

Aus dem Universitätsklinikum Münster  
Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe  
-Direktor: Univ.-Prof. Dr. L. Kiesel-

Unterschiede im Lutealphasenprofil nach IVF- / ICSI- Therapie  
in Abhängigkeit vom Eintritt einer Schwangerschaft

Inaugural-Dissertation  
zur  
Erlangung des doctor medicinae  
der Medizinischen Fakultät  
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von  
Löbbecke, Kay Christian  
aus Heessen, jetzt Hamm

2011

*Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Westfälischen  
Wilhelms-Universität Münster*

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Wilhelm Schmitz

1. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. Barbara Sonntag

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Michael Zitzmann

Tag der mündlichen Prüfung: 12.01.2011

Aus dem Universitätsklinikum Münster  
Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe  
-Direktor: Univ.-Prof. Dr. L. Kiesel-  
Referent: Priv.-Doz. Dr. Barbara Sonntag  
Koreferent: Prof. Dr. Michael Zitzmann

### **Zusammenfassung**

*Unterschiede im Lutealphasenprofil nach IVF- / ICSI- Therapie  
in Abhängigkeit vom Eintritt einer Schwangerschaft*  
Kay Christian Löbbbecke

Ein besseres Verständnis der Interaktion zwischen Embryo- und mütterlichem Organismus ist einer der wichtigsten Faktoren für eine zukünftige Erhöhung der Erfolgchancen assistierter Reproduktionsverfahren. In dieser Studie wurde die Hypothese überprüft, ob sich Zyklen mit Konzeption (CC) infolge einer IVF/ICSI- oder Kryotransfer-Behandlung von Zyklen ohne Konzeption (NC) durch die Sekretionsleistung des Corpus luteum bereits im frühesten Stadium der embryonalen Implantation unterscheiden. Dabei wurden prospektiv luteale Östrogen- und Progesteronwerte an fünf Messzeitpunkten in 112 Zyklen (IVF/ICSI: 84, Kryotransfer: 28) mit Beginn des Embryotransfers (ET) bis 14 Tage danach (ET +14) analysiert. Im Unterschied zu vorhergehenden Studien wurde kein zusätzliches HCG als iatrogener Einflussfaktor in der Lutealphase substituiert.

Unterschiedliche Serumkonzentrationen von Östradiol und Progesteron zwischen CC und NC zeigten sich in der IVF/ICSI-Gruppe ab dem 4./5.Tag nach Embryotransfer und wurden statistisch signifikant ab ET +7 bis ET +14, mit höheren Östradiol- und Progesteronkonzentrationen bei CC verglichen mit NC. Auch bei den Kryotransferzyklen konnte in der Lutealphase ab dem 4./5. Tag nach Embryotransfer ein Unterschied des Östradiolwertes zwischen CC und NC festgestellt werden, der jedoch aufgrund einer vergleichsweise niedrigen Fallzahl auswertbarer Zyklen nicht signifikant war. Als vorbekannte Faktoren waren ein statistisch signifikant höherer Endometriumaufbau sowie ein besserer Embryoscore in der Gruppe der schwangeren Patientinnen nachweisbar bei ansonsten homogenen Patientenkollektiven.

Es kann schlussfolgernd angenommen werden, dass die Östradiol- und Progesteronsekretion in der Gelbkörperphase bereits in der frühesten Phase der embryonalen Implantation Unterschiede aufweist, die mit hoher Wahrscheinlichkeit durch frühe luteotrope Signale des Konzeptus mitbeeinflusst sind. Im Hinblick auf die Vorhersagbarkeit eines Schwangerschaftseintritts sind die jeweils ermittelten Östrogen- und Progesteronwerte nicht geeignet, mit ausreichender Genauigkeit eine Aussage zu treffen.

Tag der mündlichen Prüfung: 12.01.2011

<b>1. Einleitung</b>	<b>5</b>
1.1 Ungewollte Kinderlosigkeit .....	5
1.2 Die In-Vitro-Fertilisation (IVF) .....	6
1.3 Behandlungsverlauf und Erfolgsraten .....	7
1.4 Die Implantation – Interaktion zwischen Konzeptus und Endometrium ....	9
1.5 Fragestellung .....	10
<b>2. Material und Methoden</b>	<b>12</b>
2.1. Patientenkollektiv .....	12
2.2. Hormonelle Medikation.....	13
2.2.1 Stimulation bei IVF/ICSI-Zyklen .....	13
2.2.2 Substitution bei Kryo-Zyklen .....	16
2.3 Studienprotokoll.....	17
2.4 Östradiol- und Progesteron-Assay .....	18
2.5 Statistische Auswertung .....	19
<b>3. Ergebnisse</b>	<b>20</b>
3.1 Zusammensetzung der Therapie-Gruppen .....	20
3.2 Stimulationsverlauf .....	21
3.3 Embryonalentwicklung und Schwangerschaften .....	23
3.4 Verlauf von Östrogen- und Progesteronkonzentration nach Embryotransfer.....	25
3.4.1 Östrogenkonzentration im Gesamtkollektiv .....	25
3.4.2 Progesteronkonzentration im Gesamtkollektiv.....	26
3.5 Vergleich der Östrogen- und Progesteronspiegel zwischen den Gruppen .....	28
3.5.1 Östrogen.....	28
3.5.2 Progesteron .....	29
3.6 Östrogen- und Progesteronwerte in Abhängigkeit eines Schwangerschaftseintrittes .....	30
3.6.1 Östrogen- und Progesteronwerte (Gruppe A).....	30
3.6.2 Östrogen- und Progesteronwerte (Gruppe B).....	32
3.7 Sensitivitäts- und Spezifitätsanalyse unterschiedlicher Östrogenspiegel im Hinblick auf den Schwangerschaftseintritt.....	33
3.7.1 Gruppe A, CC: ET + 7 .....	33
3.7.2 Gruppe A, CC: ET + 14.....	37
3.8 Sensitivitäts- und Spezifitätsanalyse unterschiedlicher Progesteronspiegel im Hinblick auf den Schwangerschaftseintritt .....	40
3.8.1 Gruppe A, CC: ET + 7 .....	40
3.8.2 Gruppe A, CC: ET+14 .....	42
<b>4. Diskussion</b>	<b>46</b>
<b>5. Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>60</b>
<b>6. Abbildungsverzeichnis</b>	<b>61</b>
<b>7. Tabellenverzeichnis</b>	<b>62</b>
<b>8. Literaturverzeichnis</b>	<b>63</b>
<b>9. Lebenslauf</b>	<b>73</b>
<b>10. Danksagung</b>	<b>74</b>
<b>11. Anhänge</b>	<b>I</b>

# **1. Einleitung**

## ***1.1 Ungewollte Kinderlosigkeit***

Aktuelle Schätzungen gehen davon aus, dass in Deutschland zirka 10 bis 15% aller Paare von ungewollter Kinderlosigkeit betroffen sind. Angesichts der derzeitigen Gesellschaftsstruktur ist dies ein nicht zu vernachlässigender Anteil. Dabei sind die verursachenden Störungen bei Frauen und Männern etwa gleich verteilt, wobei häufig mehr als ein Faktor zum Tragen kommt. In einem Drittel der Fälle liegt jedoch eine idiopathische Sterilität vor, das heißt, die Ursache für die ungewollte Kinderlosigkeit bleibt dauerhaft ungeklärt (33).

Der Begriff Sterilität beschreibt die Unfähigkeit eines Paares, ein gesundes Kind zu zeugen, auszutragen oder zur Welt zu bringen. Ein Paar gilt als unfruchtbar, wenn nach einem Jahr ungeschützten Verkehrs keine Empfängnis zu Stande kommt oder die Frau nicht fähig ist zu gebären. Diese Auffassung orientiert sich an der Empfehlung der Weltgesundheitsorganisation WHO (73). Seit einiger Zeit gewinnt auch die Auffassung der ESHRE (Europäische Gesellschaft für Humane Reproduktion und Embryologie, 11) zunehmend an Bedeutung, die erst nach zwei Jahren von Sterilität sprechen will und damit den veränderten Lebensbedingungen in den westlichen Industrienationen Rechnung trägt, zum Beispiel der größeren Mobilität der Partner.

Über die letzten Jahre mehren sich die Hinweise auf eine Zunahme der ungewollten Kinderlosigkeit im Zusammenhang mit Faktoren wie Rauchen, Alkohol, anderen Umwelttoxinen und Stress. Doch auch Wohlstandserkrankungen wie Diabetes mellitus und andere Stoffwechselerkrankungen tragen ihren Teil dazu bei (41, 44, 67). Des Weiteren sind eine veränderte Familienplanung sowie die zunehmende Bedeutung von Ausbildung und Beruf dafür verantwortlich, dass das durchschnittliche Alter der Frauen zum Zeitpunkt der ersten Geburt in Deutschland derzeit bei 29,8 Jahren liegt (Statistisches Bundesamt: Geborene und gestorbene Deutschland, 2006, [www.destatis.de](http://www.destatis.de)). Das Alter der Frau ist jedoch ein entscheidender Faktor für die Konzeptionswahrscheinlichkeit und damit reziprok korreliert.

## **1.2 Die In-Vitro-Fertilisation (IVF)**

1978 wurde mit Louise Brown in Großbritannien das erste Kind, das nach einer Befruchtung außerhalb des menschlichen Körpers mittels In-vitro-Fertilisation (IVF) gezeugt wurde, geboren. Seither hat sich diese Methode zur Befruchtung außerhalb des Körpers fest etabliert und laufend weiterentwickelt. Auf diese Weise kann kinderlosen Paaren mit akzeptabler Erfolgswahrscheinlichkeit (ca. 30% Schwangerschaftsrate pro Behandlungszyklus bei der IVF, siehe DIR 2007) zu einem eigenen Kind verholfen werden.

Der Begriff „künstliche Befruchtung“, wie er sich im Sprachgebrauch durchgesetzt hat, trifft den Sachverhalt nicht richtig, läuft doch der eigentliche Befruchtungsvorgang, also die Verschmelzung der beiden Zellkerne, ganz natürlich ab. Die Befruchtung außerhalb des Körpers, auch assistierte oder medizinisch unterstützte Reproduktion genannt, überbrückt vielmehr Störungen der natürlichen Empfängnis oder Zeugungsfähigkeit. Seitdem vor bald 30 Jahren die erste künstliche Befruchtung gelang, ist die Methode im Prinzip die gleiche geblieben. Der britische Biologe Robert Edwards hatte rund 10 Jahre experimentiert, bevor die Befruchtung im Labor erfolgreich war. Nach laparoskopischer Eizellentnahme konnte ein in der Laborschale befruchteter Keim in die Gebärmutter einer Patientin eingesetzt werden, die auf natürlichem Wege nicht schwanger werden konnte. Das Neugeborene war eine Weltsensation: der erste Mensch, der außerhalb des Körpers gezeugt wurde.

1982 kam an der Universitätsklinik Erlangen das erste IVF-Kind in Deutschland zur Welt, mittlerweile gibt es in der gesamten Bundesrepublik rund 120 Kinderwunschzentren, die künstliche Befruchtungen durchführen (DIR 2007).

Weltweit werden in Arztpraxen und Kliniken Kinderwunschbehandlungen vorgenommen, mittlerweile wurden nach künstlicher Befruchtung 3 Millionen Kinder geboren, allein in Deutschland sind das bisher fast 100.000 Kinder, die aus künstlicher Befruchtung hervorgegangen sind (12). Dabei hat sich das Spektrum der Indikationen für die extrakorporale Befruchtung sehr erweitert. Wurde sie am Anfang hauptsächlich zur Behandlung der tubaren Sterilität eingesetzt, so stellt heute die männliche Subfertilität einen großen Anteil der Indikationen dar. Des Weiteren kann sie bei Endometriose-Patientinnen angezeigt sein sowie bei immunologischer und idiopathischer Sterilität. Die Voraussetzungen zur künstlichen Befruchtung sind in den Richtlinien des Bundesausschusses der Ärzte und Krankenkassen über ärztli-

che Maßnahmen zur künstlichen Befruchtung ("Richtlinien über künstliche Befruchtung") sowie im Sozialgesetzbuch festgelegt. (vergl. Richtlinien zu Maßnahmen der assistierten Reproduktion, §27a SGB V).

Das deutsche IVF-Register ist das zentrale Register der deutschen Kinderwunschzentren und dokumentiert die Behandlungsabläufe, bis hin zur Geburt nach erfolgreicher Behandlung. So wurden von 1997 bis 2004 über eine halbe Million Behandlungszyklen durchgeführt, davon entfielen 381.219 Zyklen auf IVF-ICSI- oder kombinierte Behandlungen. Bei diesen wiederum kam es in 95.751 Fällen zu einer Schwangerschaft. 61.839 dieser Schwangerschaften endeten mit einer Geburt. Insgesamt kamen so in über 8 Jahren 77.753 Kinder zur Welt. Dazu noch einmal rund 10.000, die nach der Befruchtung im Pronukleusstadium kryokonserviert und später in einem Auftauzyklus wieder in die Gebärmutter transferiert wurden. Da nach Eintreten einer Schwangerschaft der einweisende Frauenarzt die weitere Schwangerenvorsorge übernimmt und dieser nicht zur Meldung an das IVF-Register verpflichtet ist, kann man davon ausgehen, dass die tatsächliche Geburtenrate nach künstlicher Befruchtung etwas höher liegt als die o. g. Zahlen.

Im Jahre 2005 kamen in Deutschland insgesamt 685.795 Kinder lebend zur Welt (Statistisches Bundesamt: Geborene und gestorbene Deutschland, [www.destatis.de](http://www.destatis.de)). Davon waren 6743 durch In-vitro-Fertilisation oder Mikroinsemination (ICSI) allein an deutschen Zentren für Fortpflanzungsmedizin entstanden. Das entspricht einem Anteil von knapp einem Prozent. Anders gesagt: Jedes einhundertste Neugeborene wurde außerhalb des Körpers gezeugt.

### ***1.3 Behandlungsverlauf und Erfolgsraten***

Grundlage der IVF ist die hormonelle Stimulation des Eierstocks zur Erzielung einer multifollikulären Reifung. Begleitend werden im Rahmen unterschiedlicher Stimulationsprotokolle GnRH-Analoga eingesetzt, um eine vorzeitige Luteinisierung und damit den Verlust der Eizellen zu vermeiden (42). In letzter Zeit werden auch zunehmend so genannte „milde“ IVF-Zyklen durchgeführt, wobei hier eine wesentlich geringere Stimulationsdosis zur Anwendung kommt, um das Risiko eines ovariellen

Überstimulationssyndroms zu vermeiden sowie die Behandlungskosten zu reduzieren (49).

Die Patientin wird unter der Stimulation zur IVF-Behandlung sonographisch überwacht und der Eisprung zum optimalen Zeitpunkt künstlich ausgelöst. Anschließend werden mehrere Eizellen durch transvaginale, Ultraschall-kontrollierte Follikelpunktion gewonnen, mit den Spermazellen zusammengebracht und nach erfolgreicher Befruchtung in aller Regel mehrere Präimplantationsembryonen transferiert. Auch die zweite Zyklushälfte wird hormonell bis zum sicheren Nachweis einer Schwangerschaft oder Eintreten der Regelblutung unterstützt. Gemäß dem Embryonenschutzgesetz ist in Deutschland das Übertragen von höchstens drei Embryonen erlaubt. Dadurch soll die Rate an Mehrlingsschwangerschaften, welche mit einem erhöhten Risiko sowohl für die Patientinnen als auch für die Neugeborenen einhergehen, möglichst gering gehalten werden (Embryonenschutzgesetz 1990, § 1). Bei Frauen unter 35 Jahren werden in der Regel auch nur zwei Embryonen transferiert, nach mehrfach erfolgloser Behandlung ohne Schwangerschaftseintritt oder bei älteren Patientinnen kann gegebenenfalls auch ein Transfer von drei Embryonen erfolgen.

Dabei ist die Technik der In-vitro-Fertilisation ein relativ klares, in den einzelnen Schritten stets überprüfbares Modell, bei dem eventuelle Störfaktoren zudem gut eliminierbar sind. Hiernach ist es möglich, relativ homogene Patientenkollektive zu definieren, wobei sogar Vergleiche auf den wichtigen Ebenen der Eizellqualität, Fertilisation und Embryonenqualität möglich sind. Aufgrund der extrakorporalen Fertilisation und des anschließenden intrauterinen Embryotransfers lässt sich eine genaue Zuordnung zwischen der Zahl der transferierten Embryonen, ihrer Morphologie und den daraus entstehenden Schwangerschaften bzw. Implantationen, d. h. Fruchtanlagen, treffen. So lässt sich die Implantationsrate eines jeden einzelnen, transferierten Embryos ziemlich exakt feststellen.

Eine Schwangerschaft kann bei Frauen, die jünger als 36 Jahre sind, in etwa einem von 3 Behandlungszyklen erzielt werden. Dies wiederum heißt, im Durchschnitt sind zur Erfüllung des Kinderwunsches 3 – 4 Behandlungsversuche notwendig. Die „Baby-take-home-Rate“, also die Wahrscheinlichkeit, dass ein Paar am Ende ein Kind in Händen hält, beträgt pro Behandlung rund 18 %. Knapp jede 5. Behandlung führt also zur Geburt eines Kindes.

## **1.4 Die Implantation – Interaktion zwischen Konzeptus und Endometrium**

Trotz des hohen Standards, den man heute in der IVF-Behandlung erreicht hat, wird schon lange beobachtet, dass es Patientinnen bzw. Paare gibt, bei denen es auch unter optimalen Bedingungen nach der Durchführung von 3 oder mehr Behandlungszyklen nicht zum Eintritt einer Schwangerschaft kommt. Aufgrund dessen kann man vermuten, dass bei diesen Patientinnen in der Implantationsphase Probleme vorliegen, die nur schwer zu erfassen sind. Diese könnten entweder darin bestehen, dass sich ein Embryo gar nicht implantiert oder, dass er kurz nach der Implantation wieder abstirbt

Die erfolgreiche Implantation des frühen menschlichen Embryos und die Aufrechterhaltung der frühen Schwangerschaft hängen stark von der Embryonenqualität und der Rezeptivität des Endometriums ab (61). Die Implantation ist ein Prozess, in dem sich die frei in der Gebärmutterhöhle schwimmende Blastozyste dem Endometrium anlagert und anschließend in dessen Stroma eindringt mit nachfolgender Bildung der Plazenta. Dabei müssen eine synchrone Entwicklung der Implantationsfähigkeit der Blastozyste sowie ein auf embryonale Signale reagierendes Endometrium vorausgesetzt werden. Dieser Prozess wird durch einen komplexen Dialog zwischen Endometrium und Konzeptus gesteuert, wobei u.a. Hormone, Adhäsionsmoleküle und die extrazelluläre Matrix als Mediatoren in Frage kommen. Die Entwicklung des aufnahmefähigen Endometriums wird durch die ovariellen Steroide reguliert und die zeitlich regulierte und koordinierte sekretorische Differenzierung des Endometriums während der Lutealphase kulminiert (zumindest bei Primaten und höchst wahrscheinlich auch bei Menschen) in der Öffnung des so genannten Implantationsfensters für nur wenige Tage (6). Die Implantation beim Menschen erscheint im Vergleich zu anderen Primaten relativ ineffizient. Während man beim Menschen von einer Implantationsrate von ca. 30% pro Zyklus ausgeht, kann diese bei manchen Affenarten 70% erreichen. Wenn eine embryonale Implantation eintritt, wird die Struktur und Funktion des Corpus luteum, das offensichtlich auf luteotrope Signale ausgehend von der Implantationsstelle reagiert, im Konzeptionszyklus aufrecht erhalten. Menschliches Choriongonadotropin (HCG) und das luteinisierende Hormon (LH) sind die bisher einzigen identifizierten luteotropen Substanzen (27). Die logarithmisch nach der embryonalen Implantation steigenden Konzentra-

tionen von HCG stimulieren die luteale Sekretion von Estradiol und Progesteron, welche wiederum die endometriale Funktion und Integrität aufrechterhalten.

Seit den frühesten Tagen der IVF-Behandlung wurde beschrieben, dass sich die Lutealphase in stimulierten Zyklen von den physiologischen Bedingungen unterscheidet. Bereits in den ersten Veröffentlichungen wurde eine wesentliche Verkürzung der Lutealphase nach Gonadotropinstimulation erwähnt, als Grund hierfür wurde der durch die ovarielle Überstimulation stark erhöhte Östradiolspiegel in der Follikelphase vermutet (10).

Interessanterweise wurden in immunhistochemischen Studien, die für Östrogen- und Progesteronrezeptoren spezifische Antikörper benutzten, Unterschiede im lutealen Sekretionsmuster von Östradiol und Progesteron sowie der Expression der Rezeptoren zwischen Zyklen mit Konzeption und Zyklen ohne Konzeption bereits 3 Tage nach dem mittzyklischen LH-Anstieg festgestellt. Zu diesem Zeitpunkt erreicht der Embryo gerade die Gebärmutterhöhle und nimmt ersten Kontakt zum Endometrium auf. Infolge dessen ist dann die Implantation mit einem sekundären Anstieg von Östradiol und Progesteron verbunden. Dieser Anstieg bedeutet die Rettung für den Gelbkörper am 9. – 11. Tag nach dem LH-Anstieg (37). Dieses Phänomen konnte bei Donor-Inseminationszyklen nachgewiesen werden, in denen Östradiol- und Progesteronkonzentrationen bereits 6 Tage nach dem mittzyklischen LH-Anstieg signifikant höher waren als bei Zyklen ohne Konzeption, wobei HCG nicht vor dem 10. Tag nach dem LH-Gipfel im Serum nachweisbar war (66). Zusätzlich waren in IVF-Zyklen bereits 8 Tage nach der Ovulationsinduktion mittels HCG höhere Östradiolkonzentrationen nachweisbar als bei Zyklen ohne Konzeption (30, 1)

### **1.5 Fragestellung**

Ein besseres Verständnis der Interaktion zwischen Embryo- und mütterlichem Organismus ist einer der wichtigsten Faktoren für eine zukünftige Verbesserung der Erfolgschancen assistierter Reproduktionsverfahren. Weiterhin ist durch die genaue Analyse des hormonellen Milieus während der frühen Implantationsphase zu erhoffen, dass Patientinnen identifiziert werden, die eine gezielte hormonelle Sub-

stitution oder Stimulation für eine erfolgreiche Implantation benötigen. Gleichzeitig könnten dadurch zum Teil routinemäßig eingesetzte und mit Risiken verbundene Therapieformen (HCG-Gaben in der Lutealphase, damit verbundenes erhöhtes Risiko für ovarielle Überstimulationen) bei einer Großzahl an Patientinnen, die hierdurch nicht profitieren, eingeschränkt werden.

Im Rahmen einer retrospektiven Untersuchung (22) konnte gezeigt werden, dass sich die Hormonverläufe in der Lutealphase nach IVF-Behandlung zwischen Patientinnen in Abhängigkeit von der Konzeption bereits sehr früh – ab dem 4. Tag - nach dem Embryotransfer unterscheiden. Hierfür wurde das Vorliegen eines frühen Signals vom Embryo an das Ovar postuliert.

Die Frage, ob diese hormonellen Unterschiede zwischen Konzeptionszyklen und Nicht- Konzeptionszyklen kurz nach der Fertilisation durch ein Signal des Präimplantationsembryos auf das Ovar, oder ob die Unterschiede durch eine bessere Qualität des ovariellen Stimulationszyklus mit einem vorteilhafteren Milieu für den Eintritt einer Schwangerschaft bedingt sind, ist von größter Bedeutung und soll hier untersucht werden: endogene Corpus luteum-Sekretionsmuster wurden durch Bestimmung der lutealen Östradiol- und Progesteronsekretion in Zyklen mit (IVF/ICSI) beziehungsweise ohne (Kryo-Embryotransfer) Hypophysenunterdrückung durch Gonadotropin-Releasing-Hormon (GnRH)-Analoga und anschließender Gonadotropinstimulation untersucht.

Die Studie überprüft als prospektive Untersuchung zum einen die Hypothese, ob Zyklen mit Konzeption nach einer IVF-, ICSI- oder Kryoembryotransfer-Behandlung von Zyklen ohne Konzeption durch ihre Gelbkörperfunktion unterschieden werden können – und ob diese Unterschiede bereits im frühesten Stadium der embryonalen Entwicklung nachweisbar sind, noch bevor eine Implantation eintritt. Im Gegensatz zu der 2004 durchgeführten Studie erfolgte die Datenerhebung prospektiv und es wurde zur Unterstützung der Gelbkörperphase nur Progesteron vaginal ohne zusätzliche HCG-Injektionen appliziert. Durch diese Maßnahme konnte ein potentieller vom jeweils behandelnden Arzt abhängiger Bias vermieden werden.

Zum anderen soll die Bedeutung des ovariellen Stimulationszyklus im Hinblick auf die mögliche Schwangerschaft beurteilt werden. Behandlungen mit hochdosierter Gonadotropinstimulation (IVF/ICSI) führen bei normal reagierenden Ovarien zu einer supra-physiologischen Steroidbildung, die ihrerseits einen bedeutenden Ein-

fluss auf die Gelbkörperphase nimmt. Aus diesem Grund wurden in unserer Studie 28 Zyklen nach Kryokonservierung von Pronuklei und anschließendem Auftauen eingeschlossen. Bei diesen entfällt die ovarielle Gonadotropinstimulation vor Durchführung des Embryotransfers und es erfolgt eine einheitliche Substitution in der Lutealphase. Somit stand dieses kleinere Patientenkollektiv als Kontrollgruppe mit nahezu physiologischen Steroidspiegeln zu den Patientinnen im IVF/ICSI-Zyklus zur Verfügung. In der Kryo-Gruppe würden Unterschiede in den Hormonprofilen im Falle einer Schwangerschaft auf eine endogene Sekretion zurückzuführen sein.

Des Weiteren soll beurteilt werden, ob eine eventuelle Vorhersagbarkeit für einen positiven Therapieausgang (= Schwangerschaft) aufgrund der erhobenen Daten - noch vor Durchführung eines Schwangerschaftstests - auszumachen ist.

## **2. Material und Methoden**

### ***2.1. Patientenkollektiv***

In einer prospektiven Studie wurden konsekutiv zwischen März 2004 und September 2005 alle für eine IVF, ICSI oder Kryoembryotransfer-Behandlung in Frage kommenden Patientinnen zur Teilnahme an der Studie eingeladen.

Das Patientenkollektiv umfasst 110 Patientinnen, die in insgesamt 112 Zyklen wegen ungewollter Kinderlosigkeit im Bereich für Assistierte Reproduktion der Universitätsfrauenklinik Münster behandelt wurden. Diese 112 Zyklen teilen sich auf in 84 IVF/ICSI-Behandlungen mit anschließendem Embryotransfer sowie 28 Zyklen mit Embryotransfer nach Kryokonservierung bei zurückliegender IVF/ICSI-Behandlung. Vor Teilnahme an dieser Studie wurde von den Probandinnen zu Behandlungsbeginn das schriftliche Einverständnis eingeholt (s. Anhang).

Bei allen Paaren wurde zuvor in der Kinderwunschsprechstunde eine entsprechende Diagnostik vor Behandlungsbeginn durchgeführt. Zu dieser Diagnostik gehörte ein genaues Zyklusmonitoring mit Hormonwertbestimmung am 2. – 4. Zyklustag, eine mittzyklische Vaginalsonographie um den 12. Zyklustag sowie eine Blutabnahme zur Progesteronbestimmung in der Lutealphase. Von den Partnern der Patientinnen wurden mindestens 2 Spermioogramme im Abstand von 8 – 12 Wochen

eingefordert. Diese Untersuchungen erfolgten ausnahmslos im Institut für Reproduktionsmedizin des Universitätsklinikums Münster. Entsprechend dieser Diagnostik wurden die Patientinnen in 4 Indikationsgruppen unterteilt: Andrologische, weibliche, gemischte sowie idiopathische Sterilität.

Bei andrologischer Indikation bestand ein auffälliger Spermogrammbezug gemäß den WHO-Richtlinien. Der weibliche Untersuchungsbefund war dabei unauffällig.

Bei weiblicher Indikation war eine der folgenden Diagnosen zu stellen: Tubare Sterilität, Endometriose, ovarielle Sterilität mit Follikelreifungsstörung sowie Corpus luteum-Insuffizienz.

Eine gemischte Indikation bestand, wenn sowohl beim Mann als auch bei der Frau eine der o. g. Einschränkungen der Fertilität bestanden.

Die idiopathische Indikation umfasste alle Patienten, bei denen keine Ursache für die ungewollte Kinderlosigkeit gefunden wurde. Sowohl bei der Patientin als auch bei ihrem Partner wurden Normalbefunde erhoben. Bei einem Teil dieser Patientinnen waren zuvor Inseminationsbehandlungen ohne Erfolg durchgeführt worden, bevor die Entscheidung zu einer IVF- oder ICSI-Behandlung getroffen wurde.

## ***2.2. Hormonelle Medikation***

### **2.2.1 Stimulation bei IVF/ICSI-Zyklen**

Die Stimulation erfolgte in der Regel nach dem so genannten langen oder Agonisten-Protokoll. Dabei kam zur Down-Regulation der Hirnanhangsdrüse entweder das GnRH-Analogen Decapeptyl (0,1 mg pro Tag subkutan injiziert; Ferring, Kiel, Deutschland) oder Nafarelin (0,4 mg pro Tag, nasale Applikation; Pfizer, Erlangen, Deutschland) zur Anwendung. Diese GnRH-Agonisten docken wie andere Analoga an den hypophysären GnRH-Rezeptor an und führen zunächst zu einer initialen Freisetzung von FSH und LH („Flare-up-Effekt“). Dabei ist die Bindung dieser Medikamente an den Rezeptor wesentlich länger wirksam als genuines GnRH, was einer funktionellen Blockade gleich kommt. Somit sind Agonisten eigentlich FSH/LH-Sekretionsblocker. Die Applikation dieser Wirkstoffe erfolgte mittluteal, wobei dann im Anschluss frühestens zwei Wochen nach Bestätigung der erfolgreichen Down-Regulation durch eine Östradiol-Konzentration unter 110 pmol/l sowie

eingetretener vaginaler Blutung die ovarielle Stimulationsbehandlung beginnt. Zur Anwendung kam dabei gentechnologisch hergestelltes, rekombinantes FSH (Gonal F<sup>®</sup>; Fa. Serono, Unterschleißheim, Deutschland oder Puregon<sup>®</sup>; Fa. Organon, Oberschleißheim, Deutschland) und/oder das humane Menopausen-Gonadotropin (hMG, z.B. Menogon<sup>®</sup>; Fa. Ferring, Kiel, Deutschland), das aus dem Urin menopausaler Frauen gewonnen wird und sowohl LH- als auch FSH-Aktivität enthält. Die anfängliche Stimulationsdosis wurde dabei in Abhängigkeit vom basalen FSH, der ermittelten Zahl antraler Follikel sowie eventuellen Vorzyklen entsprechend der zu erwartenden ovariellen Antwort gewählt. Die Standard-Anfangsdosis lag bei 150 IE. Die Entscheidung, ob FSH oder hMG zur Stimulation verwendet wird, ist zumeist subjektiv vom behandelnden Arzt und den Erfahrungen aus eventuellen Vorzyklen abhängig.

Bei weniger als zehn Prozent der IVF/ICSI-Behandlungen wurde die Stimulation im Antagonistenprotokoll durchgeführt. Der Stimulationsbeginn liegt in diesem Fall am zweiten oder dritten Zyklustag, und ab dem 6. Tag der Gonadotropin-Stimulation erfolgte täglich der zusätzliche Einsatz des GnRH-Antagonisten Cetrotide<sup>®</sup> (Fa. Serono) subkutan bis zum Zeitpunkt der Ovulationsinduktion, um vorzeitige Ovulationen zu verhindern.

Das Follikelwachstum wurde mittels transvaginaler Sonographie und Serumhormonkonzentrationen (Östradiol, LH und Progesteron) kontrolliert, und die Gonadotropin-Stimulation entsprechend der Dynamik des Follikelwachstums angepasst. An dem Tag der Stimulation, an dem über den Zeitpunkt der Ovulationsinduktion entschieden wurde, erfolgte eine letzte Vaginalsonographie zur Messung von Anzahl und Größe der herangereiften Follikel. Es wurden insbesondere alle Follikel mit einer Größe über 10 mm dokumentiert, da ab dieser Größe die Möglichkeit einer Eizellentnahme bestand. Die Ovulationsinduktion erfolgte entweder mittels Gabe von 250 µg rekombinatem Choriogonadotropin alpha (Ovitrelle<sup>®</sup>; Fa. Serono) oder 10.000 IE Choriogonadotropin (z.B. Choragon<sup>®</sup>; Fa. Ferring) sobald mindestens 3 Follikel einen Durchmesser von > 17 mm erreicht hatten. In Korrelation zu der Follikelgröße ist der gemessene Östradiolwert zu sehen; bei einer Größe von 17 mm werden pro Follikel ca. 200 pg/ml dieses Hormons gebildet, so dass ergänzend auch der gemessene Östradiolwert zur Entscheidung über die Ovulationsaus-

lösung zur Hilfe gezogen wurde. 35 – 36 Stunden nach der HCG-Gabe erfolgte die transvaginale, Ultraschall-gesteuerte Follikelpunktion unter Analgesie mit Sufentanyl. Anschließend wurden die Eizellen in einem standardisierten Medium kultiviert. Je nach andrologischem Vorbefund wurde entweder eine konventionelle IVF-Behandlung oder eine ICSI durchgeführt. Bei der konventionellen IVF-Behandlung erfolgte etwa vier Stunden nach Gewinnung der Oozyten die Insemination mit den aufbereiteten Spermien des Partners (ca. 100.000 motile Spermien pro Oozyte). In der Vorbereitung zur ICSI-Behandlung müssen die Eizellen zunächst von den sie umgebenden Granulosazellen befreit werden. Anschließend wird die Eizelle zur Spermieninjektion an eine Haltepipette arretiert, mit einer Injektionspipette exakt gegenüber der Haltepipette durch die Zona pellucida in die Eizelle eingestochen und das einzelne Spermium mit möglichst geringem zusätzlichem Volumen in die Eizelle injiziert. 16 – 18 Stunden nach der jeweiligen Insemination wurden die Eizellen auf Vorkerne untersucht. Dabei wurden gemäß dem deutschen Embryonenschutzgesetz so viele Vorkernstadien (Pronuklei), wie vom Paar Embryonen gewünscht (maximal drei), weiter kultiviert. Überschüssige Eizellen wurden entsprechend dem Wunsch des Paares, sofern möglich, kryokonserviert, um bei ausbleibendem Schwangerschaftseintritt zu einem späteren Zeitpunkt einen Kryoembryotransferzyklus nach Auftauen und Weiterentwicklung der befruchteten Eizellen zu Embryonen durchführen zu können. Alternativ wurden überschüssige Eizellen verworfen. Nach 48 Stunden In-Vitro-Kultur wurden schließlich die entstandenen Embryonen zumeist im 4 – 8-Zell-Stadium beurteilt, um diese anschließend intrauterin zu transferieren. Der morphologische Grad von Embryonen, die bei der assistierten Reproduktion entstehen, wird dabei nach folgendem Schema beurteilt:

- Grad 4(A): gleich große, symmetrische Blastomeren
- Grad 3(B): verschieden große Blastomeren mit < 10 % Fragmentation
- Grad 2(C): 10-50 % Fragmentation der Blastomeren
- Grad 1(D): > 50 % Fragmentation der Blastomeren

Der Embryo-Score nach Steer (64) errechnet sich durch Multiplikation des morphologischen Grades mit der Anzahl der Blastomeren des jeweiligen Embryos. Der kumulative Embryo-Score entspricht der Summe der Scores der kultivierten und transferierten Embryonen.

Da bei stimulierten Zyklen durch die unphysiologisch hohen Hormonkonzentrationen die Lutealphase bekanntermaßen verkürzt sein kann, wird standardmässig durch exogene Gestagengaben eine ausreichende Transformation und Aufrechterhaltung des Endometriums sichergestellt. Alle Patientinnen erhielten diesbezüglich eine vaginale Progesteron-Substitution in einer Dosierung von entweder 90 mg pro Tag (Crinone 8 %<sup>®</sup>; Fa. Serono) oder 600 mg pro Tag (Utrogest<sup>®</sup>; Fa. Kade, Berlin, Deutschland) beginnend am Tag nach der Eizellentnahme. Eine weitere Unterstützung der Corpus luteum-Phase mittels wiederholter HCG-Injektionen erfolgte nicht.

### **2.2.2 Substitution bei Kryo-Zyklen**

Eine Untergruppe von Patientinnen, die an dieser Studie teilnahmen, erhielt einen Embryotransfer im Rahmen eines so genannten Kryoembryotransferzyklus. Dies bedeutet, dass überzählige in flüssigem Stickstoff kryokonservierte Pronuklei aus einem vorhergehenden IVF- oder ICSI-Zyklus nach schonendem Auftauen und weiterer Kultivierung in geeignetem Medium als Embryonen in die Gebärmutter zurückübertragen werden.

Entstehen in einem IVF/ICSI-Zyklus nach der Verschmelzung der Gameten mehr Pronuklei als der Patientin im gleichen Zyklus wieder rückübertragen werden, besteht die Möglichkeit, diese in späteren Versuchen nach vorübergehender Kryokonservierung zu verwenden. Dabei wird nach Einsetzen der Regelblutung zur Unterstützung der Endometriumproliferation eine orale Substitution von Östradiol (Progynova 21<sup>®</sup>, 2 mg Estradiolvalerat, Fa. Schering, Deutschland: 1.-5. ZT: 1x1, 6.-9. ZT 2x1 und ab dem 10. ZT 3x1 Tablette) begonnen. In einer mittzyklischen vaginalsonographischen Kontrolle ab Tag 12 des Zyklus erfolgte eine erste Beurteilung der Endometriumdicke. Ergab sich dabei ein Wert von mindestens 8 mm, wurde der Auftauvorgang von zwei oder drei Vorkernen begonnen und anschließend der Embryotransfer durchgeführt. War die Schleimhaut noch nicht entsprechend entwickelt, wurde im weiteren Zyklusverlauf das Endometrium erneut kontrolliert, bis es die gewünschte Dicke aufwies. Nach dem Transfer wurde die Progynova-Einnahme bis zum Schwangerschaftstest fortgesetzt, die Lutealphase wurde entsprechend dem IVF/ICSI-Protokoll ebenfalls mit Crinone oder Utrogest unterstützt.

Dabei wurde mit der Progesteronsubstitution am Tag des Auftauens der Vorkerne begonnen.

### **2.3 Studienprotokoll**

Zusätzlich zum normalen Zyklus-Monitoring wurden alle Patientinnen, die einen Embryotransfer erhielten, am Tag des Embryotransfers, am 2./3., 4./5., 7. und 14. Tag nach Embryotransfer zur Blutentnahme einbestellt. Dabei wurde im Rahmen der Studie an jedem Kontrolltermin ein Serumröhrchen (5 ml) Blut entnommen, eingefroren und für die spätere Auswertung gelagert.

Über den Studienablauf wurden die Patientinnen mit Hilfe eines Informationsblattes aufgeklärt, sobald die Durchführung eines Embryotransfers feststand. Willigten die Patientinnen in die Teilnahme zur Studie ein, wurde das Einverständnis für die Blutentnahme auch zu wissenschaftlichen Zwecken und für die anschließende Verwertung der Daten eingeholt (siehe Aufklärung und Einverständniserklärung im Anhang). Die Einwilligung für die Teilnahme an der Studie erfolgte freiwillig und hatte keine Konsequenzen für die medizinische Behandlung. Die zusätzlich entnommene Menge an Blut war gesundheitlich in jedem Fall unbedenklich. Das Serum wurde nach Abzentrifugieren zur späteren Analyse bei  $-20^{\circ}$  aliquotiert eingefroren. Zielparameter waren dabei Östradiol und Progesteron.

Eine medizinisch-technische Assistentin war mit der Einlagerung der Proben vertraut und dokumentierte die Patientendaten. In der Datenbank wurden außer Name, Vorname, Geburtsdatum und Entnahmedatum keine krankheitsspezifischen Daten gespeichert. Diese Daten wurden gemäß den Bestimmungen des Datenschutzgesetzes streng vertraulich behandelt. Kopien der Einwilligungserklärungen der Patientinnen wurden den Patientinnen ausgehändigt sowie in der Patientenakte verwahrt.

Die Untersuchungsergebnisse und krankheitsrelevanten Daten sowie die Behandlungsverläufe wurden dokumentiert und mit Hilfe der EDV unter Berücksichtigung des Paragraphen 4 Absatz 3 des Landesdatenschutzgesetzes gespeichert und ausgewertet. Die Patienten- und Krankheitsdaten wurden entsprechend den Bestimmungen des Bundesdatenschutzgesetzes streng vertraulich behandelt. Wäre

es im Rahmen dieses Projektes notwendig geworden, Untersuchungen in anderen Einrichtungen durchführen zu lassen oder krankheitsrelevante Daten zu vergleichen, hätte die Weitergabe von Daten in anonymisierter Form erfolgen können. Dieses ist jedoch nicht geschehen.

Zwei Wochen nach dem Embryotransfer wurde ein Schwangerschaftstest mittels HCG-Bestimmung aus dem Serum der Patientin durchgeführt. Bei positivem Testergebnis wurde in regelmäßigen Abständen der weitere HCG-Verlauf kontrolliert. Eine Woche später erfolgte dann der erste vaginale Ultraschall zur Bestätigung einer intrauterinen Schwangerschaft sowie zur Überprüfung der Anzahl der eingetragten Embryonen. Mit Nachweis der ersten Herzaktivität folgte in der Regel die weitere Betreuung durch den niedergelassenen Frauenarzt. Bei allen eingetretenen Schwangerschaften wurde im weiteren Verlauf nachverfolgt, ob die Schwangerschaft bis über die 20. Schwangerschaftswoche intakt blieb oder ob bereits zuvor eine Fehlgeburt eintrat.

## ***2.4 Östradiol- und Progesteron-Assay***

Die im Studienverlauf entnommenen Blutproben wurden nach Zentrifugation und Absetzen zur späteren Verwendung zunächst bei  $-21^{\circ}\text{C}$  eingefroren und gelagert. Am Ende der Studie wurden die Proben aufgetaut, und die Konzentrationen von Östradiol und Progesteron im Serum durch das Zentrallabor der Universitätsklinik Münster mittels Elektrochemilumineszenz-Immuno-Assay (ECLIA, Roche, Mannheim, Deutschland) auf einem automatischen Analysegerät (Modular 170) gemessen. Dabei lag die Intraassay-Variation für physiologische und pathologische Östradiolkonzentrationen bei  $< 2,3\%$  und  $< 2,8\%$  sowie für physiologische und pathologische Progesteronkonzentrationen bei  $< 2,8\%$  sowie  $< 2,0\%$ .

Während der Durchführung der Studie lagen die Interassay-Variation für das physiologische Östradiolmaß bei  $< 3,2\%$ , für das pathologische Östradiolmaß bei  $< 2,3\%$ , für das physiologische Progesteronmaß bei  $< 2,6\%$  und für das pathologische Progesteronmaß bei  $< 2,0\%$ .

Alle angewendeten Methoden wurden durch interne und externe Qualitätsprogramme kontrolliert.

Die in dieser Studie ermittelten Östradiol- und Progesteronwerte wurden im Anschluss mit den entsprechenden relevanten Patientendaten in eine Excel-Datei (Microsoft Office Version 2003, Fa. Microsoft Corporation, U.S.A.) übernommen.

## **2.5 Statistische Auswertung**

Die statischen Auswertungen wurden mit Hilfe von SPSS für Windows, Version 15.0 (SPSS Inc., U.S.A.) durchgeführt. Die Darstellung der kontinuierlichen Variablen erfolgte als Mittelwerte, während als Streumaße die Standardabweichungen gewählt wurden.

Die kontinuierlichen Variablen wurden zunächst mittels des Kolmogorov-Smirnov-Tests hinsichtlich ihrer Normalverteilung überprüft. Bei nachgewiesener Normalverteilung (Kolmogorov-Smirnov-Test:  $p \geq 0,05$ ) erfolgte der anschließende Mittelwertvergleich zweier unabhängiger Stichproben mit dem t-test als parametrischem Test. Bei den nicht normalverteilten Stichproben wurde der Mann-Whitney-U-Test als nichtparametrisches Verfahren herangezogen. Beim Vergleich von mehr als zwei miteinander verbundenen, nicht normalverteilten Stichproben fand der Friedman-Test Anwendung.

Die kategorisierten Daten wurden mit Hilfe des Chi-Quadrat-Tests, bzw. des exakten Tests nach Fisher ausgewertet. Bei Verwendung des Chi-Quadrat-Tests wurden die erforderlichen Testvoraussetzungen erfüllt, so dass bei allen Tests weniger als 20% der erwarteten Häufigkeit kleiner 5 war. In Einzelfällen, in denen diese Testvoraussetzung nicht gegeben war, wird dies jeweils bei der Ergebnisdarstellung erläutert.

Die Korrelation zwischen zwei Parametern wurde durch den Korrelationskoeffizienten nach Spearman-Rho berechnet.

Bei allen durchgeführten Tests erfolgte eine zweiseitige Signifikanzüberprüfung, wobei für alle statistischen Tests ein p-Wert  $< 0,05$  als statistisch signifikant angenommen wurde.

In den graphischen Darstellungen, die ebenfalls mit SPSS erstellt wurden, wurden zur Veranschaulichung der Mittelwerte Fehlerbalken verwendet, wobei als Streumaß aufgrund der großen Streubreite die Standardfehler aufgeführt wurden. Zur Veranschaulichung des Einflusses der Sensitivität und Spezifität wurden bei den Korrelationen Receiver-Operator-Characteristic (ROC)-Kurven angefertigt.

### **3. Ergebnisse**

#### ***3.1 Zusammensetzung der Therapie-Gruppen***

Es wurde eine Gesamtzahl von 112 Behandlungszyklen in die Studie eingeschlossen, die sich bezüglich der einzelnen Therapien wie folgt verteilen: IVF (n=20), ICSI (n=64) und Kryozyklen (n=28).

Da sich ICSI-Behandlungen nur durch die intrazytoplasmatische Injektion eines Spermiums in die Eizelle von der IVF-Behandlung unterscheiden und somit kein hormoneller Unterschied in der Lutealphase zu erwarten ist, werden im Folgenden diese beiden Behandlungsformen zu einer Gruppe zusammengefasst (n=84, Gruppe A), die Kryozyklen bilden Gruppe B. Für die folgende Auswertung erfolgt eine weitere Unterteilung der Gruppen hinsichtlich Konzeption (CC) oder ausbleibender Konzeption (NC). Die Aufteilung des Patientenkollektivs in die einzelnen Gruppen ist zusammenfassend in Tabelle 1 dargestellt.

Ein signifikanter Unterschied hinsichtlich Alter der Frau bei Therapiebeginn und Gesamtzahl der bisher durchgeführten Zyklen ergibt sich zwischen den Gruppen nicht.

Betrachtet man nun die zahlenmäßig größere IVF/ICSI-Gruppe im Hinblick auf eine Konzeption und die zugrunde liegende Indikation, so sieht man in der Gruppe ohne Konzeption (NC, n = 59) einen Anteil von 89,8 % andrologischer Indikation im Ver-

hältnis zu nur 54,2 % andrologischer Indikation bei einer Konzeption (CC, n = 25). Diesbezüglich ergibt sich eine Signifikanz mit einem p-Wert von < 0,05.

Wenn man sich das Verhältnis von IVF zu ICSI in der IVF/ICSI-Gruppe (% IVF) anschaut, fällt auf, dass bei den Konzeptionszyklen zu 40 % die alleinige IVF-Behandlung zur Anwendung kam, bei den Zyklen ohne Konzeption lag der IVF-Anteil bei nur 16,9 % (p < 0,05). Es kann also der Schluss gezogen werden, dass in unserem Patientinnenkollektiv mit eingeschränktem andrologischen Befund (höherer Anteil an ICSI-Behandlung) die Wahrscheinlichkeit einer Konzeption geringer war.

Tabelle 1: Alter, Zykluszahl und Indikation

	A / CC (n = 25)	B / CC (n = 4)	A / NC (n = 59)	B / NC (n = 24)
Alter bei Behandlung (Jahre)	33.34 ± 0.58		34.04 ± 0.42	
	33.08 ± 0.65	35.00 ± 0.91	34.07 ± 0.51	33.96 ± 0.73
Gesamtzahl der Zyklen	1.66 ± 0.17		1.81 ± 0.11	
	1.72 ± 0.19	1.25 ± 0.25	1.97 ± 0.15	1.42 ± 0.13
Andrologische Indikation (n)	13	4	47	18
Weibliche Indikation (n)	8	0	5	3
Gemischte Indikation (n)	4	0	7	3

### **3.2 Stimulationsverlauf**

Bei den stimulierten Zyklen erhielt der überwiegende Anteil der IVF/ICSI-Patientinnen rekombinantes FSH (n =78), nur 6 Zyklen wurden zusätzlich mit hMG stimuliert. Betrachtet man die Gesamtheit der Zyklen mit Eintritt einer Schwangerschaft nach IVF/ICSI (n=25), so wurden 96 % dieser Zyklen mit rekombinantem FSH durchgeführt, bei den Zyklen ohne Konzeption (n=59) lag der Anteil bei 91,5 %. Diesbezüglich besteht keine Signifikanz zwischen der Wahl des Gonadotropins und dem Eintritt einer Schwangerschaft. Die Entscheidung, ob FSH oder hMG zur Stimulation verwendet wird ist zumeist subjektiv vom behandelndem Arzt und den Erfahrungen aus eventuellen Vorzyklen abhängig. Die Gesamtdosis der FSH-Applikation vom 1. Tag der Stimulation bis zur Ovulationsinduktion bei ausgereiften Follikeln lag im IVF/ICSI-Kollektiv im Mittel bei 2186 IU. Betrachtet man die FSH-

Gesamtdosis bezüglich einer Konzeption, so liegt die Dosis bei den Zyklen ohne Konzeption um 350 IU höher als bei den Zyklen mit Konzeption. Der Unterschied ist jedoch nicht signifikant. Die durchschnittliche Stimulationsdauer bis zum Tag der Ovulationsauslösung lag bei 10,75 Tagen. Die minimale Stimulationsdauer betrug sechs Tage bei gutem ovariellen Ansprechen, die längste Stimulation erfolgte aufgrund eines schlechten ovariellen Ansprechens über 16 Tage.

Bei der Auswahl des HCG-Präparats zur Auslösung des Eisprungs in der IVF/ICSI-Gruppe fiel die Entscheidung zumeist auf das rekombinante Präparat mit 250 µg. Nur bei bekannter Unverträglichkeit oder aufgrund noch vorhandener Restbestände aus vorhergehenden Zyklen kam das hochgereinigte HCG zur Anwendung. Im Hinblick auf das Ergebnis des Schwangerschaftstests konnte keine Signifikanz bezüglich des angewandten HCG-Präparates nachgewiesen werden: 92 % der schwangeren IVF/ICSI-Patientinnen erhielten rekombinantes HCG, bei den nicht Schwangeren lag dieser Wert bei 96,6 %. Im Durchschnitt waren in der IVF/ICSI-Gruppe unmittelbar vor Ovulationsinduktion knapp 14 Follikel über 10 mm vorhanden, wobei auch hier naturgemäß eine große Streubreite von minimal 3 bis maximal 34 Follikeln bestand. Betrachtet man die Anzahl der Follikel im Hinblick auf die Konzeption, so ist hier keine Signifikanz zwischen Konzeptionszyklen (CC) und Nicht-Konzeptionszyklen (NC) auszumachen. Beim Vergleich CC versus NC ist bezüglich der gewonnenen Oozyten kein signifikanter Unterschied festzustellen. Diese und die nachfolgenden Daten zum Stimulationsverlauf sind zusammenfassend in Tabelle 2 dargestellt.

Der Höchstwert der Östradiolkonzentration wurde bei allen Behandlungsgruppen bei der letzten Blutabnahme wenige Tage vor dem Embryotransfer gemessen. Durch die hochdosierte FSH-Gabe mit polyfollikulärer Reaktion der Eierstöcke stieg der Östradiolwert in der IVF/ICSI-Gruppe im Durchschnitt auf 2440,84 pmol/l, bevor HCG zur Ovulationsinduktion injiziert wurde. In der Kryotransfer-Gruppe wurde aufgrund des nur oral zusätzlich zugeführten Östradiols hier ein Wert von 295,11 pmol/l erreicht, der einer monofollikulären Reifung in Zyklusmitte entspricht, bevor die Entscheidung zum Auftauen der Kryo-Pronuklei zum anschließenden Transfer getroffen wurde. Wie zu erwarten ergibt sich bezüglich der Östradiolkonzentration hier im Mann-Whitney-U-Test ein höchstsignifikanter Unterschied ( $p = 0,000$ ). Im

Vergleich CC versus NC liegen die durchschnittlichen Östradiolwerte annähernd auf gleicher Höhe, so dass bezüglich einer Vorhersagbarkeit eines Schwangerschaftseintrittes der letzte Östradiolwert vor Durchführung des Embryotransfers keine Aussage liefert. Wie in Tabelle 2 dargestellt, gilt dies für die Patientinnen der IVF/ICSI-Gruppe sowie der Kryotransfer-Gruppe.

In der IVF/ICSI-Gruppe wurde ein signifikant höheres Endometrium am Tag der Ovulationsinduktion (HCG) bestimmt als in der Kryotransfer-Gruppe ( $p < 0,001$ ). Da die Endometriumdicke mit der Höhe der Östradiolkonzentration korreliert (proliferierende Wirkung von Östradiol auf das Endometrium mittels intrazellulärer Rezeptoren; (33)), ist das signifikant höhere Endometrium in der IVF/ICSI-Gruppe vermutlich als Konsequenz aus der höheren Östradiolkonzentration zu sehen. Das Endometrium war aber auch bei Zyklen mit Konzeption signifikant höher aufgebaut als ohne Konzeption, und zwar unabhängig von der Behandlungsart. Sowohl die IVF/ICSI als auch die Kryotransfer-Patientinnen mit Konzeption hatten eine um 1,15 mm respektive 1,82 mm höhere Gebärmutterschleimhaut in der letzten Ultraschallmessung, zusammenfassend dargestellt in Tabelle 2.

Tabelle 2: Stimulationsverlauf

	A / CC (n = 25)	B / CC (n = 4)	A / NC (n = 59)	B / NC (n = 24)
Gesamtdosis FSH (IU)	1943 ± 180	-	2289 ± 140	-
Anzahl der Follikel <sup>b</sup>	14.40 ± 1.41	-	13.76 ± 0.91	-
Höchstwert Östradiolkonzentration (pmol/l) <sup>b</sup>	2309 ± 249	285 ± 39	2491 ± 203	296 ± 31
Endometriumdicke (mm) <sup>b</sup>	11.03 ± 0.56 <sup>a</sup>		9.43 ± 0.23 <sup>a</sup>	
	11.26 ± 0.62	9.57 ± 1.16	10.11 ± 0.23	7.75 ± 0.37
Zahl der gewonnenen Oozyten	11.64 ± 1.18	-	11.60 ± 0.84	-

<sup>a</sup> $p < 0.05$  (CC vs NC)

<sup>b</sup>zum Zeitpunkt der HCG-Gabe vor Eizellgewinnung

### **3.3 Embryonalentwicklung und Schwangerschaften**

Im Falle einer Konzeption wurden im Durchschnitt 2,07 Embryonen rückübertragen, bei Ausbleiben einer Schwangerschaft lag die Anzahl der übertragenen Embryonen bei 1,86. Diesbezüglich unterscheiden sich die Werte nicht signifikant, ein Zusam-

menhang zwischen Anzahl der übertragenen Embryonen und Ausgang der Behandlung konnte in unserem Patientinnenkollektiv somit nicht nachgewiesen werden. Im Gesamtkollektiv lag der Embryo-Score als Indikator für die Embryonenqualität bei 18,60. Die Errechnung der asymptotischen Signifikanz nach Kolmogorov-Smirnov ergab einen Wert von 0,294, so dass von einer Normalverteilung des Embryo-Scores in unserem Kollektiv ausgegangen werden kann. Wie aus Tabelle 3 zu entnehmen, lag der kumulative Embryo-Score in der IVF/ICSI-Gruppe etwas höher als in der Kryotransfer-Gruppe. Es konnte jedoch keine Signifikanz diesbezüglich nachgewiesen werden ( $p= 0,435$ ). Betrachtet man jedoch den Embryo-Score im Hinblick auf eine eingetretene Schwangerschaft, so liegt dieser bei den Zyklen mit Konzeption mit 22,34 signifikant höher als bei den Zyklen ohne Konzeption. Unsere Werte bestätigen die allgemein bekannte Tatsache, dass bei höherem morphologischen Grad und größerer Anzahl von Blastomeren die embryonale Einnistungsrate und somit die daraus resultierenden Schwangerschaften höher liegt als bei Transfer von Embryonen mit geringerem Embryo-Score.

In der Gruppe A ergab sich eine Schwangerschaftsrate von 29,8 %, gegenüber einer Schwangerschaftsrate von 14,3 % in der Kryotransfer-Gruppe, der Unterschied war statistisch nicht signifikant. In der IVF/ICSI-Gruppe (A) konnte bei den 25 klinisch schwangeren Patientinnen sechsmal keine Herzaktion nachgewiesen werden, bei 16 Patientinnen war eine intakte intrauterine Einlingsgravidität und bei 3 Patientinnen eine intakte Geminigravidität festzustellen gewesen. In der Kryotransfer-Gruppe (B) resultierten aus anfänglich 4 klinischen Schwangerschaften 3 intakte intrauterine Einlingsschwangerschaften sowie eine Schwangerschaft mit fehlender Herzaktion. Bezüglich des fehlenden Nachweises einer Herzaktion liegt in beiden Gruppen die Abortrate mit 24 beziehungsweise 25 % auf gleicher Höhe. Die Zwillingsrate in der IVF/ICSI-Gruppe liegt bei 12 %. Es war zu keiner Drillingschwangerschaft gekommen.

Bei allen intakten Schwangerschaften wurde der weitere Verlauf über die 20. SSW hinaus verfolgt und die Anzahl der fortbestehenden Schwangerschaften dokumentiert. Dabei kamen in der IVF/ICSI-Gruppe bis zur 20. SSW noch 3 Aborte hinzu, so dass von den 25 ursprünglich HCG-positiv getesteten Patientinnen bei 16 eine intakte Schwangerschaft über die 20. SSW hinaus fortbestand. Somit ergibt sich

letztendlich eine Schwangerschaftsrate von 19 % an fortbestehenden Schwangerschaften in der IVF/ICSI-Gruppe, oder anders formuliert: 64% der Patientinnen mit einem positiven Schwangerschaftstest erreichten die 20. SSW. Alle drei Zwillingsschwangerschaften der IVF/ICSI-Gruppe konnten als fortbestehende intakte Zwillingsschwangerschaften in der 20. SSW nachgewiesen werden. In der Kryotransfer-Gruppe blieb es bei der einen Patientin, bei der bereits zu Beginn der Schwangerschaft keine Herzaktion nachweisbar war. Es ergibt sich ein Wert von 10,7 % an über die 20. SSW fortbestehenden Schwangerschaften in der Kryotransfer-Gruppe, 75% der Patientinnen mit positivem Schwangerschaftstest erreichten die 20. SSW. Zusammenfassend sind diese Ergebnisse in Tabelle 3 dargestellt.

Tabelle 3: Embryonalentwicklung und Schwangerschaft

	A / CC (n = 25)	B / CC (n = 4)	A / NC (n = 59)	B / NC (n = 24)
Zahl der transferierten Embryonen	2.07 ± 0.09		1.86 ± 0.05	
	2.04 ± 0.10	2.25 ± 0.25	1.90 ± 0.06	1.75 ± 0.12
Embryo-Score	22.34 ± 2.17 <sup>a</sup>		17.29 ± 1.20 <sup>a</sup>	
	22.20 ± 2.49	23.25 ± 2.49	17.69 ± 1.49	16.29 ± 2.00
Schwangerschaft (%)	29,8	14,3	0	0

<sup>a</sup>p < 0.05 (CC vs NC)

### **3.4 Verlauf von Östrogen- und Progesteronkonzentration nach Embryotransfer**

#### **3.4.1 Östrogenkonzentration im Gesamtkollektiv**

Betrachtet man die Östrogenkonzentration im Gesamtkollektiv (IVF/ICSI- und Kryotransfer-Gruppen zusammen), so ergibt sich die in Abbildung 1 wiedergegebene Verteilung der Werte über die fünf Messpunkte.

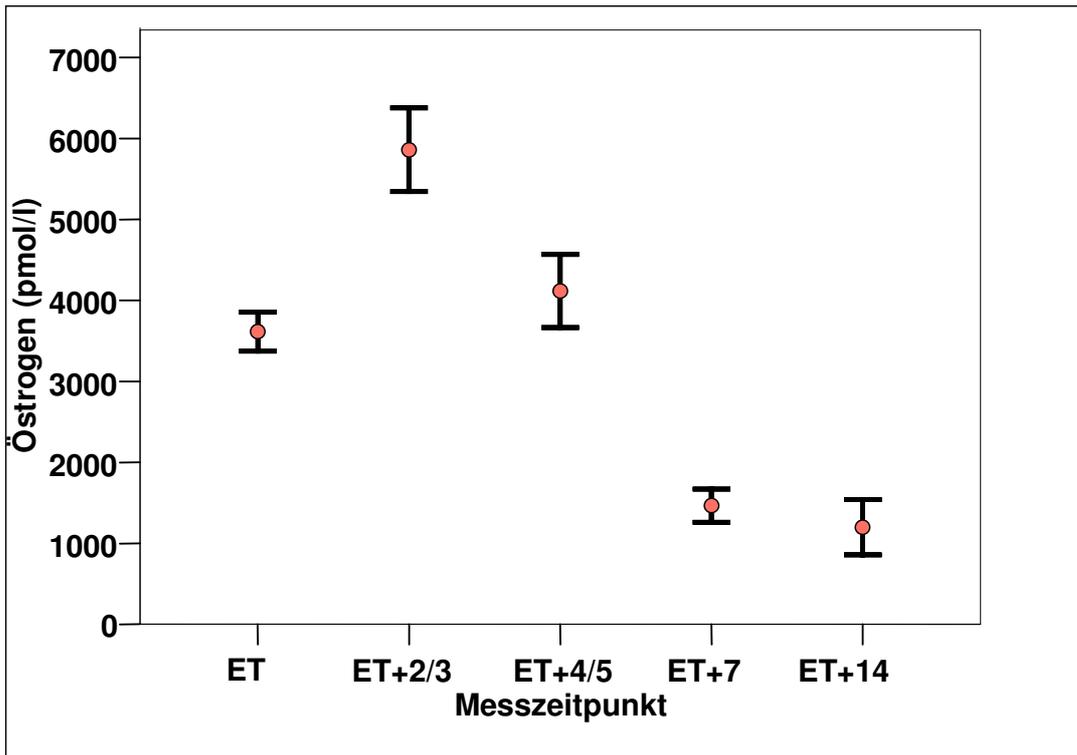


Abbildung 1: Östrogen im Gesamtkollektiv im Verlauf (Mittelwert  $\pm$  SEM)

Der Östrogenspiegel stieg nach dem Messzeitpunkt 1 (Tag des Embryotransfers) an und erreichte einen Peak von 5858 nmol/l zum Messzeitpunkt 2 (2./3. Tag nach ET) Danach wurde ein kontinuierlicher Abfall des Östrogenspiegels bis zum Messzeitpunkt 5 auf 1198 nmol/l (14. Tag nach ET, Zeitpunkt des Schwangerschaftstests) beobachtet. Hinsichtlich der Unterschiede der Messwerte im Verlauf ließ sich eine hohe Signifikanz berechnen ( $p < 0,001$ ).

### 3.4.2 Progesteronkonzentration im Gesamtkollektiv

Der Verlauf der Progesteronwerte im Gesamtkollektiv über die Messzeitpunkte 1 bis 5 ähnelt dem Verlauf der Östrogenwerte. Auch hier war ein Maximum von 502 nmol/l am 2./3. Tag nach ET zu verzeichnen, bevor ein steiler Abfall der Werte über Tag 4/5 und 7 bis zu einem fast identischen Wert von 109 nmol/l am Tag 14 nach ET gemessen wurde (siehe Abbildung 2).

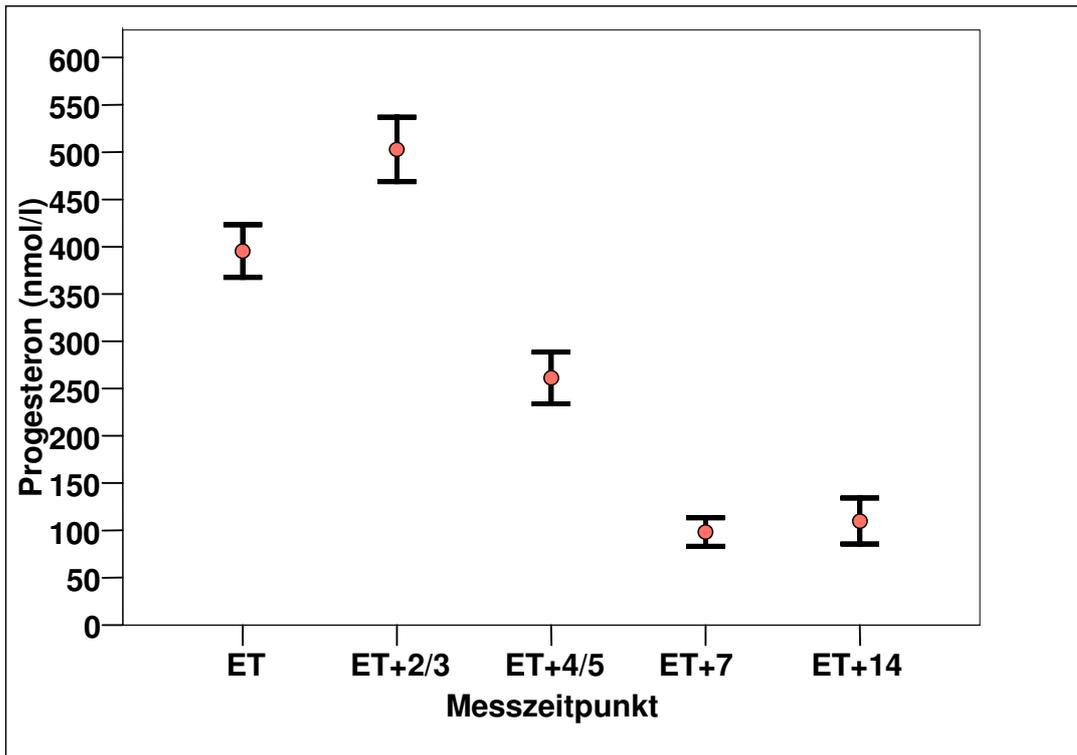


Abbildung 2: Progesteron im Gesamtkollektiv im Verlauf (Mittelwert + SEM)

Auch hier ließ sich in Analogie zu den gemessenen Östrogenwerten im Friedman-Test eine hohe Signifikanz der Ergebnisse an den unterschiedlichen Messzeitpunkten ( $p = 0,000$ ) nachweisen. Aus dem ähnlichen Verlauf der Östrogen- und Progesteronspiegel lässt sich vermuten, dass hohe Östrogenwerte mit hohen Progesteronwerten und niedrige Östrogenwerte mit niedrigen Progesteronwerten korrelieren. Dieser Zusammenhang lässt sich beispielhaft für den Zeitpunkt maximaler Hormonspiegel (ET +2/3) belegen. Die Daten hierfür sind in Abbildung 3 dargestellt.

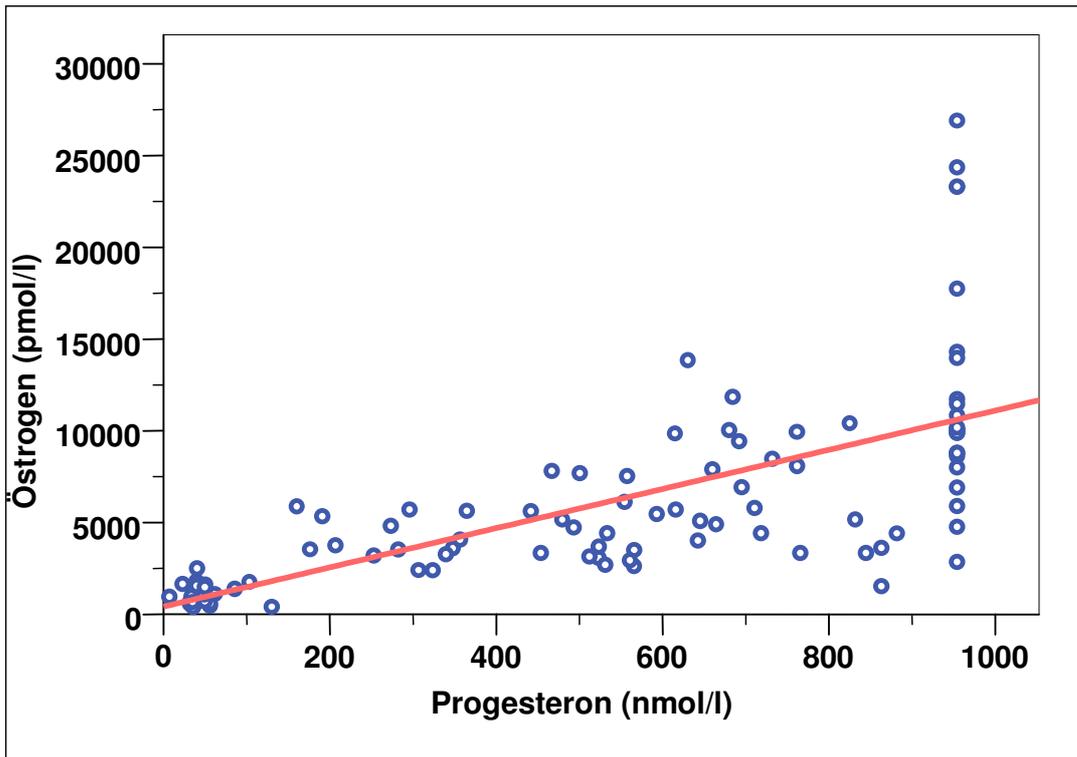


Abbildung 3: Korrelation zwischen Östrogen und Progesteron am ET+2/3; Korrelationskoeffizient nach Spearman-Rho 0,821,  $p = 0,000$

### ***3.5 Vergleich der Östrogen- und Progesteronspiegel zwischen den Gruppen***

#### **3.5.1 Östrogen**

Vergleicht man nun die Östrogenwerte im Verlauf im Hinblick auf die durchgeführte Therapie, so ergeben sich die im Anhang (siehe Tabelle 18) dargestellten Werte. Der Verlauf ist in Abbildung 4 anschaulich wiedergegeben.

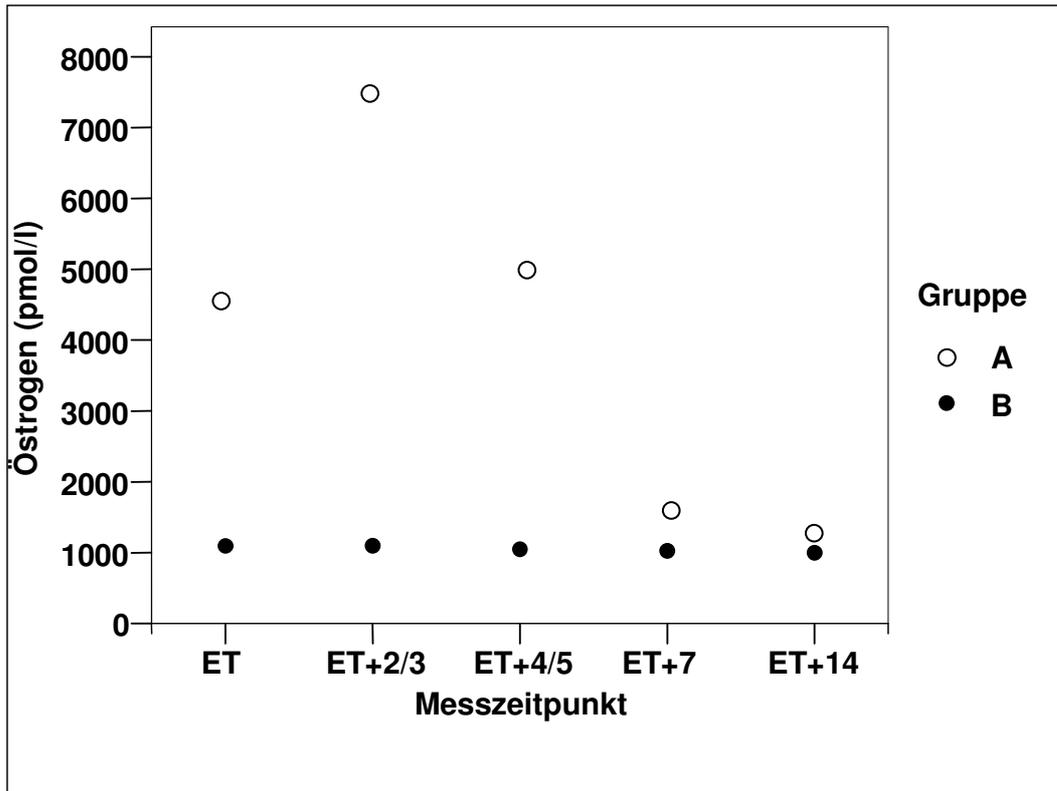


Abbildung 4: Vergleich des Östrogenspiegels zwischen den beiden Gruppen (Mittelwert)

Es fällt auf, dass in der Kryotransfer-Gruppe ein nahezu gleich bleibender Hormonwertverlauf um 1000 pmol/l (Mittelwert) ohne größere Schwankungen über die fünf Messzeitpunkte zu beobachten ist. In der IVF/ICSI-Gruppe entspricht der Verlauf im Wesentlichen dem des Gesamtkollektivs. Bei Durchführung des Mann-Whitney-U-Testes sind die Messergebnisse der beiden Gruppen für Östrogen für alle Untersuchungszeitpunkte höchst signifikant unterschiedlich ( $p=0,000$ ).

### 3.5.2 Progesteron

Die Messergebnisse der Progesteronbestimmung ergeben für die beiden Gruppen fast identische Graphen: nur geringste Schwankungen für die Kryotransfer-Gruppe, in der IVF/ICSI-Gruppe hingegen wieder ein Maximum am 2./3. Tag nach ET mit anschließendem steilen Abfall der Messwerte (Abbildung 5 und Tabelle 19 im Anhang).

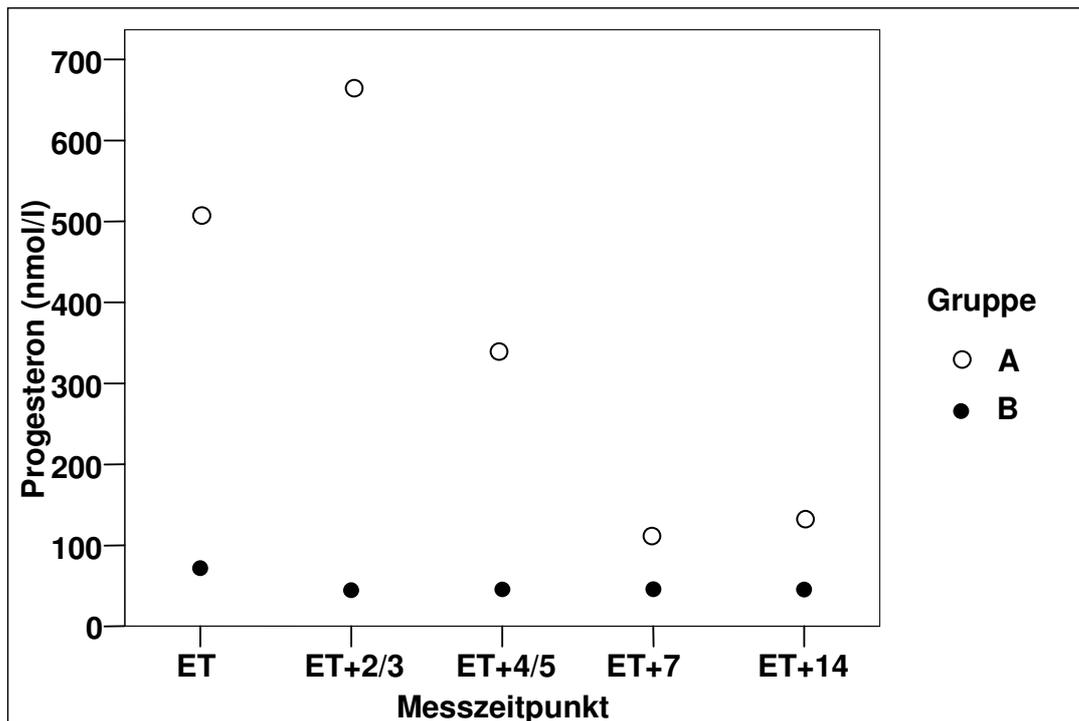


Abbildung 5: Vergleich des Progesteronspiegels zwischen den beiden Gruppen (Mittelwert)

Auch hier sind höchst signifikante Unterschiede zwischen den Progesteronwerten der beiden Gruppen im direkten Vergleich auszumachen ( $p=0,000$ ).

### **3.6 Östrogen- und Progesteronwerte in Abhängigkeit eines Schwangerschaftseintrittes**

#### **3.6.1 Östrogen- und Progesteronwerte (Gruppe A)**

In der FSH-stimulierten Gruppe A ist ab ET+7 ein signifikant höherer Östrogen- und Progesteronwert bei schwangeren im Vergleich zu nicht schwangeren IVF/ICSI-Patientinnen zu verzeichnen (siehe Tabellen 20 und 21 im Anhang). Bereits ab ET+4/5 liegen die Werte für beide Steroidhormone im Falle einer Schwangerschaft tendenziell höher. In der graphischen Darstellung (Abb. 6: Östradiol, Abb. 7: Progesteron) kommen diese Ergebnisse noch besser zur Geltung:

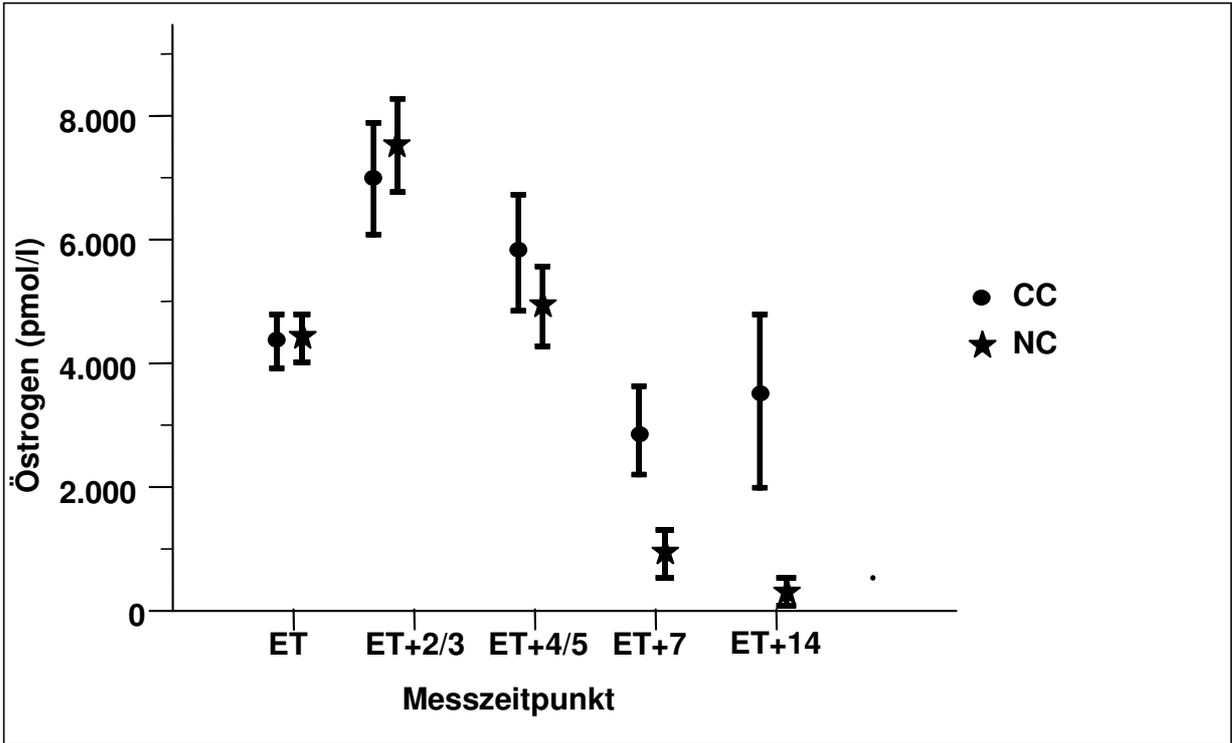


Abbildung 6: Östrogen im Verlauf in der Gruppe A in Abhängigkeit vom Eintritt einer Schwangerschaft (Mittelwert + SEM)

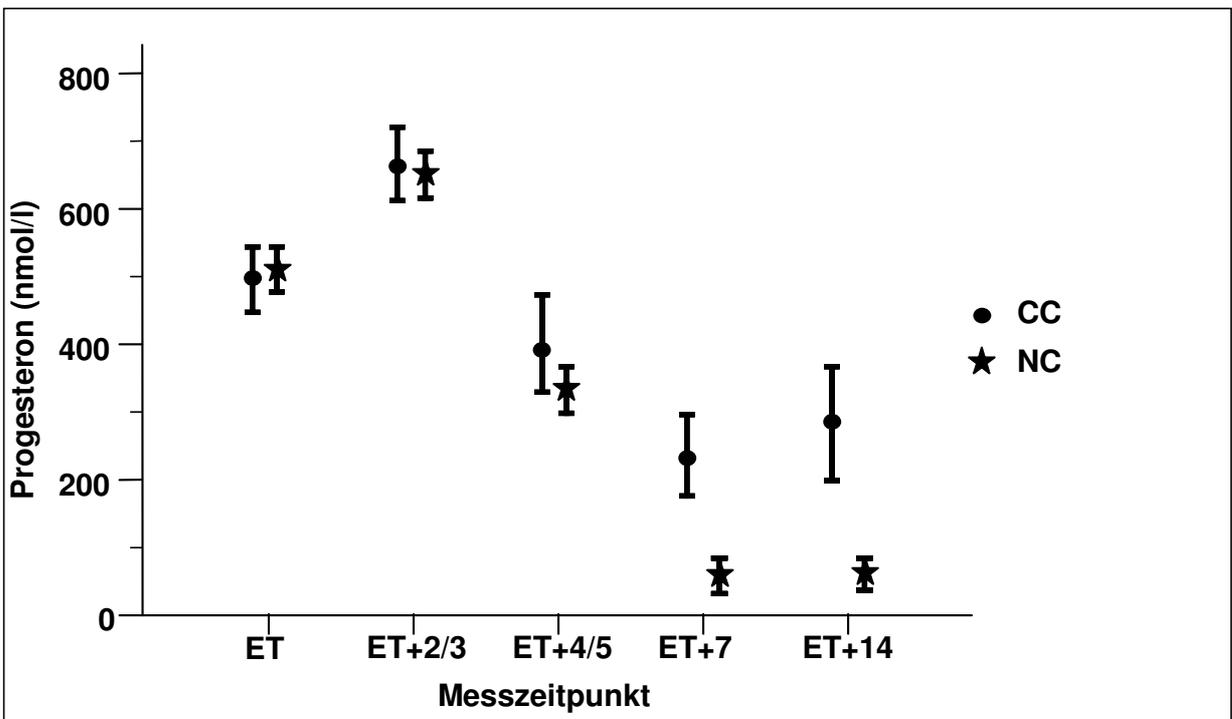


Abbildung 7: Progesteron im Verlauf in der Gruppe A in Abhängigkeit vom Eintritt einer Schwangerschaft (Mittelwert + SEM)

### 3.6.2 Östrogen- und Progesteronwerte (Gruppe B)

Betrachtet man nun die Östrogen- und Progesteronwerte der Kryotransfer-Gruppe B, so kommt hier an keinem der 5 Messzeitpunkte ein signifikanter Unterschied zwischen schwangeren und nicht-schwangeren Patientinnen zur Darstellung (Abbildungen 8 sowie Tabellen 22 und 23 im Anhang). Es ist jedoch zu beobachten, dass ab dem 3. Messzeitpunkt (4./5. Tag nach ET) die ermittelten Östrogenwerte im Falle einer Konzeption tendenziell höher liegen als bei ausbleibender Konzeption. Bei den ermittelten Progesteronwerten konnte diese Beobachtung nicht gemacht werden.

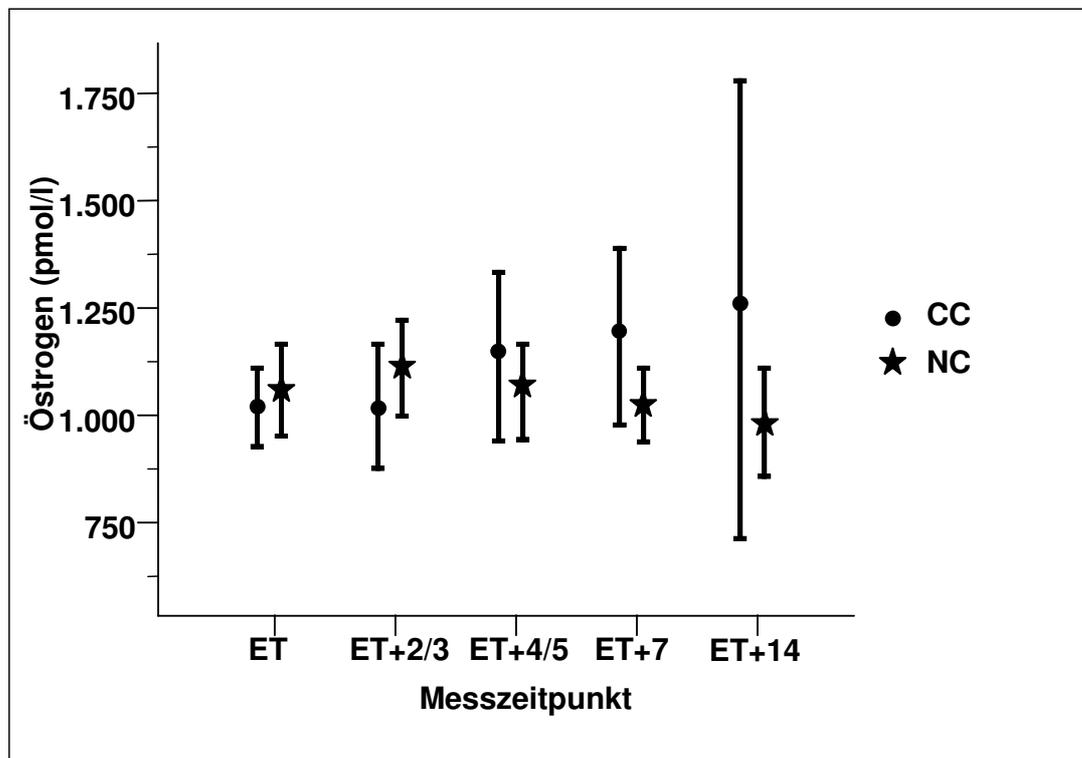


Abbildung 8: Östrogen im Verlauf in der Gruppe B in Abhängigkeit vom Eintritt einer Schwangerschaft (Mittelwert + SEM)

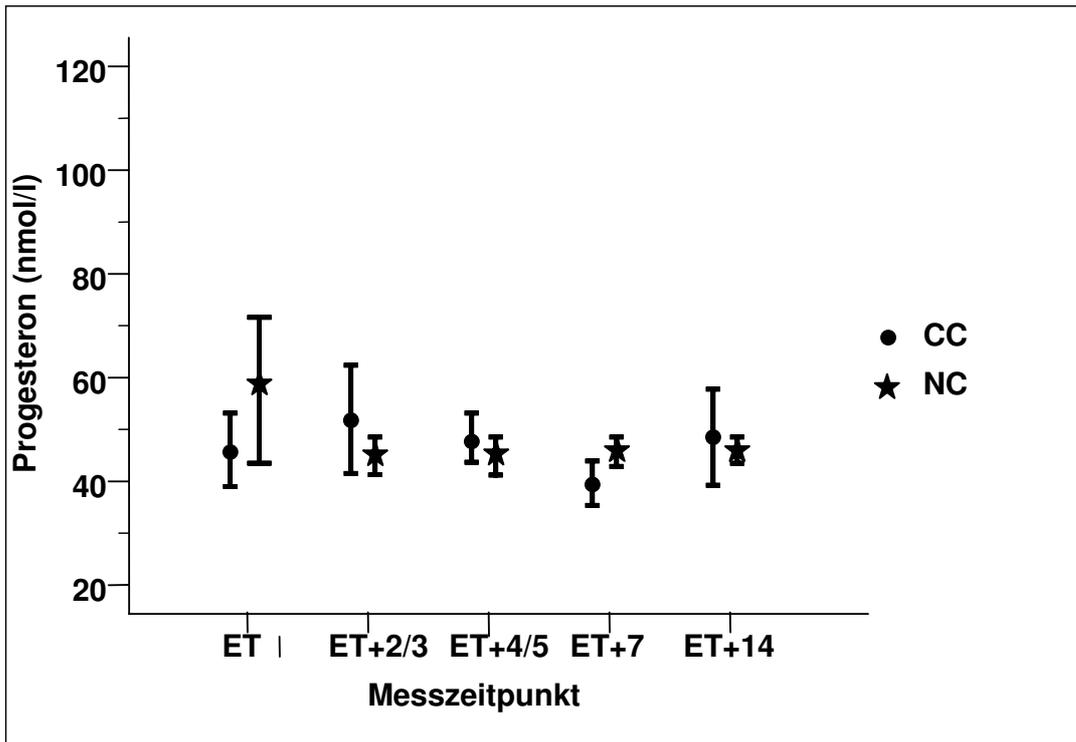


Abbildung 9: Progesteron im Verlauf in der Gruppe B in Abhängigkeit vom Eintritt einer Schwangerschaft (Mittelwert + SEM)

### **3.7 Sensitivitäts- und Spezifitätsanalyse unterschiedlicher Östrogenspiegel im Hinblick auf den Schwangerschaftseintritt**

Da ein signifikanter Unterschied in den Östrogenwerten in der IVF/ICSI-Gruppe zwischen schwangeren und nicht schwangeren Patientinnen ab dem Messzeitpunkt ET + 7 zu verzeichnen war, sollen dieser und der Messzeitpunkt ET +14 im Hinblick auf die Vorhersagbarkeit einer Schwangerschaft näher betrachtet werden.

#### **3.7.1 Gruppe A, CC: ET + 7**

##### **3.7.1.1 Trennwert 1500 pmol/l**

Als Trennwert für das Vorliegen einer möglichen Schwangerschaft wird zunächst ein Östrogenwert von 1500 pmol/l verwendet. Dies bedeutet, dass eine Schwangerschaft bei einem Östrogenwert  $\geq 1500$  pmol/l angenommen wird.

Tabelle 4: Testergebnisse des Östrogenspiegels (Trennwert: 1500 pmol/l)

		Östrogentest		Gesamt
		nicht schwanger	schwanger	
SS	ja	14	11	25
	nein	47	12	59
Gesamt		61	23	84

Aus den Daten der Tabelle 4 lassen sich für den angegebenen Trennwert eine Sensitivität von 44,0 % und eine Spezifität von 79,7 % ermitteln. Der positive prädiktive Wert beträgt 47,8 %, der negative prädiktive Wert 77,0 %. Bezüglich der Sensitivität ergibt sich ein nicht zufrieden stellender Wert, während eine Spezifität von annähernd 80% etwas besser ist.

Nachfolgend ist die zugehörige ROC- Kurve aufgezeichnet:

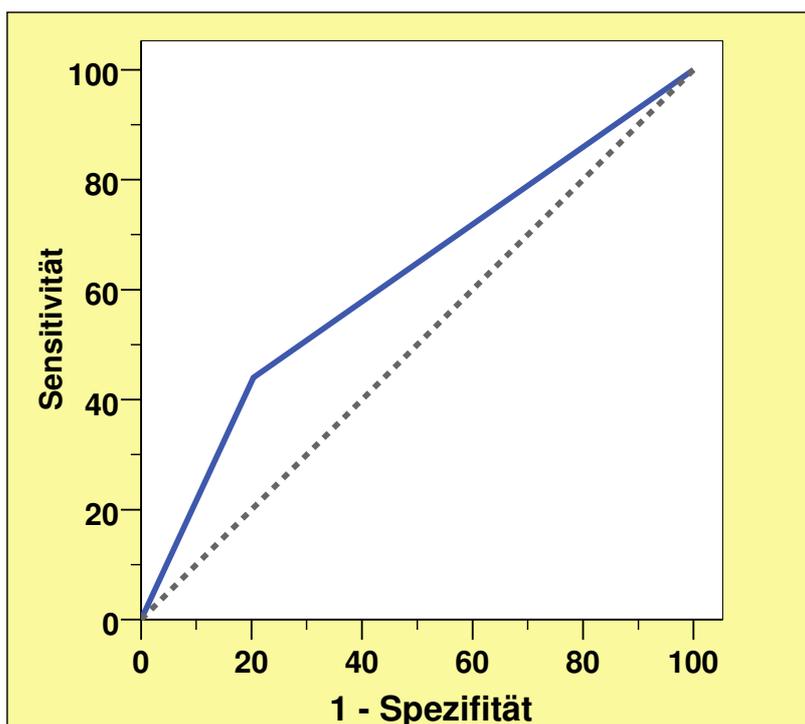


Abbildung 10: ROC- Kurve für den Östrogentest (Trennwert: 1500 pmol/l)

Als Fläche unter der ROC-Kurve (AUC) der Abbildung 10 lässt sich ein Wert von 0,62 ermitteln. Dieses ist ein nicht zufrieden stellender Wert. Die AUC ergibt somit bei einem Östrogen-Trennwert von 1500 pmol/l nur eine geringe Vorhersagekraft.

### 3.7.1.2 Trennwert 1000 pmol/l

Zur Verbesserung der Sensitivität und Erhöhung der AUC wird nachfolgend ein Trennwert von 1000 pmol/l angenommen:

Tabelle 5: Testergebnisse des Östrogenspiegels (Trennwert: 1000 pmol/l)

		Östrogentest		Gesamt
		nicht schwanger	schwanger	
SS	ja	11	14	25
	nein	43	16	59
Gesamt		54	30	84

Es lässt sich eine Sensitivität von 56,0 % bei einer Spezifität von 72,9% errechnen. Der positive prädiktive Wert liegt bei 46,7 %, der negative prädiktive Wert bei 79,6 %.

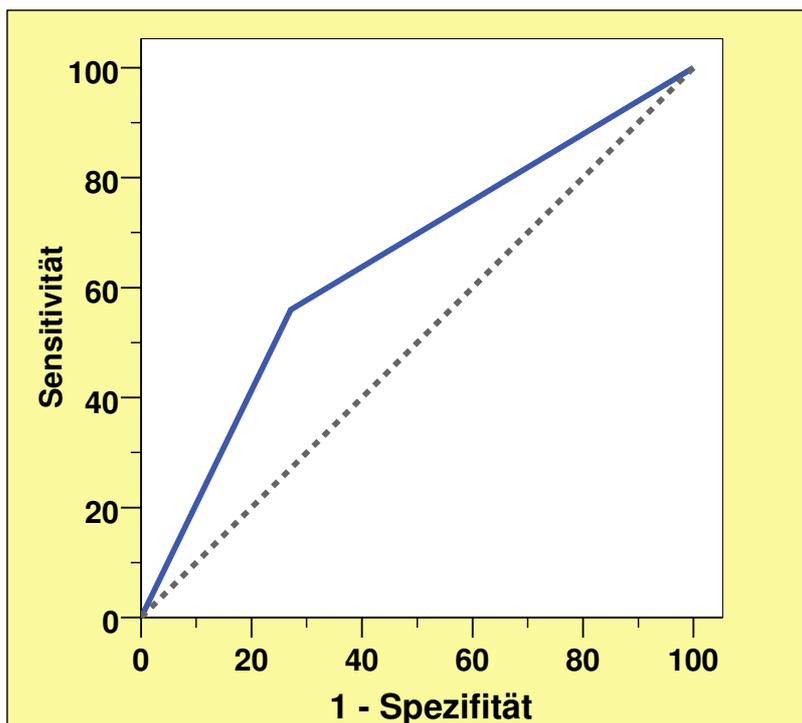


Abbildung 11: ROC- Kurve für den Östrogentest (Trennwert: 1000 pmol/l)

Es ergibt sich eine AUC von 0,64. Die Sensitivität und AUC sind etwas besser, aber immer noch nicht akzeptabel.

### 3.7.1.3 Trennwert 700 pmol/l

Zur Verbesserung der Sensitivität und Erhöhung der AUC wird nachfolgend ein Trennwert von 700 pmol/l angenommen:

Tabelle 6: Testergebnisse des Östrogenspiegels (Trennwert: 700 pmol/l)

		4. Östrogen		Gesamt
		nicht schwanger	schwanger	
SS	ja	10	15	25
	nein	40	19	59
Gesamt		50	34	84

Die hier ermittelte Sensitivität liegt bei 60,0 %, die Spezifität bei 67,8 %. Der positive prädiktive Wert beträgt 44,1 %, der negative prädiktive Wert 80,0%.

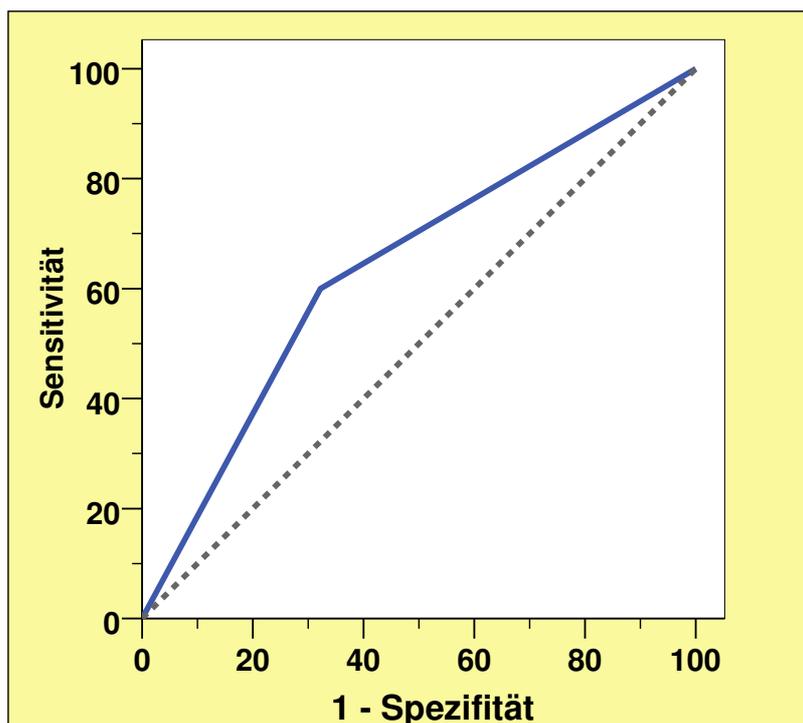


Abbildung 12: ROC- Kurve für den Östrogentest (Trennwert: 700 pmol/l)

Die AUC beträgt hier 0,64. Die Vorhersagekraft ist im Vergleich zu den Vorwerten nicht besser geworden.

Durch die Änderung des Trennwerts konnte die Sensitivität nicht wesentlich verbessert werden; auch die Spezifität ist jetzt unzureichend. Insgesamt ist somit der Östrogenspiegel zum Zeitpunkt ET+7 als Screeningmethode wenig geeignet.

### 3.7.2 Gruppe A, CC: ET + 14

#### 3.7.2.1 Trennwert 1000 pmol/l

Als erster Trennwert wird ein Östrogenwert von 1000 pmol/l getestet:

Tabelle 7: Testergebnisse des Östrogenspiegels (Trennwert: 1000 pmol/l)

		Östrogentest		Gesamt
		nicht schwanger	schwanger	
SS	ja	14	11	25
	nein	58	1	59
Gesamt		72	12	84

Die Sensitivität beträgt hier 44,0 % bei einer Spezifität von 98,3 %. Der positive prädiktive Wert ist 91,6 %, der negative prädiktive Wert 80,6 %.

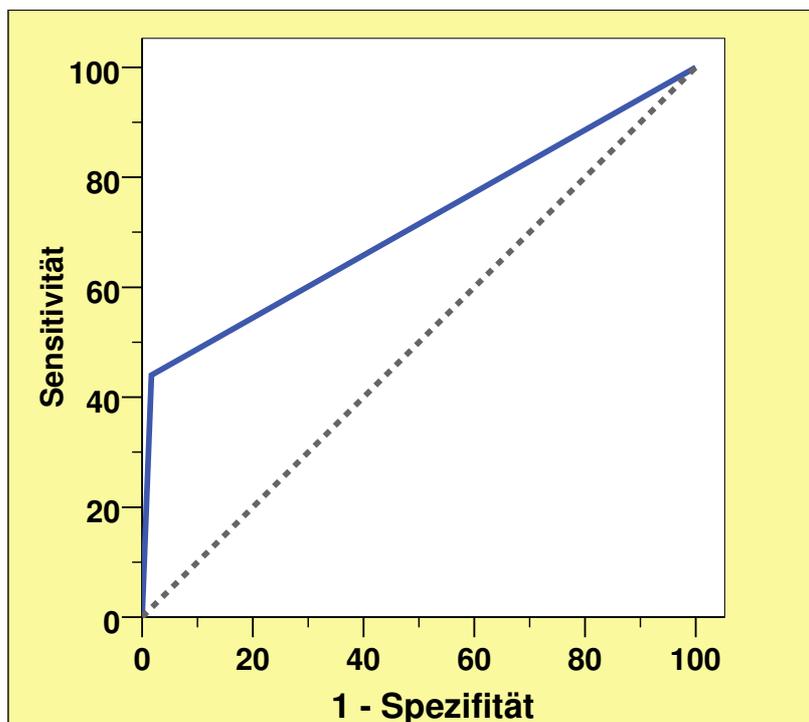


Abbildung 13: ROC- Kurve für den Östrogentest (Trennwert: 1000 pmol/l)

Es ergibt sich eine AUC von 0,71. Aufgrund der hohen Spezifität ist die AUC hier besser. Während die Spezifität sehr hoch ist, ist die Sensitivität jedoch sehr schlecht.

### 3.7.2.2 Trennwert 700 pmol/l

Nachfolgend wird ein Östrogenwert von 700 pmol/l getestet:

Tabelle 8: Testergebnisse des Östrogenspiegels (Trennwert: 700 pmol/l)

		Östrogentest		Gesamt
		nicht schwanger	schwanger	
SS	ja	14	11	25
	nein	58	1	59
Gesamt		72	12	84

Hier hat sich im Vergleich zum Testwert von 1000 pmol/l nichts geändert, die Sensitivität, Spezifität und die prädiktiven Werte sind gleich geblieben.

### 3.7.2.3 Trennwert 400 pmol/l

Nachfolgend wird ein Östrogenwert von 400 pmol/l getestet:

Tabelle 9: Testergebnisse des Östrogenspiegels (Trennwert: 400 pmol/l)

		Östrogentest		Gesamt
		nicht schwanger	schwanger	
SS	ja	14	11	25
	nein	58	1	59
Gesamt		72	12	84

Auch hier hat sich im Vergleich zum Testwert von 700 pmol/l nichts geändert.

### 3.7.2.4 Trennwert 200 pmol/l

Nachfolgend wird ein Östrogenwert von 200 pmol/l getestet:

Tabelle 10: Testergebnisse des Östrogenspiegels (Trennwert: 200 pmol/l)

		Östrogentest		Gesamt
		nicht schwanger	schwanger	
SS	ja	12	13	25
	nein	56	3	59
Gesamt		68	16	84

Die Sensitivität liegt jetzt bei 52,0 %, die Spezifität bei 94,9 %. Als positiver prädiktiver Wert lässt sich ein Wert von 81,3 % ermitteln, als negativen prädiktiven Wert erhält man hier 82,4 %. Dies ist bisher von allen Trennwerten das beste Ergebnis.

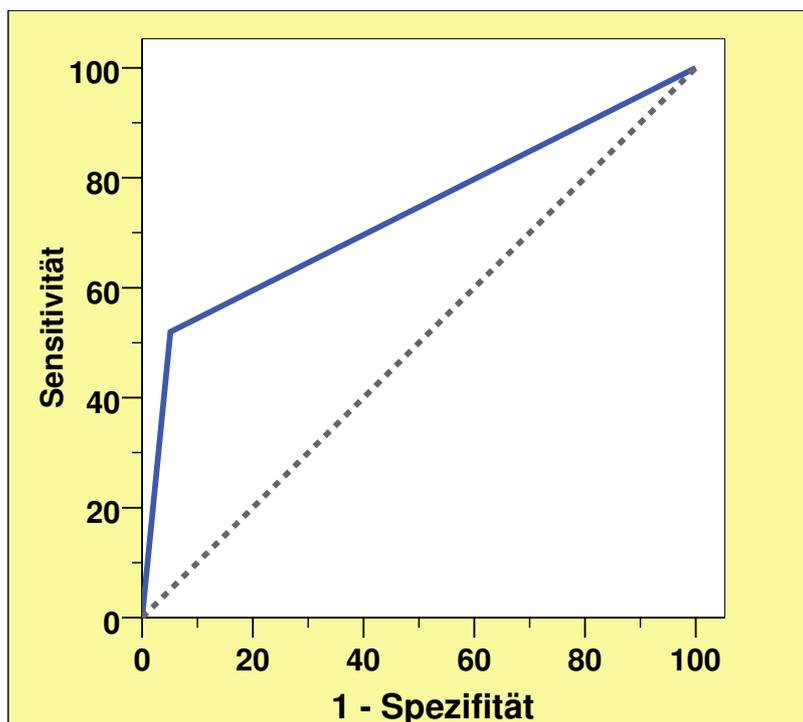


Abbildung 14: ROC- Kurve für den Östrogentest (Trennwert: 200 pmol/l)

Auch bezüglich der AUC erhält man hier den bisher besten Wert: 0,74.

### **3.8 Sensitivitäts- und Spezifitätsanalyse unterschiedlicher Progesteronspiegel im Hinblick auf den Schwangerschaftseintritt**

Neben den Östrogenwerten zeigten auch die Progesteronwerte in der IVF/ICSI-Gruppe zwischen schwangeren und nicht schwangeren Patientinnen ab dem Messzeitpunkt ET + 7 signifikante Unterschiede, so dass diese Werte bezüglich der Vorhersagbarkeit einer Schwangerschaft im Folgenden analysiert werden.

#### **3.8.1 Gruppe A, CC: ET + 7**

##### **3.8.1.1 Trennwert 90 pmol/l**

Als Trennwert für Schwangerschaft wird zunächst ein Progesteron von 90 pmol/l verwendet. Dies bedeutet, dass eine Schwangerschaft bei einem Progesteronwert  $\geq 90$  pmol/l angenommen wird.

Tabelle 11: Testergebnisse des Progesteronspiegels (Trennwert: 90 pmol/l)

	Progesterontest		Gesamt
	nicht schwanger	schwanger	
Schwangerschaft ja	11	11	22
nein	46	8	54
Gesamt	57	19	76

Aus den Daten der Tabelle 11 lassen sich für den angegebenen Trennwert eine Sensitivität von 50 % und eine Spezifität von 85,2 % ermitteln. Der positive prädikative Wert beträgt 57,9 %, der negative prädikative Wert 80,7 %. Eine Sensitivität von 50% ist ein nicht zufrieden stellender Wert, während eine Spezifität von 85% schon akzeptabel ist.

Nachfolgend ist die zugehörige ROC- Kurve aufgezeichnet:

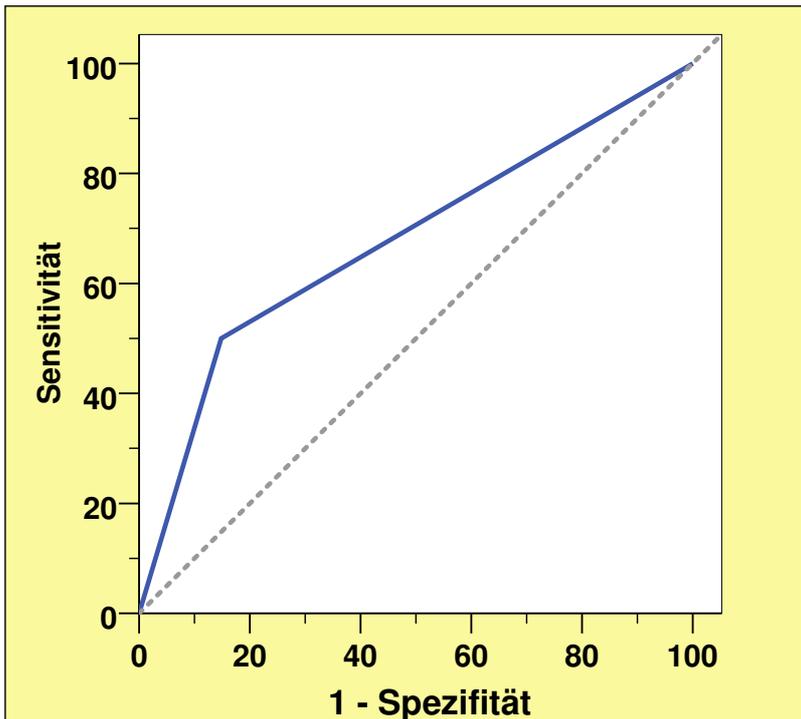


Abbildung 15: ROC- Kurve für den Progesterontest (Trennwert: 90 pmol/l)

Die AUC beträgt hier 0,68.

### 3.8.1.2 Trennwert 80 pmol/l

Zur Verbesserung der Sensitivität und Erhöhung der AUC wird nachfolgend ein Trennwert von 80 pmol/l angenommen:

Tabelle 12: Testergebnisse des Progesteronspiegels (Trennwert: 80 pmol/l)

		Progesterontest		Gesamt
		nicht schwanger	schwanger	
Schwangerschaft	ja	11	11	22
	nein	39	15	54
Gesamt		50	26	76

Es berechnet sich eine Sensitivität von 50 % bei einer Spezifität von 72,2%. Der positive prädiktive Wert liegt bei 44,2 %, der negative prädiktive Wert bei 78 %.

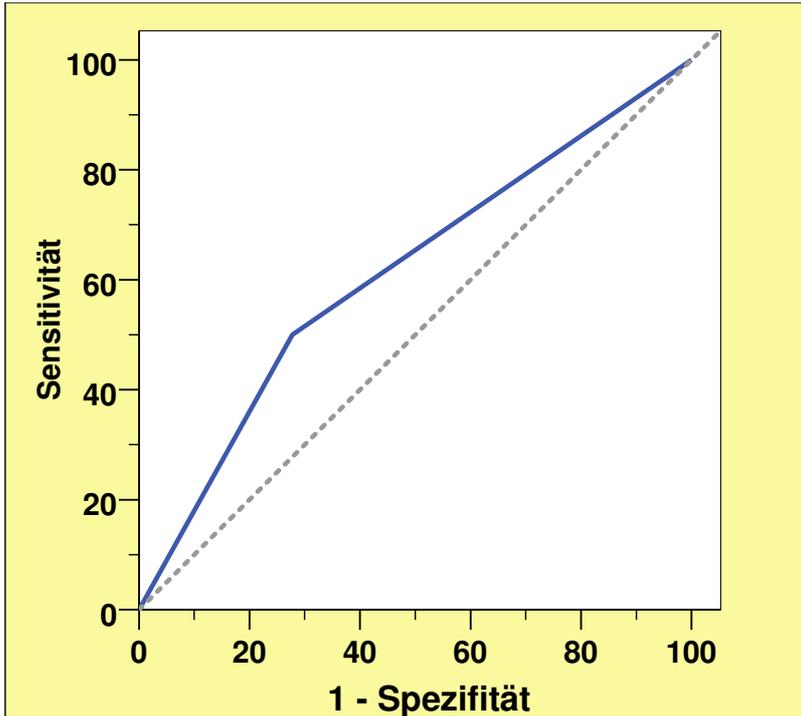


Abbildung 16: ROC- Kurve für den Progesterontest (Trennwert: 80 pmol/l)

Die AUC beträgt hier 0,61. Die Sensitivität ist gleich geblieben, dafür hat sich die Spezifität verschlechtert. Insgesamt lässt sich durch den Progesterontest am Messzeitpunkt ET+7 keine adäquate Sensitivität erzielen.

### 3.8.2 Gruppe A, CC: ET+14

#### 3.8.2.1 Trennwert 70 pmol/l

Als erster Trennwert zum Messzeitpunkt ET + 14 wird ein Progesteronwert von 70 pmol/l getestet:

Tabelle 13: Testergebnisse des Progesteronspiegels (Trennwert: 70 pmol/l)

		Progesterontest		Gesamt
		nicht schwanger	schwanger	
Schwangerschaft	ja	8	10	18
	nein	42	3	45
Gesamt		50	13	63

Die hier ermittelte Sensitivität liegt bei 55,6 %, die Spezifität bei 93,3%. Der positive prädiktive Wert beträgt 76,9 %, der negative prädiktive Wert 84 %.

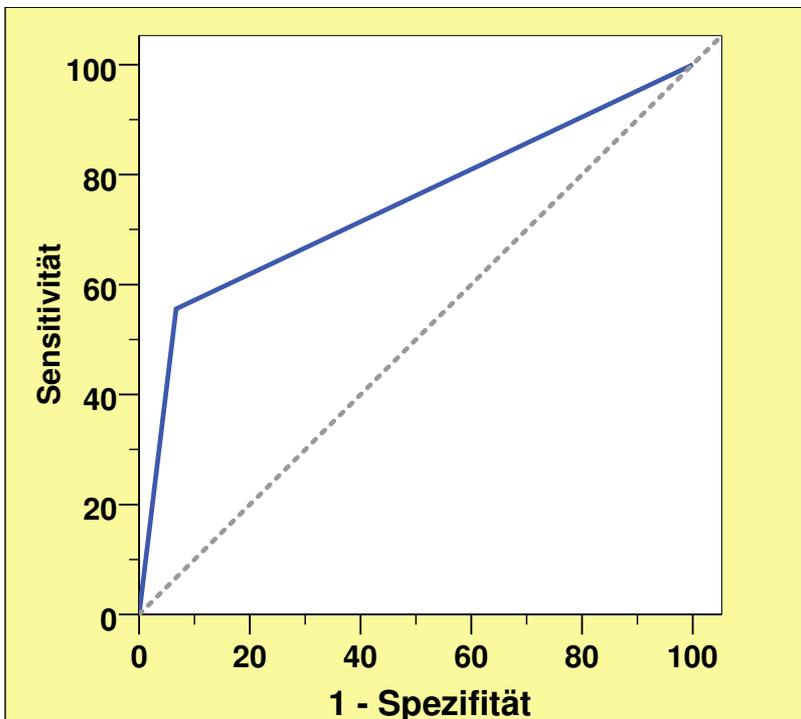


Abbildung 17: ROC- Kurve für den Progesterontest (Trennwert: 70 pmol/l)

Die AUC beträgt hier 0,74. Die Spezifität ist gut, allerdings sollte die Sensitivität verbessert werden. Nachfolgend wird daher ein Trennwert von 60 mg/dl getestet.

### 3.8.2.2 Trennwert 60 pmol/l

Tabelle 14: Testergebnisse des Progesteronspiegels (Trennwert: 60 pmol/l)

	Progesterontest		Gesamt
	nicht schwanger	schwanger	
Schwangerschaft ja	7	11	18
nein	38	7	45
Gesamt	45	18	63

Die Sensitivität liegt jetzt bei 61,1 %, die Spezifität bei 84,4 %. Als positiver prädiktiver Wert lässt sich ein Wert von 61,1 % ermitteln, als negativen prädiktiven Wert erhält man hier 84,4 %.

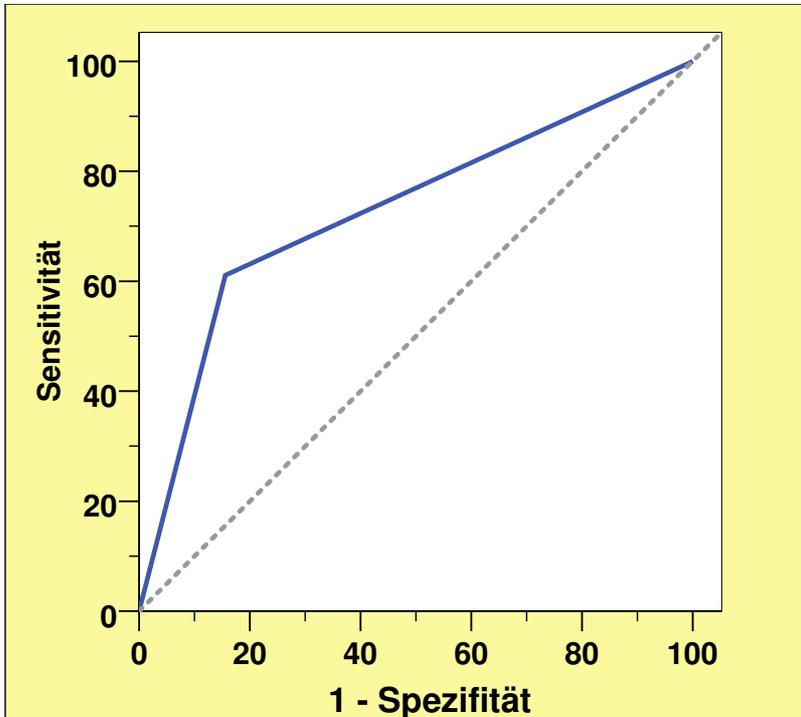


Abbildung 18: ROC- Kurve für den Progesterontest (Trennwert: 60 pmol/l)

Als AUC erhält man hier einen Wert von 0,73. Die Sensitivität ist immer noch schlecht, die Spezifität lässt deutlich nach – auch hier wird sich keine ausreichende Sensitivität bei akzeptabler Spezifität erzielen lassen.

Nachfolgend wird noch ein Trennwert von 50 pmol/l getestet:

### 3.8.2.3 Trennwert 50 pmol/l

Tabelle 15: Testergebnisse des Progesteronspiegels (Trennwert: 50 pmol/l)

		Progesterontest		Gesamt
		nicht schwanger	schwanger	
Schwangerschaft	ja	6	12	18
	nein	32	13	45
Gesamt		38	25	63

Die Sensitivität beträgt hier 66,7 % bei einer Spezifität von 71,1 %. Der positive prädiktive Wert ist 48 %, der negative prädiktive Wert 84,2 %.

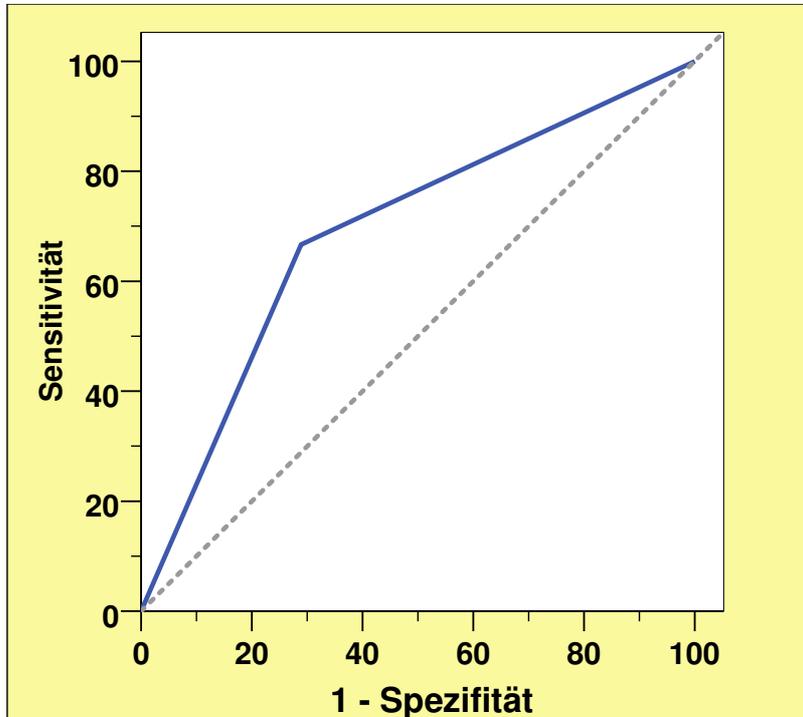


Abbildung 19: ROC- Kurve für den Progesterontest (Trennwert: 50 pmol/l)

Die AUC liegt hier bei 0,69, und ist damit aufgrund der nun noch weiter verschlechterten Spezifität niedriger als bei dem vorherigen Trennwert.

Somit kann auch durch die Progesteronbestimmung zum Messzeitpunkt ET + 14 nicht mit ausreichender Genauigkeit das Eintreten einer Schwangerschaft vorhergesagt werden.

## **4. Diskussion**

Zur Behandlung der Infertilität erzeugen Reproduktionsmediziner und –biologen seit Jahrzehnten Embryonen *in vitro* und transferieren diese in die Gebärmutterhöhle. Als Nebenresultat dieser assistierten Reproduktion konnten wertvolle Informationen über das physiologische und stimulierte hormonelle Profil zu einem sehr frühen Zeitpunkt des Schwangerschaftseintritts gewonnen werden (34). Zudem gelang es, die Bedeutung einer Vielzahl von Variablen, die für eine erfolgreiche Implantation des Embryos wichtig sind, nachzuweisen (25). So kann zumeist eine Vielzahl von Eizellen befruchtet werden – wohingegen die Schwangerschaftsraten nach einer IVF-Behandlung in der Mehrzahl der Zentren in Deutschland weiterhin bei unter 40% liegen (DIR 2007). Dieses ist zu einem großen Teil auf die Unwägbarkeiten der Endometriumrezeptivität und der Reaktion des Endometriums auf den sich implantierenden Embryo zurückzuführen (68). Man darf jedoch nicht außer Acht lassen, dass die Implantationsrate beim Menschen im spontanen Zyklus mit geschätzten 30 % deutlich niedriger liegt als bei nicht-humanen Primaten, z.B. Paviane, bei denen die Rate mit bis zu 70 % angegeben wird (74). Zum Teil kann diese niedrige Rate auch dadurch erklärt werden, dass bei menschlichen Embryonen eine höhere Aneuploidierate besteht und der programmierte Zelltod, die Apoptose, häufiger zu beobachten ist (61).

Man weiß, dass insbesondere Östradiol für die Entwicklung eines rezeptiven Endometriums unabdingbar ist. Progesteron hingegen reguliert und koordiniert die sekretorische Differenzierung des Endometriums während der Lutealphase, ohne die eine Implantation nicht möglich ist (36). Somit stehen diese Steroide im Mittelpunkt des Interesses der meisten Studien, die sich mit der Erfolgswahrscheinlichkeit nach assistierter Reproduktion befassen. Bei Nagetieren sind Östrogene essentiell für die Implantation. Blastozysten von Ratten und Mäusen konnten sich nur implantieren, wenn auch ein lutealer Östradiolanstieg zu beobachten war (14, 46). Bei Primaten ist dieser Zusammenhang nicht eindeutig zu belegen (5, 8, 20). Beim Menschen konnte gezeigt werden, dass menopausale oder funktionell agonadale Frauen auch ohne luteale Östradiolsubstitution mittels Eizellspende schwanger werden konnten, sofern eine Östrogensubstitution in der ersten Zyklushälfte zur

Bildung eines aufnahmefähigen Endometriums erfolgt ist (32, 63, 75). Auch histologische Untersuchungen von Endometriumbiopsien in der Lutealphase nach Reduktion des Östrogenspiegels auf hypogonadale Werte hatten keinen Einfluss auf die Morphologie der Endometriumzellen durch diesen Entzug zeigen können (9).

Unter Berücksichtigung dieser Fakten ist ein besseres Verständnis der Interaktion zwischen Embryo und Endometrium zum Zeitpunkt der Implantation von größter Bedeutung (7). Über diesen Wissenszuwachs ließe sich eventuell eine höhere Implantationsrate zumindest für die Zyklen der assistierten Reproduktion erreichen. Weiterhin wäre zu prüfen, inwieweit die Bestimmung von Östradiol und Progesteron bereits während der Lutealphase zur Unterscheidung von Konzeptions- und Nichtkonzeptionszyklen einzusetzen wäre.

Dabei sind zur Beurteilung der Interaktion zwischen der Gelbkörperfunktion und einer Implantation in die Gebärmutter Schleimhaut im frühesten Stadium der Embryonalentwicklung IVF-Zyklen mit anschließendem Embryotransfer ein gutes Untersuchungsmodell, da man den Eintritt des Embryos in die Gebärmutterhöhle zeitlich genau benennen kann. Zudem kommt es bei dem standardmäßig durchgeführten langen IVF/ICSI-Protokoll zu einer Abkoppelung der Hirnanhangsdrüse mittels Downregulation durch einen GnRH-Agonisten, so dass in der frühen Lutealphase die zentral gesteuerten Mechanismen zum Erhalt des Corpus luteum nicht greifen können. Diese iatrogene „Störung“ in der frühen Lutealphase, die nach Absetzen des Agonisten noch über 14-21 Tage anhalten kann (69), ist auch der Grund für die mittlerweile in allen IVF-Zyklen routinemäßig angewandte Lutealphasen-Unterstützung mittels exogener Progesteronsubstitution, wie sie auch in unserer Studie zum Einsatz kam. Auch bei Einsatz von GnRH-Antagonisten zeigt sich ein den GnRH-Agonisten vergleichbarer Effekt auf die Lutealphase (16). Bei den Kryozyklen erfolgte eine von der natürlichen Follikelreifung unabhängige „Programmierung“ des Endometriums, so dass die Hormonspiegel im Wesentlichen die exogene Substitution reflektieren. Messbare Unterschiede zwischen Konzeptions- und Nichtkonzeptionszyklen würden somit auf ein frühes, vom Embryo ausgehendes Signal mit Einfluss auf die endogene Steroidhormonproduktion hinweisen.

In der vorliegenden Studie erfolgte ein prospektiver Vergleich von Östradiol- und Progesteronwerten über einen Zeitraum von 14 Tagen ab Durchführung des Emb-

ryotransfers bis zum Schwangerschaftstest bei Patientinnen nach IVF/ICSI (Gruppe A), beziehungsweise Kryo-Embryotransfer (Gruppe B). Es wurden insgesamt 112 Zyklen von 110 teilnehmenden Patientinnen analysiert. Die erzielten Schwangerschaftsraten entsprechen in etwa dem für 2006 ermittelten Bundesdurchschnitt (DIR 2006), weiterhin unterscheiden sich die Vergleichsgruppen nicht in wesentlichen Charakteristika wie Alter, Zahl der Therapiezyklen, etc.. Es ist somit davon auszugehen, dass es sich um ein homogenes Kollektiv handelt, welches eine valide Studiendurchführung erlaubt.

Der Nachweis einer höheren Endometriumdicke und besseren Embryonenqualität im Schwangerenkollektiv steht in Einklang zu vorhergehenden Studien, die zu vergleichbaren Ergebnissen kamen. Al-Ghamdi et al. konnten 2008 nachweisen, dass ein positiver linearer Zusammenhang zwischen der Endometriumdicke bei IVF-Patientinnen bei Auslösen des Eisprungs einer höheren Schwangerschaftsrate besteht (3).

Und Qian konnte ebenfalls 2008 feststellen, dass eine bessere Embryonen-Morphologie mit einer höheren Schwangerschaftsrate einhergeht (58). Dabei ist zu beachten, dass die Östrogenspiegel zwischen den Gruppen sich am Tag des ETs nicht signifikant unterschieden. Das weist darauf hin, dass die Unterschiede im Endometrium selbst, beispielsweise in Form eines unterschiedlichen Östrogenrezeptorbesatzes, liegen.

Wir konnten nachweisen, dass in der Gruppe A bereits am Tag 7 nach Embryotransfer ein signifikanter Unterschied in der Gelbkörperfunktion zwischen Zyklen mit Konzeption (CC) und Zyklen ohne Konzeption (NC) auszumachen ist, der sich in einer signifikant höheren Östradiol- und Progesteronsekretion bei Konzeptionszyklen manifestiert. Ein Trend in Richtung höherer Östradiolwert war bereits zum 3. Messzeitpunkt (4.-5. Tag nach Embryotransfer) auszumachen.

Dieses Ergebnis steht in Einklang mit bisherigen retrospektiven Untersuchungen. In Konzeptionszyklen nach IVF-Behandlung konnten bereits 4 Tage nach dem Embryotransfer erhöhte Östradiolspiegel im Vergleich zu Zyklen ohne Konzeption gemessen werden – die Autoren sahen dieses als Folge einer verstärkten Sekretion des Corpus luteum (22, 71). Möglicherweise wird diese verstärkte Sekretion durch ein Signal von der Implantationsstelle zum Corpus luteum vermittelt, wohingegen

HCG als luteotrope Substanz erst ab dem 6.-7. Tag nach Embryotransfer als Anzeichen für die Implantation im Serum nachweisbar ist (30). Man weiß jedoch auch, dass menschliche Embryonen im 6- bis 8-Zellstadium – also bereits am 2.- 3. Tag nach der Fertilisation - mRNA zur HCG-Bildung besitzen und dass in Kulturmedium gezüchtete Blastozysten bereits HCG sezernieren. Somit könnten sie mit dem Ovar zur Steigerung der Steroidbiosynthese auch schon in Interaktion treten, bevor HCG in messbarer Dosierung im Blut oder Urin vorliegt (66).

Die meisten vorhergehenden Studien einschließlich der oben genannten konnten jedoch durch einen entscheidenden Bias beeinflusst werden, da es in den letzten Jahren üblich war, nach individueller Entscheidung durch den behandelnden Arzt den Patientinnen in den 2 Wochen nach Durchführung des Embryotransfers zusätzlich zu dem standardmäßig applizierten Progesteron exogenes HCG zur „Rettung“ des Corpus-luteums zu spritzen. Dadurch war jedoch auch ein möglicherweise entscheidender Einfluss auf dessen Funktion mit der Bildung von Östrogenen und Progesteron anzunehmen. In der Regel wurden dabei bei Stimulationsverläufen mit niedrigerem Östrogenspiegel höhere Dosen von HCG appliziert, bei Stimulationszyklen mit höherem Östrogenspiegel wurden hingegen nur geringe Mengen bis kein HCG zusätzlich verabreicht, um das Risiko eines ovariellen Überstimulationssyndromes so gering wie möglich zu halten.

Die aktuell vorliegende Studie wurde auf der Grundlage des Konsenses durchgeführt, dass eine zusätzliche subkutane Applikation von HCG nach dem Embryotransfer keinen Behandlungsvorteil im Sinne einer höheren Implantationsrate erbringt. Im Gegenteil ist eine nachteilige Wirkung im Sinne höherer Raten eines Überstimulationssyndroms grundsätzlich anzunehmen. Demzufolge ist bei keiner der teilnehmenden Patientinnen eine zusätzliche HCG-Applikation in der Lutealphase erfolgt.

In der Studie von Greb et al war nur in der Gruppe der Patientinnen mit zusätzlicher HCG-Applikation eine signifikant höhere Östrogenbildung ab ET+4 zu beobachten (22). Erfolgte keine HCG-Gabe, war ein signifikanter Unterschied in der Östrogenbildung erst ab ET+8 nachzuweisen. Bei Vanderlelie wurden die Daten erst gar nicht nach einer erfolgten HCG-Gabe in der Lutealphase getrennt analysiert, so dass ein möglicher Einfluss des exogenen HCG beziehungsweise der oben ge-

nannten zugrunde liegenden Unterschiede im Patientenkollektiv nicht berücksichtigt wurde (71).

Aktan et al. berichteten bei downregulierten ICSI-Transfer-Zyklen über höhere Östradiolkonzentrationen am 5. Tag nach Embryotransfer in Zyklen mit Konzeption (1). Diese höhere Konzentration war allerdings nur bei der Untergruppe der sogenannten „Good Responders“ (in der Regel jüngere Patientinnen, die mit geringer Hormonstimulation eine große Anzahl von Follikeln und somit Oozyten bildeten) zu beobachten, so dass deren Vergleich zwischen Gruppen mit Konzeption und Gruppen ohne Konzeption möglicherweise durch einen signifikant höheren Spitzen-Östradiolwert am Tag der Auslösung des Eisprungs beeinträchtigt wurde. Man konnte somit annehmen, dass die Unterschiede in der lutealen Östradiolkonzentration dem höheren Östradiolwert vor Durchführung des Embryotransfers zuzuschreiben waren. In unserer Studie waren die Zykluscharakteristika bei Patientinnen mit Konzeption im Vergleich zu denen ohne Konzeption vergleichbar, die Unterteilung einer Gruppe in „Good Responders“ war nicht möglich - beziehungsweise nicht notwendig. Unsere Studie konnte somit prospektiv nachweisen, dass bereits am 7. Tag nach ET ein signifikanter Unterschied in der Östrogensynthese von IVF/ICSI-Konzeptions-Zyklen ohne zusätzliche HCG-Applikation besteht. Dies steht in Einklang mit einer aktuell veröffentlichten ebenfalls prospektiven Studie (17).

Wie zuvor bereits angesprochen gibt es in der bisherigen Literatur eine ausgeprägte Diskussion darüber, ob die Höhe des Östradiolspiegels vor Durchführung des Embryotransfers einen Einfluss auf den späteren Östradiolspiegel während der Lutealphase hat und damit mitentscheidend für die Implantation des Embryos sein kann. Dabei wird insbesondere das Augenmerk auf den Östradiolspiegel am Tag der Auslösung des Eisprungs mittels HCG-Gabe gelegt.

Sharara und McClamrock beschrieben einen engen Zusammenhang zwischen dem Östradiolspiegel am Tag der Ovulationsinduktion sowie dem Östradiolspiegel am dritten Tag nach Embryotransfer und einem erhöhten Implantationsversagen (59). Bereits 1988 gelang Forman in IVF-Zyklen der Nachweis, dass ein stark erhöhter präovulatorischer Östradiolwert (> 90. Perzentile der untersuchten Gruppe) mit einer geringeren Schwangerschaftswahrscheinlichkeit vergesellschaftet ist (15).

Mittlerweile kann davon ausgegangen werden, dass IVF-Zyklen mit einem Östradiolwert von über 20000 pmol/l am Tag der Ovulationsinduktion mit schlechteren Implantations- und Schwangerschaftsraten einhergehen, die am ehesten durch die

östrogenbedingte Veränderung des Endometriums in der Gelbkörperphase zu erklären sind (52). Die aus diesen Zyklen entstandenen überzähligen Embryonen, die kryokonserviert und zu einem späteren Zeitpunkt rückübertragen wurden, zeigten hingegen keine verringerten Schwangerschaftsraten. Dieses spricht wiederum für den negativen Einfluss des hohen Östrogenspiegels auf das Endometrium im frühen IVF-Zyklus und nicht etwa für eine schlechtere Embryonenqualität.

Da in unserer Studie der Östradiolwert am Tag der Ovulationsinduktion zwischen Patientinnen mit Implantation des Embryos und Patientinnen ohne Implantation keine signifikanten Unterschiede aufwies, kann man vermuten, dass die frühen Veränderungen in der Lutealphase zwischen diesen beiden Gruppen am ehesten Ereignissen nach Durchführung des Embryotransfers zuzuschreiben sind.

Als Einschränkung für alle bisher durchgeführten Studien – einschließlich der unseren (zumindest im Hinblick auf die von uns untersuchten IVF/ICSI-Zyklen) - ist zu sehen, dass ein Unterschied in der Lutealfunktion zwischen Konzeptionszyklen und Zyklen ohne Konzeption nur schwer entweder dem besseren endokrinen Milieu (das in der Lutealphase eine Konzeption erlaubt) oder aber einem Signal ausgehend von dem sich einnistenden Embryo an den Gelbkörper zuzuordnen ist. Der oben erwähnte Östradiolwert am Tag der Ovulationsinduktion ist ja nicht der allein entscheidende Hormonparameter zur Regulierung des endokrinen Milieus. Vielmehr erfolgt diese Regulation multifaktoriell.

Dabei wird die Rolle der Steroide in der Lutealphase nach ART generell kontrovers diskutiert: die Konzentration von Serumöstradiol und –progesteron standen bei Muasher (48), Mettler (47) und Nylund (53) in keinem Zusammenhang mit dem Ausgang der IVF-Behandlung, wohingegen Gidley-Baird (21) und Hutchinson-Williams (30) signifikant höhere Östradiolkonzentrationen bei Konzeptionszyklen fanden. In diesen Studien wurden jedoch auch unterschiedliche Lutealphasensubstitutionen durchgeführt, so dass hierdurch die unterschiedlichen Ergebnisse bedingt sein könnten. In neueren Studien wurde insbesondere ein rascher Östrogenabfall in der mittlutealen Phase mit einem schlechteren Outcome der Behandlung in Verbindung gebracht (59, 71). Ng und Yeung konnten hingegen bei einer Untersuchung von 763 ART-Zyklen diesen Effekt nicht nachweisen (52), wobei aber auch hier wiederum ein unterschiedliches Regime der Lutealphasenunterstützung zur Anwendung kam. In einem Kommentar zu dem Artikel von Ng erwähnt

Sharara 2001 auch die im Vergleich zu seiner Studie niedrigere Schwangerschaftsrate (60). Er äußert die Vermutung, dass seine Feststellungen bei einer höheren Schwangerschaftsrate eventuell nachweisbar gewesen wären.

Es gibt nur wenige Studien, die in ART-Zyklen neben den hauptsächlich untersuchten Östrogenwerten auch die Progesteronwerte mit berücksichtigen. Dies liegt wohl auch mit daran, dass die Östrogenwerte schon ab dem Beginn der Stimulation kontrolliert werden, und Progesteron erst in der (zumeist späten) Lutealphase gemessen wird. Somit ist das Östradiol als Verlaufsparemeter aufgrund der verwertbaren Datenmenge besser geeignet. Dennoch gibt es einige Studien, die insbesondere das Progesteron in den Mittelpunkt stellen: Ioannidis konnte 2005 nachweisen, dass der Progesteronwert am Tag 14 nach Eizellentnahme bei schwangeren Patientinnen signifikant höher lag als bei nicht schwangeren (31). Eine Untersuchung der Progesteronwerte im Zeitraum davor, wie sie in unserer Studie durchgeführt wurde, unterblieb jedoch.

Vicdan und Zeki stellten 2001 hingegen fest, dass der Progesteronwert bei 121 ICSI-Zyklen am Tag 11 nach ET (entsprechend Tag 13 bzw 14 nach Eizellentnahme) bezüglich der Konzeption keinen Unterschied zeigte (72). Auch hier wurde keine frühere Progesteronbestimmung durchgeführt. In dieser Studie wurde im Gegensatz zu der davor genannten neben der vaginalen Progesteronsubstitution auch exogenes HCG substituiert, so dass eine zusätzliche iatrogene Beeinflussung bestand.

Einige Veröffentlichungen haben versucht zu klären, ob ein vorzeitiger Progesteronanstieg in IVF/ICSI-Zyklen vor HCG-Gabe einen Einfluss auf die Schwangerschaftsrate hat. In vielen Fällen war zwar eine schlechtere Endometriumqualität zu beobachten, dieses wurde aber durch eine insgesamt höhere Schwangerschaftsrate wieder wettgemacht (13, 56). Der Einfluss des Progesteronwertes vor Ovulationsinduktion war nicht Bestandteil unserer Fragestellung, so dass dieser Wert erst ab dem Tag des Embryotransfers berücksichtigt wurde.

Die hier erhaltenen Ergebnisse bestätigen die oben erwähnte Untersuchung von Ioannidis. Bezüglich des Progesteronwertes in den IVF/ICSI-Zyklen konnte nachgewiesen werden, dass neben dem zuvor beschriebenen höheren Östrogenwert auch ein signifikant höherer Progesteronwert im Falle einer Konzeption ermittelt wurde; dieser Unterschied war bereits am 7. und auch am 14. Tag nach Transfer

zu beobachten. Dies steht im Gegensatz zu der oben zitierten prospektiven Studie von Ganesh et al., da diese Autoren einen signifikanten Unterschied im Progesteronspiegel lediglich am 7., jedoch nicht mehr am 14. Tag feststellen konnten.

Ein neuerer Ansatz in der Beurteilung der Lutealphase nach IVF wurde von Gruber 2007 untersucht: Sie ermittelte retrospektiv die Östrogen/Progesteron-Relation am 4., 5. und 7. Tag nach der Ovulationsinduktion in Abhängigkeit eines Schwangerschaftseintritts (24). Alle vorhergehenden Studien hatten sich bislang nur mit der Östrogen-Relation zueinander an verschiedenen Messzeitpunkten in der Lutealphase beschäftigt. Gruber konnte feststellen, dass die Östrogen/Progesteron-Relation an allen drei Zeitpunkten bei einer klinischen Schwangerschaft höher war als bei einer Fehlgeburt oder einer ausbleibenden Schwangerschaft. Einschränkend muss jedoch gesagt werden, dass sich die einzelnen Östrogen- und Progesteronwerte zwischen den Gruppen nicht signifikant unterschieden und somit die Bedeutung der Relation zumindest fraglich erscheint. Seit dieser Studie sind dann auch keine weiteren Untersuchungen mit ähnlicher Fragestellung unternommen worden.

Es ist bekannt, dass durch die Anwendung von GnRH-Agonisten einerseits ein iatrogen Defekt in der LH-Bildung entsteht, der über 2-3 Wochen nach der letzten Agonistengabe andauert. Andererseits reifen durch die ovarielle Stimulation mehrere Follikel simultan heran, die sich in entsprechend viele Gelbkörper umwandeln. Untersuchungen zu Hormonverläufen in der Lutealphase ohne vorherige „down-regulation“ der Hypophyse und anschließender Gonadotropinstimulation finden sich wesentlich seltener. Dieses liegt wohl auch daran, dass spontan konzipierende Patientenkollektive zumeist nicht so bereitwillig aufwändige Untersuchungen wie z.B. regelmäßige Blutentnahmen durchführen lassen. Zudem muss man bei einer spontanen Konzeptionsrate von 30% eine Vielzahl von Probandinnen rekrutieren, um eine ausreichende Anzahl von Schwangerschaften nachzuweisen.

Aus diesem Grunde wurden Patientinnen mit Kryo-Embryotransfer quasi als „Kontrollgruppe“ (Gruppe B) zu den IVF/ICSI-Zyklen (Gruppe A) in der vorliegenden Studie mit eingeschlossen. In dieser Gruppe B besteht durch die externe Zufuhr von Steroiden in gleicher Dosierung zunächst bei allen Patientinnen das gleiche hormonelle Milieu. Dabei konnte durch die zur Anwendung kommende Substitution

ein nahezu physiologischer Östrogen- und Progesteronspiegel aufgebaut werden. Die HCG-Applikation zur Ovulationsinduktion unterblieb hier, und ein dadurch bedingter endogener Progesteronanstieg mit schnellerer Endometriumumwandlung war nicht zu erwarten. Somit waren messbare Schwankungen der Hormonparameter nicht vor einer möglichen Einflussnahme durch den eingebrachten Embryo zu erwarten. Unsere Arbeitshypothese war dementsprechend, dass ein nachweisbarer Unterschied in der Lutealfunktion in Abhängigkeit von der Konzeption von dem Embryo ausgehen muss.

Betrachten wir nun also die Ergebnisse der untersuchten 28 Kryo-Zyklen. Bei Kryotransferzyklen mit späterer Konzeption konnte ab dem 4./5. Tag nach ET ein durchgehend höherer Östradiolwert gemessen werden als bei Zyklen ohne Konzeption. Dieser Unterschied war im Trend sichtbar, aber nicht signifikant.

Da alle Patientinnen die gleiche Hormonsubstitution erhielten und ein homogenes Kollektiv vorlag, kann aus den höheren Östrogenwerten ab dem 4. Tag nach Embryotransfer im Falle einer Konzeption gefolgert werden, dass wiederum ein durch den Konzeptus ausgehendes frühes Signal diese vermehrte Östrogensynthese des Ovars bedingt, bevor der Embryo eine dauerhafte Bindung mit dem Endometrium eingehen kann.

Bezüglich der ermittelten Progesteronwerte in unseren Kryo-Zyklen lässt sich entnehmen, dass eine Konzeption beziehungsweise das Ausbleiben einer Konzeption keinen eindeutigen Einfluss auf die Höhe des Wertes zeigte. Die Messungen ergaben für den 2., 3. und 5. Messzeitpunkt im Falle einer Konzeption leicht höhere Werte, ein stetiger Anstieg wie bei den Östrogenwerten war jedoch nicht zu verzeichnen. Ein Vergleich mit bislang veröffentlichter Literatur fällt hier ebenfalls schwer, da noch keine vorherige Studie die Progesteronverläufe vor Durchführung des Schwangerschaftstestes in Kryo-Zyklen untersucht hat. Hier ließen sich nur die zuvor erwähnten Untersuchungen über Progesteronmessungen in IVF/ICSI-Zyklen anführen.

Bislang durchgeführte Kryotransfer-Studien befassten sich mit den Überlebensraten der Vorkerne nach Kryokonservierung und den daraus resultierenden Schwangerschaften (45), dem Pro-alpha-C-Inhibin als Marker zur Vorhersagbarkeit einer Schwangerschaft nach Kryo-ET (70) sowie der Art und Dauer der idealen Hormonsubstitution in Kryo-Zyklen (50). Eine 2007 von Griesinger veröffentlichte Studie

untersucht die Rolle des LH am 14. Zyklustag vor Durchführung des Embryotransferes in Kryo-Zyklen, gibt aber bezüglich des weiteren Verlaufes der Hormonwerte nach dem Transfer keine weiteren Aufschlüsse (23).

Ein dem Kryo-Zyklus ähnliches hormonelles Milieu ist bei Zyklen mit Eizellspende zu erwarten. Bei dieser im Ausland durchgeführten Therapieform geht dem Embryotransfer in der Regel eine hormonelle Vorbehandlung mit Östrogen und Progesteron voraus, die Unterstützung der Lutealphase ist bei beiden Therapieformen identisch. Aber auch für die Eizellspende-Zyklen gibt es keine vergleichbare Studie zu hormonellen Verläufen in der frühen Lutealphase vor Durchführung des Schwangerschaftstestes. Auch wenn die Fallzahl der hier untersuchten Kryo-Zyklen mit Konzeption bei nur vier lag (24 Kryozyklen ohne Konzeption), ist der Trend zu höheren Östrogenwerten bei Konzeption ab dem 4./5. Tag nach Embryotransfer doch eindrücklich. Zudem ist die Schwangerschaftsrate in der IVF/ICSI-Gruppe im Vergleich zur Kryotransfergruppe doppelt so hoch (29,8 versus 14,3 %), eventuell hätte eine höhere Anzahl von Kryotransfer-Schwangerschaften ein eindeutigeres Ergebnis zu konzeptionsabhängigen Unterschieden in der Lutealfunktion ergeben. Durch nachfolgende Studien mit höherer Fallzahl wäre zu prüfen, ob die Unterschiede hierdurch Signifikanzniveau erlangen.

Die ideale Gelbkörperunterstützung in IVF-Zyklen ist schon seit längerer Zeit ein wichtiger Diskussionspunkt. Das Absetzen des GnRH-Agonisten mit Auslösung des Eisprungs bei Beendigung der ovariellen Stimulation führt zu einer bis in die frühe Gelbkörperphase hineinreichenden Beeinträchtigung, so dass eine vaginale Progesteronsubstitution bei mittels GnRH-Agonisten downregulierten Zyklen Standard wurde (4, 29, 57). Die mittlerweile häufig durchgeführte zusätzliche Östrogengabe in der Lutealphase von IVF/ICSI-Zyklen wird ebenfalls kontrovers diskutiert. Eine kürzlich veröffentlichte Meta-Analyse (18) mit Auswertung von 10 randomisierten Studien konnte diesbezüglich jedoch keinen Vorteil im Sinne einer höheren Schwangerschaftsrate bei Östrogensubstitution bestätigen. Da aber auch keine nachteiligen Effekte auszumachen sind, bleibt es der individuellen Entscheidung des Reproduktionsmediziners überlassen, ob er substituiert. Bei den hier untersuchten IVF/ICSI-Zyklen erhielten die Patientinnen keine Östrogenpräparate in der Lutealphase.

Die von uns beobachteten Unterschiede in der Sekretion von Östradiol und Progesteron während der Lutealphase zwischen Konzeptionszyklen und Nichtkonzeptionszyklen der Gruppe A legt die Vermutung nahe, dass ein Monitoring dieser beiden Steroidhormone an bestimmten Tagen nach dem Embryotransfer als detektiver Test zur Vorhersage des Behandlungsausgangs angewendet werden könnte. Da sich die Östrogen- und Progesteronwerte der IVF/ICSI-Patientinnen abhängig von der Konzeption am ET+7 und ET+14 signifikant unterscheiden, haben wir versucht, mit Hilfe verschiedener Trennwerte die Vorhersagbarkeit des Schwangerschaftseintritts zu ermitteln. Greb et al konnten in einer retrospektiven Studie 2004 mit einer Spezifität von maximal 84,2 % (ET+8) über die Zeitpunkte ET+4 bis ET+8 den späteren Eintritt eine Schwangerschaft bestimmen, die Sensitivität lag aber jeweils immer unter 53%. Somit war eine Vorhersagbarkeit nur sehr limitiert möglich.

Durch das prospektive Design unserer Studie erhofften wir, bezüglich Sensitivität und Spezifität bessere Ergebnisse zu erzielen. Bei der Untersuchung der Östrogenwerte konnte die beste AUC in den ROC-Kurven mit 0,74 am ET+14 bei 200 pmol/l ermittelt werden, alle anderen AUC-Ergebnisse lagen unter diesem Wert. Dieser AUC-Wert von 0,74 konnte nur aufgrund der hohen Spezifität von 94,9% erzielt werden, die Sensitivität lag hier bei schlechten 52%. Selbst bei einem niedrigen Trennwert von 200 pmol/l konnten von den 25 Schwangerschaften am 14. Tag nach Embryotransfer nur 13 Schwangerschaften richtig vorhergesagt werden. Zudem muss sich jeder prädiktive Messwert zu diesem Zeitpunkt bereits mit der aussagekräftigen HCG-Bestimmung vergleichen lassen.

Aufgrund der geringen Sensitivität des Östrogenwertes am 4. und 5. Messzeitpunkt kommt dieser also auch in unserer Studie nicht als prädiktiver Test in Frage. Es lässt sich zwar erneut mit einiger Wahrscheinlichkeit eine Schwangerschaft vermuten, aber die jeweiligen negativen prädiktiven Werte sind für eine ausreichend eindeutige Aussage zu hoch.

Vergleichbare Ergebnisse lieferten die Untersuchungen der Progesteronwerte am ET+7 und ET + 14. Das beste AUC-Ergebnis ergibt sich an ET+14 bei einem untersuchten Progesteronwert von 70 pmol/l. Bei guter Spezifität von 93,3 % liegt die Sensitivität jedoch nur bei 55,6 %. Legte man einen niedrigeren Progesteronwert zu Grunde verringert sich die Sensitivität und die AUC wird schlechter. Somit eignet sich die Bestimmung des Progesteronwerts ebenfalls nicht für die Vorhersage einer Schwangerschaft.

Aufgrund der in unserer Studie gewonnenen Ergebnisse lässt sich die in der Fragestellung erhobene Hypothese eines vom Embryo ausgehenden Signals zur Stimulation der Lutealfunktion in Konzeptionszyklen nicht abschließend bestätigen. Zwar zeigt das endokrine Milieu zwischen Konzeptionszyklen und Zyklen ohne Konzeption entsprechend unseren Daten bezüglich der Östradiolkonzentration nach ovarieller Stimulation zur IVF/ICSI-Behandlung schon in der frühesten Phase der Embryonalimplantation signifikante Unterschiede, jedoch ist in diesen stimulierten Zyklen ein grundsätzlich vorteilhafteres endokrines „Ausgangsprofil“ für den Eintritt einer Schwangerschaft nicht mit letzter Sicherheit auszuschließen. In den Kryo-Transferzyklen mit einem die Eierstocksfunktion unterdrückenden Substitutionsschema jedoch, lässt sich lediglich ein nicht signifikanter Trend zu einer stimulierten Lutealfunktion in Konzeptionszyklen nachweisen.

Die Theorie, dass ein embryonaler Stimulus auf den frühen Gelbkörper eher vorzuliegen scheint als eine intrinsisch bedingt bessere Gelbkörperfunktion in Konzeptionszyklen wird auch durch die bisherige Literatur belegt. Da selbst niedrigste Östradiol- und Progesteronspiegel mit einer Implantation vereinbar sind, scheint ein frühes Signal des Embryos zur Rettung der Gelbkörperfunktion vorzuliegen (19, 75). Wie bereits zuvor erwähnt, ist vermutlich HCG das Signal, welches ausgehend von der Implantationsstelle die frühe Lutealfunktion steuert. Jedoch ist HCG mit den derzeitigen immunologischen Methoden im Serum noch nicht nachweisbar, wenn bereits Unterschiede in der Corpus luteum-Funktion zwischen Konzeption und Nichtkonzeption bestehen. Auch in neueren Studien mit besseren technischen Voraussetzungen und sensibleren Hormonassays gelang keine HCG-Detektierung vor dem 6. Tag p.c. (38, 51).

Dies legt wiederum die Vermutung nahe, dass lokale Mechanismen wie zum Beispiel der Transport von luteotropen oder anti-luteolytischen Substanzen über Lymph- oder Blutgefäße wie bereits bei anderen Säugetieren nachweisbar (43) auch beim Menschen bestehen könnten. Diese Theorie wird unterstützt durch Studien, die gezeigt haben, dass radioaktiv markiertes Progesteron unmittelbar nach Infusion in die Gebärmutterhöhle in den Ovarien nachweisbar ist (26). Bei einem Transport über den venösen und arteriellen Blutkreislauf wäre dieses erst zu einem späteren Zeitpunkt messbar gewesen.

Des Weiteren wird diskutiert, ob so genanntes hyperglykosiliertes HCG (HCG<sub>h</sub>), welches durch den Präimplantationsembryo selbst gebildet wird (40), als frühestes Signal an das Corpus luteum in Frage kommt. Alternativ dazu wurde postuliert, dass HCG und HCG-Isoformen, wie oben erwähnt, vom sekretorisch umgewandelten Endometrium bereits vor dem sich implantierenden Embryo gebildet und dann als luteotropes Signal vom Uterus an die Ovarien durch die embryonale Einnistung abgesondert werden und somit die Hauptquelle für den frühesten Anstieg von HCG im Plasma während der frühen Implantation darstellen (65). Auch in tubarem Gewebe konnte die Expression von HCG-Rezeptoren nachgewiesen werden, welche für die Transduktion früher präimplantatorischer Signale verantwortlich sein könnten (35). Neben dem Embryo und dem Endometrium konnte auch in mononukleären Zellen die Bildung von HCG gezeigt werden (2). Mononukleäre Zellen sind von großer Bedeutung für die Implantation und Immuntoleranz der Schwangerschaft, so dass auch diese zur Rettung des Corpus luteums beitragen könnten.

In Zukunft werden auf molekularer und genetischer Ebene noch weitere Biomarker bezüglich der endometrialen Rezeptivität aufzuspüren sein, welche ein besseres Verständnis der Implantation im zeitlich begrenzten menschlichen „Implantationsfenster“ mit sich bringen werden. Diesbezüglich gibt es schon jetzt eine Vielzahl von neueren Studien, die sich mit diesen genetischen (28, 62) und molekularen (54) Aspekten beschäftigen. Und auch Untersuchungen zu morphologischen Besonderheiten des rezeptiven Endometriums werden zunehmend in den Vordergrund treten: so genannte Pinopoden – charakteristische Ausstülpungen an der Oberfläche des Endometriums in der Lutealphase – sind rasterelektronenmikroskopisch nur zum Zeitpunkt des Implantationsfensters nachweisbar und somit vermutlich Voraussetzung für eine erfolgreiche Implantation (55, 39).

Zusammenfassend lässt sich aufgrund der vorliegenden Ergebnisse vermuten, dass ein früher embryonaler Signalstimulus vorliegt, welcher das hormonelle Profil in der frühen Lutealphase von IVF/ICSI- sowie Kryozyklen im Zusammenhang mit der Embryonalimplantation reguliert. Diesbezüglich lassen sich Konzeptionszyklen von Nichtkonzeptionszyklen durch Unterschiede in der Gelbkörperfunktion schon ab dem 7. Tag nach Embryotransfer, also in der frühesten Phase der Embryonalimplantation, nachweisen. Bei den stimulierten Zyklen erreichen diese Unterschiede Signifikanzniveau, allerdings ist aufgrund der vorausgegangenen Stimulation ein

grundsätzlich vorteilhafteres hormonelles „Ausgangsprofil“ für den Eintritt einer Schwangerschaft ursächlich nicht mit letzter Sicherheit auszuschließen. Durch Studien mit höherer Fallzahl an hormonell substituierten Zyklen wie beispielsweise Kryo-Transferzyklen wäre zu prüfen, ob der hier festgestellte Trend zu einer höheren Östradiolproduktion ab dem 4. Tag nach Embryotransfer Signifikanzniveau erreicht. Dabei bleibt weiterhin zu klären, ob HCG oder andere embryonale Signale diese bedingen - der exakte Mechanismus bleibt unbekannt.

## **5. Abkürzungsverzeichnis**

ART	Assistierte Reproduktions-Technik
AUC	Area Under the Curve
CC	Conception-Cycles: Zyklen mit Konzeption
Destatis	Statistisches Bundesamt Deutschland
DHEAS	Dehydroepiandrosteron
DIR	Deutsches IVF-Register
E2	Estradiol
ED	Endometriumdicke
EDV	Elektronische Datenverarbeitung
ESHRE	European Society for Human Reproduction and Embryology
ET	Embryotransfer
FSH	Follikelstimulierendes Hormon
GnRH	Gonadotropin Releasing Hormon
HCG	Humanes Choriongonadotropin
HMG	Humanes Menopausen-Gonadotropin
HSK	Hysteroskopie
ICSI	Intrazytoplasmatische Spermien Injektion
IU	International Units
IUI	Intrauterine Insemination
IVF	In-vitro Fertilisation
Kryo	Kryokonservierung
LH	Luteinisierendes Hormon
LSK	Laparoskopie
N	Anzahl
NC	Non-Conception-Cycles: Zyklen ohne Konzeption
p.c.	post conceptionem
PCO	Polyzystische Ovarien
P4	Progesteron
ROC	Receiver Operating Characteristics
SD	Standardabweichung
SE	Standardfehler (Standard error)
SEM	Standardfehler des Mittelwertes (Standard error of the mean)
SGB	Sozialgesetzbuch
SHBG	Sexualhormonbindendes Globulin
TESE	Testikuläre Spermienextraktion
WHO	World Health Organisation
ZT	Zyklustag

## **6. Abbildungsverzeichnis**

Abbildung 1:	Östrogen im Gesamtkollektiv im Verlauf (MW+SEM)	26
Abbildung 2:	Progesteron im Gesamtkollektiv im Verlauf (MW+SEM)	27
Abbildung 3:	Korrelation zwischen Östrogen und Progesteron am ET+2/3	28
Abbildung 4:	Vergleich des Östrogenspiegels zwischen den beiden Gruppen	29
Abbildung 5:	Vergleich des Progesteronspiegels zwischen den beiden Gruppen	30
Abbildung 6:	Östrogen im Verlauf in der Gruppe A in Abhängigkeit vom Eintritt einer Schwangerschaft (MW+SEM)	31
Abbildung 7:	Progesteron im Verlauf in der Gruppe A in Abhängigkeit vom Eintritt einer Schwangerschaft (MW+SEM)	31
Abbildung 8:	Östrogen im Verlauf in der Gruppe B in Abhängigkeit vom Eintritt einer Schwangerschaft (MW+SEM)	32
Abbildung 9:	Progesteron im Verlauf in der Gruppe B in Abhängigkeit vom Eintritt einer Schwangerschaft (MW+SEM)	33
Abbildung 10:	ROC- Kurve für den Östrogentest (Trennwert: 1500 pmol/l)	34
Abbildung 11:	ROC- Kurve für den Östrogentest (Trennwert: 1000 pmol/l)	35
Abbildung 12:	ROC- Kurve für den Östrogentest (Trennwert: 700 pmol/l)	36
Abbildung 13:	ROC- Kurve für den Östrogentest (Trennwert: 1000 pmol/l)	37
Abbildung 14:	ROC- Kurve für den Östrogentest (Trennwert: 200 pmol/l)	39
Abbildung 15:	ROC- Kurve für den Progesterontest (Trennwert: 90 pmol/l)	41
Abbildung 16:	ROC- Kurve für den Progesterontest (Trennwert: 80 pmol/l)	42
Abbildung 17:	ROC- Kurve für den Progesterontest (Trennwert: 70 pmol/l)	43
Abbildung 18:	ROC- Kurve für den Progesterontest (Trennwert: 60 pmol/l)	44
Abbildung 19:	ROC- Kurve für den Progesterontest (Trennwert: 50 pmol/l)	45

## **7. Tabellenverzeichnis**

Tabelle 1:	Alter, Zykluszahl und Indikation	21
Tabelle 2:	Stimulationsverlauf	23
Tabelle 3:	Embryonalentwicklung und Schwangerschaft	25
Tabelle 4:	Testergebnisse des Östrogenspiegels (Trennwert: 1500 pmol/l)	34
Tabelle 5:	Testergebnisse des Östrogenspiegels (Trennwert: 1000 pmol/l)	35
Tabelle 6:	Testergebnisse des Östrogenspiegels (Trennwert: 700 pmol/l)	36
Tabelle 7:	Testergebnisse des Östrogenspiegels (Trennwert: 1000 pmol/l)	37
Tabelle 8:	Testergebnisse des Östrogenspiegels (Trennwert: 700 pmol/l)	38
Tabelle 9:	Testergebnisse des Östrogenspiegels (Trennwert: 400 pmol/l)	38
Tabelle 10:	Testergebnisse des Östrogenspiegels (Trennwert: 200 pmol/l)	39
Tabelle 11:	Testergebnisse des Progesteronspiegels (Trennwert: 90 pmol/l)	40
Tabelle 12:	Testergebnisse des Progesteronspiegels (Trennwert: 80 pmol/l)	41
Tabelle 13:	Testergebnisse des Progesteronspiegels (Trennwert: 70 pmol/l)	42
Tabelle 14:	Testergebnisse des Progesteronspiegels (Trennwert: 60 pmol/l)	43
Tabelle 15:	Testergebnisse des Progesteronspiegels (Trennwert: 50 pmol/l)	44
Tabelle 16:	Östrogen im Gesamtkollektiv im Verlauf	I
Tabelle 17:	Progesteron im Gesamtkollektiv im Verlauf	I
Tabelle 18:	Vergleich des Östrogenspiegels zwischen den beiden Gruppen	II
Tabelle 19:	Vergleich des Progesteronspiegels zwischen den beiden Gruppen	II
Tabelle 20:	Östrogen- und Progesteronwerte (Gruppe A), CC vs NC	III
Tabelle 21:	Östrogen- und Progesteronwerte, Test bei unabhängigen Stichproben (Gruppe A)	IV
Tabelle 22:	Östrogen- und Progesteronwerte (Gruppe B), CC vs NC	V
Tabelle 23:	Östrogen- und Progesteronwerte, Test bei unabhängigen Stichproben (Gruppe B)	VI

## **8. Literaturverzeichnis**

1. Aktan E, Bozkurt K, Ozer D, Yucebilgin S, Karadadas N, Bilgin O (2004) The effect of mid-luteal estradiol level on the outcome of ICSI-ET cycles. *Arch Gynecol Obstet* 269: 134-138
2. Alexander H, Zimmermann G, Wolkersdorfer GW, Biesold C, Lehmann M, Eienkel J, Pretzsch G, Baier D (1998) Utero-ovarian interaction in the regulation of reproductive function. *Hum Reprod Update*: 550-559
3. Al-Ghamdi A, Coskun S, Al-Hassan S, Al-Rejjal R, Awartani K (2008) The correlation between endometrial thickness and outcome of in vitro fertilization and embryo transfer outcome. *Reprod Biol Endocrinol* 6: 37
4. Belaisch-Allart J, De Mouzon J, Lapousterle C, Mayer M (1990) The effect of HCG supplementation after combined GnRH agonist/HMG treatment in an IVF programme. *Hum Reprod* 5: 163-166
5. Bosu WT, Johansson ED (1975) Implantation and maintenance of pregnancy in mated rhesus monkeys following bilateral oophorectomy or luteectomy with and without progesterone replacement. *Acta Endocrinol (Copenh)* 79(3): 598-609
6. Cavagna M and Mantese JC (2003) Biomarkers of endometrial receptivity-a review. *Placenta* 24 *Suppl B*: 39-47
7. Critchley HO, Saunders PT (2009) Hormone receptor dynamics in a receptive human endometrium. *Reprod Sci* 16(2):191-9.
8. de Ziegler D (1995) Hormonal control of endometrial receptivity. *Hum Reprod* 10(1): 4-7

9. de Ziegler D, Bergeron C, Cornel C, Medalie DA, Massai MR, Milgrom E, Frydman R, Bouchard P (1992) Effects of luteal estradiol on the secretory transformation of human endometrium and plasma gonadotropins. *J Clin Endocrinol Metab* 74(2): 322-331
10. Edwards RG, Steptoe PC, Purdy JM (1980) Establishing full-term pregnancies using cleaving embryos grown in vitro. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology* 87: 737-756
11. ESHRE Guidelines for counselling in infertility (2001). Special interest group "psychology and counselling"
12. ESHRE Pressemitteilung EurekAlert (21.06.2006) Three million babies born using assisted reproductive technologies
13. Fanchin R, Righini C, Olivennes F, Ferreira AL, de Ziegler D, Frydman R (1997) Consequences of premature progesterone elevation on the outcome of in vitro fertilization: insights into a controversy. *Fertil Steril* 68(5): 799-805
14. Finn CA, Martin L (1976) Hormonal control of the secretion of the endometrial glands in the mouse. *J Endocrinol* 71(2): 273-274
15. Forman R, Fries N, Testart J, Belaisch-Allart J, Hazout A, Frydman R (1988) Evidence for an adverse effect of elevated serum estradiol concentrations on embryo implantation. *Fertil Steril* 49(1): 118-122
16. Friedler S, Gilboa S, Schachter M, Raziel A, Strassburger D, Ron El R (2006) Luteal phase characteristics following GnRH antagonist or agonist treatment - a comparative study. *Reprod Biomed Online* 12: 27-32

17. Ganesh A, Goswami S, Chattopadhyay R, Chakraborty C, Chaudhury K, Chakravarty BN (2009) Luteal phase estradiol level: a potential predictive marker for successful pregnancy in in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 91(4):1018-22
18. Gelbaya TA, Kyrgiou M, Tsoumpou I, Nardo LG (2008) The use of estradiol for luteal phase support in in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection cycles: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril* 90(6): 2116-2125
19. Ghosh D, Sengupta J (1995) Another look at the issue of peri-implantation oestrogen. *Hum Reprod* 10(1): 1-2
20. Ghosh D, De P, Sengupta J (1994) Luteal phase ovarian oestrogen is not essential for implantation and maintenance of pregnancy from surrogate embryo transfer in the rhesus monkey. *Hum Reprod* 9(4): 629-637
21. Gidley-Baird AA, O'Neill C, Sinosich MJ, Porter RN, Pike IL, Saunders DM (1986) Failure of implantation in human in vitro fertilization and embryo transfer patients: the effects of altered progesterone/estrogen ratios in humans and mice. *Fertil Steril* 45(1): 69-74
22. Greb RR, Lettmann N, Sonntag B, Schüring AN, von Otte S, Kiesel L (2004) Enhanced oestradiol secretion briefly after embryo transfer in conception cycles from IVF. *Reprod Biomed Online* 9(3): 271-278
23. Griesinger G, Weig M, Schroer A, Diedrich K, Kolibianakis EM (2007) Mid-cycle serum levels of endogenous LH are not associated with the likelihood of pregnancy in artificial frozen-thawed embryo transfer cycles without pituitary suppression. *Hum Reprod* 22(10): 2589-2593

24. Gruber I, Just A, Birner M, Lösch A (2007) Serum estradiol/progesterone ratio on day of embryo transfer may predict reproductive outcome following controlled ovarian hyperstimulation and in vitro fertilization. *J Exp Clin Assist Reprod* 19;4:1
25. Guzeloglu-Kayisli O, Kayisli UA, Taylor HS (2009) The role of growth factors and cytokines during implantation: endocrine and paracrine interactions. *Semin Reprod Med* 27: 62-79.
26. Halket JM, Leidenberger F, Einer-Jensen N, Bendz A (1985) Determination of infused (<sup>13</sup>C) progesterone in ovarian arterial blood by selected ion monitoring. *Biomed Mass Spectrom* 12: 429-431
27. Hanson FW, Powell JE, Stevens VC (1971) Effects of HCG and human pituitary LH on steroid secretion and functional life of the human corpus luteum. *J Clin Endocrinol Metab* 32: 211-215
28. Haouzi D, Mahmoud K, Fourar M, Bendhaou K, Dechaud H, De Vos J, Rème T, Dewailly D, Hamamah S (2009) Identification of new biomarkers of human endometrial receptivity in the natural cycle. *Hum Reprod* 24(1): 198-205
29. Herman A, Raziel A, Strassburger D, Soffer Y, Bukovsky I, Ron-El R (1996) The benefits of mid-luteal addition of human chorionic gonadotrophin in in vitro fertilization using a down-regulation protocol and luteal support with progesterone. *Hum Reprod* 1: 1552-1557
30. Hutchinson-Williams KA, Lunenfeld B, Diamond MP, Lavy G, Boyers SP, DeCherney AH (1989) Human chorionic gonadotropin, estradiol, and progesterone profiles in conception and nonconception cycles in an in vitro fertilization program. *Fertil Steril* 52: 441-445

31. Ioannidis G, Sacks G, Reddy N, Seyani L, Margara R, Lavery S, Trew G (2005) Day 14 maternal serum progesterone levels predict pregnancy outcome in IVF/ICSI treatment cycles: a prospective study. *Hum Reprod* 20(3): 741-746
32. Kapetanakis E, Pantos KJ (1990) Continuation of a donor oocyte pregnancy in menopause without early pregnancy support. *Fertil Steril* 54(6): 1171-1173
33. Keck C, Neulen J, Breckwoldt M (1997) Endokrinologie, Reproduktionsmedizin, Andrologie. *Praxis der Frauenheilkunde, Band I*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1. Auflage, S 14-15
34. Kolibianakis EM, Venetis CA, Tarlatzis BC (2009) Role of the endocrine profile for the achievement of pregnancy with IVF. *Reprod Biomed Online* 18, Suppl 2: 37-43
35. Lei ZM, Toth P, Rao CV, Pridham D (1993) Novel coexpression of human chorionic gonadotropin (hCG)/human luteinizing hormone receptors and their ligand hCG in human fallopian tubes. *J Clin Endocrinol Metab* 77(3): 863-872
36. Leidenberger F; Strowitzki T; Ortmann T (1998) *Klinische Endokrinologie für Frauenärzte*. Springer-Verlag GmbH, Berlin, 2. Auflage S 94-95
37. Lenton EA, Sulaiman R, Sobowale O, Cooke ID (1982) The human menstrual cycle: plasma concentrations of prolactin, LH, FSH, oestradiol and progesterone in conceiving and non-conceiving women. *J Reprod Fertil* 65: 131-139

38. Lohstroh P, Dong H, Chen J, Gee N, Xu X, Lasley B (2006) Daily immunoactive and bioactive human chorionic gonadotropin profiles in periimplantation urine samples. *Biol Reprod* 2006 75(1): 24-33
39. Lopata A (1996) Blastocyst-endometrial interaction: an appraisal of some old and new ideas. *Mol Hum Reprod* 2: 519-525
40. Lopata A and Hay DL (1989) The potential of early human embryos to form blastocysts, hatch from their zona and secrete HCG in culture. *Hum Reprod* 4: 87-94
41. Ludwig M, Rabe T, Geithövel F (2004) Empfehlungen für die Beratung von Kinderwunschpaaren. *Journal für Reproduktionsmedizin und Endokrinologie* 4: 295-298
42. Macnamee MC, Brinsden PR (1999) Superovulation strategies in assisted conception. In: Brinsden, P. R. (Hrsg.): *A textbook of In Vitro Fertilization and Assisted Reproduction-The Bourn Hall guide to clinical and laboratory practice*. The Parthenon Publishing Group, New York/London, 2nd edition, S 91-102
43. Mapletoft RJ, Lapin DR, Ginther OJ (1976) The ovarian artery as the final component of the local luteotropic pathway between a gravid uterine horn and ovary in ewes. *Biol Reprod* 15: 414-421
44. Margreiter M, Weghofer A, Feichtinger W (2005) In-vitro fertilization in women of advanced reproductive age. *Journal für Reproduktionsmedizin und Endokrinologie* 1: 5-12
45. Marrs RP, Greene J, Stone BA (2004) Potential factors affecting embryo survival and clinical outcome with cryopreserved pronuclear human embryos. *Am J Obstet Gynecol* 190(6): 1766-1771

46. McLaren A, Grant PS (1973) Egg implantation and deciduoma induction in cyclic mice after treatment with progestagens and oestradiol. *J Reprod Fertil* 34(3): 415-421
47. Mettler L, Michelmann HW (1987) Estradiol values under gonadotropin stimulation in relation to the outcome of pregnancies in in vitro fertilization and embryo transfer. *J In Vitro Fert Embryo Transf* 4(6): 303-306
48. Muasher S, Acosta AA, Garcia JE, Jones GS, Jones HW Jr (1984) Luteal phase serum estradiol and progesterone in in vitro fertilization. *Fertil Steril* 41(6): 838-843
49. Nargund G, Fauser BCJM, Macklon NS, Ombelet W, Nygren K, Frydman R (2007) The ISMAAR proposal on terminology for ovarian stimulation for IVF. *Hum Reprod* 22(11): 2801-2804
50. Nawroth F, Ludwig M (2005) What is the 'ideal' duration of progesterone supplementation before the transfer of cryopreserved-thawed embryos in estrogen/progesterone replacement protocols. *Hum Reprod* 20(5): 1127-1134
51. Nepomnaschy PA, Weinberg CR, Wilcox AJ, Baird DD (2008) Urinary hCG patterns during the week following implantation. *Hum Reprod* 23(2): 271-277
52. Ng EH, Yeung WS, Yee Lan Lau E, So WW, Ho PC (2000) High serum oestradiol concentrations in fresh IVF cycles do not impair implantation and pregnancy rates in subsequent frozen-thawed embryo transfer cycles. *Hum Reprod* 15(2): 250-255
53. Nylund L, Beskow C, Carlström K, Fredricsson B, Gustafson O, Lunell NO, Pousette A, Rosenborg L, Slotte H, Akerlöf E (1990) The early luteal phase

- in successful and unsuccessful implantation after IVF-ET. *Hum Reprod* 5(1): 40-42
54. Oehninger S (2008) Revealing the enigmas of implantation: what is the true impact of ovarian hyperstimulation? *Fertil Steril.* 89(1): 27-30
55. Pantos K, Nikas G, Makrakis E, Stavrou D, Karantzis P, Grammatidis M (2004) Clinical value of endometrial pinopodes detection in artificial donation cycles. *Reprod Biomed Online* 9(1): 86-90
56. Prien SD, Canez MS, Messer RH (1994) Increases in progesterone after human chorionic gonadotropin administration may predict cycle outcome in patients undergoing in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril* 62(5): 1066-1068
57. Pritts EA, Atwood AK (2002) Luteal phase support in infertility treatment: a meta-analysis of the randomized trials. *Hum Reprod* 17: 2287-2299
58. Qian YL, Ye YH, Xu CM, Jin F, Huang HF (2008) Accuracy of a combined score of zygote and embryo morphology for selecting the best embryos for IVF. *J Zhejiang Univ Sci B* 9(8): 649-655
59. Sharara FI and McClamrock HD (1999) Ratio of oestradiol concentration on the day of human chorionic gonadotrophin administration to mid-luteal oestradiol concentration is predictive of in-vitro fertilization outcome. *Hum Reprod* 14: 2777-2782
60. Sharara FI (2001) Value of mid-luteal oestradiol level: prognostic implications for IVF. *Hum Reprod* 16(11): 2476

61. Sharkey AM, Smith SK (2003) The endometrium as a cause of implantation failure. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 17(2): 289-307
62. Soares SR, Velasco JA, Fernandez M, Bosch E, Remohí J, Pellicer A, Simón C (2008) Clinical factors affecting endometrial receptiveness in oocyte donation cycles. *Fertil Steril* 89(3): 491-501
63. Stassart JP, Corfman RS, Ball GD (1995) Continuation of a donor oocyte pregnancy in a functionally agonaladal patient without early oestrogen support. *Hum Reprod* 10(11): 3061-3063
64. Steer CV, Mills CL, Tan SL, Campbell S, Edwards RG (1992) The cumulative embryo score: a predictive embryo scoring technique to select the optimal number of embryos to transfer in an in-vitro fertilization and embryo transfer programme. *Hum Reprod* 7(1): 117-9
65. Stenman UH, Tiitinen A, Alfthan H, Valmu L (2006) The classification, functions and clinical use of different isoforms of HCG. *Hum Reprod Update* 12(6): 769-784.
66. Stewart DR, Overstreet JW, Nakajima ST, Lasley BL (1993) Enhanced ovarian steroid secretion before implantation in early human pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 76: 1470-1476
67. Strowitzki T (1998): *Wenn das Wunschkind ausbleibt: Ursachen, Diagnose und Behandlungsmöglichkeiten*, Hüthig, Heidelberg, 1. Auflage, S 11-15, 28-35
68. Strowitzki T, Germeyer A, Popovici R, von Wolff M (2006) The human endometrium as a fertility-determining factor. *Hum Reprod Update* 12(5): 617-30

69. Tavaniotou A, Devroey P (2006) Luteal hormonal profile of oocyte donors stimulated with a GnRH antagonist compared with natural cycles. *Reprod Biomed Online* 13(3): 326-330
70. Tong S, Rombauts L, Onwude J, Marjono B, Wallace EM (2007) Highly specific and sensitive rise in Days14-17 pro-alphaC inhibin with clinical pregnancy after frozen embryo transfer with ovulatory cycles. *Hum Reprod* 22(8): 2249-2253
71. Vanderlelie J, Bell K, Perkins AV (2003) The serum concentration of estradiol after embryo transfer and the decline from preovulatory levels may influence the success of IVF treatment. *Horm Res* 59: 95-99
72. Vicdan K and Zeki IA (2001) Luteal phase hormonal profile in prediction of pregnancy outcome after assisted reproduction. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 96: 98-101
73. World Health Organization (2004) DHS Comparative Reports Infecundity, Infertility, and Childlessness in Developing Countries
74. Wilcox AJ, Weinberg CR, O'Connor JF, Baird DD, Schlatterer JP, Canfield RE, Armstrong EG, Nisula BC (1988) Incidence of early loss of pregnancy. *N Engl J Med* 319(4): 189-194
75. Zegers-Hochschild F and Altieri E (1995) Luteal estrogen is not required for the establishment of pregnancy in the human. *J Assist Reprod Genet* 12: 224-228

## **9. Lebenslauf**

## **10. Danksagung**

Ich bedanke mich bei meiner Doktormutter, Frau Priv.-Doz. Dr. Barbara Sonntag, für die intensive Betreuung, die ich sowohl während der Sichtung des Datenmaterials als auch bei der Erstellung der Dissertation erfahren habe. Frau Priv.-Doz. Dr. Sonntag fand stets einen Termin zur Besprechung und ließ mir jeweils umgehend die Korrektur der Arbeit mit ausführlichen Anmerkungen zukommen.

Des Weiteren bedanke ich mich bei Herrn Prof. Dr. Ludwig Kiesel und Herrn Prof. Dr. Robert Greb für die Bereitstellung des Themas.

Herrn Prof. Dr. Michael Zitzmann danke ich für die Übernahme des Koreferats.

Frau Dr. Tanja Kottmann bin ich für die Hilfe bei der statistischen Auswertung des Datenmaterials, sowie bei der Erstellung der graphischen Darstellungen zur Verdeutlichung der Ergebnisse dankbar.

Besonderer Dank gilt den Arzhelferinnen des IVF-Bereichs Doreen Fehmer, Daniela Kallwey und Martina Kreimer, die mir bei der Datenerhebung behilflich waren.

# 11. Anhänge

## 11.1 Tabellenanhang

Tabelle16: Östrogen im Gesamtkollektiv im Verlauf

		1. E2	2. E2	3. E2	4. E2	5. E2
N	Gültig	112	106	103	101	85
	Fehlend	0	6	9	11	27
Mittelwert		3613,76	5858,76	4115,30	1465,79	1198,41
Standardfehler des Mittelwertes		242,094	517,057	451,592	205,428	338,666
Median		3120,00	4425,50	2860,00	720,00	147,00
Standardabweichung		2562	5323	4583	2065	3122
Minimum		363	407	283	48	36
Maximum		11017	26908	22375	10859	20888
Perzentile	25	1490,25	1740,75	1061,00	246,00	101,00
	50	3120,00	4425,50	2860,00	720,00	147,00
	75	5296,50	8510,50	5084,00	1620,50	923,00

Tabelle 17: Progesteron im Gesamtkollektiv im Verlauf

		1. P4	2. P4	3. P4	4. P4	5. P4
N	Gültig	112	105	103	101	84
	Fehlend	0	7	9	11	28
Mittelwert		395,264	502,695	272,731	98,265	109,822
Standardfehler des Mittelwertes		27,861	34,053	22,113	15,109	24,216
Median		389,630	533,450	260,082	54,280	41,070
Standardabweichung		294,856	348,949	230,721	151,843	221,951
Minimum		22,71	6,84	8,56	8,81	1,88
Maximum		954,00	923,21	843,06	836,66	721,86
Perzentile	25	97,230	94,315	56,410	42,185	20,187
	50	389,630	533,450	115,150	54,280	41,070
	75	641,450	853,820	363,470	81,485	59,002

Tabelle 18: Vergleich des Östrogenspiegels zwischen den beiden Gruppen

Therapie		1. E2	2. E2	3. E2	4. E2	5. E2
Gruppe A	Mittelwert	4453,06	7485,81	5098,40	1610,71	1267,73
	SD	2418,442	5247,660	4869,696	2355,086	3615,307
	SE	263,874	590,408	551,385	270,147	455,486
	Median	4064,00	5712,00	3627,00	523,00	117,00
	N	84	79	78	76	63
Gruppe B	Mittelwert	1095,86	1098,15	1048,04	1025,24	999,91
	SD	490,245	502,994	499,386	397,696	592,872
	SE	92,648	96,801	99,877	79,539	126,401
	Median	1048,50	962,00	1050,00	954,00	852,00
	N	28	27	25	25	22

Tabelle 19: Vergleich des Progesteronspiegels zwischen den beiden Gruppen

Therapie		1. Pro-gesteron	2. Pro-gesteron	3. Pro-gesteron	4. Pro-gesteron	5. Pro-gesteron
Gruppe A	MW	503,1345	661,3390	330,1254	115,4989	131,2975
	SD	249,16746	255,35550	289,50914	171,67949	253,05246
	SE	27,18640	28,91332	32,78046	19,69299	31,88161
	Median	455,6950	672,0900	188,7350	64,5700	39,9400
	N	84	78	78	76	63
Gruppe B	MW	71,6554	44,3926	45,6820	45,8764	45,3981
	SD	147,53382	18,11756	16,30375	12,79389	10,91744
	SE	27,88127	3,48673	3,26075	2,55878	2,38238
	Median	39,4500	40,1000	43,7300	43,3800	46,5900
	N	28	27	25	25	21

Tabelle 20: Östrogen- und Progesteronwerte (Gruppe A), CC vs NC

	SS (ja/nein)	N	Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
1. E2	ja	25	4506,20	2169,526	433,905
	nein	58	4401,67	2546,200	334,332
1. Prog	ja	25	487,5144	241,18622	48,23724
	nein	58	506,4197	255,12969	33,50017
2. E2	ja	24	7021,13	4417,271	901,672
	nein	55	7688,58	5597,176	754,723
2. Prog	ja	24	647,76	265,881	54,273
	nein	53	670,67	254,105	34,904
3. E2	ja	23	5873,13	5077,459	1058,723
	nein	55	4774,42	4790,466	645,946
3. Prog	ja	23	431,1509	344,58029	71,84996
	nein	55	287,8784	254,90405	34,37125
4. E2	ja	21	3110,81	3392,652	740,337
	nein	54	1043,98	1507,045	205,083
4. Prog	ja	21	231,08	284,904	62,171
	nein	54	71,96	61,185	8,326
5. E2	ja	18	3727,94	5940,381	1400,161
	nein	44	289,27	1160,189	174,905
5. Prog	ja	18	325,6517	357,17190	84,18622
	nein	45	53,5558	138,95635	20,71439

Tabelle 21: Östrogen- und Progesteronwerte, Test bei unabhängigen Stichproben (Gruppe A)

		Levene-Test der Varianzgleichheit		T-Test für die Mittelwertgleichheit					95% Konfidenzintervall der Differenz	
		F	Signifikanz	T	df	Sig. (2-seitig) = p-Wert	Mittlere Differenz	Standardfehler der Differenz	Untere	Obere
1. E2	Varianzen sind gleich	1,616	,207	,179	81	,858	104,53	583,932	-1057,314	1266,370
	Varianzen sind nicht gleich			,191	53,079	,849	104,53	547,770	-994,121	1203,176
1. Prog	Varianzen sind gleich	,421	,519	-,315	81	,754	-18,9053	60,07109	-138,42788	100,61737
	Varianzen sind nicht gleich			-,322	48,030	,749	-18,9053	58,72898	-136,98590	99,17539
2. E2	Varianzen sind gleich	1,179	,281	-,517	77	,606	-667,46	1289,853	-3235,883	1900,969
	Varianzen sind nicht gleich			-,568	55,016	,573	-667,46	1175,848	-3023,894	1688,980
2. Prog	Varianzen sind gleich	,091	,763	-,361	75	,719	-22,91	63,422	-149,253	103,433
	Varianzen sind nicht gleich			-,355	42,727	,724	-22,91	64,528	-153,066	107,247
3. E2	Varianzen sind gleich	,655	,421	,908	76	,367	1098,71	1210,603	-1312,412	3509,837
	Varianzen sind nicht gleich			,886	39,213	,381	1098,71	1240,218	-1409,430	3606,854
3. Prog	Varianzen sind gleich	10,897	,001	2,033	76	,046	143,2725	70,46972	2,91989	283,62512
	Varianzen sind nicht gleich			1,799	32,527	,081	143,2725	79,64797	-18,86204	305,40705
4. E2	Varianzen sind gleich	18,789	,000	3,667	73	,000	2066,83	563,577	943,622	3190,035
	Varianzen sind nicht gleich			2,690	23,136	,013	2066,83	768,218	478,165	3655,491
4. Prog	Varianzen sind gleich	39,032	,000	3,917	73	,000	159,12	40,627	78,148	240,088
	Varianzen sind nicht gleich			2,537	20,721	,019	159,12	62,726	28,565	289,671
5. E2	Varianzen sind gleich	23,156	,000	3,712	60	,000	3438,67	926,397	1585,601	5291,742
	Varianzen sind nicht gleich			2,437	17,533	,026	3438,67	1411,043	468,510	6408,834
5. Prog	Varianzen sind gleich	36,756	,000	4,386	61	,000	272,0959	62,03614	148,04696	396,14482
	Varianzen sind nicht gleich			3,138	19,094	,005	272,0959	86,69721	90,69681	453,49497

Tabelle 22: Östrogen- und Progesteronwerte (Gruppe B), CC vs NC

	SS (ja/nein)	N	Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
1. E2	ja	4	1041,00	182,638	91,319
	nein	24	1105,00	526,476	107,466
1. Prog	ja	4	45,6675	14,13443	7,06722
	nein	24	75,9867	159,33791	32,52472
2. E2	ja	4	1014,25	289,421	144,710
	nein	23	1112,74	534,863	111,527
2. Prog	ja	4	55,31	20,907	10,453
	nein	23	42,49	17,404	3,629
3. E2	ja	3	1165,00	339,994	196,296
	nein	22	1032,09	521,328	111,148
3. Prog	ja	3	49,9600	8,22263	4,74734
	nein	22	45,0986	17,15737	3,65796
4. E2	ja	3	1219,67	356,786	205,991
	nein	22	998,73	403,108	85,943
4. Prog	ja	3	40,81	7,425	4,287
	nein	22	46,57	13,329	2,842
5. E2	ja	3	1248,00	923,621	533,253
	nein	19	960,74	550,832	126,369
5. Prog	ja	2	49,0350	13,08855	9,25500
	nein	19	45,0153	11,01327	2,52662

Tabelle 23: Östrogen- und Progesteronwerte, Test bei unabhängigen Stichproben (Gruppe B)

		Levene-Test der Varianzgleichheit		T-Test für die Mittelwertgleichheit						
		F	Signifikanz	T	df	Sig. (2-seitig)	Mittlere Differenz	Standardfehler der Differenz	95% Konfidenzintervall der Differenz	
									Untere	Obere
1. E2	Varianzen sind gleich	3,742	,064	- ,237	26	,814	-64,00	269,514	-617,994	489,994
	Varianzen sind nicht gleich			- ,454					13,649	,657
1. Prog	Varianzen sind gleich	,491	,490	- ,374	26	,711	-30,3192	80,97716	-196,77010	136,13177
	Varianzen sind nicht gleich			- ,911					24,799	,371
2. E2	Varianzen sind gleich	2,102	,160	- ,355	25	,725	-98,49	277,187	-669,367	472,389
	Varianzen sind nicht gleich			- ,539					7,272	,606
2. Prog	Varianzen sind gleich	,363	,552	1,324	25	,198	12,81	9,676	-7,118	32,738
	Varianzen sind nicht gleich			1,158					3,759	,315
3. E2	Varianzen sind gleich	,388	,540	,425	23	,675	132,91	312,736	-514,034	779,852
	Varianzen sind nicht gleich			,589					3,454	,592
3. Prog	Varianzen sind gleich	,816	,376	,477	23	,638	4,8614	10,19984	-16,23861	25,96133
	Varianzen sind nicht gleich			,811					4,915	,455
4. E2	Varianzen sind gleich	,377	,545	,899	23	,378	220,94	245,748	-287,430	729,309
	Varianzen sind nicht gleich			,990					2,749	,401
4. Prog	Varianzen sind gleich	1,219	,281	- ,724	23	,476	-5,76	7,953	-22,210	10,696
	Varianzen sind nicht gleich			-1,119					4,069	,325
5. E2	Varianzen sind gleich	1,187	,289	,772	20	,449	287,26	371,918	-488,543	1063,070
	Varianzen sind nicht gleich			,524					2,230	,648
5. Prog	Varianzen sind gleich	,003	,954	,486	19	,633	4,0197	8,27555	-13,30119	21,34066
	Varianzen sind nicht gleich			,419					1,154	,740

## 11.2 Patientinnenaufklärung/-Einwilligung Studie

### Patientinnenaufklärung/-Einwilligung zur Entnahme und Untersuchung von Blut im Rahmen einer Studie zur frühen Einnistung des Embryos nach IVF-/ICSI-Therapie

Sehr geehrte Patientin,

bei Ihnen wurde aufgrund eines unerfüllten Kinderwunsches eine so genannte künstliche Befruchtung (IVF- oder ICSI-Therapie) durchgeführt.

Erfreulicherweise können wir bei Ihnen im Rahmen dieser Therapie einen Embryotransfer durchführen, was einen Teilerfolg der Behandlung darstellt. In den folgenden 2 Wochen bis zur möglichen Feststellung einer Schwangerschaft werden wir den weiteren Verlauf Ihrer Behandlung durch Untersuchungen mit Blutentnahmen beobachten. Hierzu werden wir Ihnen insgesamt bis zu 4 Kontrolltermine einschließlich des Termins zur Durchführung des Schwangerschaftstests mitteilen. Diese Untersuchungen sind medizinisch sinnvoll, da sich einige Nebenwirkungen der Hormontherapie (so genanntes Überstimulationssyndrom) typischerweise erst nach dem Embryotransfer auswirken können. Teilen Sie uns daher bitte mit, falls Sie zunehmende Beschwerden (z.B. Kreislaufprobleme, Zunahme des Bauchumfangs, Unterbauchschmerzen, Atemnot) bemerken sollten.

Um die zukünftigen Erfolge der IVF-/ICSI-Therapie im Sinne höherer Schwangerschaftsraten weiter zu verbessern, möchten wir eine wissenschaftliche Studie durchführen. Hier sollen mögliche frühe Signale des Embryos, die Ihre Hormonproduktion beeinflussen könnten, untersucht werden. Wir bitten Sie daher um die zusätzliche Entnahme von ca. 10 ml Blut im Rahmen der oben beschriebenen Blutentnahmetermine in den kommenden 2 Wochen, um zu einem späteren Zeitpunkt spezielle Untersuchungen, wie die Bestimmung von Hormonen oder anderen Substanzen daran vornehmen zu können. Der gesamte Behandlungsablauf wird durch Ihre Teilnahme an dieser Studie nicht beeinflusst, es entstehen keine zusätzlichen Risiken oder Nebenwirkungen.

Bitte entscheiden Sie sich in der nachfolgenden Erklärung, ob Sie einer Entnahme von Blut zu wissenschaftlichen Zwecken und einer späteren anonymisierten Auswertung der Daten im Rahmen Ihrer ambulanten Behandlung zustimmen.

Herr/Frau Dr. .... hat mir den Zweck und die Vorgehensweise einer Blutentnahme für ergänzende wissenschaftliche Untersuchungen im Rahmen des o.g. wissenschaftlichen Projektes ausführlich dargelegt. Insbesondere die zusätzlichen Hinweise (keine kommerzielle Verwendung der Blutproben, keine Genmanipulation) habe ich zur Kenntnis genommen. Ich erkläre mich mit der Teilnahme an dieser Studie einverstanden.

---

Datum

Unterschrift der Patientin

Unterschrift des Arztes

## 11.3 Patientinnenaufklärung/-Einwilligung allgemein

### Patientinnenaufklärung/-Einwilligung

Entnahme und Aufbewahrung von Blut und Gewebe

#### im Rahmen ergänzender wissenschaftlicher Untersuchungen

Sehr geehrte Patientin,

zur weiteren Diagnose und Behandlung Ihrer Krankheit kann bei Ihnen die Entfernung oder Entnahme von Gewebe notwendig werden. Üblicherweise wird dieses Gewebe nach dem Eingriff verworfen. Einen Teil dieses Gewebes möchten Mitarbeiter unserer Klinik zu wissenschaftlichen Zwecken verwenden.

Die Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe (Direktor: Prof. Dr. med. L. Kiesel) möchte Ihnen eine medizinische Versorgung auf hohem Niveau bieten und diese konsequent verbessern. Daher ist die Bearbeitung wissenschaftlicher Fragen zur Entstehung von gynäkologischen Erkrankungen zusätzlich zur Patientenversorgung eine wichtige Aufgabe dieser Klinik.

Hierzu erbitten wir nachfolgend Ihre Unterstützung:

Auch in Kooperation mit anderen Institutionen führt die Universitäts-Frauenklinik Münster wissenschaftliche Projekte zur Frage der Entstehungsweise Ihrer Erkrankung durch. Durch die Identifizierung typischer Veränderungen des Gewebes – sei es an der DNA oder Proteinen - können neue Therapiestrategien entwickelt werden. Im Rahmen dieser wissenschaftlichen Projekte werden mit verschiedenen Methoden nach bislang unbekanntem Veränderungen des erkrankten und umgebenden gesunden Gewebes bei gynäkologischen Erkrankungen gesucht, um diese dann systematisch zu analysieren.

Hierzu werden Gewebeproben von Patientinnen gesammelt, aufgearbeitet, analysiert und unter Einbeziehung krankheitsrelevanter Daten auf spezifisch auftretende Veränderungen hin verglichen.

Zur Behandlung Ihrer Erkrankung sind ärztliche Maßnahmen nötig, in deren Verlauf Blut- und Gewebeproben entnommen werden müssen. Wir bitten Sie um Ihre Zustimmung, eine geringe Menge dieser Proben für die wissenschaftlichen Untersuchungen zur Verfügung zu stellen. Diese Proben werden bis zu Ihrer Analyse in einer Gewebebank tiefgekühlt gelagert und können so für die verschiedenen wissenschaftlichen Methoden genutzt werden.

Durch Ihre Bereitschaft, uns Gewebe zu wissenschaftlichen Zwecken zur Verfügung zu stellen, können Sie einen wichtigen Beitrag dazu leisten, dass neue Therapien zur Behandlung gynäkologischer Erkrankungen entwickelt werden können. Auch wenn in der Regel kein direkter Einfluss auf Ihren individuellen Krankheitsverlauf erwartet werden kann, können die Ergebnisse für andere Patientinnen in Zukunft von großer Bedeutung sein. Möchten Sie für den Fall, dass im Rahmen dieses Projekts doch neue Erkenntnisse mit Relevanz für Ihren Krankheitsverlauf gewonnen werden, informiert werden, so können Sie dies auf dem Einwilligungsbogen vermerken.

#### **Vorgehen bei der Entnahme von Blut- und Gewebematerial**

Die Entnahme von **Blut** erfolgt im Rahmen einer Routineentnahme, wie sie nach dem Eingriff üblich ist, z.B. Blutbilduntersuchung. Hierbei werden Ihnen zusätzlich 1-2 Blut-

röhrchen mit 10-20 ml Blut entnommen, d.h. es ist kein zusätzlicher Einstich mit einer Kanüle in die Haut notwendig.

Sowohl diese Menge, als auch die für die Routineuntersuchung entnommene Blutmenge, sind gesundheitlich unbedenklich. Das Verfahren läuft dabei wie folgt ab: ein erfahrener Arzt desinfiziert die Einstichstelle, in der Regel an der Armbeuge oder im Unterarm, und legt die Entnahmekanüle in die Armvene. Anschließend wird das Blut in speziellen Röhrchen abgenommen. Nach Beendigung der Blutentnahme wird die Kanüle entfernt und ein Pflaster auf die Haut gebracht.

Das **Gewebematerial** wird aus dem Gewebe entnommen, das Ihnen im Rahmen des medizinisch notwendigen Eingriffs entnommen werden muss. Es bedarf weder eines zusätzlichen Eingriffs, noch wird eine größere Gewebemenge entnommen als für den Eingriff üblich ist. Für die wissenschaftlichen Untersuchungen wird nur das Gewebe verwendet, das nicht zu diagnostischen Zwecken benötigt wird.

Die Entnahme des Gewebes für wissenschaftliche Untersuchungen erfolgt außerhalb des Körpers, nachdem das zu operierende Gewebe aus dem Körper entfernt worden ist. Es besteht somit keine Gefahr, dass z.B. bösartige Zellen im Körper gestreut werden.

Das Gewebe wird anschließend im Labor aufgearbeitet und sofort weiterverwendet oder für spätere Untersuchungen dauerhaft tiefgekühlt gelagert.

Sowohl zur Blutentnahme als auch zur Gewebeentnahme wird kein gesonderter oder erweiterter Eingriff vorgenommen, vielmehr wird dies während oder nach der medizinisch erforderlichen Maßnahme (während der Routineblutentnahme, nach dem Eingriff) durchgeführt. Es wird kein Blut oder Gewebe für wissenschaftliche Untersuchungen entnommen, das für die Diagnose Ihrer Erkrankung gebraucht worden wäre.

## **Zusätzliche Hinweise**

### **Datenschutz**

Untersuchungsergebnisse und weitere krankheitsrelevante Daten sowie Behandlungsverläufe werden dokumentiert und diese Daten mit Hilfe der EDV sowie unter Berücksichtigung des §4 Abs.3 des Landesdatenschutzgesetzes gespeichert und ausgewertet. Die Patienten- und Krankheitsdaten werden entsprechend den Bestimmungen des Bundesdatenschutzgesetzes streng vertraulich behandelt. Sollte es im Rahmen dieser Projekte notwendig werden, Teile von Untersuchungen an anderen Einrichtungen durchführen zu lassen oder krankheitsrelevante Daten zu vergleichen, so erfolgt die Weitergabe in anonymisierter Form.

### **Entscheidungsfreiheit**

Die Einwilligung zur Entnahme von zusätzlichem Blut bzw. Gewebe im Rahmen der Behandlung zu den beschriebenen wissenschaftlichen Zwecken erfolgt freiwillig.

Sie können jederzeit (auch nach Ihrer Behandlung) eine gegebene Einwilligung ohne Angabe von Gründen widerrufen, ohne dass dies nachteilige Folgen für Ihre weitere medizinische Behandlung hat.

### **Besonderer Hinweis**

Für das im Rahmen dieses Projekts entnommene Gewebe gilt:

- Es werden **keine** genetischen Manipulationen ( z.B. Klonen) vorgenommen
- Es wird **nicht** zu therapeutischen Zwecken bei anderen Menschen verwendet.
- Sollten sich neue wissenschaftliche Fragestellungen ergeben, die mit den oben genannten Aussagen nicht mehr übereinstimmen, für die das abservierte Gewebe aber von großem Nutzen wäre, werden Sie vorher um eine erneute Einwilligung gebeten.

## 11.4 Bewilligung Ethikkommission



Ethikkommission der Ärztekammer Westfalen-Lippe  
und der Medizinischen Fakultät der WWU Münster

Herrn PD Dr. med. Robert R. Greb  
Frau Dr. med. Barbara Sonntag  
Klinik u. Poliklinik f. Frauenheilkunde u. Geburtshilfe  
UKM  
Albert-Schweizer-Str. 33

48149 Münster

D-48129 Münster, 14.02.2005

Geschäftsstelle scho/wei  
Von-Esmarch-Str. 62  
D-48149 Münster

Vermittlung: ++49 (0) 251 83 - 0

Durchwahl: ++49 (0) 251 83-55290  
Fax: ++49 (0) 251 83-57097  
E-Mail: [ethikkom@uni-muenster.de](mailto:ethikkom@uni-muenster.de)

<http://www.klinikum.uni-muenster.de/ethikkommission>

### Reg.Nr.: 5 II Greb (Beim Schriftwechsel bitte stets angeben.)

Betr.: Beurteilung eines biomedizinischen Forschungsvorhabens an Menschen durch die Ethikkommission der Ärztekammer Westfalen-Lippe und der Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster  
Hier: Ihr Antrag vom 05.01.2005 (Eingang 14.01.2005): „Evaluation der Lutealphase bei Patientinnen nach IVF/CSI-Therapie zur Vorhersagbarkeit einer Schwangerschaft“  
Folgende Unterlagen haben uns vorgelegen: Der Antrag vom 01.12.2004 (Eingang 14.01.2005), das Kurzprotokoll vom 30.08.2004, die Patientinnenaufklärung und -einverständniserklärung vom 04.10.2004, Publikation vom 12.07.2004.

Sehr geehrter Herr Kollege Greb,  
sehr geehrte Frau Kollegin Sonntag,

Sie haben als verantwortliche Projektleiter den oben genannten Antrag bei der Ethikkommission der Ärztekammer Westfalen-Lippe und der Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster vorgelegt. Dafür danken wir Ihnen. Die Kommission hat Ihren Antrag vorgeprüft und auf ihrer Sitzung am 11.02.2005 ausführlich beraten.

**Seitens der Kommission bestehen grundsätzlich weder ethische noch juristische Bedenken gegen die Durchführung Ihrer Studie.**

Anm: Wie empfohlen, in der Aufklärung für die Patientinnen im ersten Satz des dritten Absatzes das optimistische „noch“ zu streichen: „Schwangerschaftsraten weiter zu verbessern“.

Künftige Änderungen in Organisation und Ablauf der Studie sollten der Kommission umgehend mitgeteilt und die entsprechend geänderten Passagen deutlich kenntlich gemacht werden.

Unabhängig vom Beratungsergebnis macht die Kommission darauf aufmerksam, dass die ethische und rechtliche Verantwortung für die Durchführung einer klinischen Prüfung beim Leiter der klinischen Prüfung (LKP) und auch bei allen an der Prüfung teilnehmenden Ärzten liegt. Wir bitten Sie, die Kommission zeitnah über alle schwerwiegenden oder unerwarteten unerwünschten Ereignisse zu unterrichten, die während der Studie auftreten und die Sicherheit der Studienteilnehmer oder die Durchführung der Studie beeinträchtigen könnten, verbunden mit einer Sicherheitseinschätzung des LKP.