

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Einflussfaktoren auf die Anzahl gewonnener Kumulus-Oozyte-Komplexe

In dieser Studie wurden insgesamt 5676 Kumulus-Oozyte-Komplexe („cumulus oocyte complex“, COC) durch transvaginale Follikelaspiration gewonnen. Durchschnittlich waren es 10,0 COC pro Behandlungszyklus. Im Minimum wurden 2 und im Maximum 27 Eizellkumuluskomplexe aspiriert.

#### 4.1.1 Alter

Der Altersdurchschnitt der behandelten Patientinnen ergab einen Mittelwert von 32,5 Jahre. Das Minimum lag bei 20, das Maximum bei 45 Jahren. Die Patientinnen wurden in 5 Altersgruppen eingeteilt. Tabelle 4 zeigt die Anzahl der Behandlungen in den einzelnen Altersklassen sowie die durchschnittliche Anzahl punktierter Kumulus-Oozyte-Komplexe in Abhängigkeit vom Alter der Patientinnen.

**Tabelle 4: Einfluss des Alters auf die Anzahl gewonnener COC**

| Alter der Patientinnen | Anzahl der Zyklen | Durchschnittliche Anzahl gewonnener Kumulus-Oozyte-Komplexe<br>Mittelwert $\pm$ Standardabweichung |
|------------------------|-------------------|--|
| < 25 Jahre             | 18                | 11,9 $\pm$ 4,5   |
| 25-29 Jahre            | 114               | 11,6 $\pm$ 4,7   |
| 30-34 Jahre            | 251               | 10,2 $\pm$ 4,3   |
| 35-39 Jahre            | 159               | 8,9 $\pm$ 4,0  |
| > 39 Jahre             | 22                | 7,6 $\pm$ 3,7  |
| Gesamt                 | 564               | 10,0 $\pm$ 4,4   |

a, b, c, d (p<0,001)\*    b, d (p<0,001)\*    a, c (p<0,001)\*    a, d (p<0,001)\*

Innerhalb der Altersgruppen ergaben sich mit dem Chi-Quadrat-Anpassungstest hoch signifikante (p<0,05) Differenzen in der Zahl punktierter Eizellkumuluskomplexe. Die Altersgruppe der unter 25-Jährigen und die der 25 bis 29- Jährigen wurden für weitere Auswertungen zu einer Untersuchungsgruppe zusammengefasst (Mittelwert 11,8 Oozyten). Patientinnen unter 30 Jahren entwickelten unter einer ovariellen Stimulation deutlich mehr Oozyten enthaltende Follikel gegenüber den Vergleichsgruppen. Die Anzahl der durchschnittlich gewonnenen COC war in dieser Gruppe mit 11,8 signifikant höher im Vergleich zu Patientinnen, deren Alter zwischen 30 und 34 Jahren (10,2 COC), 35-39 Jahren (8,9 COC) und > 39 Jahren (7,6 COC) betrug. Aus der Tabelle 4 wird deutlich, dass ab dem 30. Lebensjahr die Zahl der punktierten Kumulus-Oozyte-Komplexe kontinuierlich sinkt.

#### 4.1.2 Body-Mass-Index

Der Body-Mass-Index (BMI) variierte in dieser Studie zwischen 15,5 und 29,9 kg/m<sup>2</sup>. Die Patientinnen wurden anhand ihres BMI in drei Gruppen unterteilt. Der Einfluss auf die Anzahl punktierter Kumulus-Oozyte-Komplexe wird in Tabelle 5 beschrieben.

**Tabelle 5: Einfluss des BMI auf die durchschnittliche Anzahl gewonnener COC**

| BMI in kg/m <sup>2</sup> | Anzahl der Zyklen | Durchschnittliche Anzahl gewonnener Kumulus-Oozyte-Komplexe<br>Mittelwert ± Standardabweichung | p-Wert                  |
|--------------------------|-------------------|--|-------------------------|
| <18,5                    | 27                | 10,8 ± 4,5 <sup>a</sup>  | <sup>a,b</sup> p= 0,123 |
| 18,5-24,9                | 412               | 9,9 ± 4,4 <sup>b</sup>   | <sup>b,c</sup> p= 0,602 |
| 25,0 -29.9               | 125               | 10,2 ± 4,5 <sup>c</sup>  | <sup>a,c</sup> p= 0,550 |

Aus Tabelle 5 wird ersichtlich, dass die Mehrzahl der Behandlungszyklen bei einem BMI zwischen 18,5 und 24,9 kg/m<sup>2</sup> (entspricht dem Normalgewicht) durchgeführt wurden. Der BMI zeigt innerhalb der untersuchten Gruppen keine signifikanten Unterschiede.

#### 4.1.3 Vorbehandlung

Alle Behandlungszyklen wurden bezüglich der Anzahl vorausgegangener Behandlungszyklen (Vorversuche) in 4 Gruppen unterteilt. So wurden Patientinnen ohne eine vorangegangene IVF und/oder ICSI-Behandlung und Patientinnen mit 1, 2 und maximal 3 Vorversuchen unterschieden. Bei 528 Patientenpaaren lag der durchschnittliche Behandlungszyklus bei 1,07 pro Patientin. Tabelle 6 zeigt den Einfluss auf die Zahl gewonnener Kumulus-Oozyte-Komplexe. Bei 23 Zyklen wurden keine Angaben zur Vorbehandlung angegeben.

**Tabelle 6: Einfluss vorangegangener Behandlungen auf die Zahl gewonnener Kumulus-Oozyte-Komplexe**

| Anzahl Vorbehandlungen | Anzahl der Zyklen | Durchschnittliche Anzahl gewonnener Kumulus-Oozyte-Komplexe<br>Mittelwert ± Standardabweichung | p-Wert  |
|------------------------|-------------------|--|---|
| 0                      | 267               | 9,9 ± 4,4 <sup>a</sup>   | <sup>a,b</sup> p=0,412 <sup>a,c</sup> p=0,318 |
| 1                      | 160               | 10,3 ± 4,5 <sup>b</sup>  | <sup>a,d</sup> p=0,367 <sup>b,c</sup> p=0,123 |
| 2                      | 86                | 9,4 ± 4,1 <sup>c</sup>   | <sup>b,d</sup> p=0,642                        |
| 3                      | 28                | 10,8 ± 4,7 <sup>d</sup>  | <sup>c,d</sup> p=0,153                        |

Die Mehrzahl der Behandlungszyklen in dieser Studie wiesen keine Vorversuche auf (n=267). Die kleinste Untersuchungsgruppe (n=28) entspricht den Behandlungszyklen mit drei Vorversuchen. Wie aus der Tabelle 6 hervorgeht, zeigt die Vorbehandlung

keinen statistisch signifikanten Einfluss auf die durchschnittliche Anzahl gewonnener Eizell-Kumulus-Komplexe innerhalb der untersuchten Gruppen.

#### 4.1.4 Ovarielle Stimulation

##### 4.1.4.1 GnRH-Protokoll

Die GnRH-Therapie mit Agonisten wurde in 72,7 % der Behandlungszyklen (n=410) durchgeführt. GnRH-Antagonisten kamen in 27,2% der Behandlungszyklen (n=154) zur Anwendung. Tabelle 7 zeigt eine Übersicht der angewandten GnRH-Protokollformen und gibt die Mittelwerte und die Standardabweichungen der gewonnenen COC pro Therapiezyklus wieder.

**Tabelle 7: Anzahl gewonnener COC in Abhängigkeit vom GnRH-Protokoll**

| GnRH-Protokollform         | Anzahl der Zyklen | Durchschnittliche Anzahl gewonnener Kumulus-Oozyte-Komplexe<br>Mittelwert ± Standardabweichung | p-Wert                  |
|----------------------------|-------------------|--|-------------------------|
| Agonist (Langes Protokoll) | 400               | 10,4 ± 4,4 * <sup>a</sup>  | <sup>a,b</sup> p=0,035* |
| Antagonist                 | 154               | 9,5 ± 4,4 <sup>b</sup>   |                         |
| Kurzes Protokoll           | 6                 | 6,8 ± 1,5  |                         |
| Ultralanges Protokoll      | 4                 | 7,3 ± 2,2  |                         |

Aus der Tabelle geht hervor, dass die lange Protokollart mit einem GnRH-Agonisten deutlich bevorzugt angewandt wurde. Die Zahl durchschnittlich punktierter Kumulus-Oozyte-Komplexe ist signifikant höher im Vergleich zum GnRH-Antagonisten (10,4 COC vs. 9,5 COC). Noch deutlich niedriger sind die Werte bei dem kurzen (6,8 COC) und ultralangen Protokoll (7,3 COC). Jedoch konnten wegen der kleinen Behandlungszahlen keine statistischen Differenzen geprüft werden. Der Altersdurchschnitt der Patientinnen nach Agonistengabe (langes Protokoll) lag bei 32,12 Jahre versus 33,35 Jahre nach Antagonistengabe. Weiterhin war der BMI in beiden Gruppen nahezu gleich (Agonisten: 22,7 kg/m<sup>2</sup> vs. 22,86 kg/m<sup>2</sup> Antagonisten).

##### 4.1.4.2 GnRH-Agonistenpräparate

GnRH-Agonisten stehen in verschiedenen Applikationsformen zur Verfügung. Neben der subkutanen täglichen Gabe besteht die Möglichkeit der intranasalen Applikation und einer einmaligen Depotspritze. Die GnRH-Substanzen, welche als Agonisten in dieser Studie verwandt wurden, zeigt Tabelle 8. Goserelinacetat soll an dieser Stelle als GnRH-Agonistensubstanz nur Erwähnung finden. Da es lediglich in 3

Behandlungszyklen zur „Downregulation“ appliziert wurde, erfolgte keine statistische Auswertung.

**Tabelle 8: Einfluss verschiedener Agonistenpräparate auf die Anzahl gewonnener COC pro Behandlungszyklus**

| GnRH-Agonistenpräparate | Anzahl der Zyklen | Durchschnittliche Anzahl gewonnener Kumulus-Oozyte-Komplexe<br>Mittelwert ± Standardabweichung | p-Wert  |
|-------------------------|-------------------|--|---|
| Triptorelinacetat       | 101               | 10,2 ± 4,3 <sup>a</sup>  | <sup>a,b</sup> p=0,431 <sup>a,c</sup> p=0,626 |
| Leuprorelinacetat       | 101               | 10,7 ± 4,4 <sup>b</sup>  | <sup>a,d</sup> p=0,968 <sup>b,c</sup> p=0,209 |
| Leuprorelinacetat Depot | 94                | 9,9 ± 4,3 <sup>c</sup>   | <sup>b,d</sup> p=0,452                        |
| Nafarelinacetat         | 111               | 10,3 ± 4,5 <sup>d</sup>  | <sup>c,d</sup> p=0,597                        |

Wie aus Tabelle 8 ersichtlich, ist die Anzahl der Zyklen bei den verschiedenen verabreichten Agonistenpräparaten vergleichbar. Die Mittelwerte der Kumulus-Oozyte-Komplexe variieren in den einzelnen Gruppe zwischen 9,9 COC und 10,7 COC, zeigen jedoch keine signifikanten Unterschiede.

#### 4.1.4.3 Gonadotropinmedikation

In dieser Studie wurden 4 verschiedene Gonadotropinpräparate zur ovariellen Stimulation und Follikelbildung eingesetzt. Weiterhin kamen Kombinationen verschiedener Gonadotropine zur Anwendung. In Tabelle 9 ist der Einfluss dieser Hormone/Hormonkombinationen auf die Anzahl gewonnener Kumulus-Oozyte-Komplexe dargestellt. Jeweils ein Behandlungszyklus mit der Kombination von Follitropin beta plus Menotropin sowie Follitropin beta plus Lutropin alpha wurden nicht in die Auswertung einbezogen.

**Tabelle 9: Einfluss der Applikation verschiedener Gonadotropine auf die Anzahl der Kumulus-Oozyte-Komplexe pro Therapiezyklus**

| Gonadotropine                      | Anzahl der Zyklen | Durchschnittliche Anzahl gewonnener Kumulus-Oozyte-Komplexe<br>Mittelwert ± Standardabweichung | p-Wert                            |
|------------------------------------|-------------------|--|-----------------------------------|
| Menotropin                         | 48                | 9,3 ± 4,6 <sup>a</sup>   | <sup>a,b</sup> <b>p=0,005*</b>    |
| Follitropin beta                   | 53                | 11,7 ± 4,1 <sup>b</sup>  | <sup>a,d</sup> <b>p=0,020*</b>    |
| Follitropin alpha                  | 276               | 10,0 ± 4,3 <sup>c</sup>  | <sup>b,c</sup> <b>p=0,009*</b>    |
| Urofollitropin                     | 64                | 11,3 ± 4,5 <sup>d</sup>  | <sup>b,e</sup> <b>p&lt;0,001*</b> |
| Follitropin alpha + Menotropin     | 95                | 9,0 ± 4,0 <sup>e</sup>   | <sup>b,g</sup> <b>p=0,045*</b>    |
| Urofollitropin + Menotropin        | 12                | 9,8 ± 5,5 <sup>f</sup>   | <sup>c,d</sup> <b>p= 0,036*</b>   |
| Follitropin alpha + Lutropin alpha | 14                | 9,1 ± 4,8 <sup>g</sup>   | <sup>c,e</sup> <b>p= 0,034*</b>   |
| <b>Gesamt</b>                      | <b>562</b>        |  | <sup>d,e</sup> <b>p&lt;0,001*</b> |

Die Häufigkeit der angewandten Gonadotropinpräparate pro Behandlungszyklus geht aus Tabelle 9 hervor. Die Applikation von Menotropin führt zu einer signifikant niedrigeren Anzahl von COC pro Behandlungsfall gegenüber Follitropin beta ( $p=0,005$ ) und Urofollitropin ( $p=0,020$ ). Eine hormonelle Stimulation mit Follitropin beta zeigt die durchschnittlich höchste COC-Zahl von 11,7 pro Zyklus im Vergleich zu allen anderen Gonadotropinmedikationen. Diese Erhöhung ist gegenüber einer Behandlung mit Follitropin alpha mit 10,0 COC ( $p=0,009$ ), der Kombination von Follitropin alpha plus Menotropin mit 9,0 COC ( $p<0,001$ ) und der Kombination von Follitropin alpha mit Lutropin alpha mit 9,1 COC ( $p=0,045$ ) signifikant. Weitere deutliche Unterschiede in der durchschnittlichen Zahl an COC ergaben sich zwischen Follitropin alpha und der Kombination mit Menotropin (10,0 COC vs. 9,0 COC;  $p=0,034$ ), zwischen Urofollitropin und Follitropin alpha (11,3 COC vs. 10,0 COC;  $p=0,036$ ) und der Therapie mit Follitropin alpha und Menotropin (11,3 COC vs. 9,0 COC;  $p<0,001$ ).

#### **4.1.4.4 Stimulationsschema**

Um einzelne Therapieschemata untersuchen zu können, wurden die Behandlungszyklen nach der Kombination eines GnRH-Analagon mit einem Gonadotropin unterteilt. Die Tabelle 10 zeigt eine Übersicht der innerhalb dieser Studie am häufigsten durchgeführten Therapieschemata. Um die Gruppen statistisch miteinander vergleichen zu können, wurden nur Schemata mit mindestens acht Behandlungszyklen in die Auswertung aufgenommen. Sechzehn verschiedene Therapiemöglichkeiten wurden mit dem t-Test auf die durchschnittliche Anzahl punktierter Kumulus-Oozyte-Komplexe untersucht. Aufgrund der geringen Behandlungszahl in den Kombinationstherapien von Urofollitropin mit Menotropin ( $n=12$ ) und Follitropin alpha mit Lutropin alpha ( $n=14$ ) war ein Splitten in Abhängigkeit von einem GnRH-Analagon nicht sinnvoll und statistisch nicht beurteilbar. Die drei Behandlungszyklen mit Goserelinacetat als GnRH-Agonist wurden von der Auswertung ebenfalls ausgeschlossen.

Tabelle 10: Zyklushäufigkeiten der angewandten Therapieschemata

| GnRH-Analogon             | Gonadotropinpräparate |                  |                   |                |                              | Gesamtzyklenzahl |
|---------------------------|-----------------------|------------------|-------------------|----------------|------------------------------|------------------|
|                           | Menotropin            | Follitropin beta | Follitropin alpha | Urofollitropin | Follitropin alpha+Menotropin |                  |
| Triptorelinacetat         | 8                     | 12               | 42                | 33             | 2                            | 97               |
| Leuprorelinacetat         | 20                    | 9                | 46                | 16             | 6                            | 97               |
| Leuprorelinacetat (Depot) | 3                     | 2                | 25                | 3              | 57                           | 90               |
| Nafarelinacetat           | 6                     | 28               | 53                | 10             | 2                            | 99               |
| Cetrorelixacetat          | 10                    | 2                | 109               | 1              | 28                           | 150              |
| <b>Gesamtzyklenzahl</b>   | <b>47</b>             | <b>53</b>        | <b>275</b>        | <b>63</b>      | <b>95</b>                    | <b>533</b>       |

Die schattierten Zahlenfelder in Tabelle 10 geben an, welche Gruppierungen in die statistische Analyse ( $\geq 8$  Behandlungszyklen) einbezogen wurden. Tabelle 11 zeigt die durchschnittliche Anzahl gewonnener Kumulus-Oozyte-Komplexe in Abhängigkeit vom durchgeführten Stimulationsprotokoll.

Tabelle 11: Durchschnittlich punktierte COC in Abhängigkeit vom Stimulationsregime

| GnRH-Analogon             | Durchschnittliche Anzahl gewonnener Kumulus-Oozyte-Komplexe |                   |                   |                |                              | p-Wert       |
|---------------------------|---|-------------------|-------------------|----------------|------------------------------|--------------|
|                           | Menotropin  | Follitropin beta  | Follitropin alpha | Urofollitropin | Follitropin alpha+Menotropin |              |
| Triptorelinacetat         | 10,5  | 11,7              | 9,6               | 11,2           |                              | a,b p=0,004* |
| Leuprorelinacetat         | 10,4  | 14,0 <sup>a</sup> | 9,8 <sup>b</sup>  | 11,2           |                              |              |
| Leuprorelinacetat (Depot) |   |                   | 10,2              |                | 9,5                          |              |
| Nafarelinacetat           |   | 11,5              | 10,5              | 10,7           |                              | c,d p=0,014* |
| Cetrorelixacetat          | 7,5   |                   | 10,2 <sup>c</sup> |                | 7,9 <sup>d</sup>             |              |

Wie aus Tabelle 11 hervorgeht, zeigen die 5 meist angewandten Gonadotropine im Agonisten - und im Antagonistenprotokoll keine signifikanten Unterschiede in der Anzahl durchschnittlich gewonnener Eizellkumuluskomplexe pro Zyklus. Auffällig niedrig ist die Anzahl an COC nach Antagonistengabe mit Menotropin (7,5 COC) und der Gabe von Follitropin alpha mit Menotropin (7,9 COC) im Vergleich zur alleinigen Gabe von Follitropin alpha (10,2 COC). Dieser Unterschied ist signifikant ( $p=0,014$ ). Darüber hinaus wurden signifikant mehr COC bei der Gabe von Follitropin beta (14,0 COC) im

Vergleich zu Follitropin alpha (9,8 COC) in Kombination mit Leuprorelinacetat gefunden ( $p=0,004$ ).

## 4.2 Einflussfaktoren auf den Reifestatus gewonnener Oozyten

Von den 5676 punktierten COC befanden sich 84,2% ( $n=4778$ ) im Metaphase II-Stadium (M II). 6,1 % ( $n=344$ ) waren im Metaphase I (M I) 6,8 % ( $n=386$ ) im GV-Stadium. Degenerierte Eizellformen hatten einen Anteil von 3 % an der Gesamtzahl der Eizellen. Die Anzahl an M II- Eizellen variierte zwischen 2 (Minimum) und 22 (Maximum), der Durchschnitt betrug 8,5 Eizellen pro Patientin.

### 4.2.1 Alter

Tabelle 12 zeigt den Einfluss des Alters der Patientinnen auf den Reifestatus der gewonnenen Oozyten.

**Tabelle 12: Einfluss des Alters auf den Entwicklungsstatus gewonnener Oozyten**

| Alter der Patientinnen | Anzahl der gewonnenen Oozyten | Anteil an M II-Oozyten in % | Anteil an M I-Oozyten in %    | Anteil an GV-Stadien in % | Anteil degenerierter Formen in % |
|------------------------|-------------------------------|-----------------------------|-------------------------------|---------------------------|----------------------------------|
| < 25 Jahre             | 215                           | 83,2 %                      | 9,8%                          | 6,5%                      | 3,71%                            |
| 25-29 Jahre            | 1318                          | 83,3%                       | 5,2%                          | 7,3%                      |                                  |
| 30-34 Jahre            | 2551                          | 84,9%                       | 5,6%                          | 6,7%                      | 2,8%                             |
| 35-39 Jahre            | 1426                          | 83,9%                       | 6,8%                          | 6,7%                      | 2,6%                             |
| > 39 Jahre             | 166                           | 82,5%                       | 9,0%                          | 6,0%                      |                                  |
| <b>p-Wert</b>          |                               | $p=0,660$                   | <b><math>p=0,020^*</math></b> | $p=0,945$                 | $p=0,161$                        |

Wie aus Tabelle 12 ersichtlich, differiert der prozentuale Anteil an Metaphase II-Oozyten in allen Altersgruppen nur zwischen 82,5% - 84,9% und gibt einen p-Wert von 0,660 an. Der Anteil an Metaphase I -Oozyten variiert jedoch signifikant zwischen 5,2% und 9,8 % ( $p=0,020$ ). Der deutlich höhere Anteil an M I -Oozyten bei Patientinnen unter 25 Jahren und Patienten > 39 Jahre liegt in der niedrigeren Zahl von Behandlungszyklen begründet. Aufgrund der geringen Anzahl an degenerierten Eizellformen bei Patientinnen < 25 Jahren und > 39 Jahren erfolgte für die statistische Auswertung eine Zusammenlegung mit der nächst folgenden Alterseinteilung ( $p=0,161$ ).

#### 4.2.2 Body-Mass-Index

Diese Untersuchung soll zeigen, ob der BMI unserer Patientinnen einen Einfluss auf den Entwicklungsprozess der Oozyten ausübt (Tabelle 13).

**Tabelle 13: Einfluss des BMI auf den Entwicklungsstatus gewonnener Oozyten**

| BMI in kg/m <sup>2</sup> | Anzahl gewonnener Oozyten | Anteil an M II-Oozyten in % | Anteil an M I-Oozyten in % | Anteil an GV-Stadien in % | Anteil degenerierter Formen in % |
|--------------------------|---------------------------|-----------------------------|----------------------------|---------------------------|----------------------------------|
| <18,5                    | 291                       | 88,0%                       | 4,8%                       | 4,5%                      | 2,7%                             |
| 18,5-24,9                | 4109                      | 84,3%                       | 6,1%                       | 7,0%                      | 2,7%                             |
| 25,0 -29.9               | 1276                      | 82,9%                       | 6,3%                       | 7,0%                      | 3,8%                             |
| <b>p-Wert</b>            |                           | p=0,095                     | p= 0,638                   | p= 0,268                  | p= 0,110                         |

Wie aus Tabelle 13 hervorgeht, ist der Anteil an befruchtungsfähigen Metaphase II-Oozyten mit 88,0% bei Patientinnen mit einem BMI <18,5 kg/m<sup>2</sup> höher im Vergleich zu Patientinnen mit Normal- und Übergewicht (84,3% bzw. 82,9%). Dieser Unterschied zeigt eine deutliche Tendenz mit p=0,095. Der Anteil unreifer und degenerierter Eizellformen bleibt vom BMI unbeeinflusst.

#### 4.2.3 Vorbehandlung

Der Einfluss der Anzahl an Vorversuchen unserer Patientinnen auf den Entwicklungsprozess der Oozyten ist in Tabelle 14 dargestellt. Bei 23 Behandlungszyklen (n=256 Oozyten) wurden keine Angaben dokumentiert.

**Tabelle 14: Einfluss der Anzahl an Vorversuchen auf den Entwicklungsstatus gewonnener Oozyten**

| Anzahl der Vorversuche | Anzahl der gewonnenen Oozyten | Anteil an M II-Oozyten in % | Anteil an M I-Oozyten in % | Anteil an GV-Stadien in % | Anteil an degenerierten Formen in % |
|------------------------|-------------------------------|-----------------------------|----------------------------|---------------------------|-------------------------------------|
| 0                      | 2658                          | 83,8                        | 6,5                        | 7,1                       | 2,8                                 |
| 1                      | 1651                          | 85,9                        | 5,5                        | 6,2                       | 2,4                                 |
| 2                      | 810                           | 82,0                        | 6,3                        | 7,3                       | 4,4                                 |
| 3                      | 301                           | 85,4                        | 4,7                        | 4,7                       | 5,3                                 |
| <b>p-Wert</b>          |                               | p=0,061                     | p=0,393                    | p=0,308                   | <b>p=0,004*</b>                     |

Tabelle 14 zeigt in der Gruppe der M II-Oozyten eine tendenzielle Abnahme des prozentualen Anteils bei Patientinnen mit zwei vorangegangenen Behandlungszyklen auf 82,0% gegenüber 83,8% bei keinem, 85,9 % bei einem oder 85,4% bei drei Vorversuchen (p=0,061). Während die Anzahl an Vorversuchen den Anteil von M I -

Oozyten oder Germinalvesikelstadien unbeeinflusst lässt, zeigt sich eine signifikante Zunahme an degenerierten Eizellen ( $p=0,004$ ).

#### 4.2.4 Ovarielle Stimulation

##### 4.2.4.1 GnRH-Protokoll

Tabelle 15 zeigt den Einfluss der GnRH-Protokollformen auf den Reifegrad gewonnener Oozyten nach Follikelpunktion. Das kurze und das ultralange Protokoll konnten aufgrund der geringen Zyklenzahl nicht ausgewertet werden.

**Tabelle 15: Reifestatus in Abhängigkeit von der GnRH-Protokollform**

| GnRH-Protokollform         | Anzahl der gewonnenen Oozyten | Anteil an M II-Oozyten in %        | Anteil an M I-Oozyten in %         | Anteil an GV-Stadien in % | Anteil an degenerierten Formen in % |
|----------------------------|-------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|---------------------------|-------------------------------------|
| Agonist (Langes Protokoll) | 4146                          | 85,3                               | 5,11                               | 6,7                       | 2,9                                 |
| Antagonist                 | 1460                          | 80,8                               | 9,0                                | 7,2                       | 3,0                                 |
| <b>p-Wert</b>              |                               | <b><math>p &lt; 0,001^*</math></b> | <b><math>p &lt; 0,001^*</math></b> | $p=0,506$                 | $p=0,853$                           |
| Kurzes Protokoll           | 41                            | 82,9                               | 2,4                                | 7,3                       | 7,3                                 |
| Ultralanges Protokoll      | 29                            | 96,5                               | -                                  |                           | -                                   |

Wie in Tabelle 15 ersichtlich, ist der prozentuale Anteil an reifen Metaphase II-Oozyten in der Gruppe mit dem langen GnRH-Protokoll signifikant höher im Vergleich zur Antagonistenapplikation (85,3% vs. 80,8%;  $p < 0,001$ ). Die Patientengruppe, die mit dem Antagonisten behandelt wurde, zeigt einen deutlich größeren prozentualen Anteil an M I-Oozyten gegenüber dem langen Agonistenprotokoll (9,0 % vs. 5,11%;  $p < 0,001$ ). Die weiteren unreifen Eizellformen bleiben vom GnRH-Protokoll unbeeinflusst. Der Altersdurchschnitt der Patientinnen nach Agonistengabe (langes Protokoll) und nach Antagonistengabe zeigte keinen merklichen Unterschied (32,12 Jahre vs. 33,35 Jahre). Weiterhin war der BMI in beiden Gruppen nahezu gleich (Agonisten: 22,7 kg/m<sup>2</sup> vs. 22,86 kg/m<sup>2</sup> Antagonisten).

##### 4.2.4.2 GnRH-Agonistenpräparate

Inwieweit einzelne Agonistenpräparate den Reifestatus der Oozyten beeinflussen können, wird in Tabelle 16 gezeigt. Das Agonistendepotpräparat Goserelinacetat wurde nur in 3 Behandlungszyklen zur „Downregulation“ appliziert und deshalb nicht in die Auswertung einbezogen.

**Tabelle 16: Reifestatus in Abhängigkeit der GnRH-Agonistenpräparate**

| GnRH-Agonistenpräparate | Anzahl gewonnener Oozyten | Anteil an M II-Oozyten in % | Anteil an M I-Oozyten in % | Anteil GV-Stadien in % | Anteil an degenerierten Formen in % |
|-------------------------|---------------------------|-----------------------------|----------------------------|------------------------|-------------------------------------|
| Triptorelinacetat       | 1033                      | 85,6                        | 4,8                        | 5,8                    | 4,0                                 |
| Leuprorelinacetat       | 1082                      | 85,3                        | 5,2                        | 7,5                    | 2,0                                 |
| Leuprorelinacetat Depot | 933                       | 85,3                        | 7,1                        | 5,3                    | 2,2                                 |
| Nafarelinacetat         | 1138                      | 85,1                        | 3,5                        | 7,7                    | 3,7                                 |
| <b>p-Wert</b>           |                           | p= 0,990                    | <b>p= 0,004*</b>           | p= 0,072               | <b>p= 0,026*</b>                    |

Wie aus Tabelle 16 ersichtlich, konnten keine Differenzen im Anteil an befruchtungsfähigen Metaphase II-Oozyten hinsichtlich der angewandten GnRH-Agonistenpräparate beobachtet werden. Es ergaben sich signifikante Unterschiede in der prozentualen Verteilung unreifer Eizellen. So differiert der Anteil an Metaphase I - Oozyten von Nafarelinacetat und Leuprorelinacetat - Depot (3,5% vs. 7,1%) bei einem p-Wert von 0,004. Der deutlich höhere Anteil an degenerierten Eizellformen bei Triptorelinacetatgabe gegenüber Leuprorelinacetat (4,0% vs. 2,0%; p=0,026) ist für die Signifikanz in dieser Gruppe verantwortlich.

#### **4.2.4.3 Gonadotropinmedikation**

Es wurden 4 verschiedene Gonadotropinpräparate und Kombinationen dieser zur ovariellen Stimulation angewandt. Tabelle 17 verdeutlicht den Einfluss dieser Medikamente auf den Reifestatus der Oozyten. Die Kombinationen von Follitropin beta mit Menotropin (n=1) oder Lutropin alpha (n=1) wurden nicht in die Auswertung einbezogen.

**Tabelle 17: Einfluss der Gonadotropingabe auf den Reifestatus der Oozyten**

| Gonadotropinmedikation                    | Anzahl der Oozyten | Anteil M II - Oozyten in % | Anteil M I - Oozyten in % | Anteil GV-Stadien in % | degenerierte Oozyten in % |
|---|--------------------|----------------------------|---------------------------|------------------------|---------------------------|
| <b>Menotropin</b>                         | 445                | <b>84,7</b>                | <b>6,7</b>                | <b>6,5</b>             | <b>2,1</b>                |
| <b>Follitropin beta</b>                   | 622                | <b>82,5</b>                | <b>5,3</b>                | <b>9,0</b>             | <b>3,2</b>                |
| <b>Follitropin alpha</b>                  | 2775               | <b>83,7</b>                | <b>6,5</b>                | <b>6,3</b>             | <b>3,6</b>                |
| <b>Urofollitropin</b>                     | 725                | <b>85,9</b>                | <b>2,8</b>                | <b>8,8</b>             | <b>2,5</b>                |
| <b>Follitropin alpha + Menotropin</b>     | 853                | <b>85,3</b>                | <b>7,7</b>                | <b>5,0</b>             | <b>1,9</b>                |
| <b>Urofollitropin + Menotropin</b>        | 118                | <b>83,0</b>                | <b>7,6</b>                | <b>8,5</b>             | <b>0,8</b>                |
| <b>Follitropin alpha + Lutropin alpha</b> | 128                | <b>84,4</b>                | <b>4,7</b>                | <b>7,8</b>             | <b>2,3</b>                |
| <b>p-Wert</b>                             |                    | p= 0,592                   | <b>p= 0,002*</b>          | <b>p= 0,017*</b>       | p= 0,079                  |

Wie aus Tabelle 17 ersichtlich, variiert der prozentuale Anteil an M II-Oozyten in Abhängigkeit von der Gonadotropinmedikation zwischen 82,5% bei Follitropin beta und 85,9% bei Urofollitropin ( $p=0,592$ ). Dagegen ist der Anteil an Metaphase I-Oozyten bei Urofollitropin signifikant vermindert im Vergleich zu Follitropin alpha plus Menotropin (2,8% vs. 7,7%;  $p=0,002$ ). Die Mehrzahl unreifer GV-Stadien waren nach Applikation von Follitropin beta (9,0%) und Urofollitropin (8,8%) zu beobachten, diese Zunahme ist im Vergleich zu einer alleinigen Therapie mit Follitropin alpha (6,3%) oder in Kombination mit Menotropin (5,0%) signifikant ( $p=0,017$ ). Der Anteil degenerierter Eizellformen bewegt sich zwischen 0,8% und 3,6% und zeigt tendenziell eine Zunahme bei Follitropin alpha und -beta ( $p=0,079$ ).

#### 4.2.4.4 Stimulationsschema

Das Ergebnis des Einflusses der Stimulation auf das Entwicklungsgeschehen punktierter Oozyten zeigt Tabelle 18.

**Tabelle 18: Anteil der Reifestadien gewonnener Oozyten in Abhängigkeit von der Wahl des Stimulationsschemas ( $\geq 8$  Behandlungszyklen)**

| Stimulationsschema<br>(Gonadotropin+<br>GnRH-Analogon) | Anzahl<br>gewonnener<br>Oozyten | Anteil an M II-<br>Oozyten<br>in % | Anteil an M I-<br>Oozyten<br>in % | Anteil an GV-<br>Stadien<br>in % | Anteil<br>degenerierter<br>Formen in % |
|--|---------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|--|
| <b>Menotropin</b>                                      |                                 |                                    |                                   |                                  |  |
| +1   | 84                              | 82,7                               | 8,3                               | 3,6                              | 7,1                                    |
| +2   | 207                             | 87,0                               | 5,8                               | 6,8                              | 0,5                                    |
| +5   | 75                              | 85,3                               | 6,7                               | 6,7                              | 1,3                                    |
| <b>p-Wert</b>  |                                 | $p=0,571$                          | $p= 0,730$                        | $p= 0,563$                       | <b><math>p= 0,008^*</math></b>         |
| <b>Follitropin beta</b>                                |                                 |                                    |                                   |                                  |  |
| +1   | 140                             | 85,7                               | 4,3                               | 8,6                              | 1,4                                    |
| +2   | 125                             | 81,6                               | 10,4                              | 7,2                              | 0,8                                    |
| +4   | 323                             | 82,0                               | 4,0                               | 8,7                              | 5,3                                    |
| <b>p-Wert</b>  |                                 | $p= 0,580$                         | <b><math>p= 0,023^*</math></b>    | $p= 0,875$                       | <b><math>p= 0,023^*</math></b>         |
| <b>Follitropin alpha</b>                               |                                 |                                    |                                   |                                  |  |
| +1   | 403                             | 84,9                               | 5,7                               | 4,5                              | 5,0                                    |
| +2   | 452                             | 86,5                               | 3,8                               | 6,2                              | 3,5                                    |
| +3   | 255                             | 87,0                               | 6,7                               | 3,5                              | 2,7                                    |
| +4   | 554                             | 87,3                               | 2,7                               | 6,7                              | 3,2                                    |
| +5   | 1108                            | 79,4                               | 9,7                               | 7,4                              | 3,5                                    |
| <b>p-Wert</b>  |                                 | <b><math>p&lt;0,001^*</math></b>   | <b><math>p&lt;0,001^*</math></b>  | $p= 0,091$                       | $p= 0,574$                             |
| <b>Urofollitropin</b>                                  |                                 |                                    |                                   |                                  |  |
| +1   | 369                             | 86,7                               | 2,7                               | 7,3                              | 3,5                                    |
| +2   | 179                             | 83,2                               | 2,8                               | 12,3                             | 1,1                                    |
| +4   | 107                             | 83,6                               | 3,9                               | 10,9                             | 1,6                                    |
| <b>p-Wert</b>  |                                 | $p= 0,457$                         | $p= 0,998$                        | $p= 0,104$                       | $p= 0,485$                             |
| <b>Follitropin alpha +<br/>Menotropin</b>              |                                 |                                    |                                   |                                  |  |
| +3   | 540                             | 83,9                               | 7,6                               | 6,1                              | 2,4                                    |
| +5   | 220                             | 88,2                               | 7,7                               | 2,7                              | 1,4                                    |
| <b>p-Wert</b>  |                                 | $p= 0,080$                         | $p= 0,528$                        | <b><math>p= 0,036^*</math></b>   | $p= 0,237$                             |

GnRH-Analoga: 1= Triptorelinacetat ; 2= Leuprorelinacetat ; 3= Leuprorelinacetat – Depot;  
4= Nafarelinacetat; 5= Cetrorelixacetat

Die Tabelle 18 zeigt, dass der Anteil an Metaphase II-Oozyten nur bei Follitropin alpha-Applikation im Antagonistenprotokoll signifikant erniedrigt ist (79,4%) gegenüber den GnRH-Agonisten (84,9% - 87,3%;  $p < 0,001$ ). Dagegen wirkt sich die Applikation von Cetrorelixacetat in Kombination mit Follitropin alpha und Menotropin positiv auf den Anteil an M II - Oozyten gegenüber Leuprorelinacetat-Depotgabe aus (88,2% vs. 83,9%,  $p = 0,080$ ). Signifikant hoch ist der prozentuale Anteil an Metaphase I-Oozyten nach Applikation von Follitropin beta mit Leuprorelinacetat innerhalb der Vergleichsgruppe ( $p = 0,023$ ). Nach Gabe von Follitropin alpha mit Cetrorelixacetat zeigt sich eine deutliche Zunahme des Anteils an M I -Oozyten ( $p < 0,001$ ). Signifikant vermindert ist der Anteil an GV-Stadien nach Gabe von Follitropin alpha plus Menotropin in Kombination mit Cetrorelixacetat ( $p = 0,036$ ). Eine Stimulationstherapie mit Urofollitropin zeigt auffällig erhöhte prozentuale Werte an GV-Stadien (7,3% - 12,3%) gegenüber den Vergleichsmedikationen. Die Signifikanzen im Bereich der degenerierten Formen nach Applikation von Menotropin und Follitropin beta sollten aufgrund der niedrigeren Fallzahlen (teilweise  $n = 1$ ) mit Zurückhaltung betrachtet werden.

#### **4.3 Einteilung der Metaphase II-Oozyten anhand morphologischer Parameter**

Die lichtmikroskopische Evaluierung morphologischer Charakteristika der Oozyten unterteilt sich in zwei Bereiche. Man unterscheidet die Morphologieparameter im extrazytoplasmatischen und im zytoplasmatischen Bereich. Von der Stimulation unabhängig geben die Übersichten 1 und 2 die definierten morphologischen Kriterien sowie deren lichtmikroskopische Merkmalseinteilung für alle Metaphase II-Oozyten wieder. Die Anzahl morphologischer Defekte pro Eizelle ist in Übersicht 3 dargestellt.

**Übersicht 1: Extrazytoplasmatische Morphologieparameter bezogen auf die Gesamtzahl aller Metaphase II- Oozyten**

| <b>Extrazytoplasmatische Parameter</b>   | <b>Einteilung</b> | <b>Anteil M II Oozyten/ (in %)</b> |
|--|-------------------|------------------------------------|
| Polkörper<br><b>n=4778</b>               | - normal rund     | <b>2754 (57,6%)</b>                |
|  | - flach           | <b>507 (10,6%)</b>                 |
|  | - fragmentiert    | <b>1517 (31,7%)</b>                |
| Auffälligkeiten des PVS<br><b>n=4778</b> | - keine           | <b>3461 (72,4%)</b>                |
|  | - vorhanden       | <b>1317 (27,6%)</b>                |
| Symmetrie der Oozyte<br><b>n=4778</b>    | - rund            | <b>4163 (87,1%)</b>                |
|  | - oval,elongiert  | <b>615 (12,9%)</b>                 |

**Übersicht 2: Zytoplasmatische Morphologieparameter bezogen auf die Gesamtzahl aller Metaphase II- Oozyten**

| Zytoplasmatische Parameter                 | Einteilung        | Anteil M II Oozyten/ (in %) |
|--|-------------------|-----------------------------|
| Granulierungsgrad des Zytoplasma<br>n=4778 | - homogen         | 3520 (73,7%)                |
|  | - zentrales Areal | 992 (20,8%)                 |
|  | - vollgranuliert  | 266 (5,6%)                  |
| Vakuolenbildung<br>n=4778                  | - keine           | 4446 (93,1%)                |
|  | - vorhanden       | 332 (6,9%)                  |
| Refraktile Körper<br>n=4778                | - keine           | 2847 (59,6%)                |
|  | - kleine          | 1404 (29,4%)                |
|  | - große           | 527 (11,0%)                 |

**Übersicht 3: Häufigkeit an Dysmorphismen bezogen auf die Gesamtzahl aller Metaphase II- Oozyten**

| Anzahl Defekte/Oozyten | Häufigkeit/Oozyte | Anteil in % |
|------------------------|-------------------|-------------|
| 0                      | 1131              | 23,7        |
| 1                      | 1626              | 34,0        |
| 2                      | 1231              | 25,8        |
| 3                      | 563               | 11,8        |
| 4                      | 182               | 3,8         |
| 5                      | 38                | 0,8         |
| 6                      | 7                 | 0,1         |
| Gesamt                 | 4778              | 100,0       |

Wie aus den Übersichten 1 und 2 hervorgeht, konnten in der Mehrzahl M II-Oozyten mit normalen extrazytoplasmatischen oder zytoplasmatischen Parameter gewonnen werden. Deutlich seltener wurden ovale, elongierte Eizellformen (12,9%) oder eine Vakuolenbildung in den Oozyten (6,9%) beobachtet. Nach Betrachtung der Häufigkeit eines auftretenden Defektes fällt auf, dass nur in 23,7% aller Metaphase II-Oozyten das Bild einer „ideal“ aussehenden Oozyte zu finden war. Bei der Mehrzahl der M II-Oozyten (34,0%) wurde eine morphologische Anomalie beobachtet. Deutlich niedrig sind die Anteile an Oozyten mit drei und mehr morphologischen Abnormitäten.

#### **4.4 Einflussfaktoren auf die Ausprägung morphologischer Eizelldefekte**

##### **4.4.1 Alter**

Tabelle 19 gibt einen Überblick über die numerische Anzahl morphologischer Eizelldefekte in Abhängigkeit der Altersgruppierungen der Patientinnen wieder.

**Tabelle 19: Einfluss des Alters auf die Ausprägung von Eizelldysmorphismen in Metaphase II-Oozyten**

| Anzahl morphologischer Eizelldefekte | Anteil an Metaphase II- Oozyten in % |                         |                         |                      |
|--------------------------------------|--------------------------------------|-------------------------|-------------------------|----------------------|
|                                      | < 30 Jahre<br>n=1276                 | 30 - 34 Jahre<br>n=2167 | 35 - 39 Jahre<br>n=1198 | > 39 Jahre<br>n= 137 |
| 0                                    | 23,8                                 | 23,4                    | 24,7                    | 17,5                 |
| 1                                    | 33,6                                 | 33,9                    | 34,7                    | 33,6                 |
| 2                                    | 25,5                                 | 25,8                    | 25,7                    | 27,7                 |
| 3                                    | 12,4                                 | 12,0                    | 10,4                    | 14,6                 |
| 4                                    | 3,4                                  | 4,0                     | 3,6                     | 5,8                  |
| 5                                    | 0,9                                  | 0,8                     | 0,8                     | 0,7                  |
| 6                                    | 0,3                                  | 0                       | 0,2                     | 0                    |

**p=0,768 innerhalb der untersuchten Gruppen**

Stellt man die Häufigkeiten morphologischer Anomalien in den Eizellen dem zunehmenden Alter der Patientinnen gegenüber, so finden sich keine auffälligen Unterschiede innerhalb der Altersgruppen (p=0,768). Patientinnen > 39 Jahre zeigen nur einen geringeren Anteil an M II-Oozyten ohne Defekt (17,5%), dagegen steigt in dieser Gruppe die Zahl an Oozyten mit 2 , 3 oder 4 Defekten an (27,7%, 14,6%, 5,8%).

#### **4.4.2 Body-Mass-Index**

Der Body-Mass-Index (BMI) spielt im Maturationsprozess der Oozyten keine signifikante Rolle. Tabelle 20 stellt den Einfluss des BMI unserer Patientinnen auf die Ausprägung definierter morphologischer Auffälligkeiten in den Oozyten dar. Aufgrund der kleinen Fallzahlen von M II-Oozyten mit mehr als 4 Defekten wurden diese zu einer Gruppe mit 4 und mehr Defekten in den Tabellen 20 bis 25 zusammengefasst.

**Tabelle 20: Einfluss des BMI auf die Ausprägung von Eizelldysmorphismen in Metaphase II-Oozyten**

| Anzahl morphologischer Eizelldefekte | Anteil an Metaphase II- Oozyten in % |                                       |  |                  |
|--------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|--|------------------|
|                                      | <18,5 kg/m <sup>2</sup><br>n=256     | 18,5-24,9 kg/m <sup>2</sup><br>n=3466 | 25,0 -29.9 kg/m <sup>2</sup><br>n=1056 | Gesamt<br>n=4778 |
| 0                                    | 21,5                                 | 24,3                                  | 22,1                                   | 23,7             |
| 1                                    | 38,7                                 | 34,5                                  | 31,4                                   | 34,0             |
| 2                                    | 21,9                                 | 25,4                                  | 27,9                                   | 25,8             |
| 3                                    | 12,1                                 | 11,1                                  | 14,1                                   | 11,8             |
| ≥4                                   | 5,9                                  | 4,8                                   | 4,5                                    | 4,8              |
| <b>p-Wert</b>                        | <b>p=0,029*</b>                      |                                       |  |                  |

Aus Tabelle 20 geht hervor, dass der prozentuale Anteil an „normal“ geformten M II-Oozyten vom BMI der Patientinnen unbeeinflusst bleibt. Ist ein Defekt nachweisbar, so vermindert sich signifikant der Anteil an Metaphase II-Oozyten mit zunehmendem Body-Mass-Index (38,7%, 34,5%, 31,4%). M II-Oozyten mit zwei abnormen Parametern wurden vermehrt bei Patientinnen mit Übergewicht gefunden im Vergleich zu Patientinnen mit einem BMI von  $< 18,5 \text{ kg/m}^2$  (27,9% vs. 21,9%;  $p=0,029$ ). Dies setzt sich auch bei M II- Oozyten mit 3 Dysmorphismen (14,1% vs. 12,1%, 11,1%) fort.

#### 4.4.3 Vorbehandlung

Die Anzahl vorangegangener Zyklen spielt im Maturationsprozess der Oozyten ebenfalls keine signifikante Rolle. Tabelle 21 gibt den Einfluss von Vorbehandlungen unserer Patientinnen auf die Ausprägung definierter morphologischer Auffälligkeiten in den M II-Oozyten wieder. In 23 Zyklen wurden keine Angaben dokumentiert.

**Tabelle 21: Einfluss vorangegangener Zyklen auf die Ausprägung von Eizellmorphismen in Metaphase II-Oozyten**

| Anzahl morphologischer Eizelldefekte | Anteil an Metaphase II- Oozyten in %        |                    |                   |                   | Gesamt n=4563 |
|--------------------------------------|---|--------------------|-------------------|-------------------|---------------|
|                                      | Vorzyklen:0 n=2208                          | Vorzyklen:1 n=1418 | Vorzyklen:2 n=680 | Vorzyklen:3 n=257 |               |
| 0                                    | 24,2  | 22,7               | 20,9              | 16,7              | 22,8          |
| 1                                    | 33,1  | 36,0               | 31,3              | 32,7              | 33,7          |
| 2                                    | 26,2  | 24,8               | 27,8              | 33,1              | 26,4          |
| 3                                    | 11,9  | 11,9               | 12,8              | 13,2              | 12,1          |
| $\geq 4$                             | 4,6   | 4,6                | 7,2               | 4,3               | 5,0           |
| <b>p-Wert</b>                        | <b>p=0,011*</b> bezogen auf alle Subgruppen |                    |                   |                   |               |

Aus Tabelle 21 wird sehr deutlich, dass die steigende Zahl vorangegangener Behandlungszyklen zu einer signifikanten Verminderung des Anteils an Oozyten ohne morphologischen Defekt führt (24,2% auf 16,7%;  $p=0,011$ ). Weiterhin steigt der prozentuale Anteil an Oozyten mit 2 Dysmorphismen bei Patientinnen nach zwei oder drei Behandlungszyklen signifikant an (26,2% ; 24,8% auf 27,8% ; 33,1%).

#### 4.4.4 Ovarielle Stimulation

##### 4.4.4.1 GnRH-Protokoll

Tabelle 22 zeigt den Einfluss des GnRH-Protokolls auf die Ausprägung definierter Eizelldefekte. In die Auswertung wurden nur das lange Protokoll mit GnRH-Agonisten und die GnRH-Antagonistengabe einbezogen.

**Tabelle 22: Einfluss des GnRH-Protokolls auf die Ausprägung von Eizeldysmorphismen in Metaphase II-Oozyten**

|                                      | Anteil an Metaphase II- Oozyten in % / GnRH-Protokollform |                        |               |
|--------------------------------------|---|------------------------|---------------|
| Anzahl morphologischer Eizelldefekte | langes Protokoll mit GnRH-Agonisten n=3544                | GnRH-Antagonist n=1173 | Gesamt n=4717 |
| 0                                    | 22,0  | 28,1                   | 23,5          |
| 1                                    | 34,0  | 34,5                   | 34,1          |
| 2                                    | 26,8  | 23,1                   | 25,9          |
| 3                                    | 12,4  | 9,7                    | 11,7          |
| ≥4                                   | 4,8   | 4,5                    | 4,7           |
| <b>p-Wert</b>                        | <b>p&lt;0,001*</b>  |                        |               |

Interessanterweise liegt der Anteil an „normal“ geformten M II-Oozyten im Antagonistenprotokoll signifikant über dem Eizellanteil im langen Agonistenprotokoll (28,1% vs. 22,0%; p<0,001). Dieser signifikante Effekt der Antagonistengabe wird auch in der verminderten Ausprägung von 2 oder 3 Eizellabnormalitäten deutlich (23,1% vs. 26,8% und 9,7% vs. 12,4%).

#### **4.4.4.2 GnRH-Agonistenpräparate**

Inwieweit verschiedene Agonistenpräparate einen Einfluss auf die Ausbildung charakteristischer Oozytendysmorphismen ausüben, wird in Tabelle 23 dargestellt. Die Behandlungszyklen (n=3) mit Goserelinacetat wurden aufgrund der geringen Fallzahlen in der Statistik nicht berücksichtigt.

**Tabelle 23: Einfluss von GnRH-Agonistenpräparate auf die Ausprägung von Eizeldysmorphismen in Metaphase II-Oozyten**

|                                      | Anteil an Metaphase II- Oozyten in % / GnRH-Agonisten |                          |                                 |                        |               |
|--------------------------------------|---|--------------------------|---------------------------------|------------------------|---------------|
| Anzahl morphologischer Eizelldefekte | Triptorelin-acetat n= 882                             | Leuprorelin-acetat n=925 | Leuprorelin-acetat Depot n= 796 | Nafarelin-acetat n=971 | Gesamt n=3574 |
| 0                                    | 17,1  | 28,6                     | 25,0                            | 18,8                   | 22,3          |
| 1                                    | 30,0  | 35,5                     | 32,0                            | 37,0                   | 33,8          |
| 2                                    | 28,1  | 23,8                     | 26,9                            | 27,5                   | 26,6          |
| 3                                    | 18,9  | 8,0                      | 12,1                            | 11,5                   | 12,6          |
| ≥4                                   | 5,8   | 4,1                      | 4,0                             | 5,1                    | 4,8           |
| <b>p-Wert</b>                        | <b>p&lt; 0,001*</b> bezogen auf alle Subgruppen       |                          |                                 |                        |               |

Aus Tabelle 23 geht hervor, dass die Wahl des Agonisten einen signifikanten Einfluss auf die Ausprägung von morphologischen Eizelldefekten ausübt (p<0,001). Der prozentuale Anteil „ideal“ geformter Oozyten vermindert sich deutlich nach Triptorelin- und Nafarelinacetatgabe gegenüber einer Leuprorelinacetattherapie (17,1%, 18,8% vs. 28,6%, 25,0%; p<0,001). Die Mehrzahl an Oozyten mit einem abnormen Merkmal ist nach Nafarelinacetatgabe zu finden (37,0%), deutlich niedriger liegt dagegen der

Oozytenanteil bei Triptorelinacetat (30,0%). Mit zunehmender Zahl an Eizeldysmorphismen (2 bis  $\geq 4$ ) steigt der Anteil an Oozyten nach Triptorelinacetatgabe signifikant gegenüber den Vergleichsagonisten an ( $p < 0,001$ ).

#### 4.4.4.3 Gonadotropinmedikation

Tabelle 24 spiegelt das Auftreten morphologischer Defekte in Abhängigkeit von der Wahl des Gonadotropinpräparates wider. In diese Untersuchung konnten nur 5 Medikationen aufgenommen werden, da die Zahl der Behandlungen mit Urofollitropin plus Menotropin ( $n=12$ ), die Therapie mit Follitropin alpha plus Lutropin alpha ( $n=14$ ) und je ein Behandlungszyklus mit Follitropin beta plus Menotropin oder mit Lutropin alpha für eine statistische Auswertung zu gering waren.

**Tabelle 24: Einfluss der Gonadotropinmedikation auf die Ausprägung von Eizeldysmorphismen in Metaphase II-Oozyten**

| Anzahl morphologischer Eizelldefekte | Anteil an Metaphase II- Oozyten in % / Gonadotropinmedikation |                           |                             |                         |  |                  |
|--------------------------------------|---|---------------------------|-----------------------------|-------------------------|--|------------------|
|                                      | Menotropin<br>n= 374  | Follitropin beta<br>n=514 | Follitropin alpha<br>n=2323 | Urofollitropin<br>n=624 | Follitropin alpha +Menotropin<br>n=728 | Gesamt<br>n=4563 |
| 0                                    | 28,1  | 27,0                      | 23,1                        | 17,0                    | 26,6                                   | 23,7             |
| 1                                    | 41,7  | 38,7                      | 32,2                        | 32,1                    | 33,4                                   | 33,9             |
| 2                                    | 20,6  | 22,2                      | 26,5                        | 30,6                    | 25,4                                   | 25,9             |
| 3                                    | 6,4   | 8,9                       | 13,0                        | 15,9                    | 8,9                                    | 11,7             |
| $\geq 4$                             | 3,2   | 3,1                       | 5,3                         | 4,5                     | 5,6                                    | 4,8              |
| <b>p-Wert</b>                        | <b>p &lt; 0,001*</b> bezogen auf alle Subgruppen              |                           |                             |                         |  |                  |

Die Wahl der Gonadotropinmedikation wirkt sich auffallend deutlich auf die Eizellqualität aus ( $p < 0,001$ ). So zeigen die Applikationen von Menotropin und Follitropin beta die höchsten prozentualen Anteile an M II-Eizellen ohne morphologischen Defekt (28,1%; 27,0%) oder mit nur einem Defekt (41,7%; 38,7%). Diese Anteile liegen deutlich über denen von Follitropin alpha (23,1%) und Urofollitropin (17,0%) und unterscheiden sich signifikant voneinander ( $p < 0,001$ ). Weiterhin wurden bei Menotropin und Follitropin beta auffallend weniger Eizellen mit zwei (20,6% bzw. 22,2%), drei (6,4% bzw. 8,9%) oder vier (3,2% bzw. 3,1%) abnormen Merkmalen beobachtet als in den Vergleichsgruppen. Unter einer Urofollitropinmedikation wurden auffallend weniger Oozyten ohne Defekt (17%), dafür deutlich mehr Eizellen mit 2 (30,6%) oder 3 (15,9%) Abnormitäten gewonnen gegenüber den vergleichenden Gonadotropinpräparaten.

#### 4.4.4.4 Stimulationsschema

Anhand der 16 ausgewählten Therapieschemata sollen die Auswirkungen auf die Ausprägung von definierten Eizelldysmorphismen untersucht werden (Tabelle 25). Die Anzahl der Defektausprägungen wurde auf vier ( $\geq 4$ ) zusammengefasst, um statistisch sinnvolle Berechnungen durchführen zu können.

**Tabelle 25: Einfluss der Therapieschemata auf die Ausprägung von Eizelldysmorphismen in Metaphase II-Oozyten**

| Stimulations-<br>schema<br>(Gonadotropin+<br>GnRH-Analogen) | Anzahl<br>Metaphase<br>II-Oozyten | Anzahl morphologischer Eizelldefekte in %                                  |             |             |             |            |
|---|-----------------------------------|--|-------------|-------------|-------------|------------|
|   |                                   | 0  | 1           | 2           | 3           | $\geq 4$   |
| <b>Menotropin</b>   |                                   |  |             |             |             |            |
| +1  | 67                                | 37,3   | 34,3        | 17,9        | 10,4        | 0          |
| +2  | 180                               | 32,2   | 43,9        | 16,1        | 2,8         | 5,0        |
| +5  | 63                                | 23,8   | 49,2        | 19,0        | 6,3         | 1,6        |
| <b>Gesamt</b>   | <b>310</b>                        | <b>31,6</b>  | <b>42,9</b> | <b>17,1</b> | <b>5,2</b>  | <b>3,2</b> |
| <b>p-Wert</b>   |                                   | <b>p=0,077</b> bezogen auf die Subgruppen mit Menotropin                   |             |             |             |            |
| <b>Follitropin beta</b>                                     |                                   |  |             |             |             |            |
| +1  | 120                               | 20,8   | 35,0        | 27,5        | 14,2        | 2,5        |
| +2  | 103                               | 45,6   | 36,9        | 10,7        | 2,9         | 3,9        |
| +4  | 265                               | 23,8   | 41,1        | 22,6        | 9,4         | 3,0        |
| <b>Gesamt</b>   | <b>488</b>                        | <b>27,7</b>  | <b>38,7</b> | <b>21,3</b> | <b>9,2</b>  | <b>3,1</b> |
| <b>p-Wert</b>   |                                   | <b>p&lt;0,001*</b> bezogen auf die Subgruppen mit Follitropin beta         |             |             |             |            |
| <b>Follitropin alpha</b>                                    |                                   |  |             |             |             |            |
| +1  | 342                               | 16,1   | 28,4        | 27,2        | 20,5        | 7,9        |
| +2  | 391                               | 23,3   | 34,0        | 26,6        | 11,8        | 4,3        |
| +3  | 222                               | 24,8   | 29,3        | 27,5        | 14,9        | 3,6        |
| +4  | 487                               | 15,0   | 31,8        | 32,0        | 13,6        | 7,6        |
| +5  | 878                               | 30,0   | 33,7        | 22,9        | 9,9         | 3,5        |
| <b>Gesamt</b>   | <b>2320</b>                       | <b>23,1</b>  | <b>32,2</b> | <b>26,5</b> | <b>13,0</b> | <b>5,2</b> |
| <b>p-Wert</b>   |                                   | <b>p&lt;0,001*</b> bezogen auf die Subgruppen mit Follitropin alpha        |             |             |             |            |
| <b>Urofollitropin</b>                                       |                                   |  |             |             |             |            |
| +1  | 320                               | 11,6   | 28,1        | 32,2        | 21,9        | 6,3        |
| +2  | 149                               | 23,3   | 32,0        | 32,7        | 8,0         | 4,0        |
| +4  | 89                                | 22,5   | 44,9        | 24,7        | 7,9         | 0,0        |
| <b>Gesamt</b>   | <b>559</b>                        | <b>16,5</b>  | <b>31,8</b> | <b>31,1</b> | <b>15,9</b> | <b>4,7</b> |
| <b>p-Wert</b>   |                                   | <b>p&lt;0,001*</b> bezogen auf die Subgruppen mit Urofollitropin           |             |             |             |            |
| <b>Follitropin alpha<br/>+ Menotropin</b>                   |                                   |  |             |             |             |            |
| +3  | 453                               | 26,5   | 32,9        | 25,8        | 10,2        | 4,6        |
| +5  | 194                               | 21,6   | 36,1        | 23,2        | 9,3         | 9,8        |
| <b>Gesamt</b>   | <b>647</b>                        | <b>25,0</b>  | <b>33,8</b> | <b>25,0</b> | <b>9,9</b>  | <b>6,2</b> |
| <b>p-Wert</b>   |                                   | <b>p=0,091</b> bezogen auf die Subgruppen mit Follitropin alpha+Menotropin |             |             |             |            |

GnRH-Analoga: 1= Triptorelinacetat ; 2= Leuprorelinacetat ; 3= Leuprorelinacetat – Depot;  
4= Nafarelinacetat; 5= Cetrorelixacetat

Aus Tabelle 25 geht hervor, dass innerhalb der angewandten Therapieschemata signifikante oder tendenzielle Differenzen in der Ausprägung morphologischer Eizelldysmorphismen zu finden sind.

Die Menotropinapplikation führt im Antagonistenprotokoll zu tendenziell weniger „normal“ geformten Oozyten im Vergleich zur langen Protokollart mit Triptorelinacetat oder Leuprorelinacetat (23,8% vs. 37,3%, 32,2%). Auffallend hoch mit 10,4% ist die Anzahl an Oozyten mit drei Anomalien nach Triptorelinacetatgabe.

Der prozentual hohe Anteil von 45,6% an Oozyten ohne Defekt ist nach Gabe von Follitropin beta in Verbindung mit Leuprorelinacetat signifikant gegenüber einer Triptorelin- und Nafarelinacetatmedikation (20,8% bzw. 23,8%;  $p < 0,001$ ). Die Mehrzahl der Oozyten nach Triptorelinacetatapplikation weisen auch hier 2 (27,5%) oder 3 (14,2%) abnorme Merkmale auf.

Die Behandlung mit Follitropin alpha im Antagonistenprotokoll begünstigt die Ausbildung „ideal“ geformter Oozyten in 30%. Deutlich herabgesetzt dagegen ist das Ergebnis mit Triptorelinacetat (16,1%) und Nafarelinacetat (15,0%;  $p < 0,001$ ). Die Downregulation mit Triptorelinacetat bewirkt auch in Kombination mit Follitropin alpha einen hohen Anteil an Oozyten mit drei (20,5%) oder vier (7,9%) abnormen Merkmalen. Urofollitropin als Gonadotropinmedikation zeigt wiederholt einen negativen Einfluss auf die Eizellqualität. Der Anteil aller M II-Oozyten ohne morphologische Auffälligkeit liegt im Durchschnitt nur bei 16,5%. Signifikant vermindert ist die Zahl an „normalen“ Oozyten in Verbindung mit Triptorelinacetat gegenüber Leuprorelin- und Nafarelinacetat (11,6 % vs. 23,3%, 22,5%;  $p < 0,001$ ). Der prozentuale Anteil aller nach Urofollitropingabe punktierten M II- Oozyten mit zwei oder drei abnormen Merkmalen ist mit 31,1% und 15,9% deutlich höher gegenüber den Vergleichsgruppen.

Die Kombination von Follitropin alpha und Menotropin mit Leuprorelinacetat –Depot wirkt sich tendenziell positiver auf die Bildung „idealer“ Oozyten im Vergleich zu einer Cetrorelixacetatgabe (26,5% vs. 21,6%) aus.

#### **4.5 Einfluss der Gonadotropinmedikation auf die Ausprägung definierter morphologischer Formen/Anomalien in den Oozyten**

##### **4.5.1 Extrazytoplasmatische Parameter**

Auffälligkeiten im extrazytoplasmatischen Bereich betreffen die Morphologie des 1. Polkörpers, des perivitellinen Spaltes und die Symmetrie der Oozyte. Tabelle 26 zeigt die Häufigkeiten dieser extrazytoplasmatischer Eizellparameter in Abhängigkeit von den meist angewandten Gonadotropinmedikationen.

**Tabelle 26 : Häufigkeiten der extrazytoplasmatischen Oozytenparameter in Abhängigkeit von den meist angewandten Gonadotropinmedikationen**

| Extrazytoplasmatische Parameter         | Menotropin<br>n= 374 | Follitropin beta<br>n = 514 | Follitropin alpha<br>n = 2323 | Urofollitropin<br>n= 624 | Follitropin alpha +Menotropin<br>n= 728 | p-Wert             | Gesamt<br>n= 4563 |
|---|----------------------|-----------------------------|-------------------------------|--------------------------|---|--------------------|-------------------|
| <b>Polkörper</b><br>n= 4563             |                      |                             |                               |                          |   |                    |                   |
| -normal                                 | 61,8%                | <b>51,2%</b>                | 56,0%                         | <b>53,0%</b>             | 69,0%                                   | <b>p&lt;0,001*</b> | <b>57,7%</b>      |
| -flach                                  | <b>17,4%</b>         | 10,9%                       | 9,4%                          | <b>13,1%</b>             | 8,9%                                    |                    | <b>10,7%</b>      |
| -fragmentiert                           | 20,9%                | <b>37,9%</b>                | <b>34,6%</b>                  | <b>33,0%</b>             | 22,1%                                   |                    | <b>31,6%</b>      |
| <b>Perivitelliner Spalt</b><br>n = 4563 |                      |                             |                               |                          |   |                    |                   |
| -unauffällig                            | 79,9%                | 82,5%                       | <b>70,3%</b>                  | 73,6%                    | <b>67,4%</b>                            | <b>p&lt;0,001*</b> | <b>72,5%</b>      |
| -Auffällig                              | 20,1%                | 17,5%                       | <b>29,7%</b>                  | 26,4%                    | <b>32,6%</b>                            |                    | <b>27,5%</b>      |
| <b>Eizell-symmetrie</b><br>n =4563      |                      |                             |                               |                          |   |                    |                   |
| - rund                                  | 92,2%                | 90,7%                       | <b>84,9%</b>                  | 88,0%                    | 87,6%                                   | <b>p&lt;0,001*</b> | <b>87,0%</b>      |
| - oval,elongiert                        | 7,8%                 | 9,3%                        | <b>15,1%</b>                  | 12,0%                    | 12,4%                                   |                    | <b>13,0%</b>      |

Wie aus Tabelle 26 ersichtlich, zeigen die grau unterlegten Zahlenfelder die Werte, die weit vom Mittelwert des Gesamtkollektivs entfernt liegen, an. Diese Differenzen zeichnen die statistische Signifikanz innerhalb der untersuchten Gruppen aus. Der prozentuale Anteil an Eizellen mit normal geformten 1. Polkörpern variiert zwischen 51,2 % bei Follitropin beta und 69,0 % für die Gabe von Follitropin alpha kombiniert mit Menotropin. Der verminderte Anteil normal geformter Oozyten bei Follitropin beta und Urofollitropin zeigt einen p-Wert von  $p<0,001$ . Den höheren Eizellanteil mit flach geformten 1. Polkörpern besitzen die urinären Präparate mit 17,4% für Menotropin und 13,1% für Urofollitropin, dagegen findet man die Mehrzahl der Oozyten mit einem fragmentiert aussehenden 1. Polkörper nach Verabreichung rekombinanter FSH-Präparate (Follitropin alpha: 34,6%; Follitropin beta: 37,9%). Eizellen mit einem großen perivitellinen Spalt treten besonders häufig bei den Medikationen Follitropin alpha in Kombination mit Menotropin (32,6%) und bei Follitropin alpha allein (29,7%) hervor ( $p<0,001$ ). Durchschnittlich weisen 27,5% aller Metaphase II- Eizellen Abnormalitäten des perivitellinen Spaltes auf.

Dysmorphismen der Eizellsymmetrie wurden im Durchschnitt nur bei 13,0% aller Oozyten im Metaphase II-Stadium gefunden. Aufgrund der großen Oozytenanzahl (n=2323) weist die Follitropin alpha-Medikation einen signifikant hohen Anteil von 15% ovaler oder elongierter Eizellformen auf ( $p<0,001$ ).

#### 4.5.2 Zytoplasmatische Parameter

Auffälligkeiten im zytoplasmatischen Bereich betreffen die Granulierung des Zytoplasmas, die Vakuolenbildung und das Vorhandensein von refraktilen Körpern. In Tabelle 27 sind die Häufigkeiten der zytoplasmatischen Eizellparameter in Abhängigkeit von den fünf meist angewandten Gonadotropinmedikationen angeführt.

**Tabelle 27: Häufigkeiten der zytoplasmatischen Oozytenparameter in Abhängigkeit von den meist angewandten Gonadotropinmedikationen**

| Zytoplasmatische Parameter           | Menotropin<br>n= 374 | Follitropin beta<br>n = 514 | Follitropin alpha<br>n = 2323 | Urofollitropin<br>n= 624 | Follitropin alpha+Menotropin<br>n= 728 | p-Wert             | Gesamt<br>n=4563 |
|--------------------------------------|----------------------|-----------------------------|-------------------------------|--------------------------|--|--------------------|------------------|
| <b>Zytoplasma<br/>n= 4563</b>        |                      |                             |                               |                          |  |                    |                  |
| -homogen                             | 75,9%                | 78,0%                       | 74,4%                         | <b>64,1%</b>             | 73,8%                                  | <b>p&lt;0,001*</b> | <b>73,4%</b>     |
| -zentral                             | 20,6%                | 17,1%                       | 19,4%                         | <b>28,2%</b>             | 22,0%                                  |                    | <b>20,8%</b>     |
| -vollständig                         | 3,5%                 | 4,9%                        | 6,2%                          | <b>7,7%</b>              | 4,3%                                   |                    | <b>5,7%</b>      |
| <b>Refraktile Körper<br/>n= 4563</b> |                      |                             |                               |                          |  |                    |                  |
| -keine                               | 73,5%                | 73,5%                       | 59,9%                         | 63,1%                    | <b>39,1%</b>                           | <b>p&lt;0,001*</b> | <b>59,7%</b>     |
| -kleine                              | 23,0%                | 23,7%                       | 29,7%                         | 30,4%                    | <b>34,8%</b>                           |                    | <b>29,4%</b>     |
| -große                               | 3,5%                 | 2,7%                        | 10,5%                         | 6,4%                     | <b>26,1%</b>                           |                    | <b>11,0%</b>     |
| <b>Vakuolenbildung<br/>n= 4563</b>   |                      |                             |                               |                          |  |                    |                  |
| -keine                               | 95,7%                | 92,4%                       | 93,0%                         | 93,6%                    | 92,4%                                  | p=0,271            | <b>93,1%</b>     |
| -vorhanden                           | 4,3%                 | 7,6%                        | 7,0%                          | 6,4%                     | 7,6%                                   |                    | <b>6,9%</b>      |

Aus Tabelle 27 geht hervor, dass die grau unterlegten Zahlenfelder die Werte dokumentieren, die vom Durchschnittwert der Gesamtzahl an Eizellen abweichen. Diese Differenzen sind verantwortlich für die Signifikanzen innerhalb der untersuchten Gruppen. Die Applikation von Urofollitropin führt zu einem deutlich verminderten Anteil an Oozyten mit einem homogenen Zytoplasma (64,1% vs. 73,8% - 78,0%), dagegen steigt in dieser Gruppe die Anzahl an Eizellen mit einem zentralen (28,2% vs. 17,1% - 22,0%) oder vollständig granulierten Zytoplasma (7,7% vs. 3,5% - 6,2%) signifikant gegenüber den Vergleichsgruppen an (p<0,001).

Refraktile Körper wurden insgesamt bei 40,4% aller Oozyten dokumentiert. Auffallend hoch mit 60,9% liegt der prozentuale Oozytenanteil nach einer Kombinationstherapie von Follitropin alpha plus Menotropin. Dieser deutliche Unterschied zu den Vergleichsmedikationen ist signifikant (p<0,001). Hinsichtlich der Bildung von Vakuolen konnte in Abhängigkeit von den meist angewandten Gonadotropinmedikationen kein

Unterschied gefunden werden ( $p=0,271$ ). Durchschnittlich wiesen 6,9% aller untersuchten M II-Oozyten Vakuolen im Zytoplasma auf.

#### **4.6 Einflussfaktoren auf den Befruchtungsstatus bzw. die Fertilisationsraten nach Durchführung der intrazytoplasmatischen Spermatozoen-Injektion**

Die nachfolgenden Untersuchungen zeigen den Einfluss prädiktiver Faktoren auf den Befruchtungsstatus aller Metaphase II-Oozyten. Die statistische Auswertung erfolgte nur an regulär fertilisierten Oozyten (2 Vorkerne, 2PN). Irreguläre Befruchtungen (ein Vorkern, 1PN; drei Vorkerne, 3PN) sowie der Prozentsatz an unbefruchteten Oozyten (kein Vorkernstadium, 0PN) werden der Vollständigkeit wegen mit aufgeführt, jedoch nicht in die statistische Auswertung einbezogen. Weiterhin wird der prozentuale Anteil an degenerierten Oozyten nach Durchführung der ICSI angegeben.

##### **4.6.1 Alter**

Unsere Patientientenklientel wurde in 5 Altersgruppierungen unterteilt. Tabelle 28 stellt den Befruchtungsstatus aller injizierten M II-Oozyten in Abhängigkeit vom Alter dar.

**Tabelle 28: Befruchtungsstatus in Abhängigkeit vom Alter der Patientin**

|                           | <b>Anteil an befruchteten Oozyten in % /Alter der Patientinnen</b> |                               |                               |                               |                               |                           |
|---------------------------|--|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|---------------------------|
| <b>Befruchtungsstatus</b> | <b>&lt;25 Jahre<br/>n=179</b>                                      | <b>25-29 Jahre<br/>n=1097</b> | <b>30-34 Jahre<br/>n=2167</b> | <b>35-39 Jahre<br/>n=1198</b> | <b>&gt;39 Jahre<br/>n=137</b> | <b>Gesamt<br/>n= 4778</b> |
| <b>Regulär (2PN)</b>      | <b>69,3<sup>a</sup></b>  | <b>68,6<sup>b</sup></b>       | <b>71,2<sup>c</sup></b>       | <b>68,6<sup>d</sup></b>       | <b>74,5<sup>e</sup></b>       | <b>70,0</b>               |
| Irregulär (1PN)           | 3,9  | 3,3                           | 3,0                           | 2,3                           | 2,2                           | 2,9                       |
| Irregulär (3PN)           | 2,2  | 3,5                           | 4,6                           | 4,6                           | 2,9                           | 4,2                       |
| Keine Befruchtung (0PN)   | 21,8   | 16,0                          | 15,5                          | 19,9                          | 15,3                          | 17,0                      |
| Degenerierte Oozyten      | 2,8  | 8,6                           | 5,8                           | 4,6                           | 5,1                           | 6,0                       |

<sup>a,b,c,d,e</sup>  $p= 0,298$  bezogen auf alle Subgruppen

Wie aus Tabelle 28 hervorgeht, übt das Alter der Patientinnen keinen Einfluss auf die Fertilisationsrate aus ( $p=0,298$ ). Die prozentuale Verteilung irregulär befruchteter Oozyten sowie der Anteil an Nichtbefruchtungen ist ebenfalls in Tabelle 28 zusammengefasst und zeigt innerhalb der untersuchten Gruppen keine auffallenden Abweichungen.

#### 4.6.2 Body-Mass-Index

Tabelle 29 reflektiert den Einfluss des Body-Mass-Index (BMI) auf den Befruchtungsstatus der Oozyten nach ICSI. Der BMI wurde unterteilt in Patientinnen mit Untergewicht, Normalgewicht und in übergewichtige Frauen.

**Tabelle 29: Einfluss des BMI der Patientinnen auf den Befruchtungsstatus**

| Befruchtungsstatus      | Anteil an befruchteten Oozyten in % /BMI der Patientinnen |                                       |                                       |                |                  |
|-------------------------|---|---------------------------------------|---------------------------------------|----------------|------------------|
|                         | <18,5 kg/m <sup>2</sup><br>n=256                          | 18,5-24,9 kg/m <sup>2</sup><br>n=3466 | 25,0-29.9 kg/m <sup>2</sup><br>n=1056 | p-Wert         | Gesamt<br>n=4778 |
| <b>Regulär (2PN)</b>    | <b>75,0<sup>a</sup></b>                                   | <b>69,5<sup>b</sup></b>               | <b>70,4<sup>c</sup></b>               | a,b,c p= 0,172 | <b>70,0</b>      |
| Irregulär (1PN)         | 4,3   | 2,9                                   | 2,5                                   |                | 2,9              |
| Irregulär (3PN)         | 2,3   | 4,6                                   | 3,4                                   |                | 4,2              |
| Keine Befruchtung (0PN) | 16,4  | 16,8                                  | 17,5                                  |                | 17,0             |
| Degenerierte Oozyten    | 2,0   | 6,2                                   | 6,3                                   |                | 6,0              |

Die Fertilisationsrate variiert innerhalb der untersuchten Gruppen zwischen 75,0% bei Patientinnen < 18,5 kg/m<sup>2</sup> und 70,4% bei Patientinnen mit Übergewicht. Wie aus Tabelle 29 hervorgeht, hat der Body-Mass-Index keinen Einfluss auf die reguläre Befruchtung (p=0,172). Die prozentuale Verteilung der verbliebenen injizierten M II-Oozyten hinsichtlich ihres Befruchtungsstatus ist ebenfalls in Tabelle 29 zusammengefasst.

#### 4.6.3 Vorbehandlung

Tabelle 30 zeigt den Einfluss vorangegangener Behandlungszyklen auf den Befruchtungsstatus. Die Auswertung erfolgte an 4563 M II-Oozyten. In 23 Zyklen wurde keine Angabe zur Vorbehandlung dokumentiert. Die statistische Analyse erfolgte nur an regulären Vorkernstadien (2PN). Für die Vollständigkeit der Daten wurden die prozentualen Werte an Nichtbefruchtungen, irregulären Befruchtungen und der Anteil degenerierter Oozyten ebenfalls in Tabelle 30 angegeben.

**Tabelle 30: Einfluss vorangegangener Zyklen der Patientinnen auf den Befruchtungsstatus**

| Anteil an befruchteten Oozyten in % / Vorbehandlung der Patientinnen |                         |                         |                         |                         |   |                  |
|--|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|---|------------------|
| Befruchtungsstatus   | Vorversuch 0<br>n=2208  | Vorversuch 1<br>n=1418  | Vorversuch 2<br>n=680   | Vorversuch 3<br>n=257   | p-Wert                                    | Gesamt<br>n=4563 |
| <b>Regulär (2PN)</b>   | <b>72,3<sup>a</sup></b> | <b>68,5<sup>b</sup></b> | <b>67,8<sup>c</sup></b> | <b>61,1<sup>d</sup></b> | <sup>a,b,c,d</sup><br><b>p&lt; 0,001*</b> | <b>69,8</b>      |
| Irregulär (1PN)  | 2,8                     | 3,2                     | 2,5                     | 3,9                     |   | 2,9              |
| Irregulär (3PN)  | 4,1                     | 4,2                     | 5,3                     | 5,1                     |   | 4,3              |
| Keine Befruchtung (0PN)  | 15,8                    | 17,9                    | 16,3                    | 18,3                    |   | 16,7             |
| Degenerierte Oozyten   | 5,1                     | 6,3                     | 8,1                     | 11,7                    |   | 6,3              |

Aus Tabelle 30 ist ersichtlich, dass die Einflussgröße „Anzahl vorangegangener Behandlungszyklen“ einen signifikanten Einfluss auf die Fertilisationsrate ausübt ( $p < 0,001$ ). Mit dem Anstieg der Zahl an Vorversuchen (0-3) nimmt die Befruchtungsrate signifikant ab (72,3% auf 61,1%). Die durchschnittliche Befruchtungsrate für alle Oozyten liegt bei 69,8%. Auffallend deutlich steigt der Anteil an degenerierten Oozyten mit der Zahl an Therapieversuchen an (5,1% -11,7%).

#### **4.6.4 Ovarielle Stimulation**

##### **4.6.4.1 GnRH-Protokoll**

Die Auswirkung des GnRH-Protokolls auf den Fertilisationsprozess ist in Tabelle 31 dargestellt. Verglichen wurden die Anwendung des langen Agonisten-Protokolls mit der Gabe von Cetrorelixacetat als Antagonist. Das ultralange (n=4; 28 Oozyten) und das kurze Protokoll (n=6; 33 Oozyten) wurden aufgrund der niedrigen Zykluszahlen nicht in die statistische Auswertung einbezogen. Eine statistische Analyse erfolgte nur an regulären Vorkernstadien (2PN). Für die Vollständigkeit der Daten wurden die prozentualen Anteile an Nichtbefruchtungen, irregulären Befruchtungen und degenerierten Oozyten in Tabelle 31 mit aufgeführt.

**Tabelle 31: Einfluss des GnRH-Protokolls auf den Befruchtungsstatus**

| Befruchtungsstatus      | Anteil an befruchteten Oozyten in %/ GnRH-Protokollform |                       |         |                   |
|-------------------------|---|-----------------------|---------|-------------------|
|                         | Agonist (Langes Protokoll)<br>n= 3544                   | Antagonist<br>n= 1173 | p-Wert  | Gesamt<br>n= 4717 |
| <b>Regulär (2PN)</b>    | <b>69,4</b>   | <b>72,0</b>           | p=0,362 | <b>70,0</b>       |
| Irregulär (1PN)         | 3,2   | 1,9                   |         | 2,9               |
| Irregulär (3PN)         | 4,1   | 4,7                   |         | 4,2               |
| Keine Befruchtung (0PN) | 16,5  | 17,6                  |         | 16,8              |
| Degenerierte Oozyten    | 6,8   | 3,8                   |         | 6,0               |

Wie aus Tabelle 31 hervorgeht, zeigt das GnRH-Protokoll keine Beeinflussung der Fertilisationsrate ( $p=0,362$ ). Ebenso gleich verteilt ist die Eizellzahl an Nichtbefruchtungen, irregulär befruchteten und degenerierten Formen innerhalb der untersuchten Gruppen.

#### 4.6.4.2 GnRH-Agonistenpräparate

Tabelle 32 zeigt den Einfluss verschiedener GnRH-Agonisten auf den Befruchtungsstatus der Metaphase II-Oozyten. Die statistische Auswertung erfolgte nur an regulären Vorkernstadien (2PN). Für die Vollständigkeit der Daten wurden die prozentualen Anteile an Nichtbefruchtungen, irregulären Befruchtungen und der Anteil degenerierter Eizellen in Tabelle 32 mit aufgeführt.

**Tabelle 32: Einfluss verschiedener GnRH-Agonistenpräparate auf den Befruchtungsstatus**

| Befruchtungsstatus      | Anteil an befruchteten Oozyten in % /GnRH-Agonistenpräparate |                            |                                   |                          | p-Wert                                   | Gesamt<br>n=3574 |
|-------------------------|--|----------------------------|-----------------------------------|--------------------------|--|------------------|
|                         | Triptorelinacetat<br>n= 882                                  | Leuprorelinacetat<br>n=925 | Leuprorelinacetat Depot<br>n= 796 | Nafarelinacetat<br>n=971 |  |                  |
| <b>Regulär (2PN)</b>    | <b>64,1<sup>a</sup></b>                                      | <b>69,9<sup>b</sup></b>    | <b>71,0<sup>c</sup></b>           | <b>72,7<sup>d</sup></b>  | <sup>a,b,c,d</sup><br><b>p&lt;0,001*</b> | <b>70,1</b>      |
| Irregulär (1PN)         | 3,4  | 3,2                        | 3,3                               | 3,1                      |  | 3,2              |
| Irregulär (3PN)         | 5,0  | 3,4                        | 3,9                               | 3,8                      |  | 4,0              |
| Keine Befruchtung (0PN) | 17,5   | 17,8                       | 19,8                              | 12,7                     |  | 16,8             |
| Degenerierte Oozyten    | 10,1   | 5,6                        | 2,0                               | 7,7                      |  | 6,5              |

Aus Tabelle 32 wird deutlich, dass einzelne Agonistenpräparate zu einer signifikanten Verminderung der Fertilisationsrate führen ( $p<0,001$ ). So zeigt sich nach Gabe von Triptorelinacetat eine Befruchtungsrate von 64,1%, die sich signifikant von den Vergleichspräparaten mit 69,9%; 71,0% und 72,7% unterscheidet. Der Mittelwert der normalen Fertilisationsrate (2PN) liegt bei 70,1%. Eine Nafarelinacetatgabe führt

offenbar zu einer geringeren Anzahl an Nichtbefruchtungen (12,7%) gegenüber den anderen Agonisten. Auffallend hoch sind die prozentualen Anteile an degenerierten Oozyten bei Triptorelin- und Nafarelinacetatgabe (10,1%; 7,7%) im Vergleich zur Medikation mit Leuprorelinacetat (5,6%; 2,0%).

#### 4.6.4.3 Gonadotropinmedikation

Inwieweit die in dieser Studie eingesetzten Gonadotropinpräparate einen Einfluss auf die Fertilisationsrate und den Befruchtungsstatus haben, ist in Tabelle 33 dargestellt. Die Medikationen mit je einen Behandlungszyklus von Follitropin beta mit Menotropin wie Follitropin beta mit Lutropin alpha wurden nicht in die Auswertung aufgenommen. Die statistische Prüfung erfolgte nur an regulären Vorkernstadien (2PN). Für die Vollständigkeit der Angaben wurden die prozentualen Anteile an Nichtbefruchtungen, irregulären Befruchtungen und der Anteil degenerierter Eizellen in Tabelle 33 mit aufgeführt.

**Tabelle 33: Einfluss verschiedener Gonadotropinpräparate auf den Befruchtungsstatus**

| Gonadotropin-<br>präparat             | Befruchtungsstatus der M II-Oozyten in % |                  |                    |                    |                              |                         |
|---------------------------------------|--|------------------|--------------------|--------------------|------------------------------|-------------------------|
|                                       | Anzahl M II-<br>Oozyten                  | Regulär<br>(2PN) | Irregulär<br>(1PN) | Irregulär<br>(3PN) | Keine Befrucht-<br>ung (0PN) | Degenerierte<br>Oozyten |
| Menotropin                            | 374                                      | 71,9             | 2,1                | 3,2                | 18,4                         | 4,3                     |
| Follitropin beta                      | 514                                      | 70,0             | 3,1                | 2,1                | 19,1                         | 5,6                     |
| Follitropin alpha                     | 2323                                     | 70,7             | 3,1                | 4,6                | 15,0                         | 6,6                     |
| Urofollitropin                        | 624                                      | 65,2             | 2,7                | 4,5                | 19,1                         | 8,5                     |
| Follitropin alpha +<br>Menotropin     | 728                                      | 70,9             | 2,7                | 4,5                | 19,0                         | 2,9                     |
| Urofollitropin<br>+ Menotropin        | 98                                       | 66,3             | 1,0                | 4,1                | 26,5                         | 2,0                     |
| Follitropin alpha +<br>Lutropin alpha | 108                                      | 73,1             | 2,8                | 3,7                | 9,3                          | 11,1                    |
| p-Wert                                |  | p=0,154          |                    |                    |                              |                         |
| <b>Gesamt</b>                         | 4769                                     | <b>70,0</b>      | 2,9                | 4,2                | 17,0                         | 6,0                     |

Wie aus Tabelle 33 ersichtlich, zeigen die Gaben von Urofollitropin (65,2%) sowie Urofollitropin in Kombination mit Menotropin (66,3%) eine tendenzielle Verminderung der Fertilisationsrate gegenüber den Vergleichsmedikationen (70,0%–73,1%; p=0,154). Neben einer auffällig niedrigen Befruchtungsrate zeigt die Applikation von Urofollitropin den höchsten Anteil an degenerierten Oozyten (8,5%) gegenüber den meist angewandten Gonadotropinmedikationen (2,9%–6,6%). Aufgrund der geringeren Zahl an M II-Oozyten nach Applikationen der Kombinationspräparate Urofollitropin plus

Menotropin (n=98) und Follitropin alpha plus Lutropin alpha (n=108) variieren die prozentualen Werte stärker gegenüber den Vergleichsgruppen.

#### 4.6.4.4 Stimulationsschema

Der Einfluss des Therapieregimes auf den Befruchtungsstatus ist in Tabelle 34 dargestellt. Die Therapiekombinationen mit mehr als 8 Behandlungszyklen wurden in die Auswertung einbezogen. Die statistische Berechnung erfolgte nur an regulären Vorkernstadien (2PN). Für die Vollständigkeit der Angaben wurden die prozentualen Anteile an Nichtbefruchtungen, irregulären Befruchtungen sowie der Anteil degenerierter Oozyten in Tabelle 34 mit aufgeführt.

**Tabelle 34: Einfluss verschiedener Stimulationsschemata auf den Befruchtungsstatus**

| Stimulationsschema<br>(Gonadotropin+<br>GnRH-Analogen) | Anzahl M<br>II-Oozyten | Befruchtungsstatus der M II-Oozyten in %                               |                    |                    |                               |                         |
|--|------------------------|--|--------------------|--------------------|-------------------------------|-------------------------|
|  |                        | Regulär<br>( 2PN)  | Irregulär<br>(1PN) | Irregulär<br>(3PN) | Keine<br>Befruchtung<br>(0PN) | Degenerierte<br>Oozyten |
| <b>Menotropin</b>                                      |                        |  |                    |                    |                               |                         |
| +1   | 67                     | 71,6   | 1,5                | 4,5                | 13,4                          | 9,0                     |
| +2   | 180                    | 73,3   | 2,2                | 2,8                | 19,4                          | 2,2                     |
| +5   | 63                     | 74,6   | 1,6                | 3,2                | 19,0                          | 1,6                     |
| Gesamt   | 310                    | 73,2   | 1,9                | 3,2                | 18,1                          | 3,5                     |
| <b>p-Wert</b>  |                        | p=0,362 bezogen auf die Subgruppen mit Menotropin                      |                    |                    |                               |                         |
| <b>Follitropin beta</b>                                |                        |  |                    |                    |                               |                         |
| +1   | 120                    | 67,5   | 1,7                | 1,7                | 20,8                          | 8,3                     |
| +2   | 102                    | 62,1   | 1,9                | 2,9                | 30,1                          | 2,9                     |
| +4   | 265                    | 73,6   | 4,2                | 2,3                | 14,0                          | 6,0                     |
| Gesamt   | 488                    | 69,7   | 3,1                | 2,3                | 19,1                          | 5,9                     |
| <b>p-Wert</b>  |                        | p=0,028* bezogen auf die Subgruppen mit Follitropin beta               |                    |                    |                               |                         |
| <b>Follitropin alpha</b>                               |                        |  |                    |                    |                               |                         |
| +1   | 342                    | 62,6   | 4,7                | 6,7                | 12,3                          | 13,7                    |
| +2   | 391                    | 70,8   | 4,3                | 4,6                | 12,0                          | 8,2                     |
| +3   | 222                    | 73,0   | 4,1                | 3,6                | 18,5                          | 0,9                     |
| +4   | 484                    | 72,3   | 2,9                | 3,7                | 12,9                          | 8,2                     |
| +5   | 880                    | 72,3   | 1,8                | 4,6                | 17,8                          | 3,5                     |
| Gesamt   | 2320                   | 70,7   | 3,1                | 4,6                | 15,0                          | 6,6                     |
| <b>p-Wert</b>  |                        | p<0,001* bezogen auf die Subgruppen mit Follitropin alpha              |                    |                    |                               |                         |
| <b>Urofollitropin</b>                                  |                        |  |                    |                    |                               |                         |
| +1   | 320                    | 62,8   | 3,1                | 4,7                | 21,6                          | 7,8                     |
| +2   | 149                    | 68,7   | 2,0                | 3,3                | 18,0                          | 8,0                     |
| +4   | 89                     | 65,2   | 2,2                | 7,9                | 13,5                          | 11,2                    |
| Gesamt   | 559                    | 64,8   | 2,7                | 4,8                | 19,3                          | 8,4                     |
| <b>p-Wert</b>  |                        | p= 0,531 bezogen auf die Subgruppen mit Urofollitropin                 |                    |                    |                               |                         |
| <b>Follitropin alpha +<br/>Menotropin</b>              |                        |  |                    |                    |                               |                         |
| +3   | 453                    | 71,1   | 2,4                | 4,4                | 19,2                          | 2,9                     |
| +5   | 194                    | 69,6   | 2,6                | 6,2                | 18,6                          | 3,1                     |
| Gesamt   | 647                    | 70,6   | 2,5                | 4,9                | 19,0                          | 2,9                     |
| <b>p-Wert</b>  |                        | p= 0,914 bezogen auf die Subgruppen mit Follitropin alpha + Menotropin |                    |                    |                               |                         |

GnRH-Analoga: 1=Triptorelinacetat ; 2= Leuprorelinacetat ; 3= Leuprorelinacetat – Depot;  
4= Nafarelinacetat; 5= Cetrorelixacetat

Aus Tabelle 34 geht hervor, dass eine definierte Kombination aus Gonadotropinpräparat und GnRH-Analogen die Fertilisationsrate signifikant beeinflussen kann oder keine Differenzen innerhalb einer untersuchten Gruppe zu verzeichnen sind. Bezogen auf alle Vergleichsgruppen wurde ein p-Wert von  $p=0,014$  ermittelt.

Menotropin in Verbindung mit GnRH-Agonisten oder Antagonisten zeigt trotz der geringen Eizellanzahl keine Unterschiede in der Befruchtungsrate ( $p=0,362$ ).

Die Stimulation mit Follitropin beta in Kombination mit Nafarelinacetat tritt mit einer deutlich höheren Fertilisationsrate gegenüber den vergleichenden GnRH-Analoga Triptorelinacetat und Leuprorelinacetat hervor (73,6% vs. 67,5%; 62,1%;  $p=0,028$ ). Weiterhin führen die Gaben von Triptorelin- und Leuprorelinacetat in Verbindung mit Follitropin beta zu hohen Raten an Nichtbefruchtungen (20,8% bzw. 30,1%).

Die Fertilisationsraten nach Applikation von Follitropin alpha im Agonistenprotokoll oder nach Anwendung von Cetorelixacetat variieren zwischen 70,8 % und 73,0%. Die einzige Ausnahme bildet die Behandlung von Follitropin alpha mit Triptorelinacetat. Die Befruchtungsrate ist mit 62,6% signifikant niedriger ( $p<0,001$ ) und weist eine hohe Rate von 13,7% an degenerierten M II-Oozyten auf.

Eine Stimulationstherapie mit Urofollitropin zeigt im Vergleich zu den anderen Therapieschemata deutlich niedrigere Fertilisationsraten. Diese variieren zwischen 62,8 % für Triptorelinacetat und 68,7% für Leuprorelinacetat und liegen signifikant unter denen der Vergleichsgruppen ( $p=0,014$ ). Die Kombinationstherapie von Follitropin alpha plus Menotropin führt mit einem GnRH-Agonisten (Leuprorelinacetat-Depot) oder Cetorelixacetat zu vergleichbaren Befruchtungsraten (71,1% vs. 69,6%).

#### **4.7 Einfluss der Eizeldysmorphismen auf die Fertilisationsrate bzw. den Befruchtungsstatus**

##### **4.7.1 Anzahl morphologischer Eizelldefekte**

Die numerische Angabe abnormaler Parameter in den Eizellen und deren Befruchtungsstatus ist in Tabelle 35 dargestellt. Eine statistische Berechnung erfolgte nur an regulären Vorkernstadien (2PN). Für die Vollständigkeit der Angaben wurden die prozentualen Anteile an Nichtbefruchtungen, irregulären Befruchtungen und degenerierten Eizellen in Tabelle 35 mit aufgeführt.

**Tabelle 35: Befruchtungsstatus in Abhängigkeit von der numerischen Anzahl abnormaler Eizellparameter**

|   |                | <b>Befruchtungsstatus an injizierten Metaphase II-Oozyten in %</b>               |  |   |  |                                       |
|---|----------------|--|--|---|--|---------------------------------------|
| <b>Anzahl morphologischer Eizelldefekte</b> |                | <b>Regulär (2PN)<br/>n=3344</b>  | <b>Irregulär (1PN)<br/>n=138</b>   | <b>Irregulär (3PN)<br/>n=200</b>                            | <b>Keine Befruchtung (0PN)<br/>n=810</b> | <b>Degenerierte Oozyten<br/>n=286</b> |
| <b>0</b>                                    | n=1131         | <b>75,3<sup>a</sup></b>  | 1,8  | 3,2   | 16,5                                     | 3,2                                   |
| <b>1</b>                                    | n=1626         | <b>71,0<sup>b</sup></b>  | 3,6  | 4,5   | 16,2                                     | 4,8                                   |
| <b>2</b>                                    | n=1231         | <b>68,2<sup>c</sup></b>  | 2,8  | 4,0   | 17,1                                     | 7,8                                   |
| <b>3</b>                                    | n=563          | <b>64,7<sup>d</sup></b>  | 3,4  | 5,2   | 18,5                                     | 8,3                                   |
| <b>4</b>                                    | n=182          | <b>59,9<sup>e</sup></b>  | 2,2  | 4,4   | 20,9                                     | 12,6                                  |
| <b>5</b>                                    | n=38           | <b>57,9<sup>f</sup></b>  | 2,6  | 13,2  | 13,2                                     | 13,2                                  |
| <b>6</b>                                    | n=7            | <b>42,9</b>  | 14,3   | 0,0   | 28,6                                     | 14,3                                  |
| <b>p-Wert bezogen auf 2PN</b>               |                | <sup>a,b</sup> p=0,012*;<br><sup>a,e</sup> p<0,001*;<br><sup>b,d</sup> p=0,006*; | <sup>a,c</sup> p<0,001*;<br><sup>a,f</sup> p=0,021*;<br><sup>b,e</sup> p=0,003*; | <sup>a,d</sup> p<0,001*;<br><sup>a,b,c,d,e,f</sup> p<0,001* |  |                                       |
| <b>Gesamt</b>                               | <b>n= 4778</b> | <b>70,0</b>  | 2,9  | 4,2   | 17,0                                     | 6,0                                   |

Aus Tabelle 35 geht hervor, dass mit steigender Anzahl morphologischer Anomalien in den Oozyten die reguläre Fertilisationsrate signifikant abnimmt ( $p < 0,001$ ). Diese Rate beträgt 75,3% wenn kein Eizelldefekt vorliegt und vermindert sich auf 71,0% bei Vorliegen eines Defektes bis hin auf 42,9%, wenn die Anzahl der Defekte sich auf 6 erhöht. Signifikanzen in den Fertilisationsraten bestehen beim Vergleich von keinem zu einem Defekt ( $p = 0,012$ ), zu zwei Defekten ( $p < 0,001$ ), zu drei Defekten ( $p < 0,001$ ), zu vier ( $p < 0,001$ ) und zu fünf Defekten ( $p = 0,021$ ).

Der prozentuale Anteil an Metaphase II-Oozyten mit irregulärer Befruchtung (1PN, 3PN) bleibt mit steigender Anzahl an Anomalien (0-4) unbeeinflusst. Oozyten ohne Befruchtungszeichen (0PN) wie auch der Anteil degenerierter Oozyten nehmen mit der Zahl an Dysmorphismen stetig zu. Aufgrund der sehr kleinen Fallzahlen zeigen die Zahlenwerte in den Gruppen mit 5 und 6 Dysmorphismen eine große Variabilität.

#### **4.7.2 Extrazytoplasmatische Parameter**

Die Fertilisationsrate sowie der Befruchtungsstatus aller injizierten Metaphase II-Oozyten mit extrazytoplasmatischen Parametern sind in Tabelle 36 dargestellt. Die Einteilung der morphologischen Parameter erfolgte wie unter 4.3. beschrieben. Eine statistische Berechnung wurde nur an regulären Vorkernstadien (2PN) durchgeführt. Für die Vollständigkeit der Angaben sind die prozentualen Anteile an

Nichtbefruchtungen, irregulären Befruchtungen und degenerierten Eizellen in Tabelle 36 mit aufgeführt.

**Tabelle 36: Befruchtungsstatus in Abhängigkeit von den extrazytoplasmatischen Parametern**

| Extrazytoplasmatische Parameter | Anzahl M II-Oozyten | Befruchtungsstatus Metaphase II- Oozyten in % |                        |                        |                                |                             | p-Wert bezogen auf 2PN  |
|---------------------------------|---------------------|---|------------------------|------------------------|--------------------------------|-----------------------------|-------------------------|
|                                 |                     | Regulär (2PN) n= 3344                         | Irregulär (1PN) n= 138 | Irregulär (3PN) n= 200 | Keine Befruchtung (0PN) n= 810 | Degenerierte Oozyten n= 286 |                         |
| <b>1. Polkörper</b>             |                     |   |                        |                        |                                |                             |                         |
| - normal rund                   | 2754                | 70,5 <sup>a</sup>                             | 2,8                    | 4,1                    | 17,4                           | 5,2                         | <sup>a,b</sup> p=0,154  |
| - flach                         | 507                 | 66,3 <sup>b</sup>                             | 3,6                    | 3,2                    | 20,5                           | 6,5                         |                         |
| - fragmentiert                  | 1517                | 70,3  | 2,8                    | 4,7                    | 14,9                           | 7,3                         |                         |
| <b>Auffälligkeiten des PVS</b>  |                     |   |                        |                        |                                |                             |                         |
| - keine                         | 3461                | 71,5 <sup>a</sup>                             | 2,7                    | 3,6                    | 16,8                           | 5,4                         | <sup>a,b</sup> p<0,001* |
| - vorhanden                     | 1317                | 66,1 <sup>b</sup>                             | 3,3                    | 5,8                    | 17,5                           | 7,4                         |                         |
| <b>Symmetrie der Oozyte</b>     |                     |   |                        |                        |                                |                             |                         |
| - rund                          | 4163                | 70,8 <sup>a</sup>                             | 2,9                    | 4,0                    | 16,9                           | 5,5                         | <sup>a,b</sup> p=0,003* |
| - oval, elongiert               | 615                 | 64,7 <sup>b</sup>                             | 2,9                    | 5,2                    | 17,6                           | 9,6                         |                         |

Während die Morphologie des 1. Polkörpers keinen wesentlichen Einfluss auf die reguläre Befruchtungsrate (2PN) ausübt ( $p=0,154$ ), zeigen Auffälligkeiten des perivitellinen Spaltes (stark vergrößert) und der Symmetrie der Oozyte (ovale, elongierte Form) deutlich verminderte Fertilisationsraten (71,5% vs. 66,1% ; $p<0,001$ ) und (70,8% vs. 64,7%;  $p=0,003$ ). Der Anteil degenerierter Oozyten steigt in allen Gruppen mit dem Nachweis eines abnormen extrazytoplasmatischen Merkmals an.

#### 4.7.3 Zytoplasmatische Parameter

In Tabelle 37 sind die Fertilisationsrate sowie der Befruchtungsstatus aller injizierten Metaphase II-Oozyten in Abhängigkeit von den zytoplasmatischen Parametern dargestellt. Die Einteilung erfolgte wie unter 4.3 beschrieben. Eine statistische Berechnung wurde nur an regulären Vorkernstadien (2PN) durchgeführt. Für die Vollständigkeit der Angaben sind die prozentualen Anteile an Nichtbefruchtungen, irregulären Befruchtungen und degenerierten Eizellen für alle injizierten M II-Oozyten in Tabelle 37 mit aufgeführt.

**Tabelle 37: Befruchtungsstatus in Abhängigkeit von den zytoplasmatischen Parametern**

| Zytoplasmatische Parameter               | Anzahl M II-Oozyten | Befruchtungsstatus Metaphase II- Oozyten in % |                        |                        |                                |                             | p-Wert bezogen auf 2PN |
|--|---------------------|---|------------------------|------------------------|--------------------------------|-----------------------------|------------------------|
|  |                     | Regulär (2PN) n= 3344                         | Irregulär (1PN) n= 138 | Irregulär (3PN) n= 200 | Keine Befruchtung (0PN) n= 810 | Degenerierte Oozyten n= 286 |                        |
| <b>Granulierungsgrad des Zytoplasmas</b> |                     |   |                        |                        |                                |                             | a,b,c                  |
| - homogen                                | 3520                | 72,0 <sup>a</sup>                             | 2,7                    | 4,1                    | 16,1                           | 5,0                         | p<0,001*               |
| -zentrales Areal                         | 992                 | 65,5 <sup>b</sup>                             | 3,5                    | 4,0                    | 19,9                           | 7,1                         |                        |
| - vollgranuliert                         | 266                 | 59,4 <sup>c</sup>                             | 2,6                    | 6,4                    | 16,9                           | 14,7                        |                        |
| <b>Vakuolenbildung</b>                   |                     |   |                        |                        |                                |                             | a,b                    |
| - keine                                  | 4446                | 70,4 <sup>a</sup>                             | 2,9                    | 4,0                    | 17,0                           | 5,7                         | p=0,035*               |
| - vorhanden                              | 332                 | 64,8 <sup>b</sup>                             | 2,7                    | 6,3                    | 16,9                           | 9,3                         |                        |
| <b>Refraktile Körper</b>                 |                     |   |                        |                        |                                |                             | a,b,c                  |
| - keine                                  | 2847                | 71,4 <sup>a</sup>                             | 3,1                    | 4,3                    | 15,2                           | 6,0                         | p=0,029*               |
| - kleine                                 | 1404                | 67,9 <sup>b</sup>                             | 2,4                    | 4,6                    | 18,5                           | 6,7                         |                        |
| - große                                  | 527                 | 67,7 <sup>c</sup>                             | 3,4                    | 2,8                    | 22,2                           | 3,8                         |                        |

Wie aus Tabelle 37 hervorgeht, nimmt die Fertilisationsrate (2PN) mit der Zunahme des Granulierungsgrades des Zytoplasmas signifikant ab (72,0% auf 59,4%;  $p < 0,001$ ), dagegen steigt der Anteil degenerierter Oozyten in dieser Gruppe merklich an (5,0% auf 14,7%). Mit der Ausbildung von Vakuolen im Zytoplasma sinkt die Befruchtungsrate deutlich ab ( $p = 0,035$ ), der Anteil degenerierter Oozyten erhöht sich von 5,7% auf 9,3%. Das Vorhandensein refraktiler Körper führt zu einer klar verminderten Fertilisationsrate ( $p = 0,029$ ). Die Größe der refraktilen Körper hat offensichtlich auf die Befruchtungsrate keine Auswirkung, jedoch auf den Anteil an Nichtbefruchtungen, der mit zunehmender Größe ansteigt (15,2% auf 22,2%).

#### **4.8 Einfluss der Eizellmorphismen auf die Fertilisationsraten (2PN) in Abhängigkeit von der ovariellen Stimulation**

##### **4.8.1 Gonadotropinmedikation**

Der Einfluss auf die Fertilisationsrate extrazytoplasmatischer und zytoplasmatischer Eizellparameter in Abhängigkeit von der Wahl des Gonadotropinpräparates ist in den Tabellen 38 und 39 dargestellt. In diese Untersuchung wurden die 5 Medikationen aufgenommen, die aufgrund ihrer Oozytenanzahl eine statistische Berechnung zulassen.

**Tabelle 38: Einfluss der extrazytoplasmatischen Eizelldysmorphismen auf die Fertilisationsraten (2PN) in Abhängigkeit von der Gonadotropinmedikation**

|                                       |                              | <b>Fertilisationsrate in % bezogen auf die Anzahl M II-Oozyten</b><br>[absolute Zahlen in Klammern]             |   |   |
|---------------------------------------|------------------------------|---|---|---|
| <b>Gonadotropin-medikation</b>        | <b>Anzahl M II-Oozyten n</b> | <b>1. Polkörper (1,2,3)<sup>°</sup></b>   | <b>Auffälligkeiten des PVS (4,5)<sup>°</sup></b>                          | <b>Symmetrie der Oozyte (6,7)<sup>°</sup></b>                             |
| <b>Menotropin</b>                     | <b>324</b>                   | (1) <sup>°</sup> <b>72,3</b> [181]<br>(2) <sup>°</sup> <b>75,4</b> [65]<br>(3) <sup>°</sup> <b>67,9</b> [78]    | (4) <sup>°</sup> <b>71,2</b> [249]<br>(5) <sup>°</sup> <b>74,7</b> [75]   | (6) <sup>°</sup> <b>72,2</b> [295]<br>(7) <sup>°</sup> <b>69,0</b> [29]   |
| <b>p-Wert</b>                         |                              | <b>p=0,603</b>  | <b>p=0,667</b>  | <b>p=0,673</b>  |
| <b>Follitropin beta</b>               | <b>514</b>                   | (1) <sup>°</sup> <b>67,3</b> [263]<br>(2) <sup>°</sup> <b>64,3</b> [56]<br>(3) <sup>°</sup> <b>74,4</b> [195]   | (4) <sup>°</sup> <b>71,0</b> [424]<br>(5) <sup>°</sup> <b>65,6</b> [90]   | (6) <sup>°</sup> <b>69,1</b> [466]<br>(7) <sup>°</sup> <b>79,2</b> [48]   |
| <b>p-Wert</b>                         |                              | <b>p=0,107</b>  | <b>p=0,313</b>  | <b>p=0,185</b>  |
| <b>Follitropin alpha</b>              | <b>2323</b>                  | (1) <sup>°</sup> <b>71,0</b> [1302]<br>(2) <sup>°</sup> <b>68,8</b> [218]<br>(3) <sup>°</sup> <b>70,7</b> [803] | (4) <sup>°</sup> <b>73,1</b> [1633]<br>(5) <sup>°</sup> <b>64,9</b> [690] | (6) <sup>°</sup> <b>71,6</b> [1973]<br>(7) <sup>°</sup> <b>65,7</b> [350] |
| <b>p-Wert</b>                         |                              | <b>p=0,810</b>  | <b>p&lt;0,001*</b>  | <b>p=0,030*</b>   |
| <b>Urofollitropin</b>                 | <b>624</b>                   | (1) <sup>°</sup> <b>69,3</b> [336]<br>(2) <sup>°</sup> <b>53,7</b> [82]<br>(3) <sup>°</sup> <b>63,1</b> [206]   | (4) <sup>°</sup> <b>66,7</b> [459]<br>(5) <sup>°</sup> <b>61,2</b> [165]  | (6) <sup>°</sup> <b>66,7</b> [549]<br>(7) <sup>°</sup> <b>54,7</b> [75]   |
| <b>p-Wert</b>                         |                              | <b>p=0,021*</b>   | <b>p=0,216</b>  | <b>p=0,05</b>   |
| <b>Follitropin alpha + Menotropin</b> | <b>728</b>                   | (1) <sup>°</sup> <b>70,9</b> [502]<br>(2) <sup>°</sup> <b>69,2</b> [65]<br>(3) <sup>°</sup> <b>71,4</b> [161]   | (4) <sup>°</sup> <b>72,1</b> [491]<br>(5) <sup>°</sup> <b>68,4</b> [237]  | (6) <sup>°</sup> <b>71,8</b> [638]<br>(7) <sup>°</sup> <b>64,4</b> [90]   |
| <b>p-Wert</b>                         |                              | <b>p=0,947</b>  | <b>p=0,298</b>  | <b>p=0,173</b>  |

(1)<sup>°</sup>normal rund (4)<sup>°</sup>keine (6)<sup>°</sup>rund  
(2)<sup>°</sup>flach (5)<sup>°</sup>v orhanden (7)<sup>°</sup>oval,elongiert  
(3)<sup>°</sup>fragmentiert

Während die Fertilisationsraten in Abhängigkeit von der Morphologie des 1. Polkörpers nach Applikation von Menotropin, der Gabe rekombinanter Gonadotropine und nach Kombinationstherapie mit Follitropin alpha plus Menotropin unbeeinflusst bleiben, zeigt die Gabe von Urofollitropin eine signifikante Verminderung der Befruchtungsraten bei Oozyten mit flachen (69,3% auf 53,7%) oder fragmentierten 1. Polkörpern (69,3% auf 63,1%; p=0,021).

Der Nachweis eines großen perivitellinen Spaltes oder perivitelliner Fragmente führt zur Abnahme der Befruchtungsraten in allen untersuchten Gruppen mit Ausnahme von Menotropin. Diese Verminderung der Fertilisationsrate in Abhängigkeit von der Morphologie des perivitellinen Spaltes ist nach Follitropin alpha - Medikation signifikant (73,1% auf 64,9%; p<0,001). Abweichungen von der runden Eizellform spiegeln deutlich niedrigere Fertilisationsraten in allen untersuchten Gruppen wider (Ausnahme: Follitropin beta). Die Abnahme der Befruchtungsraten bei oval oder elongiert geformten

Oozyten zeigt eine Signifikanz von  $p=0,030$  nach Applikation von Follitropin alpha und eine stark ausgeprägte Tendenz nach Gabe von Urofollitropin ( $p=0,05$ ). Wiederholt niedriger liegen die Befruchtungsraten nach Applikation von Urofollitropin bei Oozyten mit normal großem perivitellinen Spalt (66,7% vs. 71,0%-73,1%) sowie einer normal runden Form der Eizelle (66,7% vs. 69,1%-72,2%) gegenüber den Vergleichsgonadotropinen.

Der Einfluss auf die Fertilisationsrate zytoplasmatischer Eizellparameter in Abhängigkeit von der Wahl des Gonadotropinpräparates ist in Tabelle 39 zusammengefasst.

**Tabelle 39: Einfluss der zytoplasmatischen Eizeldysmorphismen auf die Fertilisationsraten (2PN) in Abhängigkeit von der Gonadotropinmedikation**

|                                       |                              | <b>Fertilisationsrate in % bezogen auf die Anzahl M II-Oozyten</b><br>[absolute Zahlen in Klammern] |   |   |
|---------------------------------------|------------------------------|---|---|---|
| <b>Gonadotropinmedikation</b>         | <b>Anzahl M II-Oozyten n</b> | <b>Granulierungsgrad des Zytoplasmas (1,2,3)°</b>   | <b>Vakuolenbildung (4,5)°</b>                     | <b>Refraktile Körper (6,7,8)°</b>   |
| <b>Menotropin</b>                     | <b>324</b>                   | (1)° <b>73,9</b> [234]<br>(2)° <b>68,8</b> [77]<br>(3)° <b>46,2</b> [13]                            | (4)° <b>72,3</b> [308]<br>(5)° <b>62,5</b> [16]   | (6)° <b>72,4</b> [225]<br>(7)° <b>70,9</b> [86]<br>(8)° <b>69,2</b> [13]    |
| <b>p-Wert</b>                         |                              | <b>p= 0,074</b>   | <b>p= 0,401</b>                                   | <b>p= 0,944</b>   |
| <b>Follitropin beta</b>               | <b>514</b>                   | (1)° <b>72,3</b> [401]<br>(2)° <b>61,4</b> [88]<br>(3)° <b>64,0</b> [25]                            | (4)° <b>69,1</b> [475]<br>(5)° <b>82,1</b> [39]   | (6)° <b>73,5</b> [378]<br>(7)° <b>60,7</b> [122]<br>(8)° <b>57,1</b> [14]   |
| <b>p-Wert</b>                         |                              | <b>p= 0,101</b>   | <b>p= 0,103</b>                                   | <b>p= 0,015*</b>  |
| <b>Follitropin alpha</b>              | <b>2323</b>                  | (1)° <b>71,4</b> [1729]<br>(2)° <b>70,9</b> [450]<br>(3)° <b>61,1</b> [144]                         | (4)° <b>71,1</b> [2160]<br>(5)° <b>65,0</b> [163] | (6)° <b>73,0</b> [1391]<br>(7)° <b>67,3</b> [689]<br>(8)° <b>66,7</b> [243] |
| <b>p-Wert</b>                         |                              | <b>p= 0,033*</b>  | <b>p= 0,108</b>                                   | <b>p= 0,009*</b>  |
| <b>Urofollitropin</b>                 | <b>624</b>                   | (1)° <b>66,8</b> [400]<br>(2)° <b>63,6</b> [176]<br>(3)° <b>58,3</b> [48]                           | (4)° <b>65,2</b> [584]<br>(5)° <b>65,0</b> [40]   | (6)° <b>65,2</b> [394]<br>(7)° <b>64,7</b> [190]<br>(8)° <b>67,5</b> [40]   |
| <b>p-Wert</b>                         |                              | <b>p= 0,447</b>   | <b>p= 1,0</b>                                     | <b>p= 0,946</b>   |
| <b>Follitropin alpha + Menotropin</b> | <b>728</b>                   | (1)° <b>75,0</b> [537]<br>(2)° <b>60,0</b> [160]<br>(3)° <b>54,8</b> [31]                           | (4)° <b>72,1</b> [673]<br>(5)° <b>56,4</b> [55]   | (6)° <b>69,1</b> [285]<br>(7)° <b>73,9</b> [253]<br>(8)° <b>69,5</b> [190]  |
| <b>p-Wert</b>                         |                              | <b>p&lt;0.001*</b>  | <b>p= 0,020*</b>                                  | <b>p= 0,420</b>   |

(1)°homogen (4)°keine (6)° keine  
 (2)°zentrales Areal (5)°vorhanden (7)° kleine  
 (3)°vollgranuliert (8)° große.

Der zunehmende Granulierungsgrad des Zytoplasmas zeigt in allen untersuchten Gruppen eine deutliche Verminderung der Fertilisationsrate, die signifikante Werte nach Applikation von Follitropin alpha (71,4% auf 61,1%;  $p=0,033$ ) und nach einer Kombinationstherapie von Follitropin alpha mit Menotropin (75,0% auf 54,8%;  $p<0,001$ ) aufweisen. Eine tendenzielle Abnahme der Befruchtungsraten in Abhängigkeit vom Granulierungsgrad des Zytoplasmas zeigen Oozyten nach Menotropin- und Follitropin beta-Medikation ( $p=0,074$ ;  $p=0,101$ ). Aufgrund der an sich stark verminderten

Befruchtungsrate von 66,8% bei Oozyten mit homogenem Ooplasma nach Urofollitropinapplikation ist die Abnahme befruchteter Oozyten in Abhängigkeit des Granulierungsgrades des Zytoplasmas nicht signifikant ( $p=0,447$ ). Das Entstehen von Vakuolen in den Oozyten geht mit einer deutlichen Reduktion der Befruchtungsrate einher (Ausnahme: Follitropin beta). Diese Verminderung ist nach Gabe von Follitropin alpha mit Menotropin signifikant (72,1% auf 56,4%;  $p=0,020$ ) oder zeigt eine deutliche Tendenz bei Follitropin alpha (71,1% auf 65,0% ;  $p= 0,108$ ). Die erhöhte Befruchtungsrate von 82,1% bei Oozyten mit Vakuolen nach einer Follitropin beta - Medikation könnte durch die geringe Eizellzahl mit Vakuolenbildung ( $n=39$ ) bedingt sein. Das Auftreten refrakter Körper zeigt einen gonadotropinabhängigen Effekt auf die Fertilisationsrate. So ist bei Anwendung der rekombinant hergestellten Gonadotropine Follitropin beta und alpha die Befruchtungsrate mit 73,5% bzw. 73,0% signifikant höher, wenn keine refraktilen Körper vorliegen, gegenüber der Rate bei Vorhandensein kleiner und großer Körper (60,7% und 57,1% bzw. 67,3% und 66,7%). Eine Urofollitropingabe unterscheidet sich - bezogen auf alle morphologischen Kriterien - in einer auffällig niedrigeren Fertilisationsrate von den Vergleichsmedikationen.

#### **4.8.2 Stimulationsregime**

Der Einfluss auf die Fertilisationsrate extrazytoplasmatischer und zytoplasmatischer Eizellparameter in Abhängigkeit von der Wahl des Stimulationsschemas wird in den Tabellen 40 und 41 dargestellt. Sechzehn verschiedene Therapiemöglichkeiten (Therapiekombinationen mit mehr als 8 Behandlungszyklen) wurden in die Auswertung einbezogen. Die statistische Berechnung erfolgte in der Gesamtheit zwischen verabreichtem Gonadotropin und GnRH-Analogen. Eine einzelne Bewertung der jeweiligen Therapieformen konnte, veranlasst durch die zu kleinen Fallzahlen, nicht durchgeführt werden.

**Tabelle 40: Einfluss der extrazytoplasmatischen Eizelldysmorphismen auf die Fertilisationsraten (2PN) in Abhängigkeit vom Stimulationsschema**

|  |                       | Fertilisationsrate in % bezogen auf die Anzahl M II-Oozyten [absolute Zahlen in Klammern]                       |   |   |
|--|-----------------------|---|---|---|
| Stimulations-schemata<br>(Gonadotropin+ GnRH-Analogen) | Anzahl M II-Oozyten n | 1. Polkörper<br>(1,2,3) <sup>o</sup>  | Auffälligkeiten<br>des PVS<br>(4,5) <sup>o</sup>                          | Symmetrie<br>der Oozyte<br>(6,7) <sup>o</sup>                             |
| <b>Menotropin (+1; +2; +5)</b>                         | <b>310</b>            | (1) <sup>o</sup> <b>72,4</b> [203]<br>(2) <sup>o</sup> <b>77,4</b> [62]<br>(3) <sup>o</sup> <b>71,1</b> [45]    | (4) <sup>o</sup> <b>73,0</b> [256]<br>(5) <sup>o</sup> <b>74,1</b> [54]   | (6) <sup>o</sup> <b>73,5</b> [291]<br>(7) <sup>o</sup> <b>68,4</b> [19]   |
| <b>p-Wert</b>  |                       | <b>p=0,695</b>  | <b>p=1,0</b>  | <b>p=0,601</b>  |
| <b>Follitropin beta (+1; +2; +4)</b>                   | <b>488</b>            | (1) <sup>o</sup> <b>66,8</b> [244]<br>(2) <sup>o</sup> <b>63,5</b> [52]<br>(3) <sup>o</sup> <b>75,0</b> [192]   | (4) <sup>o</sup> <b>70,5</b> [414]<br>(5) <sup>o</sup> <b>64,9</b> [74]   | (6) <sup>o</sup> <b>68,8</b> [442]<br>(7) <sup>o</sup> <b>78,3</b> [46]   |
| <b>p-Wert</b>  |                       | <b>p=0,107</b>  | <b>p=0,339</b>  | <b>p=0,238</b>  |
| <b>Follitropin alpha (+1; +2; +3; +4; +5)</b>          | <b>2320</b>           | (1) <sup>o</sup> <b>71,0</b> [1302]<br>(2) <sup>o</sup> <b>68,8</b> [218]<br>(3) <sup>o</sup> <b>70,8</b> [800] | (4) <sup>o</sup> <b>73,1</b> [1631]<br>(5) <sup>o</sup> <b>64,9</b> [689] | (6) <sup>o</sup> <b>71,6</b> [1971]<br>(7) <sup>o</sup> <b>65,6</b> [349] |
| <b>p-Wert</b>  |                       | <b>p=0,809</b>  | <b>p&lt;0,001*</b>  | <b>p=0,026*</b>   |
| <b>Urofollitropin (+1; +2; +4)</b>                     | <b>559</b>            | (1) <sup>o</sup> <b>69,5</b> [295]<br>(2) <sup>o</sup> <b>51,3</b> [76]<br>(3) <sup>o</sup> <b>62,8</b> [188]   | (4) <sup>o</sup> <b>66,3</b> [416]<br>(5) <sup>o</sup> <b>60,1</b> [143]  | (6) <sup>o</sup> <b>66,5</b> [490]<br>(7) <sup>o</sup> <b>52,2</b> [69]   |
| <b>p-Wert</b>  |                       | <b>p=0,010*</b>   | <b>p=0,188</b>  | <b>p=0,022*</b>   |
| <b>Follitropin alpha + Menotropin (+3; +5)</b>         | <b>647</b>            | (1) <sup>o</sup> <b>70,5</b> [447]<br>(2) <sup>o</sup> <b>72,0</b> [50]<br>(3) <sup>o</sup> <b>70,7</b> [150]   | (4) <sup>o</sup> <b>71,5</b> [424]<br>(5) <sup>o</sup> <b>69,1</b> [223]  | (6) <sup>o</sup> <b>71,5</b> [561]<br>(7) <sup>o</sup> <b>65,1</b> [86]   |
| <b>p-Wert</b>  |                       | <b>p=0,975</b>  | <b>p=0,526</b>  | <b>p=0,253</b>  |

(1)<sup>o</sup> normal rund  
(2)<sup>o</sup> flach  
(3)<sup>o</sup> fragmentiert  
(4)<sup>o</sup> keine  
(5)<sup>o</sup> vorhanden  
(6)<sup>o</sup> rund  
(7)<sup>o</sup> oval, elongiert

GnRH-Analoga: 1= Triptorelinacetat; 2= Leuprorelinacetat; 3= Leuprorelinacetat – Depot;  
4= Nafarelinacetat; 5= Cetrorelixacetat

Wie aus Tabelle 40 hervorgeht, zeigen die abnormen Formen (flach oder fragmentiert) des 1. Polkörpers nur in Verbindung mit einer Urofollitropintherapie einen deutlichen Unterschied in der Fertilisationsrate ( $p=0,010$ ). Die Befruchtungsrate bei Eizellen mit fragmentierten 1. Polkörper ist bei einer Follitropin beta - Applikation tendenziell höher im Vergleich zu Oozyten mit einem normal runden 1. Polkörper (75,0% vs. 66,8%;  $p=0,107$ ). Abweichungen in der Größe und Struktur des perivitellinen Spaltes führen in den untersuchten Gruppen zu niedrigeren Fertilisationsraten (Ausnahme: Menotropin). Diese Verminderung in der Befruchtungsrate ist bei einer Follitropin alpha - Therapie signifikant (73,1% auf 64,9%;  $p<0,001$ ).

Eine elliptische oder ovale Eizellform hat einen negativen Einfluss auf den regulären Befruchtungsprozess und zeigt deutlich verminderte Werte nach Gabe von Follitropin

alpha (71,6% auf 65,6%; p=0,026) und Urofollitropin (66,5% auf 52,2%; p=0,022) an. Die ansteigende Fertilisationsrate von 68,8% auf 78,3% nach Follitropin beta – Applikation bei Eizellen mit einer ovalen Form liegt in der kleinen Oozytenzahl (n=46) begründet.

**Tabelle 41: Einfluss der zytoplasmatischen Eizeldysmorphismen auf die Fertilisationsraten (2PN) in Abhängigkeit vom Stimulationsschema**

| Stimulationsschema<br>(Gonadotropin+<br>GnRH-Analogon) | Anzahl M II-Oozyten n | Fertilisationsrate in % bezogen auf die Anzahl M II-Oozyten [absolute Zahlen in Klammern]                       |   |   |
|--|-----------------------|---|---|---|
|  |                       | Granulierungsgrad des Zytoplasmas (1,2,3) <sup>°</sup>  | Vakuolenbildung (4,5) <sup>°</sup>  | Refraktile Körper (6,7,8) <sup>°</sup>  |
| <b>Menotropin (+1; +2; +5)</b>                         | <b>310</b>            | (1) <sup>°</sup> <b>76,4</b> [246]<br>(2) <sup>°</sup> <b>65,4</b> [52]<br>(3) <sup>°</sup> <b>41,7</b> [12]    | (4) <sup>°</sup> <b>73,6</b> [296]<br>(5) <sup>°</sup> <b>64,3</b> [14]   | (6) <sup>°</sup> <b>73,8</b> [221]<br>(7) <sup>°</sup> <b>73,1</b> [78]<br>(8) <sup>°</sup> <b>63,6</b> [11]    |
| <b>p-Wert</b>  |                       | <b>p=0,011*</b>   | <b>p=0,536</b>  | <b>p=0,760</b>  |
| <b>Follitropin beta (+1; +2; +4)</b>                   | <b>488</b>            | (1) <sup>°</sup> <b>71,7</b> [385]<br>(2) <sup>°</sup> <b>61,5</b> [78]<br>(3) <sup>°</sup> <b>64,0</b> [25]    | (4) <sup>°</sup> <b>68,6</b> [449]<br>(5) <sup>°</sup> <b>82,1</b> [39]   | (6) <sup>°</sup> <b>73,5</b> [370]<br>(7) <sup>°</sup> <b>58,3</b> [108]<br>(8) <sup>°</sup> <b>50,0</b> [10]   |
| <b>p-Wert</b>  |                       | <b>p=0,168</b>  | <b>p=0,101</b>  | <b>p=0,004*</b>   |
| <b>Follitropin alpha (+1; +2; +3; +4; +5)</b>          | <b>2320</b>           | (1) <sup>°</sup> <b>71,4</b> [1728]<br>(2) <sup>°</sup> <b>70,8</b> [449]<br>(3) <sup>°</sup> <b>61,5</b> [143] | (4) <sup>°</sup> <b>71,1</b> [2158]<br>(5) <sup>°</sup> <b>65,4</b> [162] | (6) <sup>°</sup> <b>73,0</b> [1389]<br>(7) <sup>°</sup> <b>67,3</b> [689]<br>(8) <sup>°</sup> <b>66,9</b> [242] |
| <b>p-Wert</b>  |                       | <b>p=0,045*</b>   | <b>p=0,129</b>  | <b>p=0,011*</b>   |
| <b>Urofollitropin (+1; +2; +4)</b>                     | <b>559</b>            | (1) <sup>°</sup> <b>66,3</b> [353]<br>(2) <sup>°</sup> <b>61,7</b> [162]<br>(3) <sup>°</sup> <b>63,6</b> [44]   | (4) <sup>°</sup> <b>64,4</b> [525]<br>(5) <sup>°</sup> <b>70,6</b> [34]   | (6) <sup>°</sup> <b>65,6</b> [372]<br>(7) <sup>°</sup> <b>62,3</b> [162]<br>(8) <sup>°</sup> <b>68,0</b> [25]   |
| <b>p-Wert</b>  |                       | <b>p=0,595</b>  | <b>p=0,579</b>  | <b>p=0,726</b>  |
| <b>Follitropin alpha + Menotropin (+3; +5)</b>         | <b>647</b>            | (1) <sup>°</sup> <b>75,2</b> [471]<br>(2) <sup>°</sup> <b>59,9</b> [147]<br>(3) <sup>°</sup> <b>51,7</b> [29]   | (4) <sup>°</sup> <b>71,8</b> [593]<br>(5) <sup>°</sup> <b>57,4</b> [54]   | (6) <sup>°</sup> <b>68,7</b> [233]<br>(7) <sup>°</sup> <b>73,8</b> [233]<br>(8) <sup>°</sup> <b>69,1</b> [181]  |
| <b>p-Wert</b>  |                       | <b>p&lt; 0,001*</b>   | <b>p=0,029*</b>   | <b>p=0,409</b>  |

(1)<sup>°</sup>homogen (4)<sup>°</sup>keine (6)<sup>°</sup> keine  
(2)<sup>°</sup>zentrales Areal (5)<sup>°</sup>vorhanden (7)<sup>°</sup> kleine  
(3)<sup>°</sup>vollgranuliert (8)<sup>°</sup> große

GnRH-Analoga: 1= Triptorelinacetat; 2= Leuprorelinacetat; 3= Leuprorelinacetat – Depot;  
4= Nafarelinacetat; 5= Cetorelixacetat

Der zunehmende Granulierungsgrad des Zytoplasmas (Tab. 41) zeigt in allen untersuchten Stimulationsschemata eine deutliche Verminderung der Fertilisationsraten, deren Signifikanz in den Gruppierungen Menotropin (76,4% auf 41,7%; p=0,011), Follitropin alpha (71,4% auf 61,5%; p=0,045) und Follitropin alpha plus Menotropin (75,2% auf 51,7%; p<0,001) belegt ist. Auffällig sind vor allem die niedrigen Fertilisationswerte bei vollgranulierten Oozyten nach Menotropin- und Follitropin alpha plus Menotropin-Medikation (41,7%, 51,7%). Die Vakuolenbildung in den M II-Oozyten bewirkt nur bei der Kombinationstherapie von Follitropin alpha mit Menotropin einen signifikanten Abfall in der Befruchtungsrate (71,8% auf 57,4%;

p=0,029). Die Zunahme befruchteter Oozyten, die nach einer Follitropin beta-Stimulation Vakuolen aufweisen (68,6% auf 82,1%), dürfte auf die kleine Zahl an Oozyten (n=39) zurückzuführen sein. Das Vorhandensein und die Größe refrakter Körper haben einen negativen Einfluss auf den Befruchtungsprozess nach einer Stimulationstherapie mit Follitropin beta und alpha (73,5% auf 50,0%; 73,0% auf 66,9%). Die Verminderung der Fertilisationsraten ist bei beiden Medikationen signifikant (p=0,004; p=0,011). Eine Stimulationstherapie mit Urofollitropin zeigt wiederholt deutlich abfallende Befruchtungsraten in Abhängigkeit von den als normal festgesetzten zytoplasmatischen Parametern gegenüber den Vergleichstherapien. So fanden sich bei Urofollitropin Fertilisationsraten für Oozyten mit homogenem Zytoplasma von 66,3%, für Oozyten ohne Vakuolen von 64,4% und für Oozyten ohne refraktile Körper von 65,6%. Vergleichbare Ergebnisse wurden auch nach alleiniger Betrachtung der Gonadotropinpräparate beobachtet (s. Tabelle 39). Offensichtlich hat das Präparat Urofollitropin eine negative Auswirkung auf den Befruchtungsprozess.

#### **4.9 Einflussfaktoren auf den Entwicklungsstatus der Embryonen**

In 562 Behandlungszyklen konnte ein Embryonentransfer durchgeführt werden. Durchschnittlich wurden 2,14 Embryonen pro Patientin transferiert. Nachfolgende Ergebnisse zeigen, ob die ovarielle Stimulation einen Einfluss auf die Embryonenqualität ausübt. Es wurden in 31 Zyklen 1 Embryo, in 421 Behandlungszyklen 2 Embryonen und in 110 Zyklen 3 Embryonen transferiert. Um eine statistische Auswertung hinsichtlich der Beurteilung der ovariellen Stimulation durchführen zu können, wurde die Gruppe mit 2 Embryonen ausgewählt. Die Einteilung der Embryonen erfolgte anhand des Entwicklungsgrades und ihrer Morphologie in regulär und irregulär. Tabelle 42 gibt eine Übersicht über die Anzahl und die Qualität der Embryonen zum Zeitpunkt des Embryotransfers. In zwei Behandlungszyklen erfolgte kein Transfer aufgrund einer ausgebliebenen Befruchtung.

Tabelle 42: Anzahl und Qualität der übertragenen Embryonen pro Zyklus

| Embryonenqualität/ ET                      | Anzahl Embryonen / Transferzyklus |           |            |            |                  |
|--|-----------------------------------|-----------|------------|------------|------------------|
|  | 0                                 | 1         | 2          | 3          | Anteil in %      |
| Kein Transfer                              | 2                                 | 0         | 0          | 0          | 0,4              |
| 1 Embryo regulär                           | 0                                 | 19        | 0          | 0          | 3,4              |
| 1 Embryo irregulär                         | 0                                 | 12        | 0          | 0          | 2,1              |
| 2 Embryonen regulär                        | 0                                 | 0         | 235        | 0          | 41,7             |
| 2 Embryonen irregulär                      | 0                                 | 0         | 68         | 0          | 12,1             |
| 1 Embryo regulär/<br>1 Embryo irregulär    | 0                                 | 0         | 118        | 0          | 20,9             |
| 3 Embryonen regulär                        | 0                                 | 0         | 0          | 36         | 6,4              |
| 3 Embryonen irregulär                      | 0                                 | 0         | 0          | 8          | 1,4              |
| 1 Embryo regulär/<br>2 Embryonen irregulär | 0                                 | 0         | 0          | 20         | 3,5              |
| 2 Embryonen regulär/<br>1 Embryo irregulär | 0                                 | 0         | 0          | 46         | 8,2              |
| <b>Gesamt</b>                              | <b>2</b>                          | <b>31</b> | <b>421</b> | <b>110</b> | <b>564/ 100%</b> |

Wie aus Tabelle 42 hervorgeht, überwiegt die Anzahl regulärer Embryonen zum Zeitpunkt der Rückgabe in den Uterus der Patientin. In 421 Behandlungszyklen (entspricht 75% aller Zyklen) wurden zwei Embryonen transferiert, in 41,7% waren es zwei reguläre Embryonen, in 20,9% der Behandlungszyklen waren es ein regulärer Embryo zusammen mit einem irregulär entwickelten Embryo. Die Rückgabe von 3 Embryonen erfolgte in ca. 20 % aller Behandlungszyklen. In 6,4% waren es reguläre Embryonen und in 8,2 % 2 reguläre Embryonen kombiniert mit einem irregulär entwickelten Embryo.

#### 4.9.1 GnRH-Protokoll

Tabelle 43 zeigt den Einfluss des GnRH-Protokolls auf die Qualität der transferierten Embryonen (Anzahl zum Transfer: 2). Es wurden das lange Agonistenprotokoll und die Antagonistenapplikation in die statistische Auswertung einbezogen.

Tabelle 43: Einfluss des GnRH-Protokolls auf die Embryonenqualität

| GnRH-Protokollform                   | Qualitativer Anteil transferierter Embryonen in % |                               |               |
|--------------------------------------|---|-------------------------------|---------------|
|                                      | 2 x regulär                                       | 1 x regulär/<br>1 x irregulär | 2 x irregulär |
| Agonist<br>Langes Protokoll<br>n=277 | 52,7  | 29,2                          | 18,1          |
| Antagonist<br>n=137                  | 62,0  | 24,8                          | 13,1          |
| p-Wert                               | p= 0,180  |                               |               |

Durch die Antagonistentherapie mit Cetrorelixacetat konnten deutlich mehr reguläre Embryonen transferiert (62,0% vs. 52,7%) und im Vergleich zum Agonistenprotokoll weniger abnorm aussehende Embryonen zurückgegeben werden (24,8% vs. 29,2%; 13,1% vs. 18,1%). Dieser Unterschied ist jedoch nicht signifikant.

#### 4.9.2 Gonadotropinmedikation

Inwieweit sich die Wahl verschiedener Gonadotropinmedikationen auf die Qualität der Embryonen (Anzahl zum Transfer: 2) auswirkt zeigt Tabelle 44. Für die statistische Auswertung wurden die 5 meist angewandten Hormonpräparate und Kombinationen herangezogen.

**Tabelle 44: Einfluss der Gonadotropinmedikation auf die Embryonenqualität**

| Gonadotropin-medikation        | Zyklen mit 2 Embryonen | Qualitativer Anteil transferierter Embryonen in % |                            |                                 |
|--------------------------------|------------------------|---|----------------------------|---------------------------------|
|                                |                        | 2 x regulär (Kategorie „A,B“)                     | 1 x regulär/ 1 x irregulär | 2 x irregulär (Kategorie „C,D“) |
| Menotropin                     | 32                     | 68,8  | 12,5                       | 18,8                            |
| Follitropin beta               | 44                     | 59,1  | 29,5                       | 11,4                            |
| Follitropin alpha              | 216                    | 57,4  | 27,3                       | 15,3                            |
| Urofollitropin                 | 36                     | 52,8  | 36,1                       | 11,1                            |
| Follitropin alpha + Menotropin | 76                     | 51,3  | 28,9                       | 19,7                            |
| p-Wert                         |                        | p= 0,526  |                            |                                 |

Der Tabelle 44 ist zu entnehmen, dass im Falle der untersuchten Gonadotropine in mehr als der Hälfte aller Zyklen Embryonen der Kategorie „A“ oder „B“ zurückgegeben wurden. Hervorzuheben sind die Applikationen von Menotropin, Follitropin beta und alpha, da hier die Anteile regulär entwickelter Embryonen über oder annähernd 60 % erreichen. Der Anteil Kategorie „A“ und „B“- Embryonen ist nach der Kombinationstherapie von Follitropin alpha plus Menotropin (51,3%) und nach Urofollitropingabe deutlich vermindert (52,8%); dagegen steigt die Transferrate des urinären FSH-Monopräparates auf 36,1% an, wenn 1 regulärer Embryo mit einem irregulären kombiniert zurückgesetzt wurde. Der Anteil sich abnorm entwickelter Embryonen (Kategorie „C“ und „D“-Embryonen) zeigt deutlich höhere Werte bei einer alleinigen Menotropinmedikation oder in Kombination mit Follitropin alpha (18,8%; 19,7%). Einen signifikanten Einfluss der Gonadotropinpräparate auf die Qualität der Embryonen wurde nicht beobachtet (p=0,528).

### 4.9.3 Stimulationsregime

Die Therapieschemata wurden in 5 Gruppen in Abhängigkeit des angewandten Gonadotropins zusammengefasst, um statistisch relevante Zahlen zu erhalten. Dennoch war die Angabe eines p-Wertes aufgrund der unterschiedlich niedrigen Fallzahlen in jeder Gruppe nicht möglich. Der prozentuale Einfluss der Stimulationsschemata auf die Entwicklung der Embryonen (bezogen auf die Gruppe mit 2 transferierten Embryonen) ist in Tabelle 45 dargestellt.

**Tabelle 45: Einfluss der Stimulationsschemata auf die Embryonenqualität**

| Stimulationsschema<br>(Gonadotropin+<br>GnRH-Analagon) | Zyklen mit 2<br>Embryonen | Qualitativer Anteil transferierter<br>Embryonen in % |                               |              |
|--|---------------------------|--|-------------------------------|--------------|
|  |                           | 2x Regulär   | 1 x regulär/<br>1 x irregulär | 2x irregulär |
| <b>Menotropin<br/>(+1; +2; +5)</b>                     | 25                        | 68,0   | 16,0                          | 16,0         |
| <b>Follitropin beta<br/>(+1; +2; +4)</b>               | 40                        | 60,0   | 30,0                          | 10,0         |
| <b>Follitropin alpha<br/>(+1; +2; +3;+4; +5)</b>       | 215                       | 57,7   | 27,4                          | 14,9         |
| <b>Urofollitropin<br/>(+1; +2; +4)</b>                 | 33                        | 51,5   | 39,4                          | 9,1          |
| <b>Follitropin alpha +<br/>Menotropin<br/>(+3; +5)</b> | 70                        | 50,0   | 28,6                          | 21,4         |

GnRH-Analoga: 1= Triptorelinacetat; 2= Leuprorelinacetat; 3= Leuprorelinacetat – Depot;  
4= Nafarelinacetat; 5= Cetrorelixacetat

Vergleichend mit dem Einfluss der angewandten Gonadotropinpräparate zeigen die Stimulationsschemata noch deutlicher ihre Auswirkungen auf die Embryonenqualität.

Der prozentuale Anteil regulärer Embryonen ist nach Urofollitropingabe und der Kombination von Follitropin alpha plus Menotropin auffallend vermindert gegenüber den verbliebenen Therapieschemata (51,5%, 50,0% vs. 68,0%, 60,0%, 57,7%). In ca. 30% aller Behandlungszyklen wurden reguläre und irreguläre Embryonen im Verhältnis von 1:1 transferiert, im Falle von Urofollitropin waren es 39,4% und bei Menotropin nur 16,0%. Der Anteil an Embryonen der Kategorien „C“ und „D“ war nach Anwendung der Kombinationstherapie von Follitropin alpha plus Menotropin auffallend hoch (21,4%).

Da einzelne Behandlungsgruppen Häufigkeiten  $n < 5$  aufwiesen, waren eine statistisch relevante Aussage mit dem Chi-Quadrat-Test und die Angabe eines p-Wertes leider nicht möglich. Erwähnenswert aus diesen, hier nicht extra aufgeführten Berechnungen ist, dass die Applikation von Triptorelinacetat in Kombination mit Menotropin (50,0%), mit Follitropin alpha (45,8%) und mit Urofollitropin (35,7%) zu deutlich weniger regulär

entwickelten Embryonen führte. Die Gabe von Cetrorelixacetat im Zusammenhang mit einer Menotropin- oder Follitropin alpha- Applikation zeigt hinsichtlich des Anteils regulär entwickelter Embryonen Ergebnisse von 85,7% und 63,0%.

#### 4.10 Einflussfaktoren auf die Schwangerschaftsrate

##### 4.10.1 Alter

Das Alter der Patientinnen spielt eine entscheidende Rolle für den Erfolg einer Kinderwunschbehandlung. Tabelle 46 zeigt, inwieweit das Alter die Schwangerschaftsrate in unserer Studie pro Therapiezyklus beeinflusst. Weiterhin wurde die durchschnittliche Anzahl transferierter Embryonen pro Zyklus in den einzelnen Altersgruppen angegeben.

**Tabelle 46: Einfluss des Alters auf die Schwangerschaftsrate**

|  | Altersverteilung        |                         |                         |                         |                      | Zyklen<br>gesamt<br>n=564 |
|--|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|----------------------|---------------------------|
|  | <25<br>Jahre<br>n=18    | 25-29<br>Jahre<br>n=114 | 30-34<br>Jahre<br>n=251 | 35-39<br>Jahre<br>n=159 | >39<br>Jahre<br>n=22 |                           |
| Anzahl transferierter Embryonen/Zyklus | 2,16                    | 2,15                    | 2,12                    | 2,13                    | 2,27                 | 2,14                      |
| Schwanger-<br>schaftsrate in %         | 50,0 <sup>a</sup>       | 33,3                    | 31,1                    | 33,3                    | 13,6 <sup>b</sup>    | 32,1                      |
| p- Wert                                | <sup>a,b</sup> p=0,018* |                         |                         |                         |                      |                           |

Aus Tabelle 46 wird deutlich, dass das Alter der Patientinnen die Schwangerschaftsrate signifikant beeinflusst (p=0,018). Bei Patientinnen, die jünger als 25 Jahre sind, ist die Schwangerschaftsrate mit 50,0% deutlich höher als bei Frauen zwischen 25 und 39 Jahren (31,1% bis 33,3%). Dagegen vermindert sich die Erfolgsrate auf 13,6% bei Frauen, die älter als 39 Jahre sind. In dieser Altersgruppe stieg die Zahl transferierter Embryonen pro Zyklus auf 2,27 gegenüber den Vergleichsgruppen an (2,12 – 2,16).

##### 4.10.2 Body-Mass-Index

Die Bedeutung des BMI unserer Patientinnen für die erzielte Schwangerschaft pro Therapiezyklus ist in Tabelle 47 zusammengefasst.

**Tabelle 47: Einfluss des BMI auf die Schwangerschaftsrate pro Therapiezyklus**

|                                | Verteilung des BMI              |                                      |                                       | Zyklen<br>gesamt<br>n=564 |
|--------------------------------|---------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------|
|                                | <18,5 kg/m <sup>2</sup><br>n=27 | 18,5-24,9 kg/m <sup>2</sup><br>n=412 | 25,0 –29,9 kg/m <sup>2</sup><br>n=125 |                           |
| Schwanger-<br>schaftsrate in % | 33,3                            | 32,0                                 | 32,0                                  | 32,1                      |
| p-Wert                         | p= 0,990                        |                                      |                                       |                           |

Aus Tabelle 47 geht hervor, dass ein Body-Mass-Index  $< 30 \text{ kg/m}^2$  keine Auswirkung auf die Schwangerschaftsrate pro Therapiezyklus in unserer Patientenklientel hat ( $p=0,990$ ).

#### 4.10.3 Vorbehandlung

In Tabelle 48 ist der Einfluss vorab durchgeführter Therapieversuche auf den Erfolg einer erneuten Kinderwunschbehandlung im Vergleich zu Behandlungszyklen ohne Vorbehandlungen dargestellt. In 23 Behandlungszyklen wurden keine Angaben zur Anzahl an Vorbehandlungen dokumentiert.

**Tabelle 48: Einfluss vorangegangener Therapieversuche auf die Schwangerschaftsrate pro Therapiezyklus**

|                           | Anzahl an Vorversuchen  |                       |                      |                      |                        |
|---------------------------|---|-----------------------|----------------------|----------------------|------------------------|
|                           | Vorzyklen: 0<br>n=267   | Vorzyklen: 1<br>n=160 | Vorzyklen: 2<br>n=86 | Vorzyklen: 3<br>n=28 | Zyklen gesamt<br>n=541 |
| Schwangerschaftsrate in % | 37,1 <sup>a</sup>   | 32,5                  | 22,1 <sup>b</sup>    | 21,4                 | 32,5                   |
| p-Wert                    | p= 0,039* bezogen auf alle untersuchten Gruppen<br><sup>a,b</sup> p= 0,012* (exakter Fisher-Test) |                       |                      |                      |                        |

Wie aus der Tabelle 48 ersichtlich spielt die Zahl vorangegangener Behandlungszyklen eine entscheidende Rolle bei der Erzielung einer Schwangerschaft. Die Schwangerschaftsrate vermindert sich signifikant mit steigender Anzahl vorangegangener Therapieversuche (37,1% auf 21,4%;  $p=0,039$ ). Auffallend deutlich zeigt sich dieser Unterschied beim Vergleich der Erfolgsraten zwischen Behandlungszyklen ohne Vorbehandlung und der Durchführung eines dritten Behandlungszyklus (37,1% vs. 22,1%;  $p=0,012$ ).

#### 4.10.4 Ovarielle Stimulation

##### 4.10.4.1 GnRH-Protokoll

Tabelle 49 zeigt den Einfluss der GnRH-Protokollform auf die Schwangerschaftsrate unserer Patientenklientel. Für die statistische Erhebung wurden die Behandlungszyklen im langen Agonistenprotokoll und unter Antagonistenmedikation herangezogen. Weiterhin wurde die durchschnittliche Anzahl transferierter Embryonen pro Zyklus angegeben.

**Tabelle 49: Einfluss der GnRH-Protokollart auf die Schwangerschaftsrate pro Zyklus**

|   | <b>GnRH-Protokollart</b>                     |                              |                          |
|---|--|------------------------------|--------------------------|
|   | <b>Agonist (langes Protokoll)<br/>n= 400</b> | <b>Antagonist<br/>n= 154</b> | <b>Gesamt<br/>n= 554</b> |
| <b>Anzahl transferierter Embryonen/Zyklus</b> | <b>2,17</b>                                  | <b>2,04</b>                  | <b>2,13</b>              |
| <b>Schwangerschaftsrate in %</b>              | <b>33,5</b>                                  | <b>29,2</b>                  | <b>32,3</b>              |
| p-Wert  | p= 0,362                                     |                              |                          |

Aus Tabelle 49 geht hervor, dass die Schwangerschaftsrate nach GnRH-Agonistengabe höher ist im Vergleich zum Antagonistenprotokoll (33,5% vs. 29,2%). Dieser Unterschied ist jedoch nicht signifikant (p=0,362). Nach Anwendung des langen Agonistenprotokolls wurden im Durchschnitt mehr Embryonen pro Zyklus transferiert als nach Antagonistengabe (2,17 vs. 2,04). Das Alter der Patientinnen lag nach Agonistenapplikation bei 32,12 Jahre, nach Antagonistentherapie bei 33,35 Jahre.

#### **4.10.4.2 GnRH-Agonistenpräparate**

Tabelle 50 zeigt den Einfluss verschiedener GnRH-Agonisten auf die Schwangerschaftsrate. Aufgrund der niedrigen Zahl an Behandlungen mit Goserelinacetat (n=3) wurde dieses Präparat nicht in die statistische Erhebung einbezogen.

**Tabelle 50: Einfluss verschiedener GnRH- Agonisten auf die Schwangerschaftsrate pro Zyklus**

|  | <b>GnRH- Agonistenpräparate</b>           |  |  |  |                         |
|--|---|--|--|--|-------------------------|
|  | <b>Triptorelin-<br/>acetat<br/>n= 101</b> | <b>Leuprorelin-<br/>acetat<br/>n=101</b> | <b>Leuprorelin-<br/>acetat Depot<br/>n= 94</b> | <b>Nafarelin-<br/>acetat<br/>n=111</b> | <b>Gesamt<br/>n=561</b> |
| <b>Schwanger-<br/>schaftsrate in %</b> | <b>34,7</b>                               | <b>30,7</b>                              | <b>37,2</b>                                    | <b>31,5</b>                            | <b>32,3</b>             |
| p-Wert                                 | p= 0,753                                  |  |  |  |                         |

Die Schwangerschaftsraten in Abhängigkeit von dem angewandten GnRH-Agonistenpräparat variieren zwischen 30,7% für Leuprorelinacetat und 37,2% für Leuprorelinacetat-Depot, jedoch ist dieser Unterschied nicht signifikant (p= 0,753).

#### 4.10.4.3 Gonadotropinmedikation

Der Einfluss der Wahl des Stimulationspräparates auf den Therapieerfolg einer Kinderwunschbehandlung wird in Tabelle 51 dargestellt. Nicht in die statistische Auswertung wurden die Kombinationen von Follitropin beta mit Menotropin und Follitropin beta plus Lutropin alpha mit je 1 Behandlungszyklus aufgenommen.

**Tabelle 51: Einfluss der Gonadotropinmedikation auf die Schwangerschaftsrate pro Zyklus**

| Gonadotropin-medikation               | Gesamtzyklenzahl<br>n | Schwangerschaftsrate<br>in % | p-Wert                 |
|---------------------------------------|-----------------------|------------------------------|------------------------|
| Menotropin                            | 48                    | 35,4                         | } p=0,539<br>} p=0,309 |
| Follitropin beta                      | 53                    | 30,2                         |                        |
| Follitropin alpha                     | 276                   | 35,5                         |                        |
| Urofollitropin                        | 64                    | 31,3                         |                        |
| Follitropin alpha +<br>Menotropin     | 95                    | 26,3                         |                        |
| Urofollitropin +<br>Menotropin        | 12                    | 8,3                          |                        |
| Follitropin alpha +<br>Lutropin alpha | 14                    | 21,4                         |                        |
| Gesamt                                | 562                   | 32,0                         |                        |

Wie aus Tabelle 51 hervorgeht, beeinflusst die Gonadotropinwahl die Schwangerschaftsrate. So wurden nach Applikation von Menotropin oder Follitropin alpha hohe Erfolgsraten pro Therapiezyklus von 35,4 % und 35,5% erzielt. Deutlich niedriger lagen die Schwangerschaftsraten nach einer Follitropin beta - Therapie (30,2%) und einer Kombinationstherapie von Follitropin alpha plus Menotropin (26,3%). Die Differenz in den Schwangerschaftsraten zeigte keinen signifikanten Wert in den ersten fünf Vergleichsgruppen an (p=0,539). Da die Fallzahlen in den einzelnen Gruppen sehr variieren, ist eine Signifikanz nur bei stark abweichenden Schwangerschaftsraten zu erwarten, unsere Werte zeigen jedoch einen deutlichen Trend in diesen Gruppierungen an. Die verminderten Erfolgsraten nach Gabe von Urofollitropin plus Menotropin (8,4%) und Follitropin alpha plus Luveris (21,4%) liegen in den kleinen Fallzahlen begründet.

#### 4.10.4.4 Stimulationsregime

Der Einfluss der Wahl des Stimulationsschemas auf den Therapieerfolg einer Kinderwunschbehandlung wird in Tabelle 52 anhand der Schwangerschaftsrate dargestellt. Sechzehn verschiedene Therapiemöglichkeiten wurden in die statistische

Auswertung einbezogen. Bei Therapiekombinationen mit weniger als 8 Behandlungszyklen erfolgte keine statistische Berechnung.

**Tabelle 52: Einfluss der Wahl des Stimulationsschemas auf die Schwangerschaftsrate pro Zyklus**

| <b>Stimulationsschema</b><br>(Gonadotropin+ GnRH-Analogen) | <b>Gesamtzyklen-<br/>zahl n</b> | <b>Schwangerschafts-<br/>Rate in %</b> | <b>p-Wert</b> |
|--|---------------------------------|--|---------------|
| <b>Menotropin</b>  |                                 |  |               |
| +1   | 8                               | 50,0                                   | p= 0,662      |
| +2   | 20                              | 35,0                                   |               |
| +5   | 10                              | 30,0                                   |               |
| <b>Follitropin beta</b>                                    |                                 |  |               |
| +1   | 12                              | 41,7                                   | p= 0,312      |
| +2   | 9                               | 11,1                                   |               |
| +4   | 28                              | 32,1                                   |               |
| <b>Follitropin alpha</b>                                   |                                 |  |               |
| +1   | 42                              | 38,1                                   | p= 0,463      |
| +2   | 46                              | 32,6                                   |               |
| +3   | 25                              | 52,0                                   |               |
| +4   | 53                              | 34,0                                   |               |
| +5   | 109                             | 33,0                                   |               |
| <b>Urofollitropin</b>                                      |                                 |  |               |
| +1   | 33                              | 27,3                                   | p= 0,766      |
| +2   | 16                              | 37,5                                   |               |
| +4   | 10                              | 30,0                                   |               |
| <b>Follitropin alpha +<br/>Menotropin</b>                  |                                 |  |               |
| +3   | 57                              | 29,8                                   | p= 0,298      |
| +5   | 16                              | 17,9                                   |               |
| <b>Gesamtzyklenzahl</b>                                    | 506                             | 33,3                                   |               |

GnRH-Analoga: 1= Triptorelinacetat; 2= Leuprorelinacetat; 3= Leuprorelinacetat – Depot;  
4= Nafarelinacetat; 5= Cetrorelixacetat

Aus Tabelle 52 geht hervor, dass die Schwangerschaftsraten in Abhängigkeit vom angewandten Stimulationsschema innerhalb der untersuchten Gruppen stark variieren, diese Unterschiede jedoch keine Signifikanzen aufweisen. Eine Ursache dafür könnte die differierende Anzahl an Behandlungszyklen in den einzelnen Untersuchungsgruppen sein.

Für den Therapieerfolg erwiesen sich die Schemata von Follitropin beta mit Leuprorelinacetat und Follitropin alpha mit Menotropin im Antagonistenprotokoll mit Schwangerschaftsraten von (11,1% und 17,9%) als prognostisch ungünstig. Betrachtet man die Gruppe von Follitropin alpha mit den meisten Behandlungszyklen, so entstanden hohe Schwangerschaftsraten zwischen 32,6% und 52,0% nach Anwendung von GnRH - Agonisten (166 Behandlungszyklen) und eine Erfolgsrate von 33,3% in 109 Behandlungszyklen mit Cetrorelixacetat. Die Unterschiede in den Erfolgsraten sind nicht signifikant (p=0,463).

#### 4.11 Einfluss der Eizelldysmorphismen auf die Schwangerschaftsrate

##### 4.11.1 Anzahl morphologischer Eizelldefekte

Die numerische Angabe von abnormalen Parametern in den Eizellen und deren Schwangerschaftsrate sind in Tabelle 53 dargestellt. Die Zahl an morphologischen Defekten wurde auf  $\geq 4$  zusammengefasst, um eine statistische Erhebung durchführen zu können.

**Tabelle 53: Einfluss der Anzahl morphologischer Defekte der Metaphase II-Eizellen auf die Schwangerschaftsrate**

| Anzahl morphologischer Eizelldefekte | Zahl transferierter Embryonen n | Schwangerschaftsrate in % | p-Wert   |
|--------------------------------------|---------------------------------|---------------------------|----------|
| 0                                    | 384                             | 31,3                      | p=0,038* |
| 1                                    | 443                             | 35,5                      |          |
| 2                                    | 262                             | 32,7                      |          |
| 3                                    | 90                              | 18,9                      |          |
| $\geq 4$                             | 24                              | 38,5                      |          |
| Gesamt                               | 1203                            | 32,4                      |          |

Wie aus Tabelle 53 ersichtlich, zeigt die Schwangerschaftsrate in Abhängigkeit von der Anzahl an Eizelldysmorphismen (0-2) vergleichbar hohe prozentuale Werte (31,3%, 35,5%, 32,7%). Eine deutliche Verminderung der Erfolgsrate tritt erst bei Oozyten mit 3 morphologischen Anomalien (18,9%) auf und führt zu einer signifikanten Differenz von  $p=0,038$ . Die allerdings erhöhte Schwangerschaftsrate bei Oozyten mit 4 und mehr Defekten liegt vermutlich in der geringen Zahl an Embryonen begründet ( $n=24$ ).

##### 4.11.2 Extrazytoplasmatische Parameter

Die Schwangerschaftsrate in Abhängigkeit von den extrazytoplasmatischen Eizellparametern ist in Tabelle 54 dargestellt.

**Tabelle 54: Einfluss extrazytoplasmatischer Parameter der Metaphase II- Eizellen auf die Schwangerschaftsrate**

| Extrazytoplasmatische Parameter | Zahl transferierter Embryonen | Schwangerschaftsrate in % | p-Wert    |
|---------------------------------|-------------------------------|---------------------------|-----------|
| <b>1. Polkörper</b>             |                               |                           | p= 0,209  |
| - normal rund                   | 766                           | 34,3                      |           |
| - flach                         | 107                           | 29,9                      |           |
| - fragmentiert                  | 330                           | 29,0                      |           |
| <b>Auffälligkeiten des PVS</b>  |                               |                           | p= 0,657  |
| - keine                         | 937                           | 32,8                      |           |
| - vorhanden                     | 266                           | 31,2                      |           |
| <b>Symmetrie der Oozyte</b>     |                               |                           | p= 0,025* |
| - rund                          | 1115                          | 33,3                      |           |
| - oval,elongiert                | 88                            | 21,6                      |           |
| Gesamt                          | 1203                          | 32,4                      |           |

Die Ergebnisse zeigen deutlich, dass nur die elongierte, ovale Symmetrieform der Metaphase II-Oozyten zu einer signifikanten Verminderung der Schwangerschaftsrate führt (33,3% vs. 21,6%;  $p=0,025$ ). Werden die Parameter „1. Polkörper“ oder „Perivitelliner Spalt“ für sich allein betrachtet, so beeinträchtigt weder die Morphologie des Polkörpers (34,3% vs. 29,9%) noch die Struktur und Größe des PVS (32,8% vs. 31,2%) die Implantation der Embryonen. Die Mehrzahl der Embryonen stammten aus Oozyten ohne auffällig erscheinende extrazytoplasmatische Parameter.

#### 4.11.3 Zytoplasmatische Parameter

Die Schwangerschaftsrate in Abhängigkeit von den zytoplasmatischen Eizellparametern ist in Tabelle 55 dargestellt.

**Tabelle 55: Einfluss zytoplasmatischer Parameter der Metaphase II-Eizellen auf die Schwangerschaftsrate**

| Zytoplasmatische Parameter               | Zahl transferierter Embryonen | Schwangerschaftsrate in % | p-Wert   |
|--|-------------------------------|---------------------------|----------|
| <b>Granulierungsgrad des Zytoplasmas</b> |                               |                           |          |
| - homogen                                | 956                           | 31,6                      | p= 0,347 |
| - zentrales Areal                        | 198                           | 35,4                      |          |
| - vollgranuliert                         | 49                            | 38,8                      |          |
| <b>Vakuolenbildung</b>                   |                               |                           |          |
| - keine                                  | 1159                          | 32,2                      | p= 0,351 |
| - vorhanden                              | 49                            | 38,8                      |          |
| <b>Refraktile Körper</b>                 |                               |                           |          |
| - keine                                  | 771                           | 33,7                      | p= 0,351 |
| - kleine                                 | 313                           | 29,1                      |          |
| - große                                  | 119                           | 33,6                      |          |
| Gesamt                                   | 1203                          | 32,4                      |          |

Wie aus der Tabelle 55 hervorgeht, beeinflussen weder der Granulierungsgrad des Zytoplasmas ( $p=0,347$ ), die Vakuolenbildung ( $p=0,351$ ) noch das Vorhandensein refraktiler Körper ( $p=0,351$ ) die Schwangerschaftsrate. In der Mehrzahl der Behandlungszyklen konnten Embryonen transferiert werden, deren Oozyten keine zytoplasmatischen Abnormitäten aufwiesen. Die überdurchschnittlich hohen Schwangerschaftsraten nach dem Transfer von Embryonen mit vollgranuliertem oder Vakuolen enthaltendem Ooplasma sind in der geringen Gesamtzahl begründet. Für die statistische Analyse ist zu bedenken, dass auch in den erfolgreichen Behandlungszyklen, in denen reguläre mit irregulären Embryonen gemeinsam transferiert wurden, allen Embryonen eine Schwangerschaft zugeordnet wurde.

## 4.12 Einfluss der Eizellmorphismen auf die Schwangerschaftsrate in Abhängigkeit von der ovariellen Stimulation

### 4.12.1 Gonadotropinmedikation

Der Einfluss extrazytoplasmatischer und zytoplasmatischer Eizellparameter auf die Schwangerschaftsrate in Abhängigkeit von der Wahl des Gonadotropinpräparates ist in den Tabellen 56 und 57 dargestellt. In diese Untersuchung wurden 5 Medikationen aufgenommen. Für eine statistische Auswertung entfallen die Behandlungen mit Urofollitropin plus Menotropin (n=12), die Therapie mit Follitropin alpha plus Lutropin alpha (n=14) und je ein Behandlungszyklus mit Follitropin beta plus Menotropin oder mit Lutropin alpha.

Tabelle 56: Einfluss extrazytoplasmatischer Eizellmorphismen auf die Schwangerschaftsraten in Abhängigkeit von der Gonadotropinmedikation

|                                       |                    | Schwangerschaftsrate in % bezogen auf die Anzahl transferierter Embryonen<br>[absolute Zahlen in Klammern]    |  |   |
|---------------------------------------|--------------------|---|--|---|
| Gonadotropin-medikation               | Anzahl Embryonen n | 1. Polkörper (1,2,3) <sup>°</sup>   | Auffälligkeiten des PVS (4,5) <sup>°</sup>                               | Symmetrie der Oozyte (6,7) <sup>°</sup>                                 |
| <b>Menotropin</b>                     | <b>109</b>         | (1) <sup>°</sup> <b>38,4</b> [73]<br>(2) <sup>°</sup> <b>46,7</b> [15]<br>(3) <sup>°</sup> <b>28,6</b> [21]   | (4) <sup>°</sup> <b>40,9</b> [88]<br>(5) <sup>°</sup> <b>23,8</b> [21]   | (6) <sup>°</sup> <b>37,5</b> [104]<br>(7) <sup>°</sup> <b>40,0</b> [5]  |
| <b>p-Wert</b>                         |                    | p= 0,529  | p=0,113  | p=0,625   |
| <b>Follitropin beta</b>               | <b>104</b>         | (1) <sup>°</sup> <b>29,5</b> [61]<br>(2) <sup>°</sup> <b>44,4</b> [9]<br>(3) <sup>°</sup> <b>32,4</b> [34]    | (4) <sup>°</sup> <b>33,0</b> [94]<br>(5) <sup>°</sup> <b>20,0</b> [10]   | (6) <sup>°</sup> <b>31,3</b> [99]<br>(7) <sup>°</sup> <b>40,0</b> [5]   |
| <b>p-Wert</b>                         |                    | p=0,665   | p=0,327  | p=0,510   |
| <b>Follitropin alpha</b>              | <b>583</b>         | (1) <sup>°</sup> <b>37,4</b> [364]<br>(2) <sup>°</sup> <b>29,5</b> [44]<br>(3) <sup>°</sup> <b>33,7</b> [175] | (4) <sup>°</sup> <b>35,5</b> [449]<br>(5) <sup>°</sup> <b>35,8</b> [134] | (6) <sup>°</sup> <b>37,1</b> [534]<br>(7) <sup>°</sup> <b>20,4</b> [49] |
| <b>p-Wert</b>                         |                    | p= 0,481  | p=0,523  | <b>p=0,013*</b>   |
| <b>Urofollitropin</b>                 | <b>154</b>         | (1) <sup>°</sup> <b>33,7</b> [95]<br>(2) <sup>°</sup> <b>16,7</b> [12]<br>(3) <sup>°</sup> <b>25,5</b> [47]   | (4) <sup>°</sup> <b>28,5</b> [123]<br>(5) <sup>°</sup> <b>35,5</b> [31]  | (6) <sup>°</sup> <b>30,3</b> [145]<br>(7) <sup>°</sup> <b>22,2</b> [9]  |
| <b>p-Wert</b>                         |                    | p=0,353   | p=0,289  | p=0,463   |
| <b>Follitropin alpha + Menotropin</b> | <b>196</b>         | (1) <sup>°</sup> <b>30,2</b> [139]<br>(2) <sup>°</sup> <b>23,8</b> [21]<br>(3) <sup>°</sup> <b>13,9</b> [36]  | (4) <sup>°</sup> <b>25,2</b> [147]<br>(5) <sup>°</sup> <b>30,6</b> [49]  | (6) <sup>°</sup> <b>27,6</b> [181]<br>(7) <sup>°</sup> <b>13,3</b> [15] |
| <b>p-Wert</b>                         |                    | p=0,135   | p=0,284  | p=0,186   |

(1)<sup>°</sup>normal rund (4)<sup>°</sup>keine (6)<sup>°</sup>rund  
 (2)<sup>°</sup>flach (5)<sup>°</sup>vorhanden (7)<sup>°</sup>oval,elongiert  
 (3)<sup>°</sup>fragmentiert

Für die Morphologie des 1. Polkörpers lässt sich aus Tabelle 56 erkennen, dass die Schwangerschaftsraten für flache oder fragmentierte 1. Polkörper deutlich niedriger sind

im Vergleich zu normal rund geformten 1. Polkörper nach Applikation von Follitropin alpha (29,5%; 33,7% vs. 37,4%), Urofollitropin (16,7%; 25,5% vs. 33,7%) oder der Kombination von Follitropin alpha plus Menotropin (23,8%; 13,9% vs. 30,2%). Dieser deutliche Abfall der Erfolgsraten in den untersuchten Gruppen ist jedoch nicht signifikant. Die variierenden Raten für normal runde, flache oder fragmentierte 1. Polkörper nach Menotropin- und Follitropin beta-Medikation haben ihre Ursache in der geringen Zahl transferierter Embryonen.

Auffälligkeiten in Struktur und Größe des perivitellinen Spaltes zeigen in allen untersuchten Gruppen keine signifikanten Unterschiede in den Schwangerschaftsraten. Bei einer Menotropin- und Follitropin beta - Applikation ist eine verminderte Erfolgsrate bei einem abnormal geformten PVS von 40,9% auf 23,8% und von 33,0% auf 20,0% zu verzeichnen.

Embryonen aus oval oder elongiert geformten Oozyten wurden nur dann für einen Transfer ausgewählt, wenn nicht ausreichend Oozyten zur Verfügung standen oder keine Selektion regulärer Vorkernstadien möglich war. Der Transfer dieser Embryonen führte zu einer deutlichen Verminderung der Schwangerschaftsrate bei Follitropin alpha (37,1% auf 20,4%), bei Urofollitropin (30,3% auf 22,2%) und nach Gabe von Follitropin alpha in Kombination mit Menotropin (27,6% auf 13,3%). Follitropin alpha zeigt aufgrund des größten Anteils transferierter Embryonen (n=583) einen signifikanten Unterschied mit  $p=0,013$ .

In der Mehrzahl der Behandlungszyklen wurden Embryonen aus extrazytoplasmatisch „ideal“ geformten Oozyten übertragen.

Tabelle 57 gibt eine Übersicht über den Einfluss zytoplasmatischer Dysmorphismen auf die Schwangerschaftsrate in Abhängigkeit von den meist angewandten Gonadotropinmedikationen.

**Tabelle 57: Einfluss der zytoplasmatischen Eizeldysmorphismen auf die Schwangerschaftsrate in Abhängigkeit von der Gonadotropinmedikation**

|                                       |                  | Schwangerschaftsrate in % bezogen auf die Anzahl transferierter Embryonen<br>[absolute Zahlen in Klammern] |                                       |   |
|---------------------------------------|------------------|--|---------------------------------------|---|
| Gonadotropin-medikation               | Anzahl Embryonen | Granulierungsgrad des Zytoplasmas<br>(1,2,3) <sup>o</sup>  | Vakuolenbildung<br>(4,5) <sup>o</sup> | Refraktile Körper<br>(6,7,8) <sup>o</sup> |
| <b>Menotropin</b>                     | <b>109</b>       | (1) <sup>o</sup> <b>31,7</b> [82]  | (4) <sup>o</sup> <b>37,9</b> [103]    | (6) <sup>o</sup> <b>37,5</b> [80]         |
|                                       |                  | (2) <sup>o</sup> <b>54,2</b> [24]  | (5) <sup>o</sup> <b>33,3</b> [6]      | (7) <sup>o</sup> <b>29,2</b> [24]         |
|                                       |                  | (3) <sup>o</sup> <b>66,7</b> [3]   |                                       | (8) <sup>o</sup> <b>80,0</b> [5]          |
|                                       |                  | <b>p-Wert</b>  | <b>p=0,078</b>                        | <b>p=0,595</b>                            |
| <b>Follitropin beta</b>               | <b>104</b>       | (1) <sup>o</sup> <b>32,2</b> [90]  | (4) <sup>o</sup> <b>32,0</b> [100]    | (6) <sup>o</sup> <b>36,5</b> [85]         |
|                                       |                  | (2) <sup>o</sup> <b>27,3</b> [11]  | (5) <sup>o</sup> <b>25,0</b> [4]      | (7) <sup>o</sup> <b>12,5</b> [16]         |
|                                       |                  | (3) <sup>o</sup> <b>33,3</b> [3]   |                                       | (8) <sup>o</sup> <b>0</b> [3]             |
|                                       |                  | <b>p-Wert</b>  | <b>p=0,944</b>                        | <b>p=0,622</b>                            |
| <b>Follitropin alpha</b>              | <b>583</b>       | (1) <sup>o</sup> <b>34,2</b> [476]   | (4) <sup>o</sup> <b>36,6</b> [564]    | (6) <sup>o</sup> <b>35,5</b> [391]        |
|                                       |                  | (2) <sup>o</sup> <b>41,5</b> [82]  | (5) <sup>o</sup> <b>36,8</b> [19]     | (7) <sup>o</sup> <b>34,7</b> [144]        |
|                                       |                  | (3) <sup>o</sup> <b>44,0</b> [25]  |                                       | (8) <sup>o</sup> <b>39,6</b> [48]         |
|                                       |                  | <b>p-Wert</b>  | <b>p=0,305</b>                        | <b>p=0,545</b>                            |
| <b>Urofollitropin</b>                 | <b>154</b>       | (1) <sup>o</sup> <b>29,4</b> [102]   | (4) <sup>o</sup> <b>28,1</b> [146]    | (6) <sup>o</sup> <b>28,7</b> [108]        |
|                                       |                  | (2) <sup>o</sup> <b>28,2</b> [39]  | (5) <sup>o</sup> <b>62,5</b> [8]      | (7) <sup>o</sup> <b>28,9</b> [38]         |
|                                       |                  | (3) <sup>o</sup> <b>38,5</b> [13]  |                                       | (8) <sup>o</sup> <b>50,0</b> [8]          |
|                                       |                  | <b>p-Wert</b>  | <b>p=0,771</b>                        | <b>p=0,052</b>                            |
| <b>Follitropin alpha + Menotropin</b> | <b>196</b>       | (1) <sup>o</sup> <b>28,2</b> [156]   | (4) <sup>o</sup> <b>25,7</b> [187]    | (6) <sup>o</sup> <b>27,6</b> [76]         |
|                                       |                  | (2) <sup>o</sup> <b>22,2</b> [36]  | (5) <sup>o</sup> <b>44,4</b> [9]      | (7) <sup>o</sup> <b>25,4</b> [71]         |
|                                       |                  | (3) <sup>o</sup> <b>0</b> [4]  |                                       | (8) <sup>o</sup> <b>26,5</b> [49]         |
|                                       |                  | <b>p-Wert</b>  | <b>p=0,366</b>                        | <b>p=0,191</b>                            |

(1)<sup>o</sup> homogen (4)<sup>o</sup> keine (6)<sup>o</sup> keine  
 (2)<sup>o</sup> zentrales Areal (5)<sup>o</sup> v orhanden (7)<sup>o</sup> kleine  
 (3)<sup>o</sup> vollgranuliert (8)<sup>o</sup> große

Wie aus Tabelle 57 hervorgeht, stammt der überwiegende Teil der transferierten Embryonen aus Oozyten mit „ideal“ geformten zytoplasmatischen Parametern, wie einem homogenen Zytoplasma ohne Vakuolenbildung und refraktilen Körpern. In den wenigen Fällen, in denen Embryonen aus zytoplasmatisch abnormen Oozyten übertragen wurden, ist die Schwangerschaftsrate jedoch nicht signifikant niedriger, im Einzelfall sogar höher. Bei einer Menotropinapplikation zeigen die Embryonen aus Oozyten mit einem zentral granulierten Areal oder einem vollständig granulierten Zytoplasma Schwangerschaftsraten von 54,2 % (n=24) und 66,7% (n=3) im Vergleich zu 31,7% bei einem homogenen Ooplasma (n=82). Das Vorhandensein großer refraktiler Körper führt in einzelnen Fällen nach Menotropin- oder Urofollitropingabe zu Erfolgsraten von 80,0% (n=5) und 50,0% (n=8) gegenüber 37,5% (n=80) und 28,7% (n=108) ohne Angabe refraktiler Körper. In 75% aller Behandlungszyklen wurden zwei Embryonen der Patientin zurückgegeben (s. Tabelle 42). In 20,9% der Behandlungszyklen konnte nur ein regulärer Embryo zusammen mit einem irregulären Embryo transferiert werden. In diesen Fällen wurde die erfolgreiche Implantation, auch bei einer Einlingsgravidität, beiden Embryonen zugeschrieben. Sicherlich vermuten wir,

dass der reguläre Embryo die Schwangerschaft induziert hat, jedoch muss die Wahrscheinlichkeit einer möglichen Implantation für beide gelten. Dies erklärt im Einzelfall auch die hohen Schwangerschaftsraten bei abnormen zytoplasmatischen Parametern. Die Ergebnisse aus Tabelle 57 zeigen, dass zytoplasmatische Eizeldysmorphismen zu keinen signifikanten Unterschieden in den Schwangerschaftsraten in Abhängigkeit von der Gonadotropinmedikation führen.

#### 4.12.2 Stimulationsregime

Der Einfluss extrazytoplasmatischer und zytoplasmatischer Eizellparameter auf die Schwangerschaftsrate in Abhängigkeit von der Wahl des Stimulationsschemas wird in den Tabellen 58 und 59 dargestellt. Die 16 ausgewählten Therapieschemata wurden in 5 Gruppen nach der Gonadotropinmedikation zusammengefasst, um eine statistische Berechnung durchführen zu können. Dennoch war die Angabe eines p-Wertes aufgrund geringer Häufigkeiten ( $n < 5$ ) nicht in jeder Gruppe möglich.

**Tabelle 58: Einfluss extrazytoplasmatischer Eizeldysmorphismen auf die Schwangerschaftsrate in Abhängigkeit vom Stimulationsschema**

| Stimulationsschema<br>(Gonadotropin+<br>GnRH-Analogon) | Anzahl<br>Embryonen<br>n | Schwangerschaftsrate in % bezogen auf die Anzahl<br>transferierter Embryonen<br>[absolute Zahlen in Klammern] |  |   |
|--|--------------------------|---|--|---|
|  |                          | 1. Polkörper<br>(1,2,3) <sup>°</sup>  | Auffälligkeiten<br>des PVS<br>(4,5) <sup>°</sup>                         | Symmetrie<br>der Oozyte<br>(6,7) <sup>°</sup>                           |
| <b>Menotropin<br/>(+1; +2; +5)</b>                     | <b>88</b>                | (1) <sup>°</sup> <b>38,7</b> [62]<br>(2) <sup>°</sup> <b>46,7</b> [15]<br>(3) <sup>°</sup> <b>36,4</b> [11]   | (1) <sup>°</sup> <b>41,9</b> [74]<br>(2) <sup>°</sup> <b>28,6</b> [14]   | (1) <sup>°</sup> <b>39,1</b> [87]<br>(2) <sup>°</sup> <b>100,0</b> [1]  |
| <b>p-Wert</b>  |                          | <b>p=0,827</b>  | <b>p=0,392</b>   | Nicht bestimmbar  |
| <b>Follitropin beta<br/>(+1; +2; +4)</b>               | <b>96</b>                | (1) <sup>°</sup> <b>31,6</b> [57]<br>(2) <sup>°</sup> <b>37,5</b> [8]<br>(3) <sup>°</sup> <b>32,3</b> [31]    | (1) <sup>°</sup> <b>32,6</b> [89]<br>(2) <sup>°</sup> <b>28,6</b> [7]    | (1) <sup>°</sup> <b>31,5</b> [92]<br>(2) <sup>°</sup> <b>50,0</b> [4]   |
| <b>p-Wert</b>  |                          | <b>p=0,945</b>  | <b>p=1,0</b>   | Nicht bestimmbar  |
| <b>Follitropin alpha<br/>(+1; +2; +3;<br/>+4; +5)</b>  | <b>581</b>               | (1) <sup>°</sup> <b>37,4</b> [364]<br>(2) <sup>°</sup> <b>29,5</b> [44]<br>(3) <sup>°</sup> <b>34,1</b> [173] | (1) <sup>°</sup> <b>35,7</b> [448]<br>(2) <sup>°</sup> <b>36,1</b> [133] | (1) <sup>°</sup> <b>37,1</b> [533]<br>(2) <sup>°</sup> <b>20,8</b> [48] |
| <b>p-Wert</b>  |                          | <b>p=0,509</b>  | <b>p=1,0</b>   | <b>p=0,027*</b>   |
| <b>Urofollitropin<br/>(+1; +2; +4)</b>                 | <b>142</b>               | (1) <sup>°</sup> <b>33,3</b> [87]<br>(2) <sup>°</sup> <b>16,7</b> [12]<br>(3) <sup>°</sup> <b>23,3</b> [43]   | (1) <sup>°</sup> <b>28,3</b> [113]<br>(2) <sup>°</sup> <b>31,0</b> [29]  | (1) <sup>°</sup> <b>29,3</b> [133]<br>(2) <sup>°</sup> <b>22,2</b> [9]  |
| <b>p-Wert</b>  |                          | <b>p=0,305</b>  | <b>p=0,820</b>   | <b>p=1,0</b>  |
| <b>Follitropin alpha +<br/>Menotropin<br/>(+3; +5)</b> | <b>174</b>               | (1) <sup>°</sup> <b>30,4</b> [125]<br>(2) <sup>°</sup> <b>12,5</b> [16]<br>(3) <sup>°</sup> <b>15,2</b> [33]  | (1) <sup>°</sup> <b>25,2</b> [127]<br>(2) <sup>°</sup> <b>27,7</b> [47]  | (1) <sup>°</sup> <b>27,0</b> [159]<br>(2) <sup>°</sup> <b>13,3</b> [15] |
| <b>p-Wert</b>  |                          | <b>p=0,090</b>  | <b>p=0,846</b>   | <b>p=0,360</b>  |

Nicht bestimmbar = ( $n < 5$ )

(1)<sup>°</sup>normal rund  
(2)<sup>°</sup>flach  
(3)<sup>°</sup>fragmentiert

(4)<sup>°</sup>keine  
(5)<sup>°</sup>vorhanden

(6)<sup>°</sup>rund  
(7)<sup>°</sup>bval,elongiert

GnRH-Analoga: 1= Triptorelinacetat; 2= Leuprorelinacetat; 3= Leuprorelinacetat – Depot;  
4= Nafarelinacetat; 5= Cetrorelixacetat

Wie aus Tabelle 58 hervorgeht, stammt der überwiegende Teil der transferierten Embryonen aus Oozyten mit normal geformten extrazytoplasmatischen Merkmalen. Deutlich geringer ist die Embryonenzahl aus Oozyten mit morphologischen Auffälligkeiten. Die untersuchten Stimulationsgruppen (Follitropin alpha, Urofollitropin, Follitropin alpha plus Menotropin), in denen die Zahl der transferierten Embryonen größer als 100 war, zeigten verminderte Schwangerschaftsraten bei flachen (29,5%; 16,7%; 12,5%) und fragmentierten 1.Polkörpern (34,1%; 23,3%; 15,2%) im Vergleich zu normal rund geformten Polkörpern (37,4%; 33,3%; 30,4%). Eine messbare Tendenz trat bei der Kombination Follitropin alpha plus Menotropin auf ( $p=0.090$ ). Auffälligkeiten in Größe und Struktur des perivitellinen Spaltes zeigten in allen untersuchten Gruppen keine signifikante Abnahme der Schwangerschaftsrate.

Bei Follitropin alpha, Urofollitropin und der Kombination von Follitropin alpha plus Menotropin nimmt die Erfolgsrate nach dem Transfer von Embryonen aus oval, elliptisch geformten Oozyten deutlich ab und zeigt eine Signifikanz bei Follitropin alpha gegenüber morphologisch unauffälligen Oozyten (37,1% vs. 20,8%;  $p=0,027$ ). Im Falle von Menotropin und Follitropin beta liegen die Häufigkeiten transferierter Embryonen aus oval geformten Oozyten unter 5, so dass eine statistische Berechnung aufgrund der kleinen Zahlenwerte nicht durchführbar war.

Tabelle 59 stellt den Einfluss zytoplasmatischer Dymorphismen auf die Erfolgsrate in Abhängigkeit vom Stimulationsschema dar. Die Angabe eines p-Wertes war aufgrund geringer Häufigkeiten nicht in jeder Gruppe möglich.

**Tabelle 59: Einfluss zytoplasmatischer Eizeldysmorphismen auf die Schwangerschaftsrate in Abhängigkeit vom Stimulationsschema**

| Stimulationsschema<br>(Gonadotropin+<br>GnRH-Analogon) | Anzahl<br>Embryonen<br>n | Schwangerschaftsrate in % bezogen auf die Anzahl<br>transferierter Embryonen [absolute Zahlen in Klammern]   |   |   |
|--|--------------------------|--|---|---|
|  |                          | Granulierungsgrad<br>des Zytoplasmas<br>(1,2,3) <sup>o</sup>   | Vakuolen-<br>bildung<br>(4,5) <sup>o</sup>                              | Refraktile<br>Körper<br>(6,7,8) <sup>o</sup>  |
| <b>Menotropin<br/>(+1; +2; +5)</b>                     | <b>88</b>                | (1) <sup>o</sup> <b>31,9</b> [72]<br>(2) <sup>o</sup> <b>76,9</b> [13]<br>(3) <sup>o</sup> <b>66,7</b> [3]   | (1) <sup>o</sup> <b>40,2</b> [82]<br>(2) <sup>o</sup> <b>33,3</b> [6]   | (1) <sup>o</sup> <b>39,7</b> [63]<br>(2) <sup>o</sup> <b>31,8</b> [22]<br>(3) <sup>o</sup> <b>100,0</b> [3]   |
| <b>p-Wert</b>  |                          | Nicht bestimmbar   | Nicht bestimmbar  | Nicht bestimmbar  |
| <b>Follitropin beta<br/>(+1; +2; +4)</b>               | <b>96</b>                | (1) <sup>o</sup> <b>33,7</b> [83]<br>(2) <sup>o</sup> <b>20,0</b> [10]<br>(3) <sup>o</sup> <b>33,3</b> [3]   | (1) <sup>o</sup> <b>32,6</b> [92]<br>(2) <sup>o</sup> <b>25,0</b> [4]   | (1) <sup>o</sup> <b>35,8</b> [81]<br>(2) <sup>o</sup> <b>15,4</b> [13]<br>(3) <sup>o</sup> <b>0</b> [2]       |
| <b>p-Wert</b>  |                          | Nicht bestimmbar   | Nicht bestimmbar  | Nicht bestimmbar  |
| <b>Follitropin alpha<br/>(+1; +2; +3;+4; +5)</b>       | <b>581</b>               | (1) <sup>o</sup> <b>34,3</b> [475]<br>(2) <sup>o</sup> <b>42,0</b> [81]<br>(3) <sup>o</sup> <b>44,0</b> [25] | (1) <sup>o</sup> <b>35,8</b> [562]<br>(2) <sup>o</sup> <b>36,8</b> [19] | (1) <sup>o</sup> <b>35,7</b> [389]<br>(2) <sup>o</sup> <b>34,7</b> [144]<br>(3) <sup>o</sup> <b>39,6</b> [48] |
| <b>p-Wert</b>  |                          | p=0,282  | p=0,923   | p=0,830   |
| <b>Urofollitropin<br/>(+1; +2; +4)</b>                 | <b>142</b>               | (1) <sup>o</sup> <b>28,6</b> [91]<br>(2) <sup>o</sup> <b>26,3</b> [38]<br>(3) <sup>o</sup> <b>38,5</b> [13]  | (1) <sup>o</sup> <b>26,7</b> [135]<br>(2) <sup>o</sup> <b>71,4</b> [7]  | (1) <sup>o</sup> <b>28,3</b> [99]<br>(2) <sup>o</sup> <b>27,0</b> [37]<br>(3) <sup>o</sup> <b>50,0</b> [6]    |
| <b>p-Wert</b>  |                          | p=0,702  | Nicht bestimmbar  | Nicht bestimmbar  |
| <b>Follitropin alpha +<br/>Menotropin<br/>(+3; +5)</b> | <b>174</b>               | (1) <sup>o</sup> <b>27,2</b> [136]<br>(2) <sup>o</sup> <b>22,9</b> [35]<br>(3) <sup>o</sup> <b>0</b> [3]     | (1) <sup>o</sup> <b>24,8</b> [165]<br>(2) <sup>o</sup> <b>44,4</b> [9]  | (1) <sup>o</sup> <b>28,6</b> [63]<br>(2) <sup>o</sup> <b>21,9</b> [64]<br>(3) <sup>o</sup> <b>27,7</b> [47]   |
| <b>p-Wert</b>  |                          | Nicht bestimmbar   | p=0,240   | p=0,653   |

Nicht bestimmbar = (n<5)

(1)<sup>o</sup>homogen

(4)<sup>o</sup>keine

(6)<sup>o</sup> keine

(2)<sup>o</sup>zentrales Areal

(5)<sup>o</sup>vorhanden

(7)<sup>o</sup> kleine

(3)<sup>o</sup>vollgranuliert

(8)<sup>o</sup> große.

GnRH-Analoga: 1= Triptorelinacetat; 2= Leuprorelinacetat; 3= Leuprorelinacetat – Depot;  
4= Nafarelinacetat; 5= Cetrorelixacetat

Werden die Häufigkeiten zytoplasmatischer Dysmorphismen hinsichtlich ihrer Schwangerschaftsrate untersucht, so fällt auf, dass die Anzahl an Embryonen teilweise ≤ 6 war und somit keine genaue Berechnung der Wahrscheinlichkeit (p-Wert) in einigen Gruppen möglich war. Die Mehrzahl der Embryonen entstammten Eizellen mit unauffälligen zytoplasmatischen Parametern. In den wenigen untersuchten Therapieschemata, in denen die Angabe eines p-Wertes möglich war, wurden hinsichtlich des Granulierungsgrades der Oozyten, der Vakuolenbildung und des Vorhandenseins refraktiler Körper keine signifikanten Differenzen gefunden. In 421 Behandlungszyklen wurden zwei Embryonen der Patientin zurückgegeben (s. Tabelle 42). In 41,2 % der Zyklen wurden 2 reguläre Embryonen, in 20,9 % der Behandlungszyklen konnte nur ein regulärer Embryo kombiniert mit einem irregulären Embryo transferiert werden. In diesen Fällen wurde für beide Embryonen die gleiche Wahrscheinlichkeit einer Schwangerschaft angenommen, obwohl auch bei einer

Einlingsgravidität vermutet werden kann, dass in diesen Fällen der sich regulär entwickelte Embryo vorrangig implantiert hat.

#### 4.13 Einflussfaktoren auf die Abort- und Geburtenrate

##### 4.13.1 Alter

Tabelle 60 zeigt den Einfluss des Alters auf die Abort- und Geburtenrate in unserer Patientenklientel. In 8 Behandlungszyklen wurden keine Angaben zum Schwangerschaftsabort dokumentiert.

**Tabelle 60: Einfluss des Alters auf die Abort- und Geburtenrate**

|                   | Altersverteilung  |                     |                      |                      |                   |                  |
|-------------------|-------------------|---------------------|----------------------|----------------------|-------------------|------------------|
|                   | <25 Jahre<br>n=18 | 25-29Jahre<br>n=114 | 30-34 Jahre<br>n=251 | 35-39 Jahre<br>n=159 | >39 Jahre<br>n=22 | Zyklen<br>gesamt |
| Geburtenrate in % | 27,8              | 29,8                | 26,7                 | 23,3                 | 4,5               | n=564 25,5       |
| p- Wert           | p=0,144           |                     |                      |                      |                   |                  |
| Abortrate in %    | 17,6              | 5,3                 | 4,4                  | 10,3                 | 9,1               | n=556 6,8        |
| p- Wert           | p= 0,062          |                     |                      |                      |                   |                  |

Wie daraus hervorgeht, sinkt ab dem 35. Lebensjahr die Geburtenrate deutlich ab (26,7% auf 23,3% - 4,5%) und die Abortrate nimmt tendenziell zu (4,4% auf 10,3%). Die Differenzen sind jedoch nicht signifikant (p=0,144; p=0,062). Aufgrund der kleinen Fallzahlen in der Abortrate bei Patientinnen < 25 Jahre und > 39 Jahre wurden diese jeweils der benachbarten Altersgruppe zugeordnet. So betrug die Abortrate für Frauen bis 29 Jahre 6,9%, für Frauen zwischen 30 und 34 Jahren 4,4% und Frauen > 35 Jahre 10,2%. Der p-Wert von 0,062 zeigt eine ausgeprägte Tendenz der Abortrate zum Alter der Patientinnen auf.

##### 4.13.2 Body-Mass-Index

Die Bedeutung des BMI für die Zahl der Geburten und Aborte pro Therapiezyklus spiegelt Tabelle 61 wider.

**Tabelle 61: Einfluss des BMI auf die Abort- und Geburtenrate pro Therapiezyklus**

|                   | Verteilung des BMI              |                                      |                                       |                  |
|-------------------|---------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|------------------|
|                   | <18,5 kg/m <sup>2</sup><br>n=27 | 18,5-24,9 kg/m <sup>2</sup><br>n=412 | 25,0 -29.9 kg/m <sup>2</sup><br>n=125 | Zyklen<br>gesamt |
| Geburtenrate in % | 29,6                            | 25,7                                 | 24,0                                  | n=564 25,5       |
| p-Wert            | p= 0,818                        |                                      |                                       |                  |
| Abortrate in %    | 0                               | 7,1                                  | 7,4                                   | n=556 6,8        |
| p-Wert            | p= 0,364                        |                                      |                                       |                  |

Daraus geht hervor, dass der BMI keinen signifikanten Einfluss auf die Geburten- und Abortrate ausübt (p=0,818; p=0,364).

### 4.13.3 Vorbehandlung

Inwieweit die Zahl durchgeführter Therapieversuche die Geburtenrate beeinflussen, verdeutlicht Tabelle 62. In 23 Zyklen wurden keine Angaben zur Anzahl an Vorbehandlungen dokumentiert.

**Tabelle 62: Einfluss vorangegangener Therapieversuche auf die Abort- und Geburtenrate pro Therapiezyklus**

|                   | Anzahl an Vorversuchen |                       |                      |                      |                  |
|-------------------|------------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|------------------|
|                   | Vorzyklen: 0<br>n=267  | Vorzyklen: 1<br>n=160 | Vorzyklen: 2<br>n=86 | Vorzyklen: 3<br>n=28 | Zyklen<br>gesamt |
| Geburtenrate in % | 29,2                   | 27,5                  | 17,4                 | 10,7                 | n=541 25,9       |
| p-Wert            | p= 0,040*              |                       |                      |                      |                  |
| Abortrate in %    | 8,0                    | 6,3                   | 4,7                  | 10,7                 | n=535 7,1        |
| p-Wert            | p= 0,617               |                       |                      |                      |                  |

Aus Tabelle 62 geht hervor, dass die Zahl vorangegangener Therapieversuche die Geburtenrate signifikant beeinflusst ( $p=0,040$ ). Die Geburtenrate liegt in Behandlungszyklen ohne eine Vorbehandlung bei 29,2% und bei 27,5% in Behandlungszyklen mit einem Vorversuch. Dagegen tritt nach 2 Vorversuchen eine deutliche Verminderung der Geburtenrate auf 17,4% ein, die sich nochmals nach 3 Vorbehandlungen auf 10,7% absenkt. Die Differenzen in der Abortrate zeigen in Abhängigkeit von der Zahl vorangegangener Behandlungszyklen keine Signifikanz ( $p=0,617$ ).

### 4.13.4 Ovarielle Stimulation

#### 4.13.4.1 GnRH-Protokoll

In Tabelle 63 ist der Einfluss der GnRH-Protokollform auf die Abort- und Geburtenrate dargestellt. In die statistische Auswertung wurden die Behandlungszyklen im langen Agonistenprotokoll sowie die Behandlungszyklen mit Cetrorelixacetat einbezogen.

**Tabelle 63: Einfluss der GnRH-Protokollart auf die Abort- und Geburtenrate pro Zyklus**

|                   | GnRH-Protokollart                    |                      |                  |
|-------------------|--------------------------------------|----------------------|------------------|
|                   | Agonist (langes Protokoll)<br>n= 400 | Antagonist<br>n= 154 | Zyklen<br>gesamt |
| Geburtenrate in % | 27,0                                 | 22,1                 | n= 554 25,6      |
| p-Wert            | p=0,227                              |                      |                  |
| Abortrate in %    | 6,3                                  | 8,6                  | n= 546 7,0       |
| p-Wert            | p= 0,351                             |                      |                  |

Wie aus Tabelle 63 ersichtlich, wurden zwar keine signifikanten Differenzen in der Geburten – und Abortrate festgestellt, jedoch wirkt sich das Agonistenprotokoll offenbar günstiger auf die Geburtenrate und auf eine verminderte Abortrate aus (27,0% vs. 22,1%; 6,3% vs. 8,6%).

#### 4.13.4.2 GnRH-Agonistenpräparate

Tabelle 64 zeigt den Einfluss 4 verschiedener GnRH-Agonistenpräparate auf die Abort- und Geburtenrate.

**Tabelle 64: Einfluss verschiedener GnRH - Agonisten auf die Abort- und Geburtenrate pro Zyklus**

|                          | GnRH- Agonistenpräparate        |                                 |                                       |                               |                    |
|--------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------|--------------------|
|                          | Triptorelin-<br>acetat<br>n=101 | Leuprorelin-<br>acetat<br>n=101 | Leuprorelin-<br>acetat Depot<br>n= 94 | Nafarelin-<br>acetat<br>n=111 | Zyklen<br>gesamt   |
| <b>Geburtenrate in %</b> | <b>29,7</b>                     | <b>27,7</b>                     | <b>28,7</b>                           | <b>22,5</b>                   | <b>n= 407 27,0</b> |
| p-Wert                   | p= 0,643                        |                                 |                                       |                               |                    |
| <b>Abortrate in %</b>    | <b>5,0</b>                      | <b>1,0</b>                      | <b>9,7</b>                            | <b>9,1</b>                    | <b>n= 402 6,2</b>  |
| p-Wert                   | p= <b>0,041*</b>                |                                 |                                       |                               |                    |

Aus Tabelle 64 ist ersichtlich, dass die Wahl des GnRH-Agonisten keine Auswirkung auf die Geburtenrate hat, jedoch liegt der prozentuale Wert nach Nafarelinacetatgabe mit 22,5% deutlich unter den Vergleichsgruppen (29,7%; 27,7%; 28,7%). Auffallend hohe Abortraten finden sich bei den Medikationen Leuprorelinacetat-Depot und Nafarelinacetat (9,7%; 9,1%) im Vergleich zu Triptorelinacetat und Leuprorelinacetat (5,0%, 1,0%). Diese Differenzen zeigen eine Signifikanz von  $p=0,041$ . Der Altersdurchschnitt der Patientinnen nach Leuprorelinacetat-Depot-Gabe lag bei 33,3 Jahre, nach Leuprorelinacetatapplikation bei 31,4 Jahre. In diesen Gruppierungen korreliert das Alter mit der Abortrate. Im Vergleich dazu lag der Altersdurchschnitt bei Nafarelinacetat bei 32,0 Jahre und 32,1 Jahre nach Triptorelinacetatapplikation.

#### 4.13.4.3 Gonadotropinmedikation

Der Einfluss der Wahl des Stimulationspräparates auf den Therapieerfolg einer Kinderwunschbehandlung ist in Tabelle 65 anhand der Abort- und Geburtenrate dargestellt. Nicht berücksichtigt wurden die Kombinationen von Follitropin beta plus Menotropin und Follitropin beta plus Lutropin alpha mit je 1 Behandlungszyklus.

Eine statistische Berechnung war nur bei den meist angewandten Hormonpräparaten/Hormonkombinationen aufgrund der ausreichenden Fallzahlen möglich.

Tabelle 65: Einfluss der Gonadotropinmedikation auf die Abort- und Geburtenrate pro Zyklus

| Gonadotropin-medikation            | Gesamt-zyklenzahl n | Geburtenrate in % | p-Wert   | Abortrate in % | p-Wert   |
|------------------------------------|---------------------|-------------------|----------|----------------|----------|
| Menotropin                         | 48                  | 29,2              | p= 0,236 | 6,4            | p= 0,597 |
| Follitropin beta                   | 53                  | 22,6              |          | 11,3           |          |
| Follitropin alpha                  | 276                 | 29,7              |          | 6,3            |          |
| Urofollitropin                     | 64                  | 21,9              |          | 9,5            |          |
| Follitropin alpha + Menotropin     | 95                  | 18,9              |          | 5,4            |          |
| Urofollitropin + Menotropin        | 12                  | 8,3               |          |                |          |
| Follitropin alpha + Lutropin alpha | 14                  | 14,3              |          |                |          |
| <b>Gesamt</b>                      | <b>562</b>          |                   |          |                |          |

Aus Tabelle 65 geht hervor, dass die Applikation der meist angewandten Gonadotropinpräparate die Geburtenrate wie auch die Abortrate nicht signifikant beeinflusst ( $p=0,236$ ;  $p=0,597$ ). Jedoch ist der Anteil an der Baby-take-home-Rate deutlich zu Gunsten der Applikation von Follitropin alpha (29,7%; als rekombinantes FSH-Monopräparat) und zu Gunsten von Menotropin (29,2%; mit urinärem Ursprung) verschoben. Neben auffallend verminderten Geburtenraten von 22,6% und 21,9% weisen Follitropin beta und Urofollitropin hohe Abortraten von 11,3% und 9,5% gegenüber den Vergleichsgruppen auf.

#### 4.13.4.4 Stimulationsschema

In Tabelle 66 sind die Ergebnisse zur Wahl des Stimulationsschemas auf den Therapieerfolg anhand der Abort- und Geburtenrate dargestellt. Sechzehn verschiedene Therapiemöglichkeiten wurden in die statistische Auswertung einbezogen; keine Berechnung erfolgte bei Therapiekombinationen mit weniger als 8 Behandlungszyklen. Die Angabe eines p-Wertes konnte nur in zwei Untergruppen mit ausreichenden Fallzahlen erfolgen.

**Tabelle 66: Einfluss der Wahl des Stimulationsschemas auf die Abort- und Geburtenrate pro Zyklus**

| Stimulationsschema<br>(Gonadotropin+<br>GnRH-Analogen) | Gesamt-<br>zyklen-<br>zahl n | Geburten-<br>rate in %               | p-Wert   | Abort-<br>rate<br>in %            | p-Wert  |
|--|------------------------------|--------------------------------------|----------|-----------------------------------|---------|
| <b>Menotropin</b><br>+1<br>+2<br>+5                    | 8<br>20<br>10                | 50,0<br>35,0<br>10,0                 |          | 0,0<br>0,0<br>20,0                |         |
| <b>Follitropin beta</b><br>+1<br>+2<br>+4              | 12<br>9<br>28                | 33,3<br>11,1<br>21,4                 |          | 8,3<br>0,0<br>14,3                |         |
| <b>Follitropin alpha</b><br>+1<br>+2<br>+3<br>+4<br>+5 | 42<br>46<br>25<br>53<br>109  | 33,3<br>28,3<br>48,0<br>28,3<br>25,7 | p= 0,268 | 4,8<br>4,3<br>12,0<br>5,7<br>10,1 | p=0,542 |
| <b>Urofollitropin</b><br>+1<br>+2<br>+4                | 33<br>16<br>10               | 21,2<br>37,5<br>10,0                 |          | 6,1<br>0,0<br>20,0                |         |
| <b>Follitropin alpha +<br/>Menotropin</b><br>+3<br>+5  | 57<br>28                     | 21,1<br>14,3                         | p=0,563  | 8,8<br>3,6                        | p=0,659 |

GnRH-Analoga: 1= Triptorelinacetat ; 2= Leuprorelinacetat ; 3= Leuprorelinacetat – Depot;  
4= Nafarelinacetat; 5= Cetrorelixacetat

Wie aus Tabelle 66 hervorgeht, lassen sich Präferenzen für bestimmte Therapiekombinationen mit Einfluss auf die Geburtenrate feststellen. Wie die vorliegenden Ergebnisse schon zeigten, hat die Applikation des GnRH-Agonisten Triptorelinacetat eine negative Wirkung auf die Eizellqualität und die Befruchtungsrate, jedoch führen diese „Selektionsmechanismen“ offenbar zu keiner deutlichen Einschränkung in der Geburtenrate und zu einer niedrigen Abortrate in Verbindung mit einer Menotropin- (50,0%; 0,0%; n=8), Follitropin beta - (33,3%; 8,3%; n=12) und Follitropin alpha-Applikation (33,3%; 4,8%; n=42). Die Gesamtzyklenzahl in den beiden ersten Gruppierungen ist allerdings sehr klein. Die „Downregulation“ mit einer täglichen Gabe von Leuprorelinacetat in Kombination mit Menotropin, Follitropin alpha und Urofollitropin führt zu erhöhten Geburtenraten (35,5%; 28,3%; 37,5%; Ausnahme Follitropin beta) und zu verminderten Abortraten zwischen 0,0 – 4,3%. Zusammenfassend betrachtet sind die Geburtenraten mit einem Antagonisten deutlich niedriger verglichen mit Therapien im Agonistenprotokoll (10,0% bis 25,7% vs. 10,0% bis 50%). Die Abortraten im Antagonistenprotokoll variieren auffallend zwischen 3,6 % - 20 %.

Die ermittelten p-Werte für die Geburten- und Abortraten in Abhängigkeit vom Stimulationsregime mit einer alleinigen Gabe von Follitropin alpha ( $p=0,268$ ;  $p=0,542$ ) und dessen Kombination mit Menotropin ( $p=0,563$ ;  $p=0,659$ ) zeigen keine signifikante Differenzen.

#### 4.14 Einfluss der Zahl implantierter Embryonen auf die Zahl geborener Kinder

Tabelle 67 gibt einen Überblick über die Zahl der Geburten bezogen auf die Gesamtzahl durchgeführter Behandlungszyklen in Abhängigkeit von der Anzahl transferierter Embryonen pro Zyklus.

Tabelle 67: Geburtenanzahl in Abhängigkeit von den durchgeführten Behandlungszyklen

| Anzahl Embryonen | Keine Geburten     | Geburten           |                  |                 | Gesamt n   |
|------------------|--------------------|--------------------|------------------|-----------------|------------|
|                  |                    | Einling            | Gemini           | Triplets        |            |
|                  | 0                  |                    |                  |                 |            |
| 0                | 2 (100,0%)         | 0                  | 0                | 0               | 2          |
| 1                | 27 (87,1%)         | 4 (12,9%)          | 0                | 0               | 31         |
| 2                | 307 (72,9%)        | 87 (20,7%)         | 27 (6,4%)        | 0               | 421        |
| 3                | 84 (76,4%)         | 23 (20,9%)         | 2 (1,8%)         | 1 (0,9%)        | 110        |
| <b>Zyklen n</b>  | <b>420 (74,5%)</b> | <b>114 (20,2%)</b> | <b>29 (5,1%)</b> | <b>1 (0,2%)</b> | <b>564</b> |

Wie aus Tabelle 67 ersichtlich, setzt sich die Geburtenrate in unserer Patientenklientel aus dem Anteil an Einlingsgeburten von 20,2 %, einem Anteil an Zwillingsgeburten von 5,1 % und einer Drillingsgeburt (0,2%) bezogen auf die Anzahl durchgeführter Behandlungszyklen zusammen und beträgt insgesamt 25,5%. Der Großteil durchgeführter Behandlungszyklen (74,5%) blieb leider erfolglos. Interessanterweise zeigt sich kein Unterschied in der Rate an Einlingsgeburten nach einem Transfer von 2 oder 3 Embryonen. Auffallend niedrig ist die Geminirate von 1,8% nach dem Transfer von 3 Embryonen gegenüber 6,4% nach Rückgabe von 2 Embryonen. Diese Beobachtung wird möglicherweise durch das ältere Patientengut in dieser Gruppe und der höheren Anzahl an Vorversuchen begründet. Der Altersdurchschnitt der Patientinnen nach Rückgabe von einem Embryo lag bei 34,9 Jahre, bei zwei Embryonen bei 32,13 Jahre und bei 3 Embryonen bei 33,35 Jahre. Die durchschnittliche Zahl an Vorzyklen lag bei 0,83 Zyklen nach Transfer eines Embryos, bei 2 Embryonen bei 0,6 und nach Transfer von 3 Embryonen bei 1,52 Vorzyklen.

Tabelle 68 zeigt die Mehrlingsrate bezogen auf die Gesamtzahl an Geburten.

**Tabelle 68: Mehrlingsrate in Abhängigkeit von der Anzahl der Geburten**

|                 | <b>Geburten<br/>n</b> | <b>Geburtenrate<br/>in %</b> | <b>Mehrlingsrate<br/>in %</b> |
|-----------------|-----------------------|------------------------------|-------------------------------|
| Geburten gesamt | 144                   | 100,0                        | 20,8 %                        |
| Einlinge        | 114                   | 79,2                         |                               |
| Zwillinge       | 29                    | 20,1                         |                               |
| Drillinge       | 1                     | 0,7                          |                               |

Daraus geht hervor, dass die Zahl der geborenen Kinder in 79,2% der Geburten Einlinge waren, in 20,1% Zwillingsgeburten und nur einmal wurden Drillinge geboren (0,7%). Die Mehrlingsrate betrug 20,8%. In Tabelle 69 sind die Anzahl und die „Qualität“ (regulär/irregulär) der transferierten Embryonen im Hinblick auf die Geburtenrate aufgeführt.

**Tabelle 69: Einfluss der Embryonenqualität auf die Geburt**

| <b>Anzahl Embryonen</b>                            | <b>Geburten</b> |                |               |                 | <b>Gesamt</b> |
|--|-----------------|----------------|---------------|-----------------|---------------|
|  | <b>0</b>        | <b>Einling</b> | <b>Gemini</b> | <b>Triplets</b> |               |
| <b>1 Embryo regulär</b>                            | 15<br>(78,9%)   | 4<br>(21,1%)   | 0             | 0               | 19            |
| <b>1 Embryo irregulär</b>                          | 12<br>(100,0%)  | 0              | 0             | 0               | 12            |
| <b>2 Embryonen regulär</b>                         | 150<br>(63,8%)  | 62<br>(26,4%)  | 23<br>(9,8%)  | 0               | 235           |
| <b>2 Embryonen irregulär</b>                       | 64<br>(94,1%)   | 3<br>(4,4%)    | 1<br>(1,5%)   | 0               | 68            |
| <b>1 Embryo regulär/<br/>1 Embryo irregulär</b>    | 93<br>(78,8%)   | 22<br>(18,6%)  | 3<br>(2,5%)   | 0               | 118           |
| <b>3 Embryonen regulär</b>                         | 25<br>(69,4%)   | 9<br>(25,0%)   | 1<br>(2,8%)   | 1<br>(2,8%)     | 36            |
| <b>3 Embryonen irregulär</b>                       | 8<br>(100,0%)   | 0              | 0             | 0               | 8             |
| <b>1 Embryo regulär/<br/>2 Embryonen irregulär</b> | 16<br>(80,0)    | 4<br>(20,0%)   | 0             | 0               | 20            |
| <b>2 Embryonen regulär/<br/>1 Embryo irregulär</b> | 35<br>(76,1%)   | 10<br>(21,7%)  | 1<br>(2,2%)   | 0               | 46            |
| <b>Gesamt</b>                                      | <b>418</b>      | <b>114</b>     | <b>29</b>     | <b>1</b>        | <b>562</b>    |

Aus Tabelle 69 geht hervor, dass nach dem Transfer nur eines Embryos ausschließlich reguläre Embryonen das Potential zur Entstehung einer Schwangerschaft und Geburt eines Kindes besitzen (21,1%). Im Falle der Übertragung eines irregulären Embryos blieb die Behandlung erfolglos.

Wurden zwei reguläre Embryonen der Patientin zurückgegeben, kam es in 26,4% zu Einlingsgeburten und in 9,8% zu Zwillingsgeburten. Wurden ein regulärer und ein

abnormaler Embryo zusammen transferiert, konnten in 18,6 % Einlinge und 2,3 % Geminigeburten induziert werden. Nach dem Transfer von zwei abnormalen Embryonen sank die Geburtenrate auf 5,9 %. In den Behandlungszyklen, in denen die Patientinnen 3 reguläre Embryonen erhielten, stieg die Geburtenrate auf 30,6% an und verteilte sich auf 25,0% Einlings-, eine Zwillings-, und eine Drillingsgeburt. Im Falle eines Transfers mit zwei oder einem regulären Embryo zusammen mit irregulären Embryonen war der Anteil an Einlingsgeburten 21,7% vs. 20,0% vergleichbar, die Geminirate lag bei 2,2% nach einer Rückgabe von zwei regulären Embryonen kombiniert mit einem abnormalen. Alle Transferzyklen mit eingeschränkter Embryonenqualität zeigten deutlich geringe Erfolgchancen (0% bis 5,9%).

#### **4.15 Zusammenfassung zum Einfluss wesentlicher Parameter dieser Studie**

Die Tabelle 70 zeigt die wesentlichen Parameter dieser Studie im Überblick.

**Tabelle 70: Wesentliche Parameter dieser Studie**

|  |            |  |  |                              |
|--|------------|--|--|------------------------------|
| <b>Patientinnen</b>  | <b>528</b> |  | <b>Altersdurchschnitt</b>                    | <b>32,5 Jahre</b>            |
|  |            |  | <b>BMI (Ø)</b>                               | <b>22,7 kg/m<sup>2</sup></b> |
|  |            |  | <b>Anzahl Vorversuche (Ø)</b>                | <b>0,8</b>                   |
| <b>Behandlungszyklen</b>   | <b>564</b> |  | <b>Oozyten (gesamt)</b>                      | <b>5676</b>                  |
|  |            |  | <b>Metaphase II-Oozyten</b>                  | <b>4778</b>                  |
|  |            |  | <b>Fertilisationsrate (Ø)</b>                | <b>70,0 %</b>                |
| <b>Anzahl Transfers</b>  | <b>562</b> |  | <b>Embryonen (transferiert)</b>              | <b>1203</b>                  |
|  |            |  | <b>Embryonen pro Transfer (Ø)</b>            | <b>2,14</b>                  |
| <b>Schwangerschaften</b>   | <b>181</b> |  | <b>Schwangerschaftsrate pro Transfer (Ø)</b> | <b>32,2%</b>                 |
| <b>Geburten</b>  | <b>144</b> |  | <b>Geburtenrate</b>                          | <b>25,5%</b>                 |
| <b>Anzahl Kinder</b>   | <b>175</b> |  | <b>Einlingsgeburten</b>                      | <b>114</b>                   |
|  |            |  | <b>Zwillingsgeburten</b>                     | <b>29</b>                    |
|  |            |  | <b>Drillingsgeburten</b>                     | <b>1</b>                     |
|  |            |  | <b>Mehrlingsrate</b>                         | <b>20,8 %</b>                |
| <b>Anzahl Aborte</b><br>(inklusive der Zyklen mit Spontanaborten von Gemini zu Einlingsgraviditäten) | <b>39</b>  |  | <b>Abortrate gesamt</b>                      | <b>21,6%</b>                 |
| <b>&lt;12.SSW</b>  | <b>32</b>  |  | <b>Abortrate</b>                             | <b>17,7%</b>                 |
| <b>&gt;12.SSW</b>  | <b>7</b>   |  | <b>Abortrate</b>                             | <b>3,9%</b>                  |
| <b>EUG</b>   | <b>5</b>   |  | <b>Anteil Extrauteringraviditäten</b>        | <b>2,8%</b>                  |

## **5 Diskussion**

In diese prospektive Studie wurden 564 ICSI-Behandlungszyklen aufgenommen. Insgesamt konnten 5676 Kumulus-Oozyte-Komplexe durch transvaginale Follikelpunktion aspiriert werden, deren Reifegrade sich wie folgt verteilten: 84,1 % der Oozyten befanden sich im Stadium der Metaphase II, 6,1 % im Stadium der Metaphase I, 6,8 % im Stadium des Germinalvesikels und 3,0 % waren degenerierte Eizellformen. Grundlage zur morphologischen Charakterisierung bildeten 4778 Metaphase II-Oozyten, deren morphologisches Bild in Abhängigkeit von der Art der ovariellen Stimulation untersucht wurde. Für eine klinisch relevante Aussage wurden die Fertilisationsraten, die Schwangerschaftsraten sowie die Geburten- und Abortraten unseres Patientenkollektivs ermittelt.

### **5.1 Mögliche prädiktive Einflussfaktoren auf den Maturations- und Entwicklungsprozess humaner Oozyten – Ihre Auswirkungen auf den Verlauf einer Kinderwunschtherapie**

Als Faktoren, welche die Therapie der ungewollten Kinderlosigkeit beeinflussen könnten, wurde das maternale Alter, der Body-Mass-Index und die Zahl an Vorbehandlungen auf die Qualität und die Anzahl gewonnener Oozyten ausgewählt. Das Entwicklungsstadium der Embryonen zum Zeitpunkt des Embryonentransfers wird in Abhängigkeit von der ovariellen Stimulation später diskutiert.

#### **5.1.1 Alter**

Das maternale Alter spielt nicht nur in der Reproduktionsmedizin eine entscheidende Rolle, um den Kinderwunsch realisieren zu können. Das Alter der Erstgebärenden steigt seit Jahren kontinuierlich und liegt heute bei durchschnittlich 29,3 Jahren. Der Prozentsatz der über 35-Jährigen Primiparae hat im Zeitraum von 1985-1998 von 3,5% auf 12% zugenommen. Alle 3 Jahre steigt das Alter der Erstgebärenden um ein Jahr an [90]. Weiterhin steigt das mittlere Alter der Frauen, die eine Kinderwunschbehandlung durchführen lassen, stetig an. Im Jahre 2005 lag es bei 34,4 Jahren [91].

Ab dem 35. Lebensjahr der Frau kann es zu einem deutlichen Absinken der ovariellen Antwort auf die Zyklusstimulation, verbunden mit einem Rückgang der durchschnittlichen Zahl punktierter Oozyten, kommen. Diese Tendenzen sehen wir in unserer Patientenklientel deutlich, denn den größten Anteil an Behandlungszyklen bildeten die 30 – 39 -Jährigen Patientinnen (n=410).

Das Alter dieser Patientinnen wies ab dem 3. Lebensjahrzehnt eine signifikante Abnahme der Zahl gewonnener Kumulus-Oozyte-Komplexe (COC) auf. Liegt der Durchschnittswert punktierter COC bei 30 – 34 -Jährigen Patientinnen noch bei 10,2, so vermindert sich die Zahl signifikant auf 7,6 COC bei Frauen > 39 Jahre ( $p < 0,001$ ). Übereinstimmend mit den vorliegenden Ergebnissen zeigten Ravhon und Mitarbeiter [97] in einer retrospektiven Studie mit 1388 Patienten einen signifikanten Abfall in der Zahl punktierter COC mit dem Alter der Frauen (< 34 Jahre: 12,0 COC vs. 8,7 COC bei 39 - 41 Jahren). Lim und Tsakok [128] fanden ebenfalls eine signifikant geringere Anzahl an Eizellkumuluskomplexen mit ansteigendem Alter (< 39 Jahre: 16,6 COC vs. > 40 Jahre: 8,2 COC). Die Ursache dafür ist die in Abhängigkeit vom Alter abnehmende Zahl ovulierender Follikel im Ovar [8] und die dadurch bedingte geringe Reaktionsbereitschaft des Ovars auf eine Gonadotropinapplikation. Messbar ist die noch vorhandene ovarielle Antwort anhand des basalen FSH - Spiegels, der sich ab dem 35. Lebensjahr deutlich erhöht [19, 92] oder der Messung von Inhibin B im Serum [163]. Erhöhte Serumspiegel von FSH (> 10-15 U/l) belegen eine vorzeitige Erschöpfung der Ovarien mit einer ungünstigen Fertilitätsprognose. Durch eine zusätzliche Bestimmung des FSH/LH-Quotienten kann die ovarielle Reserve näher eingeschätzt werden. Ist dieser >3,6 sollte von einer reduzierten Follikelbildung ausgegangen werden. Inhibin B wird in präantralen und antralen Follikeln gebildet. Mit zunehmender Follikelgröße (4 –13 mm) erhöht sich die Konzentration von Inhibin B in der Follikelflüssigkeit. Inhibin B beeinflusst indirekt über einen Feedback-Mechanismus die Sekretion von FSH aus der Hypophyse. Ein weiterer neuer endokriner Marker ist das Anti-Müller-Hormon (AMH). Dieser Marker korreliert mit dem Alter der Patientinnen und der Bestimmung der Zahl antraler Follikel (AFC) im Ovar [164]. Neben endokrinologischen Parametern zählt auch die sonografische Bestimmung der antralen Follikelzahl („antral follicle count“, AFC) zum Spektrum von Untersuchungen zur Einschätzung der ovariellen Reserve. Haadsma et al. [163] beschrieben eine signifikante Reduktion der Zahl antraler Follikel zwischen 2 – 10 mm mit zunehmenden Alter. Weiterhin korreliert die Messung kleiner antraler Follikel mit der Bestimmung und Interpretation oben genannter endokrinologischer Parameter. So repräsentiert die Erfassung des AFC von 2-6 mm quantitativ die funktionale Reaktionsbereitschaft des Ovars [163].

Interessanterweise fanden sich keine deutlichen Unterschiede im Anteil an reifen befruchtungsfähigen Oozyten (Metaphase II) in Abhängigkeit vom Alter der Patientinnen

(82,5 % - 84,9 %). Weiterhin untersuchten wir altersabhängig die Zahl morphologischer Abnormitäten in den Metaphase II-Oozyten und fanden eine Gleichverteilung in der Ausprägung dieser Defekte in allen Altersgruppen. Auffällig niedrig ist der Anteil an Oozyten ohne morphologische Anomalien von durchschnittlich nur 23,0%. Bei der Mehrzahl der Oozyten (ca. 34%) wurde ein abnormales Merkmal dokumentiert. Xia [47] konnte in seiner Arbeit zeigen, dass der Anteil an Oozyten mit einem fragmentierten 1. Polkörper und einem großen perivitellinen Spalt in der Gruppe der über 35-Jährigen signifikant höher im Vergleich zu Patientinnen unter 35 Jahren war (44,7% vs. 30,0%). In der Literatur werden häufig Aussagen zur Korrelation zwischen dem Alter der Patientinnen und der Fertilisationsrate sowie der Schwangerschaftsrate angegeben. Hinsichtlich der Anzahl altersabhängiger morphologischer Defekte gibt es jedoch keine vergleichbaren Ergebnisse.

Die reguläre Befruchtungsrate in unseren Altersgruppierungen variierte zwischen 68,6% - 74,5% und wies keine deutlichen Differenzen auf. Diese Ergebnisse gehen konform mit den Arbeiten von Lim und Tsakok [128] und Abdelmassih et al. [129]. Das Alter der Patientinnen hat jedoch klare Auswirkungen auf die Schwangerschaftsrate. So zeigte sich in dieser Studie ein signifikanter Abfall der Erfolgsrate zwischen Patientinnen < 25 Jahre und > 39 Jahre (50,0% auf 13,6%;  $p=0,018$ ). Untersuchungen von [128] und [129] fanden ebenfalls altersabhängige signifikante Verminderungen in den Schwangerschaftsraten (43,2% auf 14,3% bei Patientinnen  $\leq 34$  Jahre und  $\geq 40$  Jahre [128]; 41,4% auf 16,6% bei Patientinnen < 30 Jahre und zwischen 36 – 40 Jahre [129]). Weiterhin berichtete auch das Deutsche IVF-Register 2005 [91] über eine deutliche Abnahme der klinischen Schwangerschaftsrate bei Frauen mit 40 Jahren und älter (14,97%) gegenüber jüngeren Patientinnen (25,54 % - 33,73 %). Diese deutlich abfallende Tendenz in der Schwangerschaftsrate bei Frauen über 39 Jahren setzt sich in der Geburtenrate fort. So wies unsere Patientenklientel eine Geburtenrate von nur 4,5 % in dieser Altersgruppe auf. Szamatowicz et al. [154] zeigten in ihrer retrospektiven Kohortenstudie deutlich die altersabhängige Verminderung der Implantations-, Schwangerschafts- und Abortraten bei 2511 Patientenpaaren nach IVF auf.

Obwohl die Patientengruppe der über 39 -Jährigen keine Unterschiede in dieser Studie hinsichtlich ihres Anteils an Metaphase II- Oozyten oder in der Fertilisationsrate aufweisen, so finden wir signifikant weniger COC nach einer Follikelpunktion in dieser Altersgruppe. Dies hat zur Folge, dass die Zahl der Oozyten nach Beurteilung des

Reifegrades und nach der Fertilisation weiter abnimmt und am Ende für ein selektives Vorkernscoring nicht ausreichend Pronukleusstadien zur Verfügung stehen. Die daraus entstehenden Embryonen zeigen häufig morphologische Auffälligkeiten, wie eine starke Fragmentierung, multinukleäre Blastomeren und bedingt dadurch eine geringe Entwicklungspotenz. Untersuchungen von Munne et al. [127] konnten eindeutig darstellen, dass morphologisch abnorme Embryonen eine hohe Rate an Polyploidien aufweisen und die Aneuploidierate in scheinbar regulär entwickelten Embryonen deutlich mit dem maternalen Alter der Frauen ansteigt. Offensichtlich ist dies eine Ursache für die niedrigen Implantationsraten in dieser Altersgruppierung. Grimbizis und Kollegen [152] konnten in einer umfassenden Studie bei Frauen über 39 Jahre nach Durchführung der ICSI zeigen, dass die klinische Schwangerschaftsrate mit jedem weiteren Jahr weiter deutlich abfällt und die Erzielung einer klinischen Schwangerschaft nach dem 45. Lebensjahr offenbar nicht mehr gegeben ist.

### **5.1.2 Body-Mass-Index**

Immer wieder wird der BMI als prädiktiver Faktor, der den Verlauf einer Kinderwunschtherapie beeinflussen könnte, genannt. In unserer Studie wurden nur Patientinnen mit einem BMI < 30 kg/m<sup>2</sup> eingeschlossen. Die Unterteilung erfolgte in 3 Gruppen, wobei die Patientinnen mit Normalgewicht (BMI: 18,5 – 24,9 kg/m<sup>2</sup>) den größten Anteil mit 412 Behandlungszyklen bildeten. Unsere Daten belegen, dass der BMI keinen signifikanten Einfluss auf die durchschnittliche Zahl an Kumulus-Oozyte-Komplexen ausübt. Die vorliegenden Ergebnisse stehen im Einklang mit den Studien von Söderström-Anttila et al. [142], Engel et al. [153] und Crosignani et al. [141], diese dokumentierten ebenfalls keine auffallende Korrelation zwischen dem BMI und der Anzahl an COC. In einer umfassenden Studie von Fedorcsak et al. [151] an 5019 Behandlungszyklen wurden jedoch signifikant weniger Kumulus-Oozyte-Komplexe in der Patientengruppe mit einem BMI > 25,0 kg/m<sup>2</sup> gegenüber Patientinnen mit Normal – und Untergewicht (7,2 COC vs. 7,8 und 8,3 COC) gefunden. Bei Betrachtung des Reifegrades zeigen die vorliegenden Ergebnisse einen tendenziell höheren Anteil an Metaphase II - Oozyten bei untergewichtigen Patientinnen (BMI<18,5 kg/m<sup>2</sup>) mit 88,0% gegenüber Frauen mit Übergewicht von 82,9%, jedoch variiert die Gesamteizellzahl stark in beiden Gruppen (n=291 vs. n=1276). Keine Angaben waren in der Literatur bezüglich des Reifegrades sowie des Einflusses des BMI auf die Zahl morphologischer Auffälligkeiten in den Oozyten und deren Entwicklung zu finden. Die hier dargestellten

Ergebnisse zeigen deutlich eine signifikante Verminderung der Anzahl an M II- Oozyten mit einem abnormen Merkmal (38,7% auf 31,4%) bei ansteigendem BMI der Patientin. Den größten Anteil an Oozyten mit zwei oder drei dokumentierten morphologischen Defekten finden wir in der Patientengruppe mit Übergewicht ( $> 25 \text{ kg/m}^2$ ). Übergewicht ist meist assoziiert mit anovulatorischen oder oligo-ovulatorischen Zyklen, die eine schlechtere Reaktion auf Standardtherapieschemata zeigen. Eine dadurch bedingte Asynchronie der Eizellreifungsprozesse könnte möglicherweise eine Ursache für ein erhöhtes Auftreten morphologischer Anomalien in den Oozyten darstellen. Bei Betrachtung der wichtigen klinischen Parameter fanden sich keine signifikanten Korrelationen zwischen dem BMI unserer Patientinnen und der Fertilisations-, Schwangerschafts- und Geburtenrate. Dies lässt vermuten, dass bevorzugt die Oozyten für einen Transfer ausgewählt wurden, die keine morphologischen Abnormitäten aufwiesen. Söderström-Anttila et al. [142] konnten dagegen bei Eizellspenderinnen mit einem BMI  $> 25 \text{ kg/m}^2$  eine signifikant verminderte Befruchtungsrate im Vergleich mit Spenderinnen im Normalgewicht feststellen (18% vs. 43%). Eine Unterteilung des BMI bezüglich der Schwangerschaftsraten wurde von den Autoren nicht durchgeführt. Engel et al. [153] zeigten in ihren Ergebnissen, dass das Körpergewicht die Schwangerschaftsrate nicht beeinflusst.

### **5.1.3 Vorbehandlung**

In diesem Abschnitt, soll der Einfluss bereits durchgeführter IVF- oder ICSI – Zyklen auf den Maturationsprozess der Oozyten, die Ausprägung morphologischer Anomalien und deren Auswirkung auf den Verlauf einer Kinderwunschbehandlung diskutiert werden. Das Erzielen einer Schwangerschaft im aktuellen Zyklus hängt von der Zahl bereits erfolgter Zyklen ab und sinkt pro erfolglos durchgeführtem Behandlungsversuch um etwa 1-2% ab [60]. Aus der Literatur ist bekannt, dass eine wiederholte Stimulationstherapie auch zur Rekrutierung von Follikeln führt, die „normalerweise“ atretisch geworden wären [44, 55, 114]. Eine Auswahl dieser Oozyten könnte aufgrund einer höheren Aneuploidierate zu einer Verminderung der Erfolgsraten führen [55].

Die Anzahl bereits erfolglos durchgeführter Behandlungen hat in unserer Patientenklientel auf die Zahl gewonnener COC im Vergleich zu einer Erstbehandlung keine Auswirkung. Die Betrachtung des Reifegrades punktierter Eizellkumuluskomplexe zeigt deutlich, dass sich der Anteil befruchtungsfähiger Metaphase II-Oozyten in den einzelnen Untersuchungsgruppen nicht unterscheidet. Auffallend ist der zunehmende

Anteil deformierter Eizellen (2,8% auf 5,3%) mit der Anzahl an Vorversuchen. Möglicherweise resultierten diese Oozyten aus schon mehrfach stimulierten Ovarien. In der Literatur finden sich keine vergleichbaren Angaben.

Weiterhin wurde der Einfluss durchgeführter Behandlungszyklen auf die Ausprägung definierter morphologischer Defekte in den Metaphase II-Oozyten untersucht.

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass die Qualität der Eizellen mit der Zahl an Vorbehandlungen signifikant abnimmt. Beträgt der Anteil an M II-Oozyten ohne Anomalien noch 24,2% im ersten Therapieversuch, so vermindert sich dieser Anteil deutlich nach drei Behandlungszyklen auf 16,7%. Die Zahl an M II -Oozyten mit 2 und 3 abnormen Merkmalen steigt prozentual bei Patientinnen mit drei erfolglos durchgeführten Zyklen an. Als mögliche Ursache ist die wiederholte Follikelrekrutierung durch hormonelle Stimulation anzuführen, die zu einer Verminderung des Eizellpools im Ovar führen. Schon Van Blerkom und Henry [43] vermuteten, dass ein wiederholtes Auffinden von Eizeldysmorphismen innerhalb eines stimulierten Zyklus für eine hohe Aneuploidierate der Oozyten spricht. Meriano et al. [126] konnten zeigen, dass ein hoher Anteil an abnormal geformten Oozyten (> 50% des Eizellkohorts) in zwei aufeinander folgenden ICSI-Zyklen zu signifikant verminderten Erfolgsraten führt. Das Auftreten vermehrter Eizeldysmorphismen kann sich auch in Folgezyklen wiederholen [126].

Die Zunahme morphologisch auffälliger M II- Oozyten nach drei durchgeführten Behandlungszyklen in unserem Patientinnenkollektiv könnte offenbar auch die Ursache für eine signifikant verminderte Fertilisationsrate in dieser Gruppe sein. Liegt der prozentuale Anteil befruchteter Oozyten im Erstversuch bei 72,3%, so fällt dieser Wert nach drei Vorversuchen auf 61,1% ab. Deutlich erhöht ist dagegen die Zahl degenerierter Oozyten nach Durchführung der ICSI bei Patientinnen mit 2 oder 3 Vorversuchen. Dieses Ergebnis spricht für eine verminderte Eizellqualität in den beiden untersuchten Gruppen. Neben der Fertilisationsrate zählt die Angabe der Schwangerschaftsrate zu den wichtigsten klinischen Parametern. Die vorliegenden Ergebnisse zeigen deutlich, dass der erhöhte Anteil morphologisch abnormer M II-Oozyten nach zwei oder drei Therapieversuchen auch die Schwangerschaftsrate signifikant beeinflusst. Beträgt die Schwangerschaftsrate bei Patientinnen im Erstversuch noch 37,1%, so sinkt diese auffällig nach einem Vorversuch auf 32,5% und nach 2 oder 3 Therapieversuchen auf 22,1 % und 21,4 % ab. Xia [47] und Serhal et al. [67] konnten ebenfalls eine deutliche Abnahme der Befruchtungsrate und der

Schwangerschaftsrate nach Rückgabe von Embryonen aus morphologisch abnorm entwickelten Oozyten beobachten. Diese Untersuchungen wurden auch von Meriano et al. [126] unterstützt, in denen ein wiederholtes Auftreten morphologischer Abnormitäten (> 50% abnorme Oozyten in zwei aufeinander folgenden Behandlungszyklen) zu signifikant verminderten Implantations- und Schwangerschaftsraten gegenüber einer Kontrollgruppe führen kann.

Eine deutlich niedrigere Geburtenrate war bei Patientinnen mit 2 oder 3 Vorzyklen (17,4%; 10,7%) wieder zu finden, die nachweislich einen hohen Anteil an Oozyten mit Abnormitäten besaßen. Aus den dargestellten Untersuchungen kann die Schlussfolgerung gezogen werden, dass eine wiederholte gonadotrope Stimulation mit dem Ziel des polyfollikulären Wachstums zu einer erhöhten Zahl an Eizellabnormitäten führt, die den Erfolg einer Kinderwunschbehandlung signifikant vermindert.

## **5.2 Einfluss der kontrollierten ovariellen Stimulation (KOS) auf den Maturationsprozess und die morphologische Entwicklung humaner Oozyten**

Für die Durchführung einer IVF- oder ICSI-Therapie ist eine polyfollikuläre Reaktion erforderlich, denn die Chancen auf eine Schwangerschaft sind höher, wenn mindestens 4 befruchtete Eizellen zur Verfügung stehen [12]. Bei Fertilisationsraten zwischen 60% - 80% nach Anwendung o.g. Verfahren, sollten 6 -10 reife befruchtungsfähige M II-Oozyten nach hormoneller Stimulation gewonnen werden. Zur kontrollierten ovariellen Stimulation werden Gonadotropine in Kombination mit GnRH-Agonisten oder Antagonisten eingesetzt, um einen vorzeitigen Eisprung mit Abbruch des Behandlungszyklus zu vermeiden.

### **5.2.1 Reifungsprozess und Häufigkeiten von Eizellabnormitäten**

Im Gegensatz zum Ablauf eines spontan ablaufenden ovariellen Zyklus wird durch gezielte Dosierung von FSH erreicht, dass zwar ein dominanter Follikel, sogenannter Leitfollikel, gebildet wird, jedoch die weiteren heranwachsenden Follikel nicht atretisch werden, sondern sich ebenso zu reifen Follikeln entwickeln können. Dieser Selektionsprozess, d. h. welche Follikel des Ovars sich weiter entwickeln, kann extern nicht beeinflusst werden.

Diese Ergebnisse sollen zeigen, ob die angewandten Protokollformen und die Medikationen / Hormonkombinationen einen Einfluss auf die Selektion reifer, normal geformter Oozyten ausüben.

### **5.2.1.1 GnRH-Protokoll / GnRH-Agonistenpräparate**

Der vorzeitige Anstieg der LH-Konzentrationen nach alleiniger Gonadotropingabe vermindert die Effektivität einer ovariellen Stimulation und wirkt sich gleichzeitig negativ auf die Qualität der Eizellen und Embryonen aus [12]. Durch die Einführung der GnRH-Agonisten wurden diese Nachteile weitgehend behoben. Das lange Agonistenprotokoll hat sich in der Stimulationstherapie effektiv bewährt. Gleichzeitig bietet der Einsatz eines Antagonisten mehrere Vorteile: kürzere Behandlungsdauer, besseren Patientenkomfort, niedrigeren Gonadotropinverbrauch und die Verminderung eines OHSS [28]. Für die statistische Auswertung wurden das lange Agonistenprotokoll mit der Gabe von Cetrorelixacetat als Antagonist verglichen. Die Anwendung von GnRH-Analoga in Verbindung mit der Applikation von Gonadotropinen haben sich in der assistierten Reproduktion einen festen Stand gesichert, da mit ihrer Hilfe ein vorzeitiger Eisprung verhindert und die meisten Behandlungszyklen vollständig durchgeführt werden können.

Zur Durchführung einer optimalen Behandlungsstrategie ist die Gewinnung einer ausreichenden Menge an Eizellkumuluskomplexen notwendig. Die vorliegenden Untersuchungen zeigen, dass nach Anwendung des langen Agonistenprotokolls im Vergleich zum Antagonisten (10,4 COC vs. 9,5 COC) signifikant mehr COC gewonnen werden konnten. Dieses Ergebnis steht im Einklang mit Untersuchungen mehrerer Autoren. So fanden Samama und Mitarbeiter [93] signifikant mehr COC im langen Agonistenprotokoll 10,6 versus 9,6 COC nach Antagonistengabe. Weiterhin unterstützen die Ergebnisse von Olivennes et al. [95] unsere Beobachtungen. Sie berichteten von durchschnittlich 12,8 COC vs. 9,2 Eizellkumuluskomplexe nach einer Single-Dosis-Therapie mit Cetrorelixacetat. In einer kontrollierten Studie der Lübecker Arbeitsgruppe [98] wurden die Ergebnisse beim Wechsel des Routine-Protokolls vom Agonisten zur Mehrfachgabe des Antagonisten dargestellt. Auch hier wurden weniger COC im Mehrfachgabe-Protokoll mit 0,25 mg Cetrorelixacetat im Vergleich zum langen Agonistenprotokoll erhalten (10,2 vs. 11,8). Al-Inany und Aboulghar [137] präsentierten in einem umfassenden Review den Vergleich der GnRH-Agonistengabe mit einer Antagonistenapplikation in 1796 randomisierten Fällen. Als Agonistenpräparate kamen Buserelin-, Leuprorelin und Triptorelinacetat zur Anwendung. Die Zahl punktierter Eizellkumuluskomplexe war in dieser Studie in der Antagonistengruppe ebenfalls signifikant niedriger.

Beim Vergleich der in unserer Untersuchung angewandten Agonistenpräparate ergaben sich keine Differenzen im Anteil befruchtungsfähiger Oozyten ( $p=0,990$ ). Diese Resultate sind mit den Arbeiten von Dada und Kollegen vergleichbar [96], die ebenfalls prospektiv Nafarelinacetat, Buserelin – und Leuprorelinacetat hinsichtlich ihrer Auswirkungen auf eine IVF-Behandlung untersuchten und keine Unterschiede feststellten. Für einen erfolgreichen Verlauf einer Kinderwunschbehandlung ist der Reifegrad der Eizellen von besonderer Bedeutung, denn nur Metaphase II-Oozyten können durch ein Spermatozoon befruchtet werden. In den vorliegenden Ergebnissen führt das lange Agonistenprotokoll zu signifikant mehr Oozyten im Metaphase II-Stadium gegenüber einer Cetorelixtherapie (85,5% vs. 80,8%). Weiterhin wurde nach Antagonistengabe ein deutlich höherer Anteil an Metaphase I-Oozyten registriert (9,0% vs. 5,1%). Der Anteil unreifer Eizellformen (GV-Stadium, degenerierte Eizellformen) war in beiden Protokollformen vergleichbar. Die hier dargestellten Ergebnisse gehen konform mit den Untersuchungen von Olivennes et al. [95]. In ihrer Studie fanden sie einen Anteil reifer Oozyten von 81,5 % für das lange Agonistenprotokoll mit Triptorelinacetat und 78,5 % M II-Oozyten nach Cetorelixapplikation. Samama et al. [93] berichteten über tendenziell weniger M II-Oozyten in der Antagonistengruppe verglichen mit der Agonistentherapie ( $p=0,09$ ).

Die morphologische Betrachtung jeder einzelnen M II-Oozyte vor einer ICSI-Therapie zeigt, dass Oozyten sich hinsichtlich ihrer Form und Struktur auffallend unterscheiden können. Definierte Merkmale wurden in extrazytoplasmatische und zytoplasmatische Charakteristika zusammengefasst. Offenbar ist die Anzahl vorhandener Abnormitäten pro Oozyte für deren weiteren Entwicklungsweg entscheidend [118,126].

Für uns stellte sich die Frage, ob es einen Zusammenhang zwischen der Wahl des GnRH-Protokolls und der Ausprägung morphologischer Abnormitäten in der Zahl gewonnener Metaphase II-Oozyten gibt. Interessanterweise zeigte sich, dass, obwohl weniger M II-Oozyten nach Antagonistengabe zur Verfügung standen, der Eizellanteil ohne abnorme Merkmale in dieser Gruppe signifikant höher gegenüber einer Gruppe nach Agonistenapplikation war (28,1% vs. 22,0%). Weiterhin ist der Anteil an M II-Oozyten mit zwei und drei morphologischen Defekten in der Antagonistengruppe auffallend niedriger. Aufgrund der genaueren Analyse der verabreichten Agonistenpräparate, konnten wir feststellen, dass die signifikant verminderte Anzahl an „normal“ geformten Oozyten in der Agonistengruppe durch die Applikation von Triptorelinacetat und Nafarelinacetat bedingt ist. Die Wahl von Leuprorelinacetat als

Agonist, ob täglich dosiert oder in Depotform, zeigt eine mit Cetrorelixacetat vergleichbare Anzahl von „ideal“ geformten Oozyten. Vor allem die Gabe von Triptorelinacetat führt zu signifikant weniger normal geformter Oozyten und zu einem hohen Eizellanteil mit zwei und drei abnormen Merkmalen. Eine vergleichbare Analyse konnte in der Literatur nicht gefunden werden. Weitere Untersuchungen sind noch notwendig, um die vorliegenden Ergebnisse zu validieren.

### **5.2.1.2 Gonadotropinmedikationen / Stimulationsschemata**

Diese Studie zeigt prospektiv die hormonellen Wirkungen einzelner Gonadotropinpräparate oder auch Kombinationsmedikationen auf die Follikelentwicklung und die Ausbildung von Eizellkumuluskomplexen. Weiter wurden auch angewandte Standardtherapieschemata einbezogen, um das Zusammenspiel zwischen GnRH-Analogen und einem Gonadotropin auf den Reifungs- und Entwicklungsprozess der Oozyten untersuchen zu können. In die vorliegende Studie wurden Hormonpräparate urinären Ursprungs (Menotropin, Urofollitropin) und rekombinant hergestellte Medikamente (Follitropin alpha und beta, Lutropin alpha) intergriert. Bevor der Einfluss dieser Präparate auf den Reifegrad der Oozyten diskutiert wird, soll vorerst die Zahl durchschnittlich gewonnener Eizellkumuluskomplexe in Abhängigkeit von ihrem Herstellungsverfahren analysiert werden. Beim Vergleich der beiden urinären Präparate in dieser Studie sind signifikant weniger COC nach einer Behandlung mit Menotropin gegenüber der FSH-Monotherapie mit Urofollitropin (9,3 COC vs. 11,3 COC;  $p=0,020$ ) gefunden wurden. Dieses Ergebnis wird von Agrawal et al. [102] mit 10,7 gewonnenen COC für Menotropin versus 13,3 COC bei Urofollitropin, von Kornilov et al. [130] mit 12,9 COC für Menotropin gegenüber 13,9 COC für uFSH und von der Arbeitsgruppe von Weissman et al. [103] (12,7 COC für Menotropin vs. 13,6 COC für Urofollitropin) unterstützt. Die Unterschiede zeigten jedoch nur in der Arbeit von Kornilov et al. [130] eine Signifikanz.

Der Vergleich der beiden rekombinant hergestellten Präparate in dieser Studie hinsichtlich der Anzahl punktierter Eizellkumuluskomplexe zeigt, dass signifikant mehr COC nach Applikation von Follitropin beta gegenüber Follitropin alpha erhalten wurden (11,7 COC vs. 10,0 COC). Tulpalla et al. [133] und Harlin et al. [132] fanden dagegen keine deutlichen Differenzen in der Anzahl an COC zwischen beiden Hormonpräparaten (13,0 COC Follitropin alpha vs. 12,4 COC Follitropin beta [133]; 7,3 COC Follitropin alpha vs. 7,0 COC Follitropin beta [132]). Eine mögliche Ursache für die signifikante

Differenz in den vorliegenden Ergebnissen könnte die deutlich unterschiedliche Zahl an Behandlungszyklen (n=53 vs. n=276) sein. In den meisten Literaturstudien wurde Augenmerk auf den Vergleich der Ergebnisse zwischen der Anwendung von Gonadotropinen urinären Ursprungs gegenüber rekombinanten Präparaten gelegt. Die vorliegenden Untersuchungen belegen, dass unter der Anwendung von Follitropin beta mehr COC im Vergleich zu einer Menotropingabe (11,7 COC vs. 9,3 COC) gewonnen wurden. Die Applikation von Follitropin alpha zeigte keine Differenzen gegenüber der Gabe von Menotropin. Eine Übereinstimmung in der Literatur ist bei Jansen et al. [99] mit einer durchschnittlich punktierten Zahl von 11,2 COC für Follitropin beta vs. 8,3 COC nach Menotropingabe in Behandlungszyklen ohne „Downregulation“ zu finden. Arbeiten von Ng et al. [101] und Westergaard et al. [104] zeigten in der Anzahl an COC nach einer Menotropin- und Follitropin alpha Applikation, verglichen mit den hier dargestellten Ergebnissen, keine deutlichen Unterschiede. Auffallend mehr Kumulus-Oozyte-Komplexe zugunsten einer Follitropin alpha – Medikation gegenüber Menotropin wurden in den Studien von Balasch et al. [105] (11,8 COC vs. 9,1 COC) und Nyboe Anderson et al. [106] dokumentiert. Diese widersprüchlichen Ergebnisse in der Literatur könnten in der variierenden Zahl an Behandlungszyklen (n=20 bis n=368) und im Studiendesign ihre Ursache haben. Van Wely et al. [107] werteten acht Studien, die eine Anwendung zwischen Menotropin und Follitropin alpha in ART-Zyklen verglichen, in einer Metaanalyse aus. Diese Studie konnte jedoch keine Kernaussage zugunsten eines Präparates machen, da der Studienaufbau, die eingeschlossene Patientenklientel und die zu untersuchenden Parameter zu verschieden waren. Dies unterstreicht auch eine ausführliche Stellungnahme von Ludwig und Rabe, die erhebliche Mängel der in die Metaanalyse aufgenommenen Studien aufzeigen [108]. So hatten zum Beispiel nur drei [z. B. 101, 143] der acht Studien einen auf den Endpunkt bezogene Berechnung der Fallzahl, eine davon wurde vorzeitig abgebrochen. In vier Studien wurden sowohl ICSI als auch IVF-Zyklen durchgeführt, ohne dass die Ergebnisse getrennt dargestellt wurden [z. B. 104, 143, 144]. Die Metaanalyse erreicht in keiner Gruppe die von den Autoren geforderte Größe von 2200 Patientinnen, um eine klinisch relevante Aussage zur differentiellen Wirkung von rFSH und hMG zu machen.

Unterschiedliche Ergebnisse finden sich ebenfalls in der Literatur zur Anzahl gewonnener Eizellkomplexe beim Vergleich der Applikationen von urinären oder rekombinanten FSH-Monopräparaten. So berichteten Huang et al. [115] im Durchschnitt von signifikant mehr COC nach Applikation von Urofollitropin versus Follitropin alpha

(7,4 COC vs. 5,6 COC). Auch die Beobachtungen von Ravhon et al. [97] spiegelten eine signifikant höhere Anzahl an COC nach Gabe von Urofollitropin im Vergleich zu Follitropin beta (11,5 vs. 9,1) wider. In den vorliegenden Ergebnissen führte die Gabe von Urofollitropin zu deutlich mehr COC gegenüber Follitropin alpha (11,3 vs. 10,0;  $p=0,036$ ), jedoch gab es keine Differenzen zu einer Follitropin beta - Medikation (11,3 vs. 11,7).

Dagegen dokumentierten einige Autoren [110, 111, 112] eine signifikant höhere Zahl an COC nach Gabe von rekombinanten Präparaten gegenüber einer urinären FSH-Therapie. Out et al. [110] berichteten von 10,8 COC für Follitropin beta vs. 9,0 für uFSH; Bergh et al. [111] fanden 12,2 COC für Follitropin alpha vs. 7,6 COC für Urofollitropin, Frydman et al. [155] 11,0 COC vs. 8,8 COC und Schats et al. [112] dokumentierten einen Unterschied von 13,4 COC vs. 11,4 COC zugunsten Follitropin alpha.

Deutlich weniger Eizellkumuluskomplexe wurden in der vorliegenden Studie nach einer Kombinationstherapie von Follitropin alpha plus Menotropin gegenüber einer alleinigen rFSH-Gabe (9,0 COC vs. 10,0 COC) gefunden. Dieser signifikante Unterschied mit  $p=0,034$  wird möglicherweise durch den höheren Anteil der Patientinnen zwischen 35 - 39 Jahren nach Gabe der Kombinationstherapie hervorgerufen. Bei Betrachtung der Therapieschemata ist ebenfalls die Anzahl gewonnener COC im Antagonistenprotokoll nach Gabe von Follitropin alpha plus Menotropin signifikant vermindert gegenüber Follitropin alpha allein (7,9 COC vs. 10,2 COC). Auch hier liegt die Ursache möglicherweise im älteren Patientengut begründet.

Neben einer empfohlenen Mindestanzahl von 6 -10 COC pro Behandlungszyklus, ist der Anteil an Metaphase II -Oozyten für die Fertilisation entscheidend [12].

In den hier dargestellten Untersuchungen wurde der Reifegrad aller gewonnenen Oozyten in Abhängigkeit vom verabreichten Hormonpräparat ermittelt. Der Anteil an Metaphase II-Oozyten war in allen untersuchten Hormongruppen vergleichbar und zeigte keine deutlichen Unterschiede. Huang et al. [115] fanden dagegen signifikant mehr Metaphase II-Oozyten nach Urofollitropingabe gegenüber einer Follitropin alpha-Medikation (84,9% vs. 60,4%). In der Analyse des Anteils an Metaphase I-Oozyten dokumentierten Huang et al. [115] einen auffallend höheren Anteil für Follitropin alpha von 33,3% vs. 7,7% für Urofollitropin gegenüber den vorliegenden Ergebnissen (6,5% vs. 2,8%). Vier bis acht Stunden nach Denudierung wurde ein annähernd gleicher Prozentsatz an Metaphase II-Oozyten in beiden Gruppen von 89,1% vs. 89,9% erreicht. Die initiale tägliche Dosierung der Gonadotropine wurde in der Arbeit von Huang et al.

[115] bei Patientinnen < 35 Jahre mit 225 IU und bei Patientinnen ≥ 35 Jahre mit 300 IU begonnen. Diese ungewöhnlich hohe Einstiegsdosis, sowie das Timing des richtigen Auslösens der Follikel mit hCG und die Dauer der Stimulation in Abhängigkeit des angewandten Gonadotropins könnten mögliche Ursachen für diesen auffallenden Unterschied im Reifestatus der Oozyten sein. Ungewöhnlich niedrig erscheint auch die durchschnittliche Zahl gewonnener Oozyten (5,6 für Follitropin alpha und 7,4 für Urofollitropin) in dieser Publikation.

Ein direkter Vergleich des Reifegrades von Oozyten nach ovarieller Stimulation mit urinären oder rekombinanten Gonadotropinen, führte auch in den Studien von Ng et al. [101], Bergh et al. [111], Jacob et al. [113] und Weissman et al. [103] zu keinen deutlichen Differenzen. Im Gegensatz dazu fanden Imthurn et al. [114] signifikante Unterschiede im Anteil an M II-Oozyten zwischen Urofollitropin und Menotropin (88,8% vs. 80,6%) oder Out et al. [110] und Balasch et al. [105] einen höheren Anteil reifer Oozyten zugunsten rekombinanter Präparate.

Bei der Betrachtung der einzelnen Therapieschemata in der vorliegenden Studie führten die Gaben von Follitropin beta, Urofollitropin und Menotropin im Agonistenprotokoll zu vergleichbaren Anteilen an M II-Oozyten zwischen 81,6% und 87,0%. Diese Ergebnisse werden unterstützt von den Beobachtungen von Weissman et al. [103], Bergh et al. [111], Ng et al. [101] und Jacob et al. [113], die ebenfalls hinsichtlich des Anteils an Metaphase II-Oozyten keine deutlichen Differenzen nach Applikation von urinären oder rekombinant hergestellten Präparaten feststellten. Nach Kombinationsgabe von Follitropin alpha und Menotropin reifen tendenziell mehr M II-Oozyten im Antagonistenprotokoll gegenüber einer Leuprorelinacetatgabe heran (88,2% vs. 83,9%). Der Reifegrad der Oozyten nach alleiniger Follitropin alpha - Gabe zeigt sich jedoch im Antagonistenprotokoll signifikant vermindert gegenüber der Applikation von Agonistenpräparaten (79,4% vs. 84,9% - 87,3%). Dieser niedrige Anteil ist weiter dafür verantwortlich, dass vermehrt Oozyten im Metaphase I- und im Germinalvesikelstadium nach Applikation von Cetorelixacetat vorliegen. Diese Beobachtung konnten wir auch bei Betrachtung der GnRH-Protokolle machen. Der in dieser Studie deutlich verminderte Anteil reifer Oozyten nach Gabe von Cetorelixacetat könnte möglicherweise seine Ursache in einer zu frühen Ovulationsauslösung haben.

In Verbindung mit einer Follitropin alpha - Medikation berichteten Samama et al. [93] über keine deutlichen Unterschiede im Reifegrad der Oozyten zwischen Agonisten und Antagonistengabe (9,2 M II-Oozyten vs. 8,4 M II-Oozyten).

Signifikante Differenzen im Reifegrad der Oozyten zugunsten der rekombinanten Präparate dokumentierten Out et al. [110] und Balasch et al. [105]. Bei der Arbeit von Out und Mitarbeitern [110] handelt es sich um eine Analyse von fünf verschiedenen Studien, die im Agonistenprotokoll den Vergleich von urinären und rekombinanten Präparaten untersuchten. Möglicherweise liegt die Ursache des höheren Anteils unreifer Oozyten nach uFSH-Gabe in einer zu frühen Ovulationsauslösung bei  $\geq 17$  mm Follikeldurchmesser. Die Publikationen von Balasch et al. [105] und Ng et al. [101] können aufgrund ihrer kleinen Anzahl an Behandlungszyklen ( $n=25$ ;  $n=20$ ) je Untersuchungsgruppe für eine klinisch relevante Aussage nicht verwendet werden.

Mit der Feststellung des Reifegrades der Oozyten beginnt die weitere Begutachtung der Eizellen und Einteilung anhand morphologischer Parameter, die möglicherweise Einfluss auf den Verlauf der Therapie nehmen könnten. Wie aus der Übersicht 25 des Ergebnisteils zu entnehmen ist, lag die Zahl morphologisch „ideal“ aussehender Oozyten bei 23,7%. Dies entspricht nur knapp einem Viertel aller Metaphase II-Oozyten. Den Hauptanteil haben Eizellen mit einem morphologischen Defekt (34,0%), ein weiteres Viertel wies 2 abnorme Merkmale auf.

Aus der Tabelle 24 des Ergebnisteils ist der Einfluss einer Gonadotropinmedikation auf die Ausprägung morphologischer Eizelldefekte ersichtlich. Auffallend deutlich unterscheiden sich die urinären Präparate Menotropin und Urofollitropin hinsichtlich ihres Anteils an normal geformten Oozyten (28,1% vs. 17,0%) bis hin zu Oozyten mit drei Abnormitäten (6,4% vs. 15,9%) voneinander. Ebner et al. [45] berichteten in ihrer Arbeit von einem Eizellanteil nach Menotropinapplikation von 55,8% ohne Anomalie, 44,2% mit einem abnormen Merkmal und 15,2% der Oozyten wiesen zwei morphologische Defekte auf. Weiterhin dokumentierten De Sutter et al. [52] einen Anteil an normal geformten Metaphase II-Oozyten von 36,8%, Eizellen mit einem morphologischen Defekt von 39,0% und Oozyten mit mehr als einer Auffälligkeit von 24,2% unter Anwendung von Menotropin im Agonistenprotokoll. Ihre Ergebnisse sind durchaus mit denen in der vorliegenden Studie vergleichbar. Bei Betrachtung der rekombinanten Präparate zeigt sich ein höherer Eizellanteil ohne Abnormitäten nach Follitropin beta-Applikation (27,0% vs. 23,1%). Weiterhin ist die Zahl an Eizellen mit 2 oder 3 abnormen Merkmalen in der Gruppe von Follitropin beta gegenüber Follitropin alpha vermindert (22,2%; 8,9% vs. 26,5%; 13,0%). Es ist sicherlich zu überprüfen, ob dieses Ergebnis aufgrund der stark variierenden Anzahl an Oozyten in den beiden Gruppen zustande kommt, denn die Gruppe von Follitropin alpha enthält fast 5 mal

mehr Oozyten gegenüber Follitropin beta. In der Literatur gibt es zu diesen Ergebnissen derzeit keine Vergleichsarbeit.

Aus den vorliegenden Untersuchungen wird jedoch deutlich, dass die Applikation von Urofollitropin zu signifikant weniger normal geformter Oozyten und zu einem vermehrten Anteil morphologisch auffälliger Oozyten führt. Inwieweit diese Beobachtungen auch für das neue urinäre Präparat Bravelle<sup>®</sup> zutreffen, müssen weitere Studien zeigen.

Aus Tabelle 25 ist ersichtlich, dass einzelne Therapieschemata einen höheren Anteil an „ideal“ geformten Oozyten gegenüber anderen aufweisen. Bei Betrachtung der Stimulationsschemata nach Applikation urinärer Präparate im Agonistenprotokoll empfiehlt sich eindeutig eine Behandlung von Menotropin mit Triptorelin- oder Leuprorelinacetat gegenüber der Anwendung von Urofollitropin (37,3%, 32,2% vs. 11,6%, 23,3%). Nach den vorliegenden Resultaten führt die Gabe von Urofollitropin im Agonistenprotokoll zu signifikant mehr morphologisch abnormen Oozyten. Besonders deutlich zeigt sich dies im Eizellanteil mit zwei (31,1%) und drei (15,9%) abnormen Merkmalen im Vergleich zu einer Menotropinapplikation (17,1%, 5,2%). Ausgehend von diesen Ergebnissen ist eine Menotropingabe einer Behandlung mit einem urinären FSH- Monopräparat vorzuziehen.

Bei den rekombinanten Präparaten ist die Gabe von Leuprorelinacetat mit Follitropin beta hervorzuheben, die in 45,6% zu Eizellen ohne Abnormitäten führt. Ebenso weist die Kombination von Cetrorelixacetat mit Follitropin alpha einen Anteil normal geformter Oozyten von 30,0% auf. Alle weiteren Behandlungsschemata liegen signifikant unterhalb dieser prozentualen Angaben und variieren zwischen 15,0 % und 24,8%. Da die untersuchte Anzahl an Metaphase II-Oozyten in den einzelnen Gruppen stark variiert, verstehen sich die hier dargestellten Beobachtungen als mögliche Hilfestellungen für die Auswahl eines geeigneten Therapieregimes. Eine solche Gesamtübersicht wurde in der Literatur bisher noch nicht erstellt. Repräsentativ erweist sich die Gruppe um Follitropin alpha in Kombination verschiedener GnRH-Agonisten und der Applikation von Cetrorelixacetat mit 2320 Metaphase II-Oozyten. Weiterführende Untersuchungen müssen diese Erkenntnisse jedoch noch bestätigen.

### **5.2.2 Einfluss gonadotroper Hormone auf die Ausprägung definierter Formen und Anomalien in den Oozyten**

Um den Einfluss gonadotroper Hormone auf die Oozytenqualität dokumentieren zu können, ist eine Einteilung von morphologischen Abweichungen der äußeren Hülle und

des Zytoplasmas erforderlich. Eine grundlegende Arbeit hierzu verfasste Van Blerkom [55], der damit einen Meilenstein in der Bedeutung morphologischer Parameter und deren zeitliche Veränderungen innerhalb des Entwicklungsprozesses der Eizellen setzte. Seine Untersuchungen gaben erste Hinweise auf eine Beteiligung der ovariellen Stimulation an morphologischen Veränderungen der Oozyte. Aufgrund der Vielzahl an heranreifenden Follikeln nach hormoneller Gabe ist der wichtige Prozess der Eizellreifung nicht für alle Oozyten gleichermaßen gegeben. Es reifen dadurch auch solche Follikel heran, die im normalen Zyklusgeschehen atretisch geworden wären [116]. Die Oozytenreifung gliedert sich in eine Kern- und Zytoplasmareifung, welche vor der Penetration des Spermatozoons abgeschlossen sein sollte, um eine optimale Oozytenqualität zu erhalten. Ein synchroner Verlauf beider Prozesse kann nach kontrollierter Überstimulation des Ovars nicht für alle Oozyten angenommen werden.

Allein die Abschnürung des 1. Polkörpers steht nicht in allen Fällen für eine Beendigung der Kernreifung. Es konnte gezeigt werden, dass sich einige Oozyten bei näherer Betrachtung noch in der Telo- oder Prometaphase I befinden. Eine Injektion solcher „vermeintlich“ ausgereifter Oozyten ohne nachweisbare Teilungsspindel führt zu deutlich verminderten Befruchtungsraten. Eine Arbeit von Montag et al. [117] empfiehlt beim Nachweis derartiger Oozyten eine Verschiebung der ICSI um mindestens 2 Stunden. Das Fehlen der meiotischen Spindel ist als vorübergehendes Phänomen in einem dynamischen Prozess anzusehen.

Die Beobachtung, dass die Eizelle die Kernreifung erreicht hat, sagt nichts über den Reifungsprozess im Zytoplasma aus. Ob diese „zytoplasmatische Reifung“ in gleicher Weise erfolgt ist, könnte möglicherweise das Vorhandensein eines homogenen, leicht granulierten Ooplasmas ohne Einschlüsse widerspiegeln. Zytoplasmatische Abweichungen von der normalen Form, wie die Granulierung des Ooplasmas oder das Vorhandensein von Vakuolen und refraktilen Körpern sind offenbar Zeichen eines noch nicht abgeschlossenen Eizellreifungsprozesses. Im Gegensatz zu natürlichen, ovariellen Zyklen, soll die Kern- und Zytoplasmareifung in IVF oder ICSI-Behandlungszyklen weniger synchron erfolgen [41]. Weitere Ursachen für morphologische Auffälligkeiten könnten an einem reduzierten Blutfluss in den Follikeln während der COS und einem dadurch bedingten Sauerstoffmangel liegen. Diese führen zu einem reduzierten ATP-Gehalt ( $< 2 \text{ pmol}$ ) in der Oozyte und zur Desorganisation des Zytoplasmas [121]. Hypoxie kann zusätzlich zu Chromosomendefekten und Störungen des Spindelapparates führen [121]. Unklar ist bisher, ob diese Effekte zu

morphologischen Abweichungen führen oder zu einer asynchronen Entwicklung der Kern- und Zytoplasmareifung [45, 51, 120, 122]. Oozyten mit auffällig granuliertem Ooplasma haben einen niedrigeren intrazellulären pH-Wert (pHi) und ATP-Gehalt. Diese Oozyten zeigen eine vergleichsweise hohe Frequenz an Aneuploidien. Eine follikuläre Sauerstoffunterversorgung führt bei ihnen zu einer Reduktion des Stoffwechsels, was die Organisation und Stabilität der meiotischen Metaphase-Spindel beeinflusst. Diese Beeinträchtigung der zytoplasmatischen Organisation könnte die Ausschleusung des 1. Polkörpers beeinflussen. Eine irreversible Schädigung des Chromosomenstatus und der Eizellpolarität wären die Folgen [116, 121]. Die weiteren, grundlegenden Prozesse, wie die nach der Penetration des Spermatozoons induzierte Aktivierung der Oozyte sowie die weitere Entwicklungspotenz der Oozyte lassen sich jedoch anhand morphologischer Parameter nicht erfassen.

Die Einteilung aller in dieser Studie untersuchten Metaphase II-Oozyten anhand ihrer extra- und zytoplasmatischen Parameter ist in den Übersichten 23 und 24 ausführlich dargestellt. Den Einfluss der meist angewandten Gonadotropinmedikationen auf die Ausbildung definierter morphologischer Abweichungen in den Oozyten soll nachfolgend diskutiert werden.

Bei Betrachtung der extrazytoplasmatischen Parameter zeigt sich bei allen untersuchten Gonadotropinen ein M II-Oozytenanteil mit normal geformtem 1. Polkörper bei über 50%. Hervorzuheben sind die Präparate Menotropin mit 61,8% und die Kombination von Follitropin alpha plus Menotropin mit 69,0%. Ebner et al. [45] zeigten in ihren Untersuchungen ebenfalls einen Oozytenanteil mit normal geformten Polkörpern von 67,1% nach Menotropinmedikation, der prozentuale Anteil an fragmentierten 1. Polkörpern lag bei 29,5%. Keine Angaben wurden zu flach geformten 1. Polkörpern gemacht.

In den hier dargestellten Untersuchungen ist bei den urinären Präparaten der Anteil an flach geformten 1. Polkörpern im Vergleich zu den rekombinanten Medikamenten auffallend hoch. Im Gegensatz dazu steigt der prozentuale Anteil an fragmentierten 1. Polkörpern in den rekombinanten Präparategruppen signifikant an. Eine mögliche Ursache dafür könnte in der durch die Stimulation mit gonadotropen Hormonen rekrutierten Metaphase II-Oozyten liegen, die sich in der Dauer ihres Kernreifungsprozesses unterscheiden. Morphologisch manifestiert sich dies in den verschiedenen Formen des 1. Polkörpers. So könnte der hohe Anteil flach geformter 1. Polkörper bei urinären Gonadotropinen für eine noch nicht vollständig vollzogene

Kernreifung in den Oozyten sprechen [47]. Eine Verlängerung der Kultivierungszeit vor Durchführung der ICSI um ca. 2 Stunden und der mikroskopische Nachweis einer Teilungsspindel könnte zu einer Verbesserung der Fertilisationsraten führen [47, 117]. Fragmentierte erste Polkörper sprechen für gereifte Oozyten, die möglicherweise schon Schädigungen im Spindelapparat oder Chromosomenverluste aufweisen. Einige Autoren unterstützen die Vermutung, dass eine optimale Kernreifung erfolgt ist, wenn der 1. Polkörper intakt erscheint [45, 47, 135]. Dies trifft sicherlich auch auf die Mehrzahl der M II-Oozyten zu. Wie wir jedoch aus der Literatur wissen, können scheinbar reife Oozyten sich noch im Stadium der Telo – oder Prometaphase I befinden und nach der ICSI keine Befruchtungszeichen zeigen. Eine suboptimale Kernreifung kann ebenfalls zu einer Reduktion der Embryonenqualität führen [45, 46, 47, 49].

Um die Differenzen im Reifegrad und in der Qualität der Oozyten minimieren zu können, wäre eine individuellere Ovulationsauslösung in Abhängigkeit der verabreichten Medikationen zu überdenken.

Ein weiterer Parameter ist die Beurteilung des perivitellinen Spaltes (PVS) der Oozyten. Die vorliegenden Ergebnisse zeigen einen signifikant erhöhten Eizellanteil mit einem vergrößerten PVS nach Applikation von Follitropin alpha (29,7%) und in Kombination mit Menotropin (32,6%). Auffallend niedrig sind die Werte nach Menotropin- und Follitropin beta - Medikationen (20,1%; 17,5%), die jedoch auch in der geringeren Eizellmenge ihre Ursache haben könnten. Untersuchungen von Xia [47] postulierten, dass der Anteil an Oozyten mit fragmentiertem 1. Polkörper und einem vergrößerten PVS Anzeichen für ein überreifes Zytoplasma zum Zeitpunkt der Ovulationsauslösung sind. Der Autor fand einen Eizellanteil mit einem großen perivitellinen Spalt und zytoplasmatischen Einschlüssen bei 47,3% nach Stimulation mit Urofollitropin. Auch das Altern der Eizellen in vivo vor einer Follikelaspiration könnte ebenfalls mit einer Degeneration des 1. Polkörpers einhergehen. Bei überreifen Oozyten wurden Störungen in der Fertilisationsrate beobachtet [122]. Granula im perivitellinen Spalt sind ebenso negative Prädiktoren, die möglicherweise ihre Ursache in einer Überdosierung des Gonadotropins während der Stimulation haben [44]. Der zelluläre Ursprung dieser Granula könnten Rückstände von Coronazellausläufern [123] oder Produkte einer extrazellulären Matrix sein [124]. Ein weiteres morphologisches Merkmal der Oozyten ist ihre Form, die in unserer Studie zwischen rund und oval, elongiert eingeteilt wird. Die ovale Form einer Oozyte kann, ursächlich durch die Ablösung der inneren Zona pellucida - Schicht, während der zu starken mechanischen Beanspruchung bei der

Denudation zustande kommen [125] oder ist Folge einer kompletten Deformation von Zona und Eizelle [156]. Im letzteren Falle kann sich der entstehende Embryo nicht gleichmäßig entwickeln. Diese Verformung ist irreversibel und die Zona verliert ihre formgebende Funktion. Somit entsteht ein Embryo dessen Blastomere eine eher planare Aneinanderreihung vorweisen [53]. Dies führt zur Verringerung von Zell-Zell-Kontakten zwischen den Blastomeren, die ausschlaggebend für die weitere Entwicklung des Embryos sind [40]. Aufgrund dieser Ergebnisse sollten Oozyten mit abweichender, ovaler Symmetrie nicht bevorzugt für den Embryonentransfer verwandt werden.

In Abhängigkeit von den angewandten gonadotropen Hormonen zeigten sich signifikant vermehrt ovale Eizellformen bei Follitropin alpha (15,1% vs. 7,8 % -12,4%). Dieses Ergebnis ist möglicherweise durch die vier bis fünffach höhere Eizellzahl in dieser Gruppe begründet. Vergleichende Gaben verschiedener gonadotroper Hormone in Abhängigkeit von der Eizellsymmetrie waren in der Literatur nicht zu finden. Eine morphologische Analyse der Kompaktheit der Zona pellucida wurde nicht detailliert durchgeführt, da sie vom jeweiligen Betrachter und von der Qualität des technischen Zubehörs abhängig ist. Aufgrund dessen wurde dieses Merkmal nicht in diese Studie aufgenommen. Wie erst kürzlich gezeigt wurde, ist weniger die Dicke der Glykoproteinschicht als diagnostisches Kriterium, sondern vielmehr die Dicke und die Brechungseigenschaften der inneren der drei Zonaschichten für den Zyklusausgang verantwortlich [117, 125]. Diese Untersuchungen sind allerdings nur mit einem Zusatz an neuen technischen und kostenintensiven Hilfsmitteln möglich wie z. B. das Polscope (CRI Inc., USA) oder das Spindel – imaging-System (OCTAX ICSI Guard<sup>TM</sup>; OCTAX Microscience GmbH, Herborn, Germany).

Zu den beobachteten Anomalien des Zytoplasmas zählen eine extensive Zentralgranulierung, das Vorhandensein von Vakuolen und das Auftreten refraktiler Körper. Die optisch markante Abweichung einer zentralen Granulierung wurde von mehreren Autoren beschrieben [43, 51, 55, 126] und korreliert als Dysmorphismus mit einer erhöhten Rate an chromosomalen Auffälligkeiten (47% - 52,2%) und signifikant niedrigeren Schwangerschaftsraten [67, 126]. Das Vorhandensein eines deutlich granulierten Zytoplasmas könnte ein negativer prognostischer Faktor sein, der eine inkomplette zytoplasmatische Reifung anzeigt und damit den erfolgreichen Ausgang einer Kinderwunschbehandlung vermindert [51, 67]. Es gibt Hinweise, dass der auffällige Granulierungsgrad der Oozyten sich in Folgebehandlungszyklen wiederholen kann [51, 126]. In der vorliegenden Studie war der Anteil der Eizellen, die ein

homogenes Zytoplasma aufwiesen bei 73,4%, gefolgt von 20,8% mit zentraler Granulierung und 5,7% mit einem vollständig granuliert aussehenden Ooplasma. Serhal et al. [67] untersuchten den Einfluss zytoplasmatischer Morphologieparameter auf die Erfolgsrate bei ICSI-Zyklen nach Anwendung von Urofollitropin im langen Agonistenprotokoll. Ein homogenes Zytoplasma wurde in 64 % der M II-Oozyten beobachtet, 19% hatten eine exzessive Granulierung und 17 % zytoplasmatische Einschlüsse (z. B. Vakuolen, refraktile Körper). Eine Unterscheidung des Granulierungsgrades wurde nicht durchgeführt.

Diese Untersuchungen stimmen mit den hier dargestellten Beobachtungen nach einer Urofollitropin - Applikation überein, die einen Eizellanteil von 64,1% mit normalem Zytoplasma zeigten. Weiterhin repräsentieren die vorliegenden Ergebnisse, dass die Wahl von uFSH zur ovariellen Stimulation zu einer signifikant erhöhten Anzahl abnormer Oozyten mit zentralem oder vollständig granuliertem Zytoplasma gegenüber den gonadotropen Vergleichspräparaten führt (28,2% vs. 17,1% - 22,0%; 7,7% vs. 3,5% - 6,2%). Der Gesamtanteil an granulierten M II- Oozyten lag in der Urofollitropingruppe bei 35,9%. Kahraman und Mitarbeiter [51] untersuchten 39 retrospektiv ausgewählte ICSI-Zyklen mit ausgeprägtem Granulierungsgrad der Oozyten. Bei allen Zyklen erfolgte die KOS durch eine Kombinationstherapie von Urofollitropin mit Menotropin. In 65,8% der M II-Eizellen wurde ein zentral granuliertes Areal im Zytoplasma lokalisiert, welches allerdings zu keinen signifikanten Differenzen in der Fertilisationsrate, Embryonenentwicklung und Schwangerschaftsrate gegenüber Oozyten mit homogenem Ooplasma führte.

Imthurn et al. [114] berichteten in ihrer Studie an 50 ICSI -Zyklen von kontroversen Ergebnissen. Nach Applikation von Menotropin dokumentierten sie einen signifikant höheren Anteil von 22,4 % an zentral granulierten Oozyten gegenüber einer Urofollitropingabe von 14,4%. Diese Beobachtungen wurden im kurzen Stimulationsprotokoll erzielt und sind mit den vorliegenden Ergebnissen im langem Agonistenprotokoll nicht direkt vergleichbar. Ng et al. [101] berichteten über keine Differenzen im Granulierungsgrad der Oozyten zwischen einer Menotropin und Follitropin alpha - Stimulation. Der Eizellanteil mit homogenem Zytoplasma lag jedoch mit 57,2 % für Menotropin und 56,2% für Follitropin alpha unterhalb der in dieser Studie erzielten Werte. Die Anzahl auffällig granulierter Oozyten lag bei 42,8% und 43,8%. Diese deutlichen Abweichungen haben ihre Ursache in der geringen Zahl an ICSI-Behandlungszyklen pro Gruppe mit n= 20. Weitere prospektive Analysen werden nötig

sein, um den direkten Einfluss gonadotroper Hormonpräparate auf den Granulierungsgrad der Oozyten dokumentieren zu können.

Weiterhin sind lichtmikroskopisch sogenannte Einschlüsse als mehrere grobe Körner (Inkorporationen) oder bei entsprechender Größe als refraktile Körper im Zytoplasma zu finden. Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass in ca. 40,0% aller Oozyten Inkorporationen (29,4%) und refraktile Körper (11,0%) zu beobachten waren. In Abhängigkeit von den angewandten Gonadotropinen war ein signifikant hoher Anteil an M II-Oozyten mit kleinen Einschlüssen (34,8%) und refraktilen Körpern (26,1%) nach Applikation von Follitropin alpha in Kombination mit Menotropin zu finden. Ob diese Beobachtung an der Wahl des Stimulationsregimes liegt oder möglicherweise am älteren Patientengut dieser Gruppe sollte genauer in weiterführenden Studien untersucht werden. Xia [47] berichtete in seiner Arbeit, dass Patientinnen über 35 Jahre mehr Oozyten mit zytoplasmatischen Einschlüssen entwickeln. Weiterhin gibt es eine klare Tendenz, dass diese Patienten auch in Folgezyklen vermehrt Oozyten mit Einschlüssen ausbilden. Untersuchungen von De Sutter et al. [52] an 528 Oozyten stellten mit den vorliegenden Resultaten übereinstimmend eine Präsenz von zytoplasmatischen Einschlüssen in 38,4% fest, jedoch traten diese in 18,5% als refraktile Körper auf. Balaban et al. [53] berichteten von einem M II-Eizellanteil von 2,8% mit refraktilen Körpern nach Stimulation mit Urofollitropin, was die vorliegenden Ergebnisse weitgehend für große zytoplasmatische Einschlüsse bestätigen (6,4%). Kontrovers zu den Ergebnissen von Xia [47] zeigten Autoren wie De Sutter et al. [52], Balaban et al. [53] und Ebner et al. [54], dass Qualitätsabweichungen in Form von „kleinen“ und „großen“ refraktilen Körpern keine Auswirkungen auf die Fertilisationsrate und Embryonenqualität ausübten.

Eizellen, die eine Vakuole aufweisen, variieren in den verschiedenen Publikationen zwischen 4,0% und 12,4% [40, 52, 118, 126]. Multiple Vakuolen erscheinen seltener, in ca.1% aller M II-Oozyten. In der vorliegenden Studie wurde nur das Vorkommen von Oozyten mit Vakuolen dokumentiert; der prozentuale Anteil lag bei 6,9%. Eine Unterscheidung zwischen dem Nachweis einzelner oder einer Vielzahl von Vakuolen wurde nicht vorgenommen. In Abhängigkeit von den verschiedenen Gonadotropinpräparaten lag die Präsenz einer Vakuolenbildung zwischen 4,3% -7,6%. Diese Angaben stimmen mit denen von De Sutter et al. [52] mit 4,5% und Balaban et al. [53] mit 3,0% überein.

Die wenigen Literaturstudien betrachten meist nur einzelne morphologische Merkmale oder fassen wichtige Oozytenparameter der äußeren Hülle und des Zytoplasmas zusammen. Aus diesen Untersuchungen können keine separaten Rückschlüsse auf einzelne extrazytoplasmatische oder zytoplasmatische Auffälligkeiten der Oozyten und ihre Bedeutung für die weitere Entwicklung gezogen werden. Auch ist der direkte Einfluss einer ovariellen Stimulation auf die Morphologie der Oozyten und deren Auswirkungen auf den Therapieausgang bisher nicht eindeutig geklärt.

Mit dieser Arbeit soll ein Grundstein zur allseitigen Betrachtung von möglichen beeinflussenden Faktoren auf den Ausgang einer Kinderwunschbehandlung gelegt werden. Weiterführende prospektive Studien mit größeren Fallzahlen werden folgen müssen, um die dargestellten Ergebnisse validieren zu können.

### **5.2.3 Klinische Parameter für den Verlauf einer Fertilitätstherapie nach KOS in Abhängigkeit von extrazytoplasmatischen und zytoplasmatischen Merkmalen**

In den nachfolgenden Abschnitten soll analysiert werden, welchen Einfluss morphologische Abweichungen auf die Fertilisations- und Schwangerschaftsrate in unserer Patientenklientel haben. Weiterhin stehen die Auswirkungen des GnRH-Protokolls sowie die Anwendung verschiedener Gonadotropinpräparate/Therapieschemata auf die Befruchtungsrate, die Embryonenqualität und die Schwangerschafts- und Geburtenrate in 564 Behandlungszyklen zur Diskussion.

#### **5.2.3.1 Morphologische Eizellparameter**

Unabhängig von der Einteilung in extrazytoplasmatische und zytoplasmatische Abweichungen der Eizellmorphologie, zeigen die vorliegenden Ergebnisse, dass mit zunehmender Zahl an beobachteten Abnormitäten in der Eizelle (0 bis 6), die Fertilisationsrate signifikant abnimmt. Diese Verminderung verläuft sukzessiv mit der jeweiligen Zunahme eines abnormen Merkmals. Die höchste Befruchtungsrate wurde bei Oozyten ohne morphologische Abweichungen beobachtet (75,3%). Gemessen an der Gesamtzahl der M II-Oozyten (n=4778) weist der größere Anteil der Eizellen keine Abweichung oder 1-2 abnorme Merkmale auf. Interessanterweise zeigt sich in der Literatur keine vergleichbare Aufgliederung. Die Arbeiten von Ebner et al. [45] und De Sutter et al. [52] unterteilten die zu untersuchenden M II-Oozyten in drei Gruppen ein: Eizellen ohne Anomalie, mit einer Anomalie und Oozyten mit zwei und mehr morphologischen Defekten. Die Fertilisationsraten nahmen vergleichbar mit dieser

Studie bei zwei und mehr abnormen Merkmalen ab (83,0% auf 75,6% [45]; 72,0% auf 63,0% [52]), jedoch war der Unterschied in beiden Arbeiten nicht signifikant. Untersuchungen von Mikkelsen und Lindenberg [135] an in vitro maturierten Oozyten zeigten ebenfalls Tendenzen in den Fertilisationsraten zwischen dokumentierter normaler Oozyte und Eizellen mit einer morphologischen Anomalie (64,6% vs. 52,8%). Aufgrund der geringen Zahl an untersuchten Oozyten (n=264) wurden keine signifikanten Unterschiede festgestellt. Balaban et al. [53] analysierten 5903 Oozyten und fanden kontrovers zu den vorliegenden Ergebnissen keine Unterschiede in der Fertilitätsrate zwischen normal geformten Oozyten und Eizellen mit zwei oder drei abnormen Merkmalen.

Bei Betrachtung der hier dargestellten Resultate zeigen extrazytoplasmatische Abweichungen in den Oozyten eine signifikant verminderte Rate an Vorkernstadien (2PN) gegenüber normal geformten Eizellen (s. Tabelle 36), wenn der perivitelline Spalt vergrößert ist oder Granula enthält (66,1% bzw. 71,5%) und wenn die Eizellen eine ovale, elongierte Form aufweisen (64,7% bzw. 70,8%). Die flache Form des 1. Polkörpers zeigt eine Verminderung der Befruchtungsrate im Vergleich zu normal runden oder fragmentierten 1. Polkörpern, die Differenz ist jedoch nicht signifikant (66,3% vs. 70,5%, 70,3%). Im Einklang mit dieser Studie dokumentierten Ciotti et al. [48] und Xia [47] keine Unterschiede in der Befruchtungsrate zwischen normal runden und fragmentierten 1. Polkörpern. Für Oozyten mit einem flachen, teilweise noch nicht komplett vom Ooplasma gelösten Polkörper beschreibt Xia eine reduzierte Fertilisationsrate von 25%. Die Studie von Ebner et al. [45] gibt einen prognostischen Wert für die Form des 1. Polkörpers auf die Fertilisationsrate an. Sie zeigte eine signifikante Verminderung der Rate an regulären Vorkernstadien bei Oozyten mit einem fragmentierten Polkörper gegenüber Oozyten mit einem rund geformten Polkörper an (70,4% vs. 89,1%). Weitere Arbeiten unterstützten diese Aussagen [46, 49]. Die widersprüchlichen Daten kommen vermutlich durch die unterschiedlichen Beobachtungs- und Durchführungszeiten der ICSI in den Publikationen zustande. Eine Korrelation zwischen Polkörperform und der Entwicklungsfähigkeit der Oozyte wurde beobachtet, wenn die Spermatozoeninjektion 2-3 Stunden nach Follikelpunktion stattfand.

Abweichungen von der normalen Form des PVS dokumentierten De Sutter et al. [52], Balaban et al. [53] und Xia et al. [47]. Die Anzahl an regulären Vorkernstadien sank bei [52] von 72,0% auf 60,0% bei Oozyten mit einem auffallend großen PVS und zeigte

eine signifikante Differenz in der Arbeit von Xia [47] von 84,9% vs. 72,9%. Keine Unterschiede in den Befruchtungsraten fanden Balaban et al. [53] bei dem Vergleich von normal geformten Oozyten zu denen mit einem großen PVS oder einer irregulären, ovalen Form. Die vorliegenden Untersuchungen zeigen dagegen bei Betrachtung beider Merkmale signifikante Unterschiede. So fanden sich verminderte Fertilisationsraten bei abnorm erscheinenden PVS von 66,1% vs. 71,5% und eine weitere Abnahme auf 64,7% vs. 70,8% bei ovaler Eizellsymmetrie. Die Ergebnisse von Ebner et al. [45] und Xia [47] zeigten ebenfalls eine merkliche Abnahme der Befruchtungsrate beim Nachweis elongierter Eizellformen (83,0% vs. 70,6% [45]; 72,0% vs. 67,0% [47]).

Weiterhin können eindeutige Aussagen über die Auswirkungen zytoplasmatischer Abweichungen in den Oozyten auf die Fertilisationsraten gemacht werden (s. Tabelle 37). Der Nachweis eines granulierten Ooplasmas, der Bildung von Vakuolen oder von refraktilen Körpern führte in allen Fällen zu einer signifikanten Verminderung der Befruchtungsrate dieser Oozyten. In der Literatur finden sich unterschiedliche Angaben. Serhal et al. [67] fanden in Übereinstimmung mit den vorliegenden Ergebnissen ebenso eine – allerdings nicht signifikante - Abnahme der Zahl regulärer Vorkernstadien bei Oozyten mit granuliertem Ooplasma und zytoplasmatischen Einschlüssen (57,0%; 61,0% vs. 63,0%). Keine Unterscheidung in den Befruchtungsraten zwischen normal geformten Oozyten und Eizellen mit zytoplasmatischen Abnormitäten beobachteten Kahraman et al. [51], Ng et al. [101] und Balaban et al. [53]. Mögliche Gründe für diese differenten Ergebnisse liegen zum einen in der stark variierenden Anzahl an untersuchten M II-Oozyten und im Patientenkollektiv. Neben der Fertilisationsrate gehört die Schwangerschaftsrate zu den wichtigen klinischen Parametern.

Da der Hauptteil der Oozyten keine oder maximal 2 abnorme Merkmale aufwiesen, konnte eine selektive Auswahl zur Weiterentwicklung zum Embryo erfolgen. Nach dem Transfer von Embryonen aus Oozyten mit 3 abnormen Merkmalen vermindert sich die Schwangerschaftsrate signifikant ( $p=0,038$ ).

Meriano et al. [126] bestätigten dies an Behandlungszyklen, welche wiederholt morphologische Abnormitäten bei mehr als die Hälfte der Oozyten gegenüber einem Kontrollkollektiv aufwiesen ( $p<0,01$ ). Eine detaillierte Übersicht, die eine Zunahme morphologischer Auffälligkeiten in den Oozyten mit der Schwangerschaftsrate in Beziehung stellt, wurde in der Literatur nicht gefunden.

Bei Betrachtung der Schwangerschaftsrate in Abhängigkeit einzelner morphologischer Abweichungen war in dieser Studie nur bei der Symmetrie der Oozyte eine signifikante

Differenz feststellbar ( $p=0,025$ ). Die Rückgabe von Embryonen aus oval geformten Oozyten führte zu einer deutlichen Abnahme der Schwangerschaftsrate (33,3% auf 21,6%). Dieses Resultat beruht auf der niedrigen Entwicklungspotenz solcher elongierter Embryonen aufgrund geringer oder fehlender Zellkontakte zwischen den Blastomeren [40]. Aus den Tabellen 54 und 55 der Ergebnisse ist zu erkennen, dass die Mehrzahl der übertragenen Embryonen aus Eizellen mit normal geformten extrazytoplasmatischen und zytoplasmatischen Parametern stammen.

Durch die große Anzahl an „gemischten Transfers“ (reguläre Embryonen/ irreguläre Embryonen) wird die Schwangerschaftsrate auch bei Vorliegen abnormer Embryonen nicht beeinträchtigt. In 421 Behandlungszyklen wurden 2 Embryonen, in 110 Zyklen 3 Embryonen transferiert. Da eine genaue Bestimmung, welcher Embryo die Schwangerschaft induziert hat, nicht möglich ist, wurde der Therapieerfolg theoretisch jedem transferierten Embryo zugeschrieben. Aus den Ergebnissen in Tabelle 69 kann vermutet werden, dass die Schwangerschaft und die Geburt von Einlingen durch den „regulären Embryo“ induziert wurde.

Interessant wären weitere Untersuchungen, die durch Single-Embryo-Transfer (SET) die Auswirkungen definierter Abnormitäten auf die Schwangerschaftsrate zum Ziel haben.

Anhand der Morphologie des 1. Polkörpers wurde dies von Ebner und Mitarbeitern [46] schon durchgeführt. Sie konnten einen signifikanten Einfluss eines intakten 1. Polkörpers auf die fortlaufende Schwangerschaftsrate gegenüber Oozyten mit fragmentiertem 1. Polkörper in wenigen „homogenen“ Behandlungszyklen aufzeigen. Die Patientinnen erhielten nur Embryonen aus Oozyten mit intakten 1. Polkörpern ( $n=19$ ) oder alle transferierten Embryonen stammten aus Oozyten mit fragmentierten 1. Polkörpern ( $n=23$ ). So verminderte sich die Schwangerschaftsrate dieser „homogenen Zyklen“ von 68,4% auf 34,8% und die Implantationsrate von 48,6% auf 22,0%.

Eine detaillierte Betrachtung extrazytoplasmatischer und zytoplasmatischer Oozytenparameter hat somit einen prognostischen Wert zur Beurteilung des Befruchtungsgeschehens und kann schon eine frühe Selektionsbarriere für den Therapieerfolg einer Kinderwunschbehandlung darstellen.

### **5.2.3.2 GnRH-Protokoll / GnRH-Agonistenpräparate**

Welchen Einfluss die Wahl des GnRH-Protokolls auf klinische Parameter, wie die Befruchtungsrate, die Qualität der Embryonen und die Schwangerschaftsrate ausübt,

soll in diesem Abschnitt erörtert werden. Die vorliegenden Ergebnisse zeigen hinsichtlich der Fertilisationsrate keine deutlichen Unterschiede zwischen GnRH-Agonisten – und dem Antagonistenprotokoll (69,4% vs. 72,0%). Diese stehen im Einklang mit den Untersuchungen von Olivennes et al. [69, 95] und Ludwig et al. [98] in IVF-Zyklen. Obwohl das lange GnRH-Agonistenprotokoll immer noch der Standard in der Therapie ist, konnten wir signifikante Unterschiede nach Applikation verschiedener Agonistenpräparate in der Befruchtungsrate ausmachen. So führte die Gabe von Triptorelinacetat zu einer deutlichen Verminderung regulär fertilisierter Oozyten gegenüber den Präparaten Leuprorelinacetat (tgl. Gabe, Depotform) und Nafarelinacetat (64,1% vs. 69,9%; 71,0%; 72,7%). Weiterhin weist die Behandlung mit Triptorelinacetat einen höheren Anteil degenerierter Oozyten nach Durchführung der ICSI im Vergleich zu den anderen Präparaten auf (10,1%). Auf die Schwangerschaftsrate hatten diese Resultate jedoch keine Auswirkungen. Übereinstimmend mit den vorliegenden Ergebnissen für Leuprorelinacetat und Nafarelinacetat berichteten Dada und Kollegen [96] über keine Differenzen in den Befruchtungs- sowie in den Schwangerschafts- und Implantationsraten.

In der vorliegenden Studie ist der qualitative Anteil regulärer Embryonen (allein bezogen auf den Transfer von zwei Embryonen) im Antagonistenprotokoll zwar deutlich höher, jedoch nicht signifikant, gegenüber den Agonisten (62,0% vs. 52,7%). Analysen von Al-Inany und Aboulghar [137] sowie Olivennes et al. [69] zeigten ebenfalls sowohl in der Agonistengruppe als auch nach Antagonistengabe eine äquivalente Zahl an Embryonen mit guter Qualität.

Bei Betrachtung der Erfolgsraten ist in dieser Studie eine leichte Tendenz zugunsten des Agonistenprotokolls zu verzeichnen (33,5% vs. 29,2%). In der Literatur sind dazu kontroverse Angaben zu finden. Autoren wie Ludwig et al. [98], Olivennes et al. [95], Felberbaum [68] und Samama et al. [93] berichteten in Übereinstimmung mit den vorliegenden Ergebnissen von keinen signifikanten Differenzen in den Schwangerschaftsraten nach Applikation von Cetrorelixacetat versus Agonistentherapie. Kontrovers dokumentierten Multicenterstudien von Al-Inany und Aboulghar [137], Olivennes et al. [69] und Ludwig et al. [138] verminderte Schwangerschaftsraten nach Antagonistengabe im Vergleich zum langen Agonistenprotokoll. Gegenstand der oben genannten Vergleichsstudien waren die Antagonistenpräparate Ganirelixacetat und Cetrorelixacetat im Multidose – oder Singledose-Protokoll. In einer durchgeführten Subanalyse konnten Ludwig et al. [138]

darstellen, dass die reduzierten Schwangerschaftsraten durch die Gabe von Ganirelixacetat hervorgerufen wurden und nicht nach Applikation von Cetrorelixacetat auftraten. Diese Diskrepanzen lassen pharmakodynamische Differenzen zwischen beiden Antagonistenpräparaten vermuten. Wilcox und Kollegen [139] widerlegten die Aussage von Ludwig et al. [138] in einer Studie an 168 Patientinnen und fanden in der Zahl gewonnener Oozyten, Embryonen und in den Erfolgsraten keine statistischen Differenzen zwischen beiden Antagonisten. Patientinnen mit einem vorzeitigem LH-Anstieg wurden bei dieser Untersuchung ausgeschlossen, da dieser vermutlich für die reduzierten Erfolgsraten nach Antagonistengabe verantwortlich ist. So zeigten Kolibianakis et al. [160], dass ansteigende LH-Spiegel die Entwicklung des Endometriums im Antagonistenprotokoll negativ beeinflussen und zu verminderten Implantations- und Schwangerschaftsraten führen. In einer neueren Arbeit konnten Kolibianakis et al. [140] auch darstellen, dass bei Patientinnen mit LH-Werten  $\leq 0,5$  IU/l am 8. Stimulationstag hohe Implantationsraten zu beobachten waren. Diese Untersuchungen gehen konform mit den Ergebnissen von Humaidan et al. [161] im GnRH-Agonistenprotokoll. Für LH wurde ein sogenanntes „therapeutic window concept“ erstellt. Es zeigt, dass höhere LH –Werte zu einer Atresie der Follikel und zu einer Verschlechterung der Eizell- und Embryonenqualität führen sowie die Entwicklungsfähigkeit des Endometriums unterbinden. Dagegen führt ein LH-Mangel zu einer eingeschränkten zytoplasmatischen Reifung und zu einer verminderten Weiterentwicklung der Embryonen [159]. Eine weitere Publikation von Bosch et al. [162] verdeutlicht den negativen Effekt eines vorzeitigen LH-Anstiegs auf den Zyklusausgang in GnRH-Antagonistenzyklen. In ihren Untersuchungen fanden sie eine auffallend klare Korrelation von erhöhten Progesteronspiegeln im Serum ( $\geq 1,2$  ng/ml) und höheren Estradiolwerten am Tag der HCG-Gabe sowie eine erhöhte FSH-Dosierung und eine längere Stimulationsdauer in Zyklen mit einem vorzeitigem LH-Anstieg gegenüber „normalen“ Zyklen. Die Unterschiede in den Implantations- und Schwangerschaftsraten waren signifikant ( $p=0,007$ ;  $p=0,01$ ). So kann vermutet werden, dass ansteigende Progesteronspiegel am Tag der Ovulationsauslösung eine nachteilige Wirkung auf den Behandlungserfolg in Antagonistenzyklen, möglicherweise durch ihren negativen Einfluss auf die Endometriumentwicklung, ausüben.

Die GnRH-Protokollart hat in unserer Patientenklientel keinen signifikanten Einfluss auf die Geburtenrate (27,0% Agonisten vs. 22,1% Antagonisten). Vergleichende weiterführende Schwangerschaftsraten waren in den Studien von Samama et al. [93]

(22,4% vs.19,6%) und Ludwig et al. [98] (17,2% vs. 16,6%) zu finden. Das deutsche IVF-Register dokumentiert im Jahre 2004 eine Geburtenrate pro Transfer von 14,3% nach dem langen Agonistenprotokoll vs. 11,42% nach Antagonistengabe [165].

Nach den vorliegenden Ergebnissen ist die Anwendung von Cetrorelixacetat als Antagonist mit der Applikation von GnRH-Agonisten, bevorzugt Leuprorelinacetat und Nafarelinacetat, im langen Protokoll gleichzusetzen. Im Gegensatz zu den Statistiken von Griesinger et al. [157] wurde der Antagonist in den an der Studie teilnehmenden Zentren auch als „Therapie der ersten Wahl“ eingesetzt. Griesinger et al. [157] zeigten in ihrer Arbeit, dass in Deutschland zwischen den Jahren 2000 – 2003 Antagonisten meist in Behandlungszyklen mit unvorteilhafter Prognose, bei Patientinnen mit mehreren Vorversuchen und im älteren Patientenkontext eingesetzt wurden. Diese Tatsachen und der Einsatz von Antagonisten als „Mittel der zweiten Wahl“ könnten ebenso für die verminderten Schwangerschaftsraten in einigen Studien sprechen. Die vorliegenden Untersuchungen zeigen die Gleichwertigkeit beider GnRH-Regime und empfehlen die Antagonistentherapie gleichermaßen wie die Gabe von Agonisten.

### **5.2.3.3. Gonadotropinmedikationen / Stimulationsschemata**

Welchen Einfluss die Gonadotropinmedikationen und Stimulationsschemata auf wichtige klinische Parameter, wie die Fertilisationsrate, die Qualität der Embryonen und die Schwangerschafts- und Geburtenrate ausüben, soll nachfolgend diskutiert werden. Weiterhin werden die Auswirkungen einer Hormontherapie in Abhängigkeit von extrazytoplasmatischen und zytoplasmatischen Merkmalen auf die Befruchtungs- und Schwangerschaftsraten erörtert.

In dieser Studie wurden sieben verschiedene Hormone und Hormonkombinationen zur ovariellen Stimulation angewendet. Anhand der Zahl der Behandlungszyklen wurde die Mehrzahl der Patientinnen mit rekombinant hergestellten Gonadotropinpräparaten (n=343; Follitropin alpha und beta, Lutropin alpha) therapiert.

Bei Betrachtung der vorliegenden Ergebnisse wird deutlich, dass sich die Fertilisationsraten nach Applikation urinärer Hormonpräparate auffallend, jedoch nicht signifikant, zwischen Urofollitropin und Menotropin unterscheiden (65,2% vs. 71,9%). Interessanterweise zeigt sich auch eine verminderte Befruchtungsrate in der Kombinationstherapie von Urofollitropin mit Menotropin (66,3%). Als mögliche Ursache dieser niedrigeren Raten an regulären Vorkernstadien könnte der hohe Oozytenanteil mit morphologischen Abnormitäten in der uFSH - Gruppe in Frage kommen. In

Übereinstimmung mit der vorliegenden Studie fanden Weissman et al. [103] und Check at al. [158] keine signifikanten Unterschiede in den Befruchtungs- und Schwangerschaftsraten, wobei ihre Untersuchungen mit Menotropin, nicht mit Menotropin-HP, durchgeführt wurden. Der prognostisch positivere Effekt von Menotropin-HP in dieser Studie könnte an der hochgereinigten Form des Medikamentes liegen. Die Befruchtungsraten zwischen den beiden rekombinanten Medikationen Follitropin beta und Follitropin alpha waren fast identisch (70,0%; 70,7%) und stimmten mit den Ergebnissen von Harlin at al. [132] und Tulppala et al. [133] überein.

Der Vergleich klinischer Parameter zwischen der Anwendung urinärer versus rekombinanter Produkte führte zu einer Vielzahl von Publikationen [101, 104, 105, 106, 111, 112, 113, 115, 130, 131].

Die Fertilisationsraten in dieser Studie waren zwischen Menotropin (Menotropin-HP) und den rekombinanten Medikationen vergleichbar (71,9% vs. 70,0%; 70,7%). Wie schon auf die Oozytenmorphologie zeigte die Gabe von Urofollitropin einen merklich negativen Einfluss auf die Fertilisationsrate gegenüber allen Gruppierungen. Im Vergleich zu Follitropin alpha berichteten verschiedene Autoren [111, 112, 115, 131] über höhere Fertilisationsraten des rekombinanten Präprätes gegenüber Urofollitropin (z. B. 67,0% vs. 61,6% [111]). Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit den vorliegenden Beobachtungen (70,7% für rFSH vs. 65,2% uFSH).

Die Applikation von Menotropin gegenüber Follitropin alpha zeigte in Studien von Nyboe Anderson et al. [106], Westergaard et al. [104], Ng et al. [101] übereinstimmend mit unseren Resultaten keine deutlichen Differenzen in den Befruchtungsraten, ebenso bei den Medikationen von Menotropin und Follitropin beta [113]. Kornilov et al. [130] bestätigten dies mit Fertilisationsraten nach Gaben von hMG mit 75,5%, von Urofollitropin mit 71,0% und von Follitropin alpha mit 76,0%. Balasch et al. [105] dagegen berichteten über einen deutlich höheren Anteil an regulären Vorkernstadien nach Follitropin alpha- Gabe gegenüber Menotropin (74,5% vs. 61,2%).

Aus dieser Vielzahl von Publikationen und anhand der hier dargestellten Untersuchungen wird deutlich, dass die Gabe von rekombinant hergestelltem FSH (Follitropin alpha oder Follitropin beta) sowie die Applikation von Menotropin-HP einer Therapie mit Urofollitropin zu bevorzugen sind, um eine hohe Anzahl regulär fertilisierter Oozyten zu erhalten. Inwieweit die vorliegenden Ergebnisse auch auf das neue urinaire FSH-Monopräparat Bravelle® zutreffen, müssen weiterführende Untersuchungen zeigen.

Bei Betrachtung der Therapieschemata zeichneten sich signifikante Unterschiede innerhalb der Gruppe von Follitropin beta und Follitropin alpha ab. So ist die Wahl des Agonisten Leuprorelinacetat in Kombination mit Follitropin beta für eine deutlich verminderte Befruchtungsrate von 62,1% verantwortlich, allerdings konnten nur 102 Oozyten analysiert werden. In der Gruppe von Follitropin alpha ist die auffallend niedrige Rate an regulär fertilisierten Eizellen in Kombination mit den GnRH-Agonisten Triptorelinacetat (62,6%) für die Signifikanz verantwortlich. Wie schon bei der Betrachtung der Anzahl morphologischer Defekte in den Oozyten fallen nach Gabe von Triptorelinacetat die deutlich verminderten Fertilisationsraten in Kombination mit Follitropin beta (67,5%), Follitropin alpha (62,6%) und Urofollitropin (62,8%) auf.

Der Vergleich der Befruchtungsraten innerhalb der Behandlungsschemata fällt zu Ungunsten von Urofollitropin aus. Die Therapie mit urinärem FSH im langen Agonistenprotokoll resultierte in auffallend niedrigeren Fertilisationsraten (62,8%-68,7%) und erhöhten Anteilen an degenerierten Oozyten. Anhand der vorliegenden Ergebnisse sind die Therapieschemata im Agonistenprotokoll mit Menotropin, Follitropin alpha und der Kombination beider empfehlenswert. Das Antagonistenprotokoll zeigte in Verbindung mit Menotropin und Follitropin alpha Befruchtungsraten zwischen 74,6% und 72,3%. Wikland et al. [136] konnten in einer prospektiv randomisierten Studie die Anfangsdosierung von 150 IU Follitropin alpha und die multiple Gabe von 0,25 mg Cetrorelixacetat ab dem sechsten Stimulationstag als empfohlenes Standardschema darstellen. Eine erhöhte initiale Dosierung von 225 IU Follitropin alpha führte nur zu signifikant mehr punktierten Oozyten, die Fertilisationsraten (62,9% vs. 67,3%) und die Schwangerschaftsraten pro Transfer (28,8% vs. 26,8%) waren nahezu unverändert.

Eine weitere Arbeit von Commenges-Ducos et al. [134] stellt die Ergebnisse der Applikation von Follitropin alpha allein oder mit einer zusätzlichen Gabe von Menotropin in der späten Follikelphase dar. Gerade Patientinnen mit einem geringen endogenen LH-Spiegel profitierten von dieser Kombination mit einer höheren Erfolgsrate nach einer IVF-Behandlung.

Die vorliegenden Untersuchungen zeigten nach einer Gonadotropinmedikation von Menotropin-, Follitropin beta und Follitropin alpha einen erhöhten Anteil von 2 regulär entwickelten Embryonen (68,8%; 59,1%; 57,4%). Nach Gabe von Urofollitropin (52,8%) und der Kombinationstherapie von Follitropin alpha mit Menotropin (51,3%) nahm dieser auffallend ab. Der höhere Altersdurchschnitt des Patientenkollektivs nach der Anwendung der Kombinationstherapie stellt eine mögliche Ursache der schlechteren

embryonalen Entwicklung dar. Bei der Urofollitropingabe liegt der niedrigere Anteil von zwei qualitativ guten Embryonen in der eingeschränkten Oozytenqualität begründet. Vergleichbare Ergebnisse liefert auch die Betrachtung der Therapieschemata (s. Tabelle 45), wonach die Qualität der Embryonen deutlich durch die Anwendung der verschiedenen Gonadotropine beeinflusst wird. Der Anteil an gemischten Transfers mit einem regulären und einem irregulären Embryo beträgt nach Urofollitropinmedikation fast 40%. Übereinstimmende Ergebnisse in der Embryonenqualität für die rekombinanten Gonadotropine und für Menotropin finden wir bei Tulppala et al. [133], bei Jacob et al. [113] und Weissman et al. [103]. Bergh et al. [111] bestätigten eine höhere Teilungsrate bei Embryonen nach Follitropin alpha-Gabe im Vergleich zu Urofollitropin.

Der Einfluss der Applikation verschiedener Hormonpräparate auf die Fertilisationsrate in Abhängigkeit von extrazytoplasmatischen und zytoplasmatischen Parametern wurde bisher in der Literatur nicht detailliert untersucht. Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, inwieweit die Gabe von Gonadotropinen urinären Ursprungs oder die rekombinant hergestellten Therapeutika die Morphologie der Oozyten und somit ihre Befruchtungs- und Entwicklungsfähigkeit beeinflussen. Weiterhin soll analysiert werden, welche einzelnen morphologischen Parameter für den Behandlungserfolg von Bedeutung sind. Nach den vorliegenden Untersuchungen übt die Form des 1. Polkörpers keinen Einfluss auf die Befruchtungsrate, mit Ausnahme einer Urofollitropinmedikation, aus. Bei der Applikation von uFSH vermindert sich die Fertilisationsrate bei Oozyten mit flachem oder fragmentiertem 1. Polkörper signifikant ( $p=0,021$ ) gegenüber normal geformten Oozyten und spiegelt das signifikant vermehrte Auftreten von Dymorphismen in dieser Gruppe wider.

Die Annahme, dass bei einer starken Fragmentierung des 1. Polkörpers eine negative Prognose zu erwarten ist [40], können wir für die Befruchtungsrate in Abhängigkeit von den verschiedenen Hormonpräparaten nicht bestätigen. Widersprüchliche Daten in der Literatur könnten möglicherweise auf unterschiedliche Beobachtungszeiten (2 - 9 Stunden nach Eizellgewinnung) zurückzuführen sein. Autoren, die einen Einfluss der Polkörpermorphologie auf die weitere Entwicklung der Oozyten beschrieben, injizierten die Oozyten nach maximal 3 Stunden Adaptationszeit im Brutschrank [46, 47, 49]. Eine Korrelation zum verabreichten Gonadotropin wurde nicht durchgeführt. Ciotti et al. [48] fanden in Übereinstimmung mit dieser Studie keinen Zusammenhang zwischen der Form des 1. Polkörpers und der Fertilisationsrate, der Teilungsrate und der Qualität der

Embryonen. Eine signifikant höhere Rate an Schwangerschaften ( $p=0.008$ ) wurde beobachtet, wenn die ICSI 5 -7 Stunden nach Follikelpunktion durchgeführt wurde. Somit beeinflusst die Morphologie des 1. Polkörpers nur die Befruchtungsrate nach Stimulation von Urofollitropin. Die Fertilisationsraten aller weiteren Hormonpräparate zeigen keine Einschränkungen und stimmen mit den Untersuchungen aus Tabelle 36 überein.

Abweichungen von der normalen Form des PVS führten in dieser Studie mit Ausnahme von Menotropin zu einer Verringerung der Befruchtungsraten bei allen verabreichten Medikationen, wobei die Gruppe von Follitropin alpha aufgrund der großen Oozytenzahl signifikante Werte mit  $p<0,001$  erreichte (73,1% vs. 64,9%). Dieses Resultat spiegelt auch die Häufigkeit von Abnormitäten des PVS von fast 30,0% in dieser Gruppe wider. Die Ergebnisse sind übereinstimmend mit den Untersuchungen von Xia [47], der ebenfalls über eine verminderte Rate an regulären Vorkernstadien bei Oozyten mit einem auffallend großen PVS nach Urofollitropinapplikation berichtete. Auch das Vorhandensein von Granula im perivitellinen Spalt könnte einen negativen Einfluss auf die Befruchtungsrate ausüben, obwohl dies nach Aussagen von Hassan-Ali et al. [44] eher Zeichen einer Gonadotropinüberdosierung mit hMG (Menotropin) darstellten. Diese Auffälligkeit konnten wir für Menotropin-HP nicht bestätigen.

Eine ovale, elongierte Form der Oozyte führte in den vorliegenden Untersuchungen zu einer Abnahme der Zahl regulär fertilisierter Eizellen. Dies zeigt sich besonders deutlich nach Applikation von Follitropin alpha, Urofollitropin und der Kombination von Follitropin alpha und Menotropin. In diesen drei Gruppen lag das Auftreten einer abnormen Form der Oozyte bei 12,0% – 15,1% verglichen mit 7,8% –9,3% bei Menotropin und Follitropin beta. Verminderte Befruchtungsraten bei oval geformten Oozyten dokumentierten ebenfalls Ebner et al. [45] und Kahraman et al. [52] nach Menotropinmedikation. Häufig sind sowohl Eizelle als auch die Zona pellucida von dieser Deformierung betroffen. Wenn doch eine Befruchtung stattfand, so hat der entstehende Embryo keine reguläre Entwicklungschance aufgrund der planaren Eizellform und den dadurch verringerten Zell-Zell-Kontakten. Keine auffälligen Differenzen in den Befruchtungsraten elongierter Oozyten lagen nach Applikation von Menotropin und Follitropin beta vor, die offensichtlich der geringeren Oozytenzahl in diesen Gruppen zuzuschreiben sind.

Aus den vorliegenden Ergebnissen wird deutlich, dass, auch in Abhängigkeit von der Applikation verschiedener gonadotroper Hormone, Abnormitäten in der Form des 1.

Polkörperchen keinen Einfluss auf die Zahl regulär fertilisierter Oozyten ausüben, jedoch morphologische Abweichungen des PVS und der Symmetrie der Oozyte zu reduzierten Befruchtungsraten führen können. Diese Ergebnisse spiegeln sich bei Betrachtung der Stimulationsschemata noch deutlicher wider. Die abweichende Form des 1. Polkörperchens (flach oder fragmentiert) hat ebenfalls nach Urofollitropinmedikation im Agonistenprotokoll einen signifikanten Einfluss auf die Fertilisationsrate.

Bei Abnormitäten des PVS und der Symmetrie der Oozyte treten deutlich verminderte Anteile an regulär fertilisierten Eizellen nach Anwendung der Stimulation mit Follitropin alpha ( $p < 0,001$ ;  $p = 0,026$ ) und Urofollitropin ( $p = 0,188$ ;  $p = 0,022$ ) im Agonisten – und Antagonistenprotokoll auf. Im Falle von Menotropin, Follitropin beta und der Kombination von Follitropin alpha mit Menotropin kann dies nur tendenziell bestätigt werden, hier sind weitere Studien mit mehr Behandlungszyklen erforderlich. Alle angewandten Stimulationsprotokolle zeigten bei normal geformten Oozyten Befruchtungsraten zwischen 70,5 % - 73,5%, mit Ausnahme der Gabe von Urofollitropin (66,3% - 69,5%). Diese sind mit den Arbeiten von Balaban et al. [53], Ebner et al. [45, 46], De Sutter et al. [52], Alikani et al. [118] und Imthurn et al. [114] für Oozyten ohne Dysmorphismen vergleichbar. Aus den hier dargestellten Untersuchungen wird sehr deutlich, dass für die eingeschränkten Befruchtungsraten die extrazytoplasmatischen Abnormitäten verantwortlich sind und eine detaillierte Beobachtung der Eizellmorphologie zu empfehlen ist, um jene Embryonen zu selektieren, die eine Schwangerschaft induzieren können.

Bei Betrachtung zytoplasmatischer Parameter zeigt auch der Granulierungsgrad des Zytoplasmas auffallend deutlich eine Verminderung der Fertilisationsrate bei allen beteiligten Gonadotropinmedikationen. Signifikanzen finden wir in den Untersuchungsgruppen mit einer größeren Zahl an M II-Oozyten (Follitropin alpha  $n = 2323$ ;  $p = 0,033$  und Follitropin alpha plus Menotropin  $n = 728$ ;  $p < 0,001$ ), deutliche Tendenzen bei Menotropin ( $p = 0,074$ ) und Follitropin beta ( $p = 0,101$ ). Aufgrund der schon verminderten Zahl an regulären Vorkernstadien bei normal geformten Oozyten ist der Unterschied zu Oozyten mit abnorm granuliertem Ooplasma nach Gabe von Urofollitropin nicht so deutlich wie in den Vergleichsgruppen. Diese Gruppe zeigt jedoch ein vermehrtes Auftreten von zentral – oder vollgranulierten Oozyten von 28,2% und 7,7%. Aus den vorliegenden Ergebnissen geht klar hervor, dass Oozyten mit einem zentralen Areal oder meist vollständig granuliertem Zytoplasma zu deutlich verminderten Befruchtungsraten- unabhängig der verabreichten

Gonadotropinmedikationen- führten (s. Tabelle 37). Eine ausgeprägte Abnahme der Fertilisation wird besonders nach der Gabe von Menotropin (73,9% auf 46,2%), bei Follitropin alpha (71,4% auf 61,1%) und bei Follitropin alpha plus Menotropin (75,0% auf 54,8%) deutlich. Kahraman et al. [51] fanden keinen Unterschied in der Fertilisationsrate nach Stimulation mit Follitropin alpha und Menotropin. Der Grund dafür könnte in der doch geringen Anzahl an untersuchten Oozyten (n=258) gegenüber dieser Studie (n=728) liegen. Sie zeigten jedoch, dass eine extensive Granulierung der Oozyten zu einer höheren Rate an chromosomalen Auffälligkeiten und zu einer signifikant niedrigeren Schwangerschaftsrate führte.

Die Bildung von Vakuolen im Zytoplasma konnte in 6,9% der M II-Oozyten dokumentiert werden. In den Untersuchungsgruppen mit der größeren Anzahl an Oozyten fanden wir eine signifikante Reduktion der Fertilisationsrate beim Nachweis von Vakuolen bei Follitropin alpha kombiniert mit Menotropin (72,1% vs. 56,4%) und eine tendenzielle Verminderung nach alleiniger Follitropin alpha –Medikation (71,1% vs. 65,0%). Diese Resultate zeigen, dass mit zunehmender Präsenz von Vakuolen die Zahl regulär fertilisierter Eizellen deutlich abnimmt.

Wie aus Tabelle 37 ersichtlich spielt auch das Vorhandensein refraktiler Körper für den Befruchtungsprozess eine entscheidende Rolle. In Bezug auf die verabreichten rekombinanten Gonadotropine Follitropin alpha und beta war eine signifikante Verminderung der Zahl an regulär fertilisierten Oozyten und dem Vorhandensein von zytoplasmatischen Einschlüssen nachzuweisen ( $p=0,015$ ;  $p=0,009$ ). Obwohl der Oozytenanteil neben der Applikation von Follitropin alpha (40,2%) auch bei der Kombination mit Menotropin (60,9%) einen großen Anteil an refraktilen Körpern aufwies, zeigte sich in der Befruchtungsrate keine auffallende Differenz. Balaban et al. [53] und De Sutter et al. [52] dokumentierten nach Stimulation mit Urofollitropin keine signifikanten Unterschiede in den Fertilisationsraten. Xia [47] dagegen wies eine verminderte Befruchtungsrate bei Oozyten mit refraktilen Körpern nach, jedoch lag die untersuchte Eizellzahl bei n=96.

Unter Einbeziehung der GnRH-Analoga war ein vergleichbares Bild der Befruchtungsraten in Abhängigkeit von den zytoplasmatischen Parametern zu finden (s. Tabelle 41). So zeigt sich sehr deutlich, dass auch hier die morphologischen zytoplasmatischen Abnormitäten der Oozyten, besonders jedoch der Granulierungsgrad, die Fertilisationsrate negativ beeinflussen. Das Vorhandensein von Vakuolen wie auch der Nachweis refraktiler Körper im Zytoplasma der Eizellen führt in

Verbindung mit verschiedenen Stimulationsschemata, so der Kombinationstherapie von Follitropin alpha mit Menotropin und die Applikation rekombinanter Präparate, zu einer Reduktion der Zahl regulär fertilisierter Oozyten. Mit dem Wissen einer verminderten Auswahl an Pronukleusstadien für den Transfer, scheint eine genaue Begutachtung der Eizellmorphologie von entscheidender Bedeutung zu sein.

Der Einfluss der Gonadotropinmedikationen und Stimulationsregime auf die Befruchtungsratespiegelt sich in der Qualität der transferierten Embryonen, bezogen auf die Rückgabe von 2 Embryonen, wider. Nach einer Stimulation mit Urofollitropin entwickelten sich nur in 51,5% der Behandlungszyklen reguläre Embryonen. In einem hohen Anteil von 36,1% der Zyklen konnten ein regulärer Embryo mit einem abnorm entwickelten Embryo zusammen zurückgegeben werden. Eine mögliche Ursache für diese eingeschränkte embryonale Entwicklung liegt in der verminderten Anzahl an morphologisch unauffälligen Oozyten. Auch war der Anteil an Patientinnen mit 2 Vorversuchen vermehrt in dieser Gruppe zu finden. Ob eine Stimulationstherapie mit dem neuen Therapeutikum Bravelle® zu vergleichenden Ergebnissen führt, werden weitere Studien zeigen müssen. Auch die Kombinationstherapie Follitropin alpha plus Menotropin wies einen verminderten Anteil an regulär entwickelten Embryonen auf (50,0%). Ebenso wurden nach Anwendung dieser Medikationsform in 19,7% zwei irregulär entwickelte Embryonen zurückgegeben. Für dieses Ergebnis könnte das ältere Patientengut in dieser Gruppe verantwortlich sein.

Bei Betrachtung der Schwangerschaftsrates in Abhängigkeit von der Gonadotropinmedikation fallen deutliche - jedoch aufgrund der variierenden Zahl an Behandlungszyklen nicht signifikante - Differenzen auf. Hohe Erfolgsraten von 35,4% bzw. 35,5% fanden sich nach Anwendung einer Menotropin - und Follitropin alpha-Stimulation. Auch zeigten Follitropin beta und auch Urofollitropin Schwangerschaftsrates von 30,2% bzw. 31,3%. Deutlich vermindert sind die Rates bei der Kombinationstherapie von Follitropin alpha mit Menotropin (26,3%) und den Kombinationen Urofollitropin mit Menotropin (8,3%) und Follitropin alpha mit Lutropin alpha (21,4%). Die letzteren beiden Therapieschemata wiesen nur eine geringe, nicht repräsentative Anzahl von Behandlungszyklen auf.

Bezüglich der beiden rekombinanten Präparate stehen die vorliegenden Untersuchungen im Einklang mit den Studien von Harlin et al. [132] und Tulppala et al. [133], die keine signifikanten Unterschiede in den Erfolgsrates fanden. Aus dem Vergleich der beiden urinären Medikationen in diesen Studien hebt sich die Gabe von

Menotropin–HP deutlich gegenüber einer Urofollitropinapplikation ab. Diese merkliche Tendenz zeigt in der Schwangerschaftsrate jedoch keine Signifikanz. Zu dieser Erkenntnis gelangten auch Weissman et al. [103] sowie Check et al. [158], die übereinstimmende Raten dokumentierten.

Diese Studie repräsentiert, bei doch stark variierender Zyklenzahl, dass eine Anwendung von Menotropin-HP (n=48) gegenüber Follitropin alpha (n=276) zu vergleichenden Schwangerschaftsraten führt. Die vorliegenden Untersuchungen werden unterstützt von Ng et al. [101], Westergaard et al. [104], Nyboe Andersen [106] und [143]. Weitere Publikationen wiesen einen deutlichen Vorteil zum Erreichen einer Schwangerschaft einer Applikation mit Follitropin alpha zu [105, 111, 130]. Andere Studien dagegen dokumentierten keinen Unterschied in den Erfolgsraten zwischen der Gabe von Urofollitropin und rekombinanten Präparaten [112, 131]. Schatz et al. [112] berichteten in Übereinstimmung mit den vorliegenden Resultaten (35,5% vs. 31,3%) über eine höhere- jedoch nicht signifikante - Schwangerschaftsrate nach Follitropin alpha-Applikation im Vergleich zu Urofollitropin (25,1% vs. 20,1%). Daya und Gundby [146] dokumentierten in einer Metaanalyse über signifikant höhere Erfolgsraten unter rFSH gegenüber Urofollitropin. Die doch hohe Rate an Schwangerschaften von 31,3% nach Applikation von uFSH in dieser Studie könnte an der großen Anzahl an gemischten Transfers liegen, wobei vermutet werden kann, dass der reguläre Embryo sich implantiert hat (s. Tabelle 69).

Interessant gestaltet sich der Überblick über die Erfolgsraten in Abhängigkeit von den angewandten Therapieschemata (s. Tabelle 52). Durch die Aufgliederung anhand der verschiedenen GnRH-Analoga ist der Vergleich der Schwangerschaften, aufgrund der geringen Anzahl an Behandlungszyklen, nicht repräsentativ. Vor allem nach einer Menotropin- oder Follitropin beta- Gabe wird dies sehr deutlich. Eine Anwendung von Leuprorelinacetat– Depot mit Follitropin alpha allein (52,0%) und in Kombination mit Menotropin (29,8%) ist zu empfehlen. Die Verabreichung von Cetrorelixacetat erzielte in Verbindung mit einer Follitropin alpha- Stimulation eine gute Erfolgsrate von 33,0%, dagegen mit der Kombinationstherapie rFSH und hMG nur von 17,9%. Hierfür sind neben der geringen Anzahl an Zyklen auch das ältere Patientenkollektiv verantwortlich. Das D.I.R. 2005 [91] berichtete im langen GnRH-Agonistenprotokoll von Schwangerschaftsraten für rFSH von 30,83%, für Menotropin von 29,17% und für die Behandlung mit rFSH mit hMG von 28,99%. Eine Behandlung mit Antagonisten zeigten Erfolgsraten im D.I.R. 2004 [165] von 27,17% für rFSH, 24,73 für hMG und 25,81% für

rFSH mit hMG. Die Schwangerschaftsraten der angewandten Gonadotropinmedikationen weisen in Abhängigkeit von extrazytoplasmatischen und zytoplasmatischen Parameter nur bedingt statistisch signifikante Differenzen auf (s. Tabellen 56 und 57). Der Grund für diese Ergebnisse liegt in der Gleichbewertung der übertragenen Embryonen, die zur Schwangerschaft führten. So wurden auch den irregulären Embryonen bei einem gemischten Transfer eine Gravidität zugeschrieben, die möglicherweise nur durch den regulären induziert wurde. Wie aus den Tabellen 56, 57, 58 und 59 ersichtlich, ist die Zahl der transferierten Embryonen aus abnorm entwickelten Oozyten sehr gering. Die Schwangerschaftsraten vermindern sich deutlich bei abnormer Form des 1. Polkörpers sowie einer ovalen Eizellsymmetrie bei einer Follitropin alpha-, Urofollitropinmedikation und der Kombination von rFSH mit Menotropin. Die Resultate unterstützend berichteten Ebner et al. [46] über reduzierte Erfolgsraten bei Oozyten mit fragmentierten 1. Polkörper. Ciotti et al. [48] fanden dagegen keine Unterschiede in den Schwangerschafts- und Implantationsraten. Die Schwangerschaftsrate bezogen auf zytoplasmatische Parameter ist schwierig zu interpretieren, da in den meisten Zyklen Embryonen aus normal geformten Oozyten übertragen wurden. Eine fundierte statistische Aussage war aufgrund der geringen Embryonenanzahl (Häufigkeiten teilweise n=4) bei abnormen Eizellmerkmalen leider nicht möglich. Auch hier muss erwähnt werden, dass beim Transfer mehrerer Embryonen in die Gebärmutterhöhle auch den irregulären Embryonen eine Schwangerschaft zugeordnet wurde. Anhand der Tabelle 69 sind die Geburtenraten in Abhängigkeit von der Zahl transferierter Embryonen dargestellt. Aus dieser Übersicht wird deutlich, dass die Mehrzahl der Geburten nach Rückgabe regulär entwickelter Embryonen hervorgehen. Der Transfer eines regulären Embryos gemeinsam mit einem abnorm entwickelten Embryo führt zu einer vergleichbaren Geburtenrate wie der Transfer eines regulären Embryos allein (18,6% vs. 21,1%) oder der Transfer von drei Embryonen, wovon nur einer von guter Qualität war (20,0%). Die Geburtenrate in Abhängigkeit von den angewandten Therapieschemata sowie den verabreichten Gonadotropinen spiegeln ein nahezu gleiches Bild der Ergebnisse hinsichtlich der Schwangerschaftsraten wider. Auch hier zeigen die Medikationen von Menotropin und Follitropin alpha die besten Erfolgchancen mit einer Geburtenrate von 29,2% bzw. 29,7% auf, gefolgt von Follitropin beta mit 22,6% und Urofollitropin mit 21,9%. Im Gegensatz zu Ludwig et al. [145] konnten wir keine signifikanten Differenzen zwischen der Applikation von Menotropin und Follitropin alpha in der Geburtenrate feststellen.

Jedoch ist darauf zu verweisen, dass die Zahl der Behandlungszyklen in beiden Gruppen stark variiert (n=48 für Menotropin und n= 276 für Follitropin alpha).

Die Anwendung urinärer Gonadotropine beinhalten jedoch das Risiko der möglichen Übertragung von Erregern, die durch moderne Extraktions- und Reinigungsverfahren nicht vollständig eliminiert werden können. Weiterhin bleibt das nicht kalkulierbare Risiko einer Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung bestehen, da diese meist erst im sechsten Lebensjahrzehnt zum Ausbruch kommt. Die nicht aufgereinigte Form von Menotropin zeigte nach Applikation allergische Hautreaktionen, die nach Anwendung rekombinant hergestellter Arzneimittel nicht auftraten [149, 150]. Die Auswirkungen des Anteils an Fremdproteinen in urinären Produkten können derzeit noch nicht abgeschätzt werden. Gerade die große Zahl an Behandlungszyklen mit Follitropin alpha stellt sicher, dass eine optimale Behandlung im Agonisten- wie auch Antagonistenprotokoll durchgeführt werden kann, die einen erfolgreichen Ausgang prognostizieren. Die messbare Geburtenrate von 29,7% in dieser Gruppe spricht für die Anwendung von rekombinanten Präparaten, speziell von Follitropin alpha.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass eine wiederholte gonadotrope Stimulation mit dem Ziel des polyfollikulären Wachstums zu einer erhöhten Zahl an Eizellabnormitäten führt, die den Erfolg einer Kinderwunschbehandlung signifikant vermindert. Weiterhin zeigen die vorliegenden Untersuchungen die Gleichwertigkeit in den Anwendungen einer Antagonisten- oder Agonistentherapie, jedoch treten nach Gabe von Triptorelinacetat in Kombination mit Follitropin beta, Follitropin alpha und Urofollitropin deutlich mehr Oozyten mit morphologischen Defekten und eine verminderte Fertilisationsrate hervor. Aufgrund des größeren Anteils „idealer“ M II-Oozyten sowie höherer Fertilisations-, Schwangerschafts- und Geburtenraten sind die Behandlungen mit rekombinant hergestelltem FSH oder mit Menotropin-HP einer Therapie mit Urofollitropin vorzuziehen.

Morphologische Auffälligkeiten wie ein vergrößerter PVS, eine ovale Eizellform, Oozyten mit einem zentralen oder vollständig granulierten Zytoplasma sowie der Nachweis refraktiler Körper und Vakuolen im Zytoplasma führen zu signifikant reduzierten Befruchtungsraten.

Ein wesentlicher Baustein für eine hohe Erfolgsrate ist die detaillierte Betrachtung und Dokumentation der zu injizierenden Metaphase II-Oozyten anhand ihrer extrazytoplasmatischen und zytoplasmatischen Parameter.

## **6 Zusammenfassung**

Die kommerzielle Herstellung von gonadotropen Hormonen erweiterte das Spektrum der Therapiemöglichkeiten für ungewollt kinderlose Paare. Die kontrollierte ovarielle Stimulation führt zu einer polyfollikulären Entwicklung und so zu einer vermehrten Anzahl von Kumulus-Oozyte-Komplexen (COC), die entscheidend den Behandlungserfolg einer IVF- oder ICSI-Therapie beeinflussen. Eine wichtige Voraussetzung ist der Reifegrad einer Oozyte, welcher durch die Prozesse der Kern- und Zytoplasmareifung bestimmt wird. Durch das gleichzeitige Heranwachsen mehrerer Follikel ist eine Synchronität beider Prozesse nicht für alle Oozyten gegeben.

Diese prospektive Multicenterstudie sollte den Einfluss verschiedener industriell hergestellter Gonadotropinpräparate (Menotropin -HP, Follitropin beta, Follitropin alpha, Urofollitropin) und angewandte Therapieformen [GnRH-Agonisten (Triptorelin,- Leuprorelin, -Nafarelinacetat) versus Antagonisten (Cetrorelixacetat)] auf den Reifegrad der Eizellen sowie das Entwicklungspotential der reifen Metaphase II-Oozyten (M II) untersuchen - charakterisiert durch definierte extrazytoplasmatische (1. Polkörper; perivitelliner Spalt, PVS; Eizellform) und zytoplasmatische (Granulierungsgrad, Vakuolenbildung, refraktile Körper) Merkmale- gefolgt von ihren Auswirkungen auf den Befruchtungsprozess.

In diese Beobachtungsstudie wurden 564 ICSI-Behandlungszyklen aufgenommen und insgesamt 5676 COC aspiriert. Die morphologische Charakterisierung erfolgte an 4778 M II-Oozyten. Der Einfluss externer Faktoren, wie das Alter, der Body-Mass-Index und die Zahl vorangegangener Behandlungszyklen wurde ebenfalls mit analysiert.

Es wurden durchschnittlich signifikant mehr COC im Agonistenprotokoll gegenüber den Antagonisten (10,4 vs. 9,5) sowie nach Follitropin beta- und Urofollitropinapplikation (11,7; 11,3) gegenüber Menotropin (9,3), Follitropin alpha (10,0) und der Kombination mit Menotropin (9,0) gewonnen. Das Agonistenprotokoll führte auch zu einem deutlich höheren Anteil an M II-Oozyten (85,3% vs. 80,8%) gegenüber Cetrorelixacetat. Innerhalb der Gonadotropinmedikationen gab es hinsichtlich des Reifegrades der Eizellen keine auffälligen Differenzen. Auffallend hoch war jedoch die Anzahl an dokumentierten morphologischen Defekten pro Oozyte (1-4) nach Triptorelin- und Nafarelinacetatgabe, was den signifikant größeren Anteil an „idealen“ Oozyten in der Antagonistengruppe erklärt. Nach Gonadotropinapplikation war ein merklich hoher Eizellanteil mit 2 und 3 morphologischen Defekten bei Urofollitropin zu beobachten. Die Stimulationsschemata mit Triptorelinacetat kombiniert mit Follitropin alpha, Follitropin

beta oder Urofollitropin führten zu einem geringen Anteil an „idealen“ M II-Oozyten und zu einer deutlichen Verminderung der Fertilisationsrate. Ein hoher Anteil normal geformter Oozyten war dagegen nach Menotropin- und Follitropin beta- Gabe zu verzeichnen.

Der Einfluss gonadotroper Hormone auf definierte extrazytoplasmatische oder zytoplasmatische Merkmale ergab, dass nach Applikation rekombinanter Präparate hohe Anteile an fragmentierten 1. Polkörpern in den M II-Oozyten vorlagen. Nach Gabe urinärer Gonadotropine wurden dagegen deutlich mehr M II-Oozyten mit flachen 1. Polkörpern beobachtet. Follitropin alpha und seine Kombination mit Menotropin führten zu einer erhöhten Zahl an M II-Oozyten mit abnormen PVS. Die Eizellform betreffend entwickelten sich signifikant mehr ovale Eizellen nach einer Therapie mit Follitropin alpha, während eine zunehmende Granulierung des Zytoplasmas besonders häufig nach einer Urofollitropinmedikation zu betrachten war. Auffallend hoch lag der prozentuale Anteil an refraktilen Körpern in der Gruppe von Follitropin alpha kombiniert mit Menotropin. Keine Unterschiede fanden sich in der Ausbildung von Vakuolen. Flache und fragmentierte 1. Polkörper zeigten, mit Ausnahme der Gabe von Urofollitropin ( $p=0,021$ ), keinen Einfluss auf die Fertilisationsrate. Alle weiteren untersuchten morphologischen Abnormitäten der Eizellhülle und des Zytoplasmas führten dagegen zu einer signifikanten oder tendenziellen Verminderung der Fertilisationsrate, vorrangig nach Applikation von Follitropin alpha und beta sowie in Kombination mit Menotropin. Hinsichtlich der morphologischen Parameter hat die ovale Form der M II-Oozyte signifikant negative Auswirkungen auf die Schwangerschaftsrate. Die Zahl an Vorversuchen (1-3) führt zu einer vermehrten Ausprägung morphologischer Eizellanomalien und zu reduzierten Befruchtungs-, Schwangerschafts- und Geburtenraten. Die Zahl an COC sowie die Schwangerschafts- und Geburtenrate sinkt mit zunehmenden Alter. Ein BMI  $>25 \text{ kg/m}^2$  erhöht die Zahl morphologischer Eizelldefekte. Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse sind die Behandlungen mit rekombinant hergestelltem FSH oder mit Menotropin-HP hinsichtlich ihres größeren Anteils an „idealen“ M II-Oozyten sowie höherer Fertilisations- Schwangerschafts- und Geburtenraten einer Therapie mit Urofollitropin vorzuziehen.

Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass die detaillierte morphologische Betrachtung und Dokumentation der zu injizierenden M II-Oozyten anhand ihrer extrazytoplasmatischen und zytoplasmatischen Parameter einen wesentlichen Baustein für den Behandlungserfolg darstellt.

## **7 Inhaltsverzeichnis der Abbildungen, Tabellen und Übersichten** **Seite**

### **Abbildungen**

|  |    |
|--|----|
| Abbildung 1: Altersabhängigkeit der Oozytenzahl im Ovar  | 10 |
| Abbildung 2 : Reifungsstadien eines Follikels  | 11 |
| Abbildung 3: Signaltransduktionsweg über den GnRH-Rezeptor   | 12 |
| Abbildung 4: Darstellung der Follikelreifung und der Selektion des dominanten Follikels                  | 13 |
| Abbildung 5: Gonadotropinabhängige Steroidsynthese in den verschiedenen Zellgeweben des Tertiärfollikels | 14 |
| Abbildung 6: Schematische Darstellung des langen Protokolls  | 18 |
| Abbildung 7: Schematische Darstellung der Antagonisten-Protokolle  | 19 |
| Abbildung 8: Morphologische Stadien der Oozytenkernreifung   | 32 |
| Abbildung 9: Normal geformte Metaphase II- Oozyte  | 35 |
| Abbildung 10: Morphologische Charakterisierung des 1. Polkörpers   | 36 |
| Abbildung 11: Morphologische Charakterisierung des perivitellinen Spaltes                                | 36 |
| Abbildung 12: Charakterisierung der Oozytensymmetrie   | 37 |
| Abbildung 13: Charakteristika der Zona pellucida   | 37 |
| Abbildung 14: Charakteristika des Zytoplasmas  | 38 |
| Abbildung 15: Erscheinungsformen von Vakuolen  | 38 |
| Abbildung 16: Erscheinungsformen refraktiler Körper  | 39 |
| Abbildung 17: Charakteristisches Bild einer SER-Aggregation  | 39 |
| Abbildung 18: Erscheinungsformen organellenfreier oder - armer Areale                                    | 40 |
| Abbildung 19: Schematische Darstellung der Vorkernmuster   | 41 |

### **Tabellen**

|   |    |
|---|----|
| Tabelle 1: Teilnehmende Zentren an der Multicenterstudie                    | 28 |
| Tabelle 2: Medienübersicht der beteiligten Zentren                          | 41 |
| Tabelle 3: Klassifizierung der Embryonenqualität                            | 43 |
| Tabelle 4 : Einfluss des Alters auf die Anzahl gewonnener COC               | 45 |
| Tabelle 5: Einfluss des BMI auf die durchschnittliche Anzahl gewonnener COC | 46 |
| Tabelle 6: Einfluss vorangegangener Behandlungen auf die Zahl               |    |

|              |  |    |
|--------------|--|----|
|              | gewonnener Kumulus-Oozyte-Komplexe   | 46 |
| Tabelle 7:   | Anzahl gewonnener COC in Abhängigkeit vom GnRH-Protokoll   | 47 |
| Tabelle 8:   | Einfluss verschiedener Agonistenpräparate auf die Anzahl gewonnener COC pro Behandlungszyklus                      | 48 |
| Tabelle 9:   | Einfluss der Applikation verschiedener Gonadotropine auf die Anzahl der Kumulus-Oozyte-Komplexe pro Therapiezyklus | 48 |
| Tabelle 10:  | Zyklushäufigkeiten der angewandten Therapieschemata  | 50 |
| Tabelle 11:  | Durchschnittlich punktierte COC in Abhängigkeit vom Stimulationsregime   | 50 |
| Tabelle 12 : | Einfluss des Alters auf den Entwicklungsstatus gewonnener Oozyten  | 51 |
| Tabelle 13:  | Einfluss des BMI auf den Entwicklungsstatus gewonnener Oozyten   | 52 |
| Tabelle 14:  | Einfluss der Anzahl an Vorversuchen auf den Entwicklungsstatus gewonnener Oozyten                                  | 52 |
| Tabelle 15:  | Reifestatus in Abhängigkeit von der GnRH-Protokollform   | 53 |
| Tabelle 16:  | Reifestatus in Abhängigkeit der GnRH-Agonistenpräparate  | 54 |
| Tabelle 17:  | Einfluss der Gonadotropingabe auf den Reifestatus der Oozyten  | 54 |
| Tabelle 18:  | Anteil der Reifestadien gewonnener Oozyten in Abhängigkeit von der Wahl des Stimulationsschemas                    | 55 |
| Tabelle 19:  | Einfluss des Alters auf die Ausprägung von Eizelldysmorphismen in Metaphase II-Oozyten                             | 58 |
| Tabelle 20:  | Einfluss des BMI auf die Ausprägung von Eizelldysmorphismen in Metaphase II-Oozyten                                | 58 |
| Tabelle 21:  | Einfluss vorangegangener Zyklen auf die Ausprägung von Eizelldysmorphismen in Metaphase II-Oozyten                 | 59 |
| Tabelle 22:  | Einfluss des GnRH-Protokolls auf die Ausprägung von Eizelldysmorphismen in Metaphase II-Oozyten                    | 60 |
| Tabelle 23:  | Einfluss von GnRH-Agonistenpräparate auf die Ausprägung von Eizelldysmorphismen in Metaphase II-Oozyten            | 60 |

|             |  |    |
|-------------|--|----|
| Tabelle 24: | Einfluss der Gonadotropinmedikation auf die Ausprägung von Eizelldysmorphismen in Metaphase II-Oozyten                                   | 61 |
| Tabelle 25: | Einfluss der Therapieschemata auf die Ausprägung von Eizelldysmorphismen in Metaphase II-Oozyten   | 62 |
| Tabelle 26: | Häufigkeiten der extrazytoplasmatischen Oozytenparameter in Abhängigkeit von den meist angewandten Gonadotropinmedikationen              | 64 |
| Tabelle 27: | Häufigkeiten der zytoplasmatischen Oozytenparameter in Abhängigkeit von den meist angewandten Gonadotropinmedikationen                   | 65 |
| Tabelle 28: | Befruchtungsstatus in Abhängigkeit vom Alter der Patientin   | 66 |
| Tabelle 29: | Einfluss des BMI der Patientinnen auf den Befruchtungsstatus   | 67 |
| Tabelle 30: | Einfluss vorangegangener Zyklen der Patientinnen auf den Befruchtungsstatus  | 68 |
| Tabelle 31: | Einfluss des GnRH-Protokolls auf den Befruchtungsstatus  | 69 |
| Tabelle 32: | Einfluss verschiedener GnRH-Agonistenpräparate auf den Befruchtungsstatus  | 69 |
| Tabelle 33: | Einfluss verschiedener Gonadotropinpräparate auf den Befruchtungsstatus  | 70 |
| Tabelle 34: | Einfluss verschiedener Stimulationsschemata auf den Befruchtungsstatus   | 71 |
| Tabelle 35: | Befruchtungsstatus in Abhängigkeit von der numerischen Anzahl abnormaler Eizellparameter   | 73 |
| Tabelle 36: | Befruchtungsstatus in Abhängigkeit von den extrazytoplasmatischen Parametern   | 74 |
| Tabelle 37: | Befruchtungsstatus in Abhängigkeit von den zytoplasmatischen Parameter   | 75 |
| Tabelle 38: | Einfluss der extrazytoplasmatischen Eizelldysmorphismen auf die Fertilisationsraten (2PN) in Abhängigkeit von der Gonadotropinmedikation | 76 |
| Tabelle 39: | Einfluss der zytoplasmatischen Eizelldysmorphismen auf die Fertilisationsraten (2PN) in Abhängigkeit von der Gonadotropinmedikation      | 77 |
| Tabelle 40: | Einfluss der extrazytoplasmatischen Eizelldysmorphismen auf die Fertilisationsraten (2PN) in Abhängigkeit                                |    |

|             |  |    |
|-------------|--|----|
|             | vom Stimulationsschema   | 79 |
| Tabelle 41: | Einfluss der zytoplasmatischen Eizelldysmorphismen auf die Fertilisationsraten (2PN) in Abhängigkeit vom Stimulationsschema      | 80 |
| Tabelle 42: | Anzahl und Qualität der übertragenen Embryonen pro Zyklus  | 82 |
| Tabelle 43: | Einfluss des GnRH-Protokolls auf die Embryonenqualität   | 82 |
| Tabelle 44: | Einfluss der Gonadotropinmedikation auf die Embryonenqualität  | 83 |
| Tabelle 45: | Einfluss der Stimulationsschemata auf die Embryonenqualität  | 84 |
| Tabelle 46: | Einfluss des Alters auf die Schwangerschaftsrate   | 85 |
| Tabelle 47: | Einfluss des BMI auf die Schwangerschaftsrate pro Therapiezyklus   | 85 |
| Tabelle 48: | Einfluss vorangegangener Therapieversuche auf die Schwangerschaftsrate pro Therapiezyklus  | 86 |
| Tabelle 49: | Einfluss der GnRH-Protokollart auf die Schwangerschaftsrate pro Zyklus   | 87 |
| Tabelle 50: | Einfluss verschiedener GnRH- Agonisten auf die Schwangerschaftsrate pro Zyklus   | 87 |
| Tabelle 51: | Einfluss der Gonadotropimedikation auf die Schwangerschaftsrate pro Zyklus   | 88 |
| Tabelle 52: | Einfluss der Wahl des Stimulationsschemas auf die Schwangerschaftsrate pro Zyklus  | 89 |
| Tabelle 53: | Einfluss der Anzahl morphologischer Defekte der Metaphase II-Eizellen auf die Schwangerschaftsrate                               | 90 |
| Tabelle 54: | Einfluss extrazytoplasmatischer Parameter der Metaphase II-Eizellen auf die Schwangerschaftsrate                                 | 90 |
| Tabelle 55: | Einfluss zytoplasmatischer Parameter der Metaphase II-Eizellen auf die Schwangerschaftsrate                                      | 91 |
| Tabelle 56: | Einfluss extrazytoplasmatischer Eizelldysmorphismen auf die Schwangerschaftsraten in Abhängigkeit von der Gonadotropinmedikation | 92 |
| Tabelle 57: | Einfluss der zytoplasmatischen Eizelldysmorphismen auf die Schwangerschaftsrate in Abhängigkeit von der Gonadotropinmedikation   | 94 |

|             |  |     |
|-------------|--|-----|
| Tabelle 58: | Einfluss extrazytoplasmatischer Eizellmorphismen auf die Schwangerschaftsrate in Abhängigkeit vom Stimulationsschema | 95  |
| Tabelle 59: | Einfluss zytoplasmatischer Eizellmorphismen auf die Schwangerschaftsrate in Abhängigkeit vom Stimulationsschema      | 97  |
| Tabelle 60: | Einfluss des Alters auf die Abort- und Geburtenrate  | 98  |
| Tabelle 61: | Einfluss des BMI auf die Abort- und Geburtenrate pro Therapiezyklus  | 98  |
| Tabelle 62: | Einfluss vorangegangener Therapieversuche auf die Abort- und Geburtenrate pro Therapiezyklus                         | 99  |
| Tabelle 63: | Einfluss der GnRH-Protokollart auf die Abort- und Geburtenrate pro Zyklus  | 99  |
| Tabelle 64: | Einfluss verschiedener GnRH - Agonisten auf die Abort- und Geburtenrate pro Zyklus                                   | 100 |
| Tabelle 65: | Einfluss der Gonadotropinmedikation auf die Abort- und Geburtenrate pro Zyklus                                       | 101 |
| Tabelle 66: | Einfluss der Wahl des Stimulationsschematas auf die Abort- und Geburtenrate pro Zyklus                               | 102 |
| Tabelle 67: | Geburtenanzahl in Abhängigkeit von den durchgeführten Behandlungszyklen  | 103 |
| Tabelle 68: | Mehrlingsrate in Abhängigkeit von der Anzahl der Geburten  | 104 |
| Tabelle 69: | Einfluss der Embryonenqualität auf die Geburt  | 104 |
| Tabelle 70: | Wesentliche Parameter dieser Studie  | 105 |

### **Übersichten**

|              |   |    |
|--------------|---|----|
| Übersicht 1: | Extrazytoplasmatische Morphologieparameter bezogen auf die Gesamtzahl aller Metaphase II- Oozyten | 56 |
| Übersicht 2: | Zytoplasmatische Morphologieparameter bezogen auf die Gesamtzahl aller Metaphase II- Oozyten      | 57 |
| Übersicht 3: | Häufigkeit an Dysmorphismen bezogen auf die Gesamtzahl aller Metaphase II- Oozyten                | 57 |

## **8 Abkürzungsverzeichnis**

|         |   |   |
|---------|---|---|
| AFC     | = | „Antral follicle count“                                 |
| AMH     | = | „Anti-Müllerian hormone“                                |
| ART     | = | Assistierte reproduktionsmedizinische Techniken         |
| COC     | = | „Cumulus-oocyte-complex “                               |
| EIFT    | = | Intratubarer Embryotransfer                             |
| ET      | = | Embryotransfer  |
| FSH     | = | Follikelstimulierendes Hormon                           |
| GIFT    | = | Intratubarer Gametentransfer                            |
| GnRH    | = | Gonadotropin-Releasing-Hormon                           |
| GV      | = | Germinalvesikel   |
| HCG     | = | Humanes Choriongonadotropin                             |
| HMG     | = | Humanes Menopausengonadotropin                          |
| ICSI    | = | Intrazytoplasmatische Spermatozoeninjektion             |
| IVF     | = | In- vitro- Fertilisation                                |
| KOH     | = | Kontrollierte ovarielle Hyperstimulation                |
| KOS     | = | Kontrollierte ovarielle Stimulation                     |
| LH      | = | Luteinisierendes Hormon                                 |
| M I     | = | Metaphase I   |
| M II    | = | Metaphase II  |
| NPB     | = | “Nuclear precursor bodys“                               |
| OHSS    | = | Ovarielles Überstimulationssyndrom                      |
| PCOS    | = | Syndrom der polyzystischen Ovarien                      |
| PVP     | = | Polyvinylpyrrolidon                                     |
| PVS     | = | Perivitelliner Spalt                                    |
| rFSH    | = | Rekombinantes Follikelstimulierendes Hormon             |
| SE-HPLC | = | “Size Exclusion High Performance Liquid Chromatography“ |
| SER     | = | “Smooth endoplasmic reticulum“                          |
| SET     | = | Single-Embryo-Transfer                                  |
| uFSU    | = | Urinäres Follikelstimulierendes Hormon                  |
| ZIFT    | = | Intratubarer Zygotentransfer                            |

## **9 Literaturverzeichnis**

1. Strowitzki T. Ungewollte Kinderlosigkeit: Diagnostik und Therapie von Fertilitätsstörungen. Gustav-Fischer-Verlag, 1996
2. Gesetz zum Schutz von Embryonen (Embryonenschutzgesetz-EschG) Bundesblatt 1990: 2746-2747.
3. Montag M, van der Ven H. Grundlagen der In-Vitro-Fertilisation und Embryonenkultivierung. Reproduktionsmedizin 2002; 18: 147-152.
4. Richtlinien der Bundesärztekammer zur Durchführung der assistierten Reproduktion. Deutsches Ärzteblatt 1998; 49: 3166
5. Scott L A, Smith A. The successful use of pronuclear embryo transfer the day following oocyte retrieval. Hum Reprod 1998; 13: 1003-1013.
6. Tesarik J, Greco E. The probability of abnormal preimplantation development can be predicted by a single static observation on pronuclear stage morphology. Hum Reprod 19; 14: 1318-1323.
7. Scott L A, Alvero R, Leondires M, Miller B. The morphology of human pronuclear embryos is positively related to blastocyst development and implantation. Hum Reprod 2000; 15: 2394-2403.
8. Leidenberger F A. Klinische Endokrinologie für Frauenärzte. Springer Verlag 2002. 2. Auflage
9. Moore K L, Persaud T V N. Embryologie. Schattauer Verlag Stuttgart, New York 1996; 14
10. Lanzone A et al. Evidence of a distinct derangement of opioid tone in hyperinsulinemic patients with PCOS. J Clin Endocrinol 1996; 80: 3501 – 3506.

11. MC Neilly AS. Structure, lokalisation and actions of inhibins, activins and follistatin. Endocrine Basis of reproductive Function. Monduzzi Editore 2000; Editor M. Filicori: 121-138.
12. Keck Ch. Diagnostik und Therapie des unerfüllten Kinderwunsches. Uni-Med Verlag AG 1. Auflage 2002: 18.
13. Richards J S et al. Ovarian cell differentiation: a cascade of multiple hormones, cellular signals and regulated genes. Recent Progr. Horm Res 1993; 50: 223-254.
14. Qu J, Thomas K. Inhibin and activin production in human placenta. Endocr Rev 1995; 16: 485-507.
15. Felberbaum R, Küpker W, Ludwig M, Diedrich K. Die Konzeption der Frau. Gynäkologische Endokrinologie 2002; 0: 18-25.
16. Steptoe P C, Edwards R C. Birth after the reimplantation of a human embryo. Lancet, 1978; 2: 366.
17. Olijve W, de Boer W, Mulders J W, van Wezenbeek P M. Molecular biology and biochemistry of human recombinant follicle stimulating hormone (Puregon). Mol Hum Reprod 1996; 2: 371-382.
18. Howles CM. Genetic engineering of human FSH (Gonal-F). Hum Reprod Update 1996; 2: 172-191.
19. Loumaye E, Billion JM, Mine JM. Prediction of individual response to controlled ovarian hyperstimulation by means of a clomifen citrate challenge test. Fertil Steril 1990; 53: 295-301.
20. Urbancsek J, Rabe T, Strowitzki T et al. Ovarian stimulation for In Vitro Fertilization: Past and Present. In: Manual of Assisted Reproduction. Springer Verlag Berlin -New York 2000: 165-196.

21. Carmel P W, Araki S, Ferin M. Pituitary stalk portal blood collection in rhesus monkeys: evidence of pulsatile release of gonadotropin-releasing hormone (GnRH). *Endocrinology* 1976; 99: 243-248.
22. Leyendecker G, Wildt L, Hansmann M. Pregnancies following chronic intermittent (pulsatile) administration of GnRH by means of a portable pump ("Zyklomat") – a new approach to the treatment of fertility of hypothalamic amenorrhoea. *J Clin Endocrinol Metab* 1980; 51: 1214-1216.
23. Wildt L. Die endokrine Kontrolle der Ovarialfunktion und die Pathophysiologie endokriner Ovarialfunktionsstörungen. In: Diedrich K, ed. *Neue Wege in Diagnostik und Therapie der Sterilität*. Enke Stuttgart 1990: 1-25.
24. Schmutzler R K, Dietrich K. Basic and clinical aspects of GnRH-agonists in reproduction. *Int J Gynecol Obstet* 1990; 32: 311-324.
25. Kolibianakis E M, Devroey P. The luteal phase after ovarian stimulation. *Reprod Biomed Online* 2002; 5: 26-35.
26. Fleming R, Coutts J R T. Induction of multiple follicular growth in normally menstruating women with endogenous gonadotropin suppression. *Fertil Steril* 1986; 45: 226-230.
27. Felberbaum R, Ludwig M, Diedrich K. Kontrollierte ovarielle Stimulation (COS) mit GnRH-Antagonisten. *Reproduktionsmedizin* 1998; 14: 187-193.
28. Felberbaum R, Rabe T, Diedrich K. Gonadotropin-Releasing Hormone: Agonists and Antagonists. In: *Manual of Assisted Reproduction*. Springer Verlag New York, Berlin 2000: 133-164.
29. Felberbaum R, Reissmann T, Diedrich K. Entwicklung und Anwendungsmöglichkeiten der GnRH-Antagonisten im Rahmen der Sterilitätstherapie. *Fertilität* 1995; 11: 11-21.

30. Devroey P. Cetrotide multidose protokoll: results of the largest multinational study with an antagonist in ART. Abstracts of the Symposium "Cetrotide in daily clinical practice", First Congress on Controversies in Obstetrics and Gynecology and Infertility. Prague 1999: 10-12.
31. Herrler A, Beier H M. Eds. Assessment of Oocyte and early Embryo Morphology with Regard to Embryonic Development and the Outcome of Assisted Reproduction. In: Manual of Assisted Reproduktion. Springer Verlag New York, Berlin 2000: 301-320.
32. Huttel P, Xu K P, Smith S, Greve T. Ultrastructure of in –vitro oocyte maturation in cattle. J Reprod Fertil 1986; 78: 615-625.
33. Koppers B, Herrmann B, Mitmann S. Mikroskopische Beurteilung von Oozyten, Vorkernstadien und Embryonen. Reproduktionsmedizin 2000; 16: 290-293.
34. Wert S E, Larsen W J. Meiotic resumption and gap junction modulation in the cultured rat cumulus-oocyte -complex. Gamete Res 1989; 22: 143-162.
35. Lindenberg S. Factors regulating in-vitro maturation of oocytes. Hum Reprod [Suppl] 1997; 12: 12.
36. Mandelbaum J. Oocyte In: Atlas of Embryology Hum Reprod [Suppl 4] 2000; 15: 11-18.
37. Sathananthan A H. Morphology and pathology of the human oocyte. In: Biology and Pathology of the Oocyte. Cambridge University Press 2003: 185-208.
38. Sundström P, Nilsson B O. Meiotic and cytoplasmatic maturation of oocytes collected in stimulated cycles is asynchronous. Hum Reprod 1988; 3: 613-619.
39. Fluka J, First N L Moore R M. Nuclear and cytoplasmic determinants involved in the regulation of mammalian oocyte maturation. Mol Hum Reprod 1998; 4: 41-49.

40. Ebner T, Moser M, Tews G. Die Bedeutung der Morphologie der Oozyte hinsichtlich ihres weiteren Entwicklungspotentials. *J Reproduktionsmed Endokrinol* 2006; 1: 17-23.
41. Ortiz M E, Lucero P, Croxatto H B. Postovulatory aging of human ova: II spontaneous division of the first polar body. *Gamete Res* 1983; 7: 269-276.
42. Payne D, Flaherty S P, Barry M F, Methews C D. Preliminary observations on polar body extrusion and pronuclear form score as a prognostic tool in IVF treatment. *Hum Reprod* 1997; 12: 705-708.
43. Van Blerkom J, Henry G. Oocyte dysmorphism and aneuploidy in meiotically mature human oocytes after ovarian stimulation. *Hum Reprod* 1992; 7: 379-390.
44. Hassan-Ali H, Hisham-Saleh A, El-Gezeiry D, Baghdady I, Ismaeil I, Mandelbaum J. Perivitelline space granularity: a sign of human menopausal gonadotrophin overdose in intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1998; 13: 3425-3430.
45. Ebner T, Yaman C, Moser M, Sommergruber M, Feichtinger O, Tews G. Prognostic value of the first polar body morphology on fertilization rate and embryo quality in intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 2000; 15: 427-430.
46. Ebner T, Moser M, Sommergruber M, Yaman C, Pfleger U, Tews G. First polar body morphology and blastocyst formation rate in ICSI patients. *Hum Reprod* 2002; 17: 2415-2418.
47. Xia P. Intracytoplasmic sperm injection: correlation of oocyte grade based on polar body, perivitelline space and cytoplasmic inclusions with fertilization rate and embryo quality. *Hum Reprod* 1997; 12: 1750-1755.
48. Ciotti P M, Notarangelo R, Morselli-Labate A M, Felletti V, Porcu E, Venturoli S. First polar body morphology before ICSI is not related to embryo quality or pregnancy rate. *Hum Reprod* 2004; 19: 2334-2339.

49. Ebner T, Moser M, Yaman C, Feichtinger O, Hartl, J, Tews G. Elective transfer of embryos selected on the basis of first polar body morphology is associated with increased rates of implantation and pregnancy. *Fertil Steril* 1999; 72, 599-603.
50. Ebner T, Moser M, Sommergruber M, Tews G. Selection based on morphological assessment of oocytes and embryos at different stages of preimplantation development. *Hum Reprod Update* 2003; 9: 251-262.
51. Kahraman S, Yakin K, Dönmez E et al. Relationship between granular cytoplasm of oocyte and pregnancy outcome following intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 2000; 15: 2390-2393.
52. De Sutter P, Dozortsev D, Qian C, Dhont M. Oocyte morphology does not correlate with fertilization rate and embryo quality after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1996;11: 595-597.
53. Balaban B, Urman B, Sertac A, Alatas C, Aksoy S, Mercan R. Oocyte morphology does not affect fertilization rate, embryo quality and implantation rate after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1998; 13: 3431-3433.
54. Ebner T, Yaman C, Moser M, Sommergruber M, Jesacher K, Tews G. A prospective study on oocyte survival rate after ICSI: influence of injection technique and morphological features. *J Assist Reprod Genetics* 2001; 18: 601-606.
55. Van Blerkom J. Occurrence and developmental consequences of aberrant cellular organization in meiotically mature human oocytes after exogenous ovarian hyperstimulation. *J Electron Microscop Tech* 1990; 16: 324-346.
56. Ebner T, Moser M, Sommergruber M, Gaiswinkler U, Shebl O, Tews G. Occurrence and developmental consequences of vacuoles throughout preimplantation development. *Fertil Steril* 2005; 83: 1635-1640.

57. Otsuki J, Okada A, Morimoto K, Nagai Y, Kubo H. The relationship between pregnancy outcome and smooth endoplasmic reticulum clusters in M II human oocytes. *Hum Reprod* 2004; 19: 1591-1597.
58. Saling, M P. Mammalian sperm interaction with extracellular matrices of the egg. In: Milligan S R (ed) *Oxford reviews of reproductive biology* 11. Oxford Univ Press, Oxford, New York, Tokio 1989: 339-388.
59. Edwards R G, *Conception in the human female*. Academic Press London New York, Toronto 1980.
60. Steck, T. *Praxis der Fortpflanzungsmedizin*. Schattauer-Verlag, Stuttgart, New York. 2001
61. Payne D, Flaherty S P, Barry M F, Methews C D. Preliminary observations on polar body extrusion and pronuclear form score as a prognostic tool in IVF treatment. *Hum Reprod* 1997; 12: 705-708.
62. Meldrum D R, Wiston A, Hamilton F, Gutlay A L, Huynh D, Kempton W. Timing of initiation and dose schedule of leuprolide influence the time course of ovarian suppression. *Fertil Steril* 1988; 50: 400-402.
63. Ron-El R, Golan A, Herman A, Raziel A, Soffer Y, Caspi E. Midluteal gonadotropin-releasing hormone analog administration in early pregnancy. *Fertil Steril* 1990; 61: 572-574.
64. Tan S L, Kingsland C, Campbell S et al. The long protocol of administration of gonadotropin-releasing hormone agonist is superior to the short protocol for ovarian stimulation for in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1992; 57: 810-814.
65. Daya S. Gonadotropin releasing hormone agonist protocols for pituitary desensitisation in in vitro fertilization and gamete intrafallopian transfer cycles. *Cochrane Database Syst Rev* 2000; 2: CD001299.

66. Lewit K, Kol S, Manor D, Itskovitz-Eldor J. Comparison of gonadotrophin-releasing hormone analogues and human chorionic gonadotrophin for the induction of ovulation and prevention of ovarian hyperstimulation syndrome: a case – control study. *Hum Reprod* 1996; 11: 1399-1402.
67. Serhal P F, Ranieri D M, Kinis A, Marchant S, Davies M, Khadum I M. Oocyte morphology predicts outcome of intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1997; 12: 1267-1270.
68. Felberbaum R. Cetrorelix in controlled ovarian stimulation for ART. Results of phase III, multiple dose treatment. *Gynecol Endocrinol* 1999; 13: 14
69. Olivennes F, Cunha-Filho J S, Fanchin R, Bouchard P, Frydman R. The use of GnRH antagonist in ovarian stimulation. *Hum Reprod Update* 2002; 8: 279-290.
70. Ludwig M, Katalinic A, Diedrich K. Use of GnRH-antagonists in ovarian stimulation for assisted reproductive technologies compared to the long protocol. Meta-analysis *Arch Gynecol Obstet* 2001; 265: 175-182.
71. Weissmann A, Barash A, Shapiro H, Casper RF. Ovarian hyperstimulation following the sole administration of agonistic analogues of gonadotrophin releasing hormone. *Hum Reprod* 1998; 13: 3421-3424.
72. Agrawal R, Holmes J, Jacobs H S. Follicle stimulating hormone or human menopausal gonadotropin for ovarian stimulation in IVF cycles: a meta analysis. *Fertil Steril* 2000; 73: 338-342.
73. Fleming R, Rehka P, Deshpande N, Jamieson M E, Yates R W S, Lyall H. Suppression of LH during ovarian stimulation: effects differ in cycles stimulated with purified urinary FSH and recombinant FSH. *Hum Reprod* 2000; 15: 1440-1445.
74. Ludwig M, Doody K J, Doody K M. Use of recombinant human chorionic gonadotropin in ovulation induction. *Fertil Steril* 2003; 79: 1051-1059.

75. Palermo, G, Cohen J, Alikani M. Intracytoplasmic sperm injection: a novel treatment for all forms of male factor infertility. *Fertil Steril* 1995; 63: 1231-1240.
76. Montag M, van der Ven K, Ved S et al. Success of intracytoplasmic sperm injection in couples with male and /or female chromosome aberrations. *Hum Reprod* 1997; 12: 2635-2640.
77. Zollner U, Zollner K P, Dietl J, Steck T. Semen sample collection in medium enhances the implantation rate following ICSI in patients with severe oligoasthenoteratozoospermia. *Hum Reprod* 2001; 16: 1110-1114.
78. Dandekar P, Aggeler J, Talbot P. Structure distribution and composition of the extracellular matrix of human oocytes and cumulus masses. *Hum Reprod* 1992; 7: 391-398.
79. Veeck LL. *An Atlas of Human Gametes and Conception*. Parthenon London 1999.
80. Boldt J, Cline D, McLaughlin D. Human oocyte cryopreservation as an adjunct to IVF-embryo transfer cycles. *Hum Reprod* 2003; 18: 1250-1255.
81. Hill G A, Freeman M, Bastias M C, et al. The influence of oocyte maturity and embryo quality on pregnancy rate in a program for in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril* 1989; 52: 801-806.
82. Steer C V, Mills C L, Tan S L, Campbell S, Edwards R G. 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* 1992; 7: 117-119.
83. Montag M, Baukloh V. Verbessert Assisted Hatching die Schwangerschaftsrate? *Reproduktionsmedizin* 1998; 14: 327-329.

84. Alisch A, Katalinic A, Diedrich K, Ludwig M. Kautelen bei der Durchführung des Embryonentransfers. *Reproduktionsmedizin* 2003; 19: 22-29.
85. Bourgain C, Smitz J, Devroey P. Meta-analysis on luteal phase support. *Hum Reprod* 2003; 18: 656.
86. Ludwig M, Schwartz P, Babahan B, et al. Luteal phase support using either Crinone 8% or Utrogest: results of a prospective, randomized study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2002; 103: 48-52.
87. Coulam C B, Roussev R. Chemical pregnancies: immunologie and ultrasonographic studies. *Am J Reprod Immunol* 2002; 48: 323-328.
88. Urbancsek J, Hauzman E, Fedorcsak P, Halmos A, Devenyi N, Papp Z. Serum human chorionic gonadotropin measurements may predict pregnancy outcome and multiple gestation after in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2002; 78: 540-542.
89. Poikkeus P, Hillesmaa V, Tiitinen A. Serum HCG 12 days after embryo transfer in predicting pregnancy outcome. *Hum Reprod* 2002; 17: 1901- 1905.
90. Bericht Jahrestagung der Österreichischen IVF-Gesellschaft. 2003. *Ferti News* 49.
91. Deutsches IVF Register D.I.R. Jahrbuch 2005; Ärztekammer, Schleswig-Holstein
92. Nasser A, Grifa J A. Barriers to Success in Assisted Reproduction. *Curr Probl Obstet Gynecol Fertil* 1998: 132-141.
93. Samama M, Olivennes F, Fanchin R, Kadoch, I J, Righini C, Frydman R. One year treatment with GnRH-antagonist single dose cetorelix protocol in controlled ovarian hyperstimulation: a comparative study with GnRH agonist treatment. *Hum Reprod* 2002; 17 Suppl 1:151 (Abstract P-444).

94. The European and middle East Orgalutran® Study Group. Van Hooren H G. Comparable clinical outcome using the GnRH antagonist ganirelix or a long protocol of the GnRH agonist triptorelin for the prevention of premature LH surges in women undergoing ovarian stimulation. *Hum Reprod* 2001; 16: 644-651.
95. Olivennes F, Frydman R, Balaisch-Allart J C et al. Comparison in a prospective multicentric randomized study in IVF-ET of a single dose of GnRH Antagonist (Cetrorelix) to a GnRH Agonist long protocol (triptoreline in depot formula). *Gynecol Endocrinol* 1999 Suppl 1; 13: Abstract: 027.
96. Dada T, Salha O, Baillie H S, Sharma V. A Comparison of three gonadotrophin-releasing hormone analogues in an in-vitro fertilization program: a prospective randomized study. *Hum Reprod* 1999; 14: 288-293.
97. Ravhon A, Lavery St. Aurell R, Trew G, Margara R, Winston R. Clinical experience with recombinant follicle-stimulating hormone (FSH) and urinary FSH: a retrospective case-controlled analysis. *Fertil Steril* 2001; 75: 920-925.
98. Ludwig M, Katalinic A, Schöpfer B et al. Kontrollierte ovarielle Stimulation mit Cetrotide®: Ergebnisse eines Zentrums beim Wechsel des Routine-Protokolls vom langen Protokoll mit Agonisten zum Mehrfachprotokoll mit dem Antagonisten. ESHRE, Bologna 2000: Abstract 0-059.
99. Jansen C A M, Van Os H C, Out H J, Coelingh Bennink H J T. A prospective randomized clinical trial comparing recombinant follicle stimulating hormone (Puregon) and human menopausal gonadotrophins (Humegon) in non down-regulated in vitro fertilization patients. *Hum Reprod* 1998; 13: 2995-2999.
100. Daya S. Follicle-stimulating hormone versus human menopausal gonadotropin for in vitro Fertilization: results of a meta-analysis. *Horm Res* 1995; 43: 224-229.
101. Ng E, Lan Lau E Y, Yeung W S B, Ho P Ch. HMG is as good as recombinant human FSH in terms of oocyte and embryo quality: a prospective randomized trial. *Hum Reprod* 2001; 16: 319-325.

102. Agrawal R, Conway G S, Engmann L, Bekir J S, Jacobs H S. Implications of using follicle-stimulating hormone preparations depleted of luteinizing hormone to achieve follicular growth in in vitro fertilization. *Gynecol Endocrinol* 1998;12: 9-15.
103. Weissman A, Meriano J, Ward S, Gotlieb L, Casper R F. Intracytoplasmic Sperm injection after follicle stimulation with highly purified human follicle-stimulating hormone compared with human menopausal gonadotropin. *J Ass Reprod and Genetics* 1999; 16: 63-68.
104. Westergaard L G, Erb K, Laursen S B, Rex S, Rasmussen P E. Human menopausal gonadotropin versus recombinant follicle-stimulating hormone in normogonadotropic women down-regulated with a gonadotropin-releasing hormone agonist who were undergoing in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection: a prospective randomised study. *Fertil Steril* 2001; 76: 543-549.
105. Balasch J, Peñarrubia J, Fábregues F et al. Ovarian responses to recombinant FSH or HMG in normogonadotrophic women following pituitary desensitization by a depot GnRH agonist for assisted reproduction. *RBM online* 2003; 7: 35-42.
106. Nyboe Andersen A, Devroey P, Arce J C for the MERIT-Group. Clinical outcome following stimulation with highly purified hMG or recombinant FSH in patients undergoing IVF: a randomized assessor-blind controlled trial. *Hum Reprod* 2006; 21: 3217-3227.
107. Van Wely M, Westergaard L G, Bossuyt P M M, Van der Veen F. Human menopausal gonadotropin versus recombinant follicle stimulation hormone for ovarian stimulation in assisted reproductive cycles. *The Cochrane Library*, Issue 1 2003. Update Software Oxford.
108. Ludwig M, Rabe T. Stellungnahme zur Beurteilung der Äquivalenz von rekombinantem FSH und Menotropin. *J Reproduktionsmed Endokrinol* 2004; 2: 82-90.

109. Daya S. Updated meta-analysis of recombinant follicle-stimulating hormone (FSH) versus urinary FSH for ovarian stimulation in assisted reproduction. *Fertil Steril* 2002; 77: 711-714.
110. Out H J, Mannaerts B M, Driessen S G, Bennink H J. Recombinant follicle stimulating hormone (rFSH; Puregon) in assisted reproduction: More oocytes, more pregnancies. Results from five comparative studies. *Hum Reprod Update* 1996; 2: 162-171.
111. Bergh C, Howles C M, Borg K et al. Recombinant human follicle stimulating hormone (r-hFSH); Gonal F<sup>®</sup>): results of a randomized comparative study in women undergoing assisted reproductive techniques. *Hum Reprod* 1997; 12: 2133 -2139.
112. Schats R, De Sutter P, Bassil S et al. Ovarian stimulation during assisted reproduction treatment: a comparison of recombinant and highly purified urinary human FSH. *Hum Reprod* 2000; 15: 1691-1697.
113. Jacob S, Drudy L, Conroy R, Harrison R F. Outcome from consecutive in-vitro fertilization / intracytoplasmic sperm injection attempts in the final group treated with urinary gonadotrophins and the first group treated with recombinant follicle stimulating hormone. *Hum Reprod* 1998; 13: 1783-1787.
114. Imthurn B, Macas E, Rosselli M, Keller P J. Nuclear maturity and oocyte morphology after stimulating hormone compared to human menopausal gonadotrophin. *Hum Reprod* 1996; 11: 2387-2391.
115. Huang F J, Lan K Ch, Kung F T et al. Human cumulus-free oocyte maturational profile and in vitro developmental potential after stimulation with recombinant versus urinary FSH. *Hum Reprod* 2004; 19: 306-315.
116. Van Blerkom J, Antczak M, Schrader R. The developmental potential of the human oocyte is related to the dissolved oxygen content of follicular fluid: association with vascular endothelial growth factor levels and perifollicular blood flow characteristics. *Hum Reprod* 1997; 12: 1047-1055.

117. Montag M, Schimming T, Van der Ven H. Spindle imaging in human oocytes: the impact of the meiotic cell cycle. *Reprod Biomed Online* 2006; 12: 442-446.
118. Alikani M, Palermo G, Adler A, Bertoli M, Blake M, Cohen J. Intracytoplasmic sperm injection in dysmorphic human oocytes. *Zygote* 1995; 3: 283-288.
119. Ebner T, Moser M, Sommergruber M, Tews G. Selection based on morphological assessment of oocytes and embryos at different stages of preimplantation development. *Hum Reprod Update* 2003; 9: 251-262.
120. Loutradis D, Drakakis P, Kallianidis K, Milingos S, Dendrinis S, Michalas S. Oocyte morphology correlates with embryo quality and pregnancy rate after intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 1999; 72: 240-244.
121. Van Blerkom J, Davis P W, Lee J. ATP content of human oocytes and developmental potential and outcome after in-vitro fertilization and embryo transfer. *Hum Reprod* 1995; 10: 415-424.
122. Eichenlaub-Ritter U, Schmiady H, Kentenich H, Soewarto D. Recurrent failure in polar body formation and premature chromosome condensation in oocytes from a human patient: indicators of asynchrony in nuclear and cytoplasmic maturation. *Hum Reprod* 1995; 10: 2343-2349.
123. Sathanathan H. Ultrastructure of the human egg. *Hum Cell* 1997; 10: 21-38.
124. Dandekar P, Aggeler J, Talbot P. Structure distribution and composition of the extracellular matrix of human oocytes and cumulus masses. *Hum Reprod* 1992; 7: 391-398.
125. Shen Y, Stalf T, Mehnert C, Eichenlaub-Ritter U, Tinneberg HR. High magnitude of light retardation by the zona pellucida is associated with conception cycles. *Hum Reprod* 2005; 20: 1596-1606.

126. Meriano J S, Alexis J, Visram-Zaver S, Cruz M, Casper R F. Tracking of oocyte dysmorphisms for ICSI patients may prove relevant to the outcome in subsequent patient cycles. *Hum Reprod* 2001; 16: 2118-2123.
127. Munne S, Alikani M, Tomkin G et al. Embryo morphology, developmental rates, and maternal age are correlated with chromosome abnormalities. *Fertil Steril* 1995; 64: 382-391.
128. Lim A S, Tsakok M F H. Age-related decline in fertility: a link to degenerative oocytes? *Fertil Steril* 1997; 68: 265-271.
129. Abdelmassih R, Sollia S, Moretto M, Acosta A A. Female age is an important parameter to predict treatment outcome in intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 1996; 65: 573-577.
130. Kornilov N V, Shlykova S A, Loginova J A, Tomas C, Ashorn R G. Comparison of four different gonadotropins for ovarian stimulation in IVF treatment. 11<sup>th</sup> World Congress on in Vitro Fertilization Human Reproductive Genetics. Monduzzi, Bologna 1999. 379-383.
131. Frydman R, Howles C M, Truong F. A double-blind, randomized study to compare recombinant human follicle stimulating hormone (FSH; Gonal-F<sup>®</sup>) with highly purified urinary FSH (Metrodin<sup>®</sup> HP) in women undergoing assisted reproductive techniques including intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 2000; 15: 520-525.
132. Harlin J, Aanesen A, Csemiczky G, Wramsby H, Fried G. Delivery rates following IVF treatment FSH preparations for ovarian stimulation. *Hum Reprod* 2002; 17: 304 - 309.
133. Tulppala M, Aho M, Vilkska S et al. Comparison of two recombinant follicle-stimulating hormone preparations in in-vitro fertilization: a randomized clinical study. *Hum Reprod* 1999; 14: 2709-2715.

134. Commenges-Ducos M, Piau St, Papaxanthos A, Ribes C, Dallay D, Commenges D. Recombinant follicle-stimulating hormone versus human menopausal gonadotropin in the late follicular phase during ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2002; 78: 1049 –1054.
135. Mikkelsen A L, Lindenberg S. Morphology of in-vitro matured Oocytes: impact on fertility potential and embryo quality. *Hum Reprod* 2001; 16: 1714-1718.
136. Wikland M, Bergh C, Borg K et al. A prospective, randomised comparison of two starting doses of recombinant FSH in combination with cetrorelix in women undergoing ovarian stimulation for IVF/ICSI. *Hum Reprod* 2001; 16: 1676-1681.
137. Al-Inany H, Aboulghar M. GnRH antagonists in assisted conception: a Cochrane Review. *Hum Reprod* 2002; 17: 874-885.
138. Ludwig M, Katalinic A, Diedrich K. Use of GnRH-antagonists in ovarian stimulation for ART compared to the long protocol: a meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet* 2001b; 265: 175-182.
139. Wilcox J, Potter D, Moore M, Ferrande L, Kelly E. CAP IV Investor Group. Prospective, randomized trial comparing cetrorelix acetate and ganirelix acetate in a programmed, flexible protocol for premature luteinizing hormone surge prevention in assisted reproductive technologies. *Fertil Steril* 2005; 84: 108-117.
140. Kolibianakis E M, Zikopoulos K, Schiettecatte J et al. Profound LH suppression after GnRH antagonist administration is associated with a significantly higher ongoing pregnancy rate in IVF. *Hum Reprod* 2004; 19: 2490-2496.
141. Crosignani P G, Ragni G, Parazzini F. Anthropometric indicators and response to gonadotropin for ovulation induction. *Hum Reprod* 1994; 9: 420-423.
142. Söderstrom-Antilla V, Foudila T, Hovatta O. A randomized comparative study of highly purified FSH and hMG for ovarian hyperstimulation in an oocyte donation programme. *Hum Reprod* 1996; 11: 1864-1870.

143. European und Israeli Group. Efficacy and safety of highly purified menotropin versus recombinant follicle-stimulating hormone in in-vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection cycles: a randomised, comparative trial. *Fertil Steril* 2002; 78: 520-528.
144. Serhal P, Phopong P, Ranieri DM. Comparison between human menopausal gonadotrophin and recombinant FSH for ovarian stimulation in patients undergoing in-vitro fertilization. *Hum Reprod Abstract Book* 2000; 15:112.
145. Ludwig M, Rabe T, Bühler K, Diedrich K, Felberbaum R. Wirksamkeit von rekombinantem humanem FSH im Vergleich zu urinärem hMG nach Downregulation im langen Protokoll – Eine Analyse von 24.764 ART-Zyklen in Deutschland. *J Reproduktionsmed Endokrinol* 2004; 1: 284-288.
146. Daya S, Gunby J. Recombinant versus urinary follicle stimulating hormone for ovarian stimulation in assisted reproduction. *Hum Reprod* 1999; 14: 2207-2215.
147. Ludwig M, Felberbaum R E, Diedrich K, Lunenfeld B. Ovarian stimulation: from basic science to clinical application. *RBM online* 2002; 5: 73-86.
148. Popovic-Todorovic B, Loft A, Lindhard A, Bangsboll S, Andersson A M, Nyboe Andersen A. A prospective study of predictive factors of ovarian response in “standard” IVF/ICSI patients treated with recombinant FSH. A suggestion for a recombinant FSH dosage normogram. *Hum Reprod* 2003; 18: 781-787.
149. Harrison S, Wolf T, Abuzeid M I. Administration of recombinant follicle stimulating hormone in a women with allergic reaction to menotropin: a case report. *Gynecol Endocrinol* 2000; 14: 149-152.
150. Battaglia C, Salvatori M, Regnani G et al. Allergic reaction to a highly purified urinary follicle stimulating hormone preparation in controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization. *Gynecol Endocrinol* 2000; 14: 158-161.
151. Fedorcsak P, Dale P O, Storeng R et al. Impact of overweight and underweight on assisted reproduction treatment. *Hum Reprod* 2004; 19: 2523-2528.

152. Grimbizis G, Vandervorst M, Camus M, Tournaye H, Van Steirteghem A, Devroey P. Intracytoplasmic sperm injection, results in women older than 39, according to age and the number of embryos replaced in selective or non selective transfers. *Hum Reprod* 1998; 13: 884-889
153. Engel J B, Ludwig M, Junge K, Howles C M, Diedrich K. No influence of body weight on pregnancy rate in patients treated with cetorelix according to single – and multiple-dose protocols. *Reprod Biomed Online* 2003; 6: 482-487.
154. Szamatowicz M, Grochowski D. Fertility and infertility in aging women. *Gynecol Endocrinol* 1998; 17: 407- 413.
155. Frydman R, Howles C M, Truong F for the French Multicentre Trialists. A double-blind, randomized study to compare recombinant human follicle stimulating hormone (FSH; Gonal-F<sup>®</sup>) with highly purified urinary FSH (Metrodin<sup>®</sup>- HP) in women undergoing assisted reproductive techniques including intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 2000; 15: 520-525.
156. Paz G, Amit A, Yavetz H. Case Report: Pregnancy outcome following ICSI of oocytes with abnormal cytoplasm and zona pellucida. *Hum Reprod* 2004; 19: 586-589.
157. Griesinger G, Felberbaum R, Diedrich K. GnRH antagonists in ovarian stimulation: a treatment regimen of clinicians`second choice? Data from the German national IVF registry. *Hum Reprod* 2005; 20: 2373-2375.
158. Check J, O`Shaughnessy A, Nazari A, Hoover L. Comparison of Efficacy of high-dose pure follicle-stimulating hormone versus human menopausal gonadotropins for in vitro fertilization. *Gynecol Obstet Invest* 1995; 40: 117-119.
159. Hillier S G. Current concepts of the roles of follicle stimulating hormone and luteinizing hormone in folliculogenesis. *Hum Reprod.* 1994; 9: 188-191.
160. Kolibianakis E, Bourgain C, Albano C et al. Effect of ovarian stimulation with recombinant follicle–stimulating hormone, gonadotropin releasing hormone antagonists,

and human chorionic gonadotropin on endometrial maturation on the day of oocyte pick up. *Fertil Steril* 2002; 78: 1025-1029.

161. Humaidan P, Bungum L, Bungum M, Anderson C Y. Ovarian response and pregnancy outcome related to mid-follicular LH-levels in women undergoing assisted reproduction with GnRH agonist down-regulation and recombinant FSH stimulation. *Hum Reprod* 2002; 17: 2016-2021.

162. Bosch E, Valencia I, Escudero E et al. Premature luteinization during gonadotropin-releasing hormone antagonist cycles and its relationship with in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril* 2003; 80: 1444-1449.

163. Haadsma M L, Bukman A, Groen H et al. The number of small antral follicles (2-6 mm) determines the outcome of endocrine ovarian reserve tests in a subfertile population. *Hum Reprod* 2007; 22: 1925-1931.

164. Fanchin R, Schönäuer L M, Righini C et al. Serum anti-Müllerian hormone is more strongly related to follicular status than serum inhibin B, estradiol, FSH and LH on day 3. *Hum Reprod* 2003; 18: 323-327.

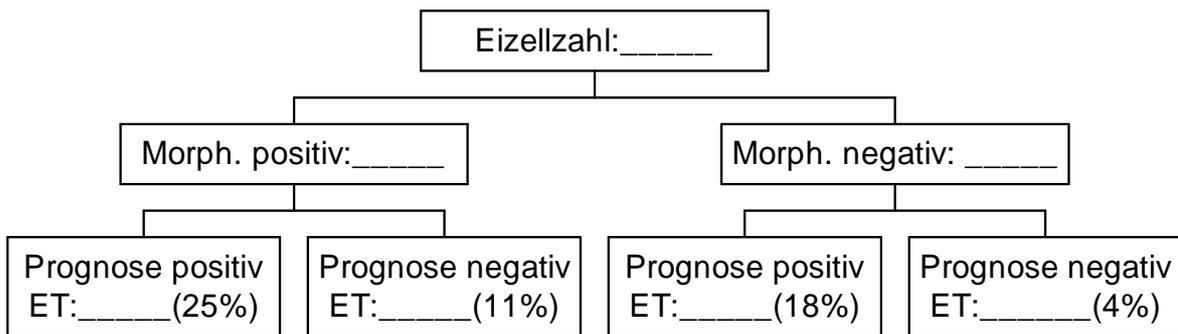
165. Deutsches IVF-Register; D.I.R. Jahrbuch 2004 Ärztekammer, Schleswig-Holstein

### Zu Hd. Dr. Bea Maxrath

### Information des Starts einer Patientin zur Erreichung einer Prospektivität der Studie

|                |  |
|----------------|--|
| Zentrum ID :   |  |
|                |  |
| Patienten ID : |  |

#### Eizell / Vorkernbeurteilung



Prognose:

SS-Rate:  %  
Bezogen auf 2 Embryonen

Implantationsrate:  %

Datum:

## 11 Lebenslauf

## 12 Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass

mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Charité bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir genutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Simone Winkler

Jena, den 28.09.2007