pregnancy in IVF: age and duration of embryo transfer. *Reprod. Biomed. Online* 20: 380-386
- 16) Chen C (1986) Pregnancy after human oocyte cryopreservation. *Lancet* 1: 884-886
- 17) Clayton RN, Ogden V, Hodgkinson J et al. (1992) How common are the polycystic ovaries in normal women and what is their significance for the fertility of the population? *Clin. Endocrinol.* 37: 127-134
- 18) Cohen J, Simons RF, Fehilly CB, Fishel SB, Edwards RG, Hewitt JT, Rowlant GF, Steptoe PC, Webster JM (1985) Birth after replacement of hatching blastocyst cryopreserved at expanded blastocyst stage. *Lancet* 1: 647
- 19) Dechanet C, Anahory T, Mathieu Daude JC, Quantin X, Reyftman L, Hamamah S, Hedon B, Dechaud H (2011) Effects of cigarette smoking on reproduction. *Hum. Reprod. Update* 17: 76-95
- 20) Devroy P, Silber S, Nagy Z, Liu J, Tournaye H, Joris H, Verheyen G, Van Steirteghem A (1995) Ongoing pregnancies and birth after intracytoplasmic sperm injection with frozen-thawed epididymal spermatozoa. *Hum. Reprod.* 10: 903-906

- 21) Diedrich K, Al-Hasani S, Van der Ven H, Bauer O, Werner A, Krebs D (1992) Indications for in-vitro fertilization and results. Hum. Reprod. 1: 115-121
- 22) Ebner T, Moser M, Sommergruger M, Tews G (2005) Die Bedeutung der Analyse der Metaphase – II-Spindel in der assistierten Reproduktion. J. Reprod. Med. Endokrinol. 2: 78-83
- 23) Embryonenschutzgesetz- Gesetz zum Schutz von Embryonen (ESchG). Bundesgesetzblatt I. (1990): 2746-2748
- 24) Fábregues F, Peñarrubia J, Vidal E, Casals G, Vanrell JA, Blasch J (2004) Oocyte quality in patients with severe ovarian hyperstimulation syndrome: a self-controlled clinical study. Fertil. Steril. 82: 827-833
- 25) Farquhar CM, Birdsall M, Manning P et al. (1994) The prevalence of polycystic ovaries on ultrasound scanning in a population of randomly selected women. Aust. NZ J. Obstet. Gynaecol. 34: 67-72
- 26) Fedorcsák P, Dale PO, Storeng R, Ertzeid G, Bjercke S, Oldereid N, Omland AK, Abyholm T, Tanbo T (2004) Impact of overweight and underweight on assisted reproduction treatment. Hum. Reprod. 19: 2523-2528
- 27) Felberbaum R, Diedrich K (2000) Die ovarielle Stimulation in der assistierten Reproduktion- Empfehlung für ein modernes Management. In: Kinderwunsch- Möglichkeiten, Erfüllbarkeit und Machbarkeit im neuen Jahrtausend. Krause & Pachernegg. Pp : 71-92
- 28) Fischl F (2000) Begriffsbestimmung und Pathogenese: Sterilität- Fertilität. In: Kinderwunsch- Möglichkeiten, Erfüllbarkeit und Machbarkeit im neuen Jahrtausend. Krause & Pachernegg. Pp : 47-55
- 29) Fischl F (2000) Polyzystisches Ovarsyndrom in der Sterilitätsdiagnostik und Therapie. In: Kinderwunsch- Möglichkeiten, Erfüllbarkeit und Machbarkeit im neuen Jahrtausend. Krause & Pachernegg. Pp: 93-101

- 30) Freour T, Masson D, Mirallie S, Jean M, Bach K, Dejoie T, Barriere P (2008) Active smoking compromises IVF outcome and affects ovarian reserve. *Reprod. Biomed. Online* 16: 96-102
- 31) Gesundheitsberichtserstattung des Bundes (2004) Indikationen IVF/ICSI- Deutsches IVF Register 2003. In: *Ungewollte Kinderlosigkeit- Robert Koch Institut- Themenheft 20*
- 32) Giannini P, Piscitelli C, Giallonardo A, Sbracia M, Morgia F, Torti M, Montigiani M, Schimberni M (2004) Number of embryos transferred and implantation. *Ann. NY. Acad. Sci.* 1034: 278- 283
- 33) Golan A, Ron-el R, Herman A, Soffer Y, Weinraub Z, Caspi E (1989) Ovarian hyperstimulation syndrome: an update review. *Obstet. Gynecol. Surv.* 44: 430-440
- 34) Gomes LM, Canha AS, Dzik A, Novo NF, Juliano Y, Dos Santos SI, Cavagna M (2009) The age as a predictive factor in in-vitro fertilization cycles. *Rev. Bras. Gynecol. Obstet.* 21: 230-234
- 35) Hammadeh ME, Askari AS, Georg T, Rosenbaum P, Schmidt W (1999) Effect of freeze-thawing procedure on chromatin stability, morphological alteration and membrane integrity of human spermatozoa in fertile and subfertile men. *Int. J. Androl.* 22: 155-162
- 36) Hammadeh ME, Al-Hasani S, Doerr S, Stieber M, Rosenbaum P, Schmidt W, Diedrich K (1999) Comparison between chromatin condensation and morphology from testis biopsy extracted and ejaculated spermatozoa and their relationship to ICSI outcome. *Hum. Reprod.* 14: 363-367
- 37) Häusler B, von Zahn J (2003) Umfang invasiver reproduktionsmedizinischer Eingriffe in Deutschland als Gegenstand der Versorgungsforschung. *Bundesgesundheitsblatt- Gesundheitsforschung- Gesundheitsschutz:* 46: 655-658

- 38) Hoepfner AS, Bals-Pratsch M, Diedrich K (2000) Höhere Erfolgsrate beim Kryotransfer im künstlichen Zyklus mit transdermaler Östradiol und vaginaler Progesterongabe als in stimulierten Zyklen. *J. Fertil. Reprod. (Ausgabe Österreich)* 10: 8-13
- 39) Hoffmann H (2003) Andrologie. In: Jung G, Moll I (eds). *Dermatologie*. Thieme, Stuttgart. Pp: 467-470
- 40) Hompes PG, Brokemans FJ, Hoozemans DA, Schats R, Hompes P, Michgelsen H, Smalbraak I, Roelofs H, Kimmel I, Verhoeff A, Brokemans F, Hamilton C, Schoot D, Scheenies E, Bernadus R, Joep D, Schöls W, Dawson J, Weigerinck M, van Heeswijk M, van Kasteren Y, Crooii R (2008) Effectiveness of highly purified human menopausal gonadotropin vs. recombinant follicle-stimulating hormone in first-cycle in-vitro fertilization intracytoplasmic sperm injection patients. *Fertil. Steril.* 89: 1685-1693
- 41) Hourvitz A, Machtinger R, Maman E, Baum M, Dor J, Levron J (2009) Assisted reproduction in women over 40 years of age: how old is too old? *Reprod. Biomed. Online* 19: 599-603
- 42) Huges JN (2008) Impact of overweight on the outcome of ovarian stimulation. *Bull. Acad. Natl. Med.* 192: 661-670
- 43) Huisman M, Kunst AE, Mackenbach JD (2005) Educational inequalities in smoking among men and women aged 16 years and older in 11 European countries. *Tob. Control.* 14: 106-113
- 44) Hull MG, North K, Taylor H, Farrow A, Ford WC (2000) Delayed conception and active and passive smoking The Avon Longitudinal Study of Pregnancy and Childhood Study Team. *Fertil. Steril.* 74: 725-733
- 45) Jee BC, Suh CS, Kim YB, Kim SH, Moon SY (2010) Clinical efficacy of highly purified hMG versus recombinant FSH in IVF/ICSI cycles: a meta-analysis. *Gynecol. Obstet. Invest.* 70: 132-137



- 46) Jick H, Porter J (1977) Relation between smoking and age of natural menopause. Report from Boston Collaborative Drug Surveillance Program, Boston University Medical Center. *Lancet* 1: 1345-1355
- 47) Kodus M, Zhioua F, Chaker A, Fadhloui A, Ferchiou M, Meriah S (2008) Are there any predictive factors for successful intracytoplasmic sperm injection. Statical analysis of 339 cycles. Centre de PMA, Sevice de gynécologie obstétrique et de médecine de la reproduction, Hoptial Aziza Othmnana de Tunis 86: 335-340
- 48) Kùpker W, Schultze-Mosgau A, Diedrich K (1998) Physiologie der Befruchtung. In: Diedrich K (eds.) Weibliche Sterilität Ursachen, Diagnostik und Therapie. Springer Berlin Heidelberg. Pp: 356-379
- 49) Liebermann J, Tucker MJ (2004) Vitriifying and warming of human oocytes, embryos and blastocysts: vitrification procedures as an alternative to conventional cryopreservation. *Methods Mol. Biol.* 254: 345-364
- 50) Lockwood G, Anthony-Ackery J, Meyers- Thompson J, Perkins S (2008) Was liegt auf Eis? Transfer gefrorener Embryonen. In: Kinderwunsch und Fruchtbarkeit für Dummies. Wiley-VCH Verlag. Pp: 261-262
- 51) Ludwig M (2002) Techniken der Reproduktionsmedizin- Aktueller Stand und Zukunft. *Gynäkologe* 35 : 1253-1266
- 52) Ludwig M, Bühler K, Diedrich K, Felberbaum RE, Rabe T (2004) Wirksamkeit von rekombinantem humanem FSH im Vergleich zu urinärem hMG nach Downregulation im langen Protokoll- Eine Analyse von 24.764 ART-Zyklen in Deutschland. *J. Reprod. Endokrinol.* 1: 284-288
- 53) Ludwig M, Nawroth F (2007) Niedrig dosierte Gonadotropinstimulation in der gynäkologischen Praxis. *Gynäkologische Endokrinologie*. Springer Berlin, Heidelberg. Volume 5: 223-234
- 54) Ludwig M, Rabe T (2004) Stellungnahme zur Beurteilung der Äquivalenz von rekombinantem FSH und Menotropin. *J. Reprod. Endokrinol.* 1: 82-90

- 55) Luke B, Brown MB, Morbeck DE, Hudson SB, Coddington CC 3rd, Stern JE (2010) Factors associated with ovarian hyperstimulation syndrom (OHSS) and its effect on assisted reproductive technology (ART) treatment and outcome. *Fertil. Steril.* 94: 1399-1404
- 56) Mangoli V, Mangoli R (2007) Cryopreservation: Gametes, Oocytes and Ovarian Tissues. In: *Atlas of Human Assisted Reproductive Technologies* 1.Auflage: 151-158
- 57) Meryman HT (1971) Cryoprotective agents. *Cryobiology* 8: 173-183
- 58) Metwally M, Cutting R, Tipton A, Skull J, Ledger WL, Li TC (2007) Effect of increased body mass index on oocyte and embryo quality in IVF patients. *Reprod. Biomed. Online* 15: 532-538
- 59) Michelmann HW, Hinney B(2000) Hormonelle Stimulation, ovarielles Alter und Eizellequalität- Gibt es eine Beziehung? In: *Kinderwunsch- Möglichkeiten, Erfüllbarkeit und Machbarkeit im neuen Jahrtausend.* Krause & Pachernegg. Pp: 108-109
- 60) Mohamed MD, Chouliaras S, Jones CJ, Nardo LG (2011) Live birth rate in fresh and frozen embryo transfer cycles in women with endometriosis. *J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 156: 177-180
- 61) Montag M, Isachenko V, Isachenko E, van der Ven K, Al-Hasani S, Dorn C, von Otte S, Diedrich K, van der Ven H, Schultze-Mosgau A, von Wolff M (2007) Methoden der Kryokonservierung in der Reproduktionsmedizin. In: *Das deutsche IVF-Register 1996-2006.* Springer Berlin, Heidelberg. Pp: 65-72
- 62) Munz W, Fischer- Hammadeh C, Herrmann W, Georg T, Rosenbaum P, Schmidt W, Hammadeh ME (2005) Body mass index, protein metabolism profiles and impact on IVF/ICSI procedure and outcome. *Zentralbl. Gynäkol.* 127: 37-42
- 63) Nawroth F, Kupka M, Isachenko E, Rahimi G, Mallmann P (2004) Möglichkeiten in der Kryokonservierung zur Erhaltung der weiblichen Fertilität. *Dtsch. Ärztebl.* (Heft 5) 101: 268-272

- 64) Norman RJ, Dewailly D, Legro RS, Hickey TE (2007) Seminar: Polycystic ovary syndrome. In: *The Lancet* 370: 685-697
- 65) Onalan R, Onalan G, Tonquc E, Ozdener T, Dogan M, Mollamahmutoglu L (2009) Body mass index is an independent risk factor for the development of endometrial polyps in patients undergoing in-vitro fertilization. *Fertil. Steril.* 91: 1056-1060
- 66) Orland B (1999) Die menschliche Fortpflanzung im Zeitalter ihrer technischen Reproduzierbarkeit- Die Normalisierung der Reproduktionsmedizin seit den 1970er Jahren. *Technikgeschichte* 4/1999: 311-337
- 67) Orvieto R, Homburg R, Meltzer S, Rabinson J, Anteby EY, Nahum R (2009) HMG improves IVF outcome in patients with high basal FSH/LH ratio: a preliminary study. *Reprod. Biomed. Online* 18: 205-208
- 68) Ou YC, Lan KC, Huang FJ, Kung FT, Lan TH, Chang SY (2010) Comparison of in vitro fertilization versus intracytoplasmic sperm injection in extremely low oocyte retrieval cycles. *Fertil. Steril.* 93: 96-100
- 69) Palermo G, Jaris H, Devroly P, Van Stiertheghem AC (1992) Pregnancies after intracytoplasmic injection of single Spermatozoon into an oocyte. *Lancet* 340: 17-18
- 70) Pinus G (1940) Superovulation in rabbits. *Anat. Rec.* 77: 1-8
- 71) Plas E, Riedl CR (2000) Der männliche Sterilitätsfaktor und seine therapeutischen Möglichkeiten in der assistierten Reproduktion. In: *Kinderwunsch- Möglichkeiten, Erfüllbarkeit und Machbarkeit im neuen Jahrtausend.* Krause & Pachernegg. Pp: 123-131
- 72) Platteau P, Nyboe Andersen A, Loft A, Smitz J, Danglas P, Devroey P (2008) Highly purified HMG versus recombinant FSH for ovarian stimulation in IVF cycles. *Reprod. Biomed. Online* 17: 190-198
- 73) Polge C, Smith A, Parkes A (1949) Revival of spermatozoa after vitrification and dehydration at low temperatures. *Nature* 164: 666-667

- 74) Polson DW, Adams J, Wadsworth J et al. (1988) Polycystic ovaries- a common finding in normal women. *Lancet*: 870-872
- 75) Porat N, Boehnlein LM, Barker MA, Kovacs P, Lindheim SR (2010) Blastocyst embryo transfer is the primary determinant for improved outcomes in oocyte donation cycles. *J. Obstet. Gynaecol. Rs.* 36: 357-363
- 76) Raziel A, Schater M, Friedler S, Ron-El R (2009) Outcome of IVF pregnancies following severe OHSS. *Reprod. Biomed. Online* 19: 61-65
- 77) Reeka N, Brucker C, Rosenbusch B (2001) Schwangerschaftsrate nach Kryotransfer in Abhängigkeit von der Zyklusvorbereitung: Eine retrospektive Analyse. *J. Fert. Reprod. (Ausgabe für die Schweiz)* 11: 10-13
- 78) Regan L, Owen EJ, Jacobs HS (1990) Hypersecretion of luteinising hormone, infertility and miscarriage. *Lancet* 336: 1141-1144
- 79) Requena A, Lnderas JL, Martínez-Navarro L, Clatayud C, Sánchez F, Maldonado V, Muñoz M, Fernández M, González A, López S, López R, Pacheco A, Calderón G, Martínez V (2010) Could the addition of hp-hMG and GnRH antagonists modulate the response in IVF-ICSI cycles? *Hum. Fertil. (Camb.)* 13: 41-49
- 80) Rich-Edwards JW, Spiegelman D, Garland M, Hertzmark E, Hunter DJ, Colditz GA, Willett WC, Wand H, Manson JE (2002) Physical activity, body mass index and ovulatory disorder infertility. *Epidemiology* 13: 184-190
- 81) Riggs R, Mayer J, Dowling-Lacey D, Chi TF, Jones E, Oehninger S (2010) Does storage time influence postthaw survival and pregnancy outcome? An analysis of 11,769 cryopreserved human embryos. *Fertil. Steril.* 93: 109-115
- 82) Sagle M, Bishop K, Ridley N et al. (1988) Recurrent early miscarriage and polycystic ovaries. *Br. Med. J.* 297: 1027-1028
- 83) Schneider KTM (2003) Wissenschaftlich begründete moderne Geburtshilfe. *Gynäkologie* 35: 840-844

- 84) Schmidt-Matthiesen H, Wallwiener D (2005) In: Gynäkologie und Geburtshilfe, Lehrbuch für Studium und Praxis. 10. Auflage Schattauer. Pp: 57-58
- 85) Schweppe KW, Küpker W (1998) Endometriose und weibliche Sterilität/Infertilität. In: Diedrich K: Klinik der Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Band 3: Endokrinologie und Reproduktionsmedizin. 3. Auflage Urban und Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore
- 86) Shi XY, Wu FR, Chen SL, Wang QL, Luo C, Ni YP, Zheng HY, Qiu ZL, Zhang WQ, Yang J, Chen X (2010) In vitro fertilization versus intracytoplasmic sperm injection for primary and secondary infertility using sibling oocytes: clinical analysis of the outcomes. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao.* 30: 2263-2266
- 87) Smith AU (1952) Behaviour of fertilized rabbit eggs exposed to glycerol and low temperatures. *Nature* 170: 374-375
- 88) Sneed ML, Uhler ML, Grotjan HE, Rapisarda JJ, Lederer KJ, Beltsos AN (2008) Body mass index: impact on IVF success appears age-related. *Hum. Reprod.* 23: 1835-1839
- 89) Soares SR, Simon C, Remohi J, Pellicer A (2006) Cigarette smoking affects uterine receptiveness. *Hum. Reprod.* 22: 543-547
- 90) Song T, Liu L, Zhou F, Lin XN, Zhang SY (2009) Frozen-thawed embryo transfer (FET) versus fresh embryo transfer in clinical pregnancy rate during in vitro fertilization embryo transfer. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 89: 2928-2930
- 91) Stauber M (2001) Sterilität und Infertilität. In: Stauber M, Weyerstahl T (eds.). *Gynäkologie und Geburtshilfe.* 2. Auflage Thieme, Stuttgart. Pp: 429-434
- 92) Stauber M (2001) Gynäkologische Endokrinologie. In: Stauber M, Weyerstahl T (eds.). *Gynäkologie und Geburtshilfe.* 2. Auflage Thieme, Stuttgart. Pp: 118
- 93) Steck T (2001) *Praxis der Fortpflanzungsmedizin.* 1. Auflage, Schattauer, Stuttgart. Pp: 8-9

- 94) Steptoe PC, Edward RG (1978) Birth after the reimplantation of an human embryo. *Lancet* 2: 366
- 95) Strathy JH, Molgaard LA, Coulam LA (1982) Endometriosis and infertility: a laproscopic study of endometriosis among fertile and infertile women. *Fertil. Steril.* 83: 667-672
- 96) Strowitzki T (2000) Indikationsbereiche IVF vs. ICSI. *Der Gynäkologe* 33: 777-781
- 97) Surrey E, Keller J, Stevens J, Gustofson R, Minjarez D, Schoolcraft W (2010) Freeze – all: enhanced outcomes with cryopreservation at the blastocyst stage versus pronuclear stage using slow-freeze techniques. *Reprod. Biomed. Online* 21: 411-417
- 98) Szamatowicz M, Grochowski D (1998) Fertility and infertility in aging women. *Gynecol. Endocrinol.* 12: 407-413
- 99) Tamer EC, Senturk LM (2009) The impact of body mass index on assisted reproduction. *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* 21: 228-235
- 100) Tatpati LL, Hudson SB, Gera PS, Allemand MC, Stevens- Hall S, Wnetworth MA, Coddington CC 3<sup>rd</sup> (2010) High cumulative live births in oocyte donatation cycles with cryopreservation of all embryos. *Genecol. Obstet. Invest.* 70: 76-81
- 101) Taubert HD (1998) Sterilität und Infertilität. In: Schmidt- Matthiessen H, Hepp H (eds.) *Gynäkologie und Geburtshilfe*. Schattauer, Stuttgart, New York. Pp: 117-132
- 102) Taylor TH, Wright G, Jones-Colon S, Mitchell-Leef D, Kort HI, Nagy ZP (2008) Comparison of ICSI and conventional IVF in patients with increased oocyte immaturity. *Reprod. Biomed. Online* 17: 46-52
- 103) Telang M (2007) Schematic diagram showing steps of embryo freezing and thawing. In: *Atlas of Human Assisted Reproductive Technologies* 11: 152
- 104) Teschner A, Hinrichsen M (2005) Gynäkologische Endokrinologie. In: Stauber M, Weyerstahl T (eds.) *Gynäkologie und Geburtshilfe*. 2.Auflage, Thieme, Stuttgart. Pp: 117

- 105) Teschner A, von Zumbusch-Weyerstahl S (2001) Sexuelle Differenzierung und Störungen. In: Stauber M, Weyerstahl T (eds.) Gynäkologie und Geburtshilfe. 2. Auflage, Thieme, Stuttgart. Pp: 29
- 106) The Uni Prot Consortium (2007) The Universal Protein Resource (UniProt). In: Nucleic Acids Res. Bd. 35: 193-197
- 107) Trounson A, Mohr L (1993) Human pregnancy following cryopreservation; thawing and transfer of an eight-cell embryo. Nature 305: 707-709
- 108) Wang JX, Sun HX, Hu YL, Wang B, Zhang NY, Chen H (2005) Influence of female age on the pregnancy and obstetric outcome in in vitro fertilization and embryo transfer. Zhonghua Nan Ke Xue. 11: 900-903
- 109) Whittingham D, Leibo S, Mazur P (1972) Survival of mouse embryos frozen to -196° and -296°. Science 178: 411-414
- 110) Willadsen SM (1977) Factors affecting the survival of sheep embryos during freezing and thawing. Ciba Foundation Symposium 52: 175-201
- 111) Wilmut I (1972) The low temperature preservation of mammalian embryos. J. Reprod. Fertil. 31: 513-514
- 112) Wittemer C, Ohl J, Bailly M, Bettahar-Lebugle K, Nisand I (2000) Does body mass index of infertile women have an impact on IVF procedure and outcome? J. Assist. Reprod. Genet. 17: 547-552
- 113) Wolff M, Eberhadat I, Strowitzki T (2008) In vitro maturation – a new therapeutic option in polycystic ovary syndrome. Gyn. Geburtshilf. Rundsch. 48: 24-30
- 114) Wright KP, Trimachi JR, Allsworth J, Keefe D (2006) The effect of female tobacco smoking on IVF outcomes. Hum. Reprod. 21: 2930-2934
- 115) Yoeli R, Ashkenazi J, Orvieto R, Levy T, Ben-Rafael Z, Bar-Hava I (2000) Pregnancy potential of embryos from in vitro fertilization compared to intracytoplasmic sperm injection. Gynecol. Endocrinol. 14: 253-257

- 116) Zech N, Stecher A, Vanderzwalmen P, Zech H (2002) Vitriifikation von der Eizelle bis zur Blastocyste. J. Fert. Reprod. (Ausgabe für die Schweiz) 12: 9-13
- 117) Zenzes MT (2000) Smoking and reproduction: gene damage to human gametes and embryos. Hum. Reprod. Update 6: 122-131
- 118) Zenzes MT, Reed TE, Casper RF (1997) Effects of cigarette smoking and age on the maturation of human oocytes. Hum. Reprod. 12: 1736-1741
- 119) Zenzes MT, Wang P, Casper RF (1995) Cigarette smoking may affect meiotic maturation of human oocyte. Hum. Reprod. 10: 3213-3217
- 120) Zhou F, Lin XN, Tong XM, Li C, Liu L, Jin XY, Zhu HY, Zhang SY (2009) A frozen-thawed embryo transfer program improves the embryo utilization rate. Chin. Med. J. 122: 1974-1978
- 121) Zini A, Boman JM, Belzile E, Ciampi A (2008) Sperm DNA damage is associated with an increased risk of pregnancy loss after IVF and ICSI: systematic review and meta-analysis. Hum. Reprod. 23: 2663-2668
- 122) Zini A, Meriano J, Kader K, Jyrvi K, Laskin CA, Cadesky K (2005) Potential adverse effect of sperm DNA damage on embryo quality after ICSI. Hum. Reprod. 20: 3476-3480



## **Danksagung**

An dieser Stelle möchte ich all denen danken, die mich bei der Anfertigung dieser Dissertation unterstützt haben.

Herrn Prof. Dr. med. vet. Dr. rer. nat. ME. Hammadeh danke ich für die Vergabe des interessanten Themas. Als Betreuer und unmittelbarer Ansprechpartner während allen Phasen der Dissertation stand er mir mit Rat und Tat zur Seite. Dafür ein herzliches Dankeschön.

Herrn Prof. Dr. med. E.-F. Solomayer, dem Direktor der Frauenklinik der Universitätsklinik des Saarlandes, danke ich für die Nutzungsmöglichkeit von Material und Räumlichkeiten.

Des Weiteren danke ich dem gesamten Team der wissenschaftlichen Mitarbeiterinnen des IVF-Labors, welche jede auf ihre Weise mit zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben. Mein besonderer Dank gilt hierbei Frau Seyfried, die mir stets hilfreich während der Auswertung der Daten zur Seite stand.

Ferner möchte ich mich bei Frau Dr. Ong für ihre geduldige Beratung während der statistischen Auswertung des Themas bedanken.

Letztendlich möchte ich meiner Familie, meinem Ehemann Uwe Bachmann, meinen Eltern Irmtraud und Michael Schmidt, meiner Schwester Christina Schmidt und meiner Großmutter Renate Maurer danken. Durch ihre Beratung, Motivation und vor allem emotionale Unterstützung haben sie mich stets unterstützt und tragen damit einen großen Anteil am Erfolg dieser Dissertation.

## Lebenslauf

### **Persönliche Daten:**

Name: Mareike Waltraud Schmidt-Bachmann, geborene Schmidt  
Geburtsdatum: 03.02.1984  
Geburtsort: Dudweiler  
Staatsangehörigkeit: deutsch  
Familienstand: verheiratet  
Anschrift: Ziegelstraße 26a, 66280 Sulzbach  
Eltern: Michael und Irmtraud Schmidt, geb. Maurer

### **Schulbildung:**

1990 bis 1994 Waldschule Altenwald  
1994 bis 2003 Theodor-Heuss-Gymnasium Sulzbach

### **Studium:**

10/2003-06/2010 Studium der Medizin an der Universität des Saarlandes  
03/2006 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  
02/2009-01/2010 Praktisches Jahr  
1.Tertial: Innere Medizin im KKH Sulzbach  
2.Tertial: Chirurgie im KKH Sulzbach  
3.Tertial: Dermatologie an der Universitätsklinik des Saarlandes  
06/2010 Abschluss des Studiums der Humanmedizin, mit dem zweiten Abschnitt der ärztlichen Prüfung  
seit 01.07.2010 Beginn der ärztlichen Tätigkeit in der Gemeinschaftspraxis Dres. med. Jäger, Landwehr, Schenkelberger und Kollegen