

**Aus der Klinik für Frauenheilkunde, Geburtshilfe und
Reproduktionsmedizin der Medizinischen Fakultät der
Universität des Saarlandes, Homburg/Saar**

**Vergleichende Untersuchung zwischen High und Low
Respondern bezüglich verschiedener Stimulationsprotokolle
und deren Einfluß auf das IVF/IVSI Ergebnis**

**Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der medizinischen Fakultät
der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES
2010**

**Vorgelegt von:
TIP Dr. (Techn. Univ. Karadeniz) Mustafa Deryal,
geb. am 27.02.1968 in Gülsehir, Türkei**

Inhaltsverzeichnis	Seite	
1.	Zusammenfassung	1
1.1.	Deutsche Zusammenfassung	1
1.2.	Summary	4
2.	Einleitung	7
2.1.	Definitionen	7
2.2.	Historische Entwicklung	9
2.3.	Epidemiologie der ungewollten Kinderlosigkeit	11
2.4.	Physiologie der Menstruationszyklus	12
2.4.1.	Regulation der Ovarialfunktion	12
2.4.1.1.	Hypothalamus-Hypophysen-Ovar-Achse	14
2.4.1.2.	Follikelreifung, Ovulation und Luteinisierung	15
2.4.1.3.	Zyklische Veränderungen des Endometriums	19
2.5.	Physiologische Grundlagen der assistierten Reproduktion	19
2.5.1.	Einfluss der Gonadotropine auf den physiologischen ovariellen Zyklus	20
2.6.	Philosophie der ovariellen Stimulation	21
2.6.1.	Kontrollierte ovarielle Hyperstimulation im Rahmen der assistierter Reproduktionsmedizin	23
2.6.1.1.	Kontrollierte ovarielle Hyperstimulation mit Gonadotropinen	26
2.6.1.1.1.	Die Rolle des LH im Rahmen der kontrollierten ovariellen Hyperstimulation - Kontrollierte ovarielle Hyperstimulation mit HMG	29
2.6.1.2.	Kontrollierte ovarielle Hyperstimulation mit Clomiphen Citrate (CC)	30
2.6.1.3.	Kontrollierte ovarielle Hyperstimulation mit GnRH –Agonisten (GnRHa)	32
2.6.1.4.	Kontrollierte ovarielle Hyperstimulation mit GnRH-Antagonisten	35
2.6.1.5.	Neue Methoden der Ovulationsinduktion	38
2.6.1.5.1.	Aromatasehemmer	38
2.6.1.5.2.	Aromatasehemmer plus Gonadotropine	38
2.7.	Adjuvante Therapien	39
2.7.1.	Vorbehandlung mit oralen Kontrazeptiva	39
2.7.2.	Östrogene	40
2.7.3.	Androgene	41
2.7.4.	Insulin sensitizierende Substanzen	41

2.7.5.	Growth Hormon	42
2.7.6.	Acetylsalicylsäure	42
2.8.	Poor Responder Patient	43
2.8.1	Kontrollierte ovarielle Hyperstimulation bei Low Responder Patienten	47
2.9.	High Responder Patient	48
2.9.1.	Überstimulationssyndrom	50
3.	Fragestellung	52
4.	Material und Methoden	53
4.1.	Patientinnen	53
4.2.	Kontrollierte ovarielle Hyperstimulation	53
4.3	Fertilisationsmethoden	54
4.3.1.	In vitro Fertilisation (IVF)	54
4.3.2.	Intrazytoplasmatische Spermieninjektion (ICSI)	55
4.3.3.	Lutealphasenunterstützung	55
4.3.4.	Schwangerschaftsnachweis	56
4.3.5.	Befruchtungsrate und Schwangerschaftsrate	56
4.3.6.	Statistische Auswertung	56
4.3.6.1	Signifikanzniveau	56
4.3.7.	Datenschutz und Ethikvotum	57
5.	Ergebnisse	58
5.1	Parameter des Gesamtkollektivs	58
5.1.1.	Altersverteilung im Gesamtkollektiv	58
5.1.2.	Zahl der gewonnenen Eizellen	59
5.1.3.	Zahl der fertilisierten Eizellen und die Fertilisationsrate	59
5.1.4.	Zahl der geteilten und transferierten Zellen	61
5.1.5.	Schwangerschaftsrate	62
5.2.	Zusammenhang zwischen Stimulationsprotokoll und IVF/ICSI Outcome in Normal Responder Gruppe	63
5.3.	Zusammenhang zwischen Stimulationsprotokoll und IVF/ICSI Outcome in Low Responder Gruppe	64
5.4.	Zusammenhang zwischen Stimulationsprotokoll und IVF/ICSI Outcome in High Responder Gruppe	66
5.5.	Vergleich der Ergebnisse zwischen Normal Responder und Poor Responder	68

5.6.	Vergleich der Ergebnisse zwischen High und Poor Responder	73
5.7.	Vergleich der Ergebnisse zwischen Normal und High Responder	77
6.	Diskussion	82
6.1.	Altersverteilung	82
6.2.	Zahl der gewonnenen Eizellen	83
6.3.	Zahl der fertilisierten Eizellen und Fertilisationsrate	84
6.4.	Zahl der geteilten und transferierten Eizellen	85
6.5.	Zusammenhang zwischen Stimulationsprotokoll und IVF/ICSI Outcome in der Normal Responder Gruppe	85
6.6.	Zusammenhang zwischen Stimulationsprotokoll und IVF/ICSI Outcome in der Low Responder Gruppe	88
6.7.	Zusammenhang zwischen Stimulationsprotokoll und IVF/ICSI In der High Responder Gruppe	91
6.8.	Schwangerschaftsrate	92
7.	Literaturverzeichnis	95
8.	Publikationen/Danksagung	119
8.1.	Publikationen	119
8.2.	Danksagung	120
9.	Lebenslauf	121

Abkürzungen

Abb.	Abbildung
AFC	„Antral follicle count“
AMH	„Anti-Müller Hormon“
ART	Assistierte reproduktionsmedizinische Techniken
BMI	Body-Mass-Index
CC	Clomiphen Citrate
COC	„Cumulus-oocyte-complex“
DHEAS	Dehydroepiandrosteron
DIR	Deutsches IVF Register
EGF	Epidermaler Wachstumsfaktor
ET	Embryotransfer
FP	Follikelpunktionstag
FSH	Follikel Stimulierendes Hormon
GnRH	Gonadotropin Releasing Hormon
GnRH-a	Gonadotropin Releasing Hormon – Agonist
hCG	humanes Choriongonadotropin
HMG	Humanes Menopausengonadotropin
ICSI	Intrazytoplasmatische Spermieninjektion
IE	Internationale Einheiten
IGF-I	Insulin-like-Growth-Factor I
IVF	In-Vitro-Fertilisation
LH	Luteinisierendes Hormon
Kap.	Kapitel
mg	Milligramm
ml	Milliliter
n	Anzahl
NS	nicht signifikant
n.a.	nicht ausgewertet
n.d.	nicht durchgeführt
n.n.	nicht nachweisbar
OHSS	ovarielles Hyperstimulationssyndrom
PCO	polyzystische Ovarien

PCOS	Polyzystisches Ovar Syndrom
rFSH	rekombinantes follikelstimulierendes Hormon
rLH	rekombinantes luteinisierendes Hormon
uFSH	urinäres follikelstimulierendes Hormon
SET	Single-Embryo-Transfer
SHBG	Sexualhormon bindendes Globulin
SSW	Schwangerschaftswoche
Tab.	Tabelle
VEGF	Vasoendothelial-Growth-Factor
WHO	Weltgesundheitsorganisation
X	Mittelwert
Z.n.	Zustand nach
ZT	Zyklustag

1. Zusammenfassung

1.1. Deutsche Zusammenfassung

Die Verschiebung der reproduktiven Phase in ein höheres Lebensalter der Paare ist aufgrund der „nachlassenden Fertilität“ mit zunehmendem Alter in industrialisierten Ländern wie Deutschland der häufigste Grund für ungewollte Kinderlosigkeit.

In der Literatur existiert keine einheitliche Definition des schlechten Ansprechens auf die ovarielle Gonadotropinstimulation. Es gibt viele verschiedene Ansätze zur Verbesserung der ovariellen Ansprechrate. Jedoch fehlen immer noch große randomisierte Studien, die das optimale Management für diese recht schwierig zu behandelnde Patientinnen definieren.

In der vorliegenden Arbeit werden primär die ovariellen Ursachen für eine ungewollte Kinderlosigkeit und das therapeutische Vorgehen untersucht.

Ziel dieser Arbeit ist die Untersuchung der Auswirkung verschiedener Stimulationsprotokolle auf das ovarielle Ansprechen und auf die Ergebnisse assistierter Reproduktionsmedizin.

Hierzu haben wir die Daten der IVF- und ICSI-Behandlungen der Kinderwunschprechstunde der Frauenklinik der Universität des Saarlandes der Jahre 1998 bis 2006 ausgewertet. Im Rahmen dieser Untersuchung analysierten wir insgesamt 1870 Stimulationszyklen.

Es wurden zunächst die Patientinnen mit unerfülltem Kinderwunsch, je nach Ansprechen auf die ovarielle Stimulation, in 3 Gruppen (Low Responder, Normal Responder und High Responder) unterteilt. Die Patientinnen mit ≤ 5 gewonnenen Eizellen wurden der Low Responder-Gruppe zugeteilt, während die Patientinnen mit $>5-12$ gewonnenen Eizellen als Normal Responder betrachtet wurden. Die Patientinnen mit mehr als 12 gewonnenen Eizellen bildete die Gruppe der High Responder. Darüber hinaus wurden die Patientinnen im Hinblick auf das Alter, Zahl der gewonnenen Eizellen, Zahl der fertilisierten und der transferierten Zellen ausführlich analysiert und die Ergebnisse der Gruppen miteinander verglichen. Anschließend wurden die Gruppen bezüglich der Anzahl der punktierten Follikel und der gewonnenen Eizellen, die Zahl der fertilisierten Eizellen, die Fertilisationsrate sowie die Zahl der geteilten und transferierten Zellen, abhängig vom eingesetzten Stimulationsprotokoll erfasst.

Außerdem erfolgte eine Analyse im Hinblick auf die Qualität der punktierten Follikel und gewonnenen Eizellen sowie die resultierenden Schwangerschaftsraten zwischen allen drei Gruppen.

Es zeigten sich in Bezug auf das Alter signifikante Unterschiede zwischen Normal Responder ($38,8 \pm 5,1$) und Low Responder ($39,9 \pm 4,8$) sowie zwischen Low und High Responder ($p=0,000$). Im Gegensatz dazu bestand kein signifikanter Unterschied in Bezug auf das Alter zwischen Normal und High Responder ($p=0,72$). In der Normal Responder Gruppe wurden durchschnittlich $8,7 \pm 2,0$ und in der Low Responder Gruppe nur $3,5 \pm 1,3$ Eizellen gewonnen. Die durchschnittliche Zahl der gewonnenen Eizellen war in der High Responder Gruppe mit $17,1 \pm 4,2$ fast 5 mal höher als in der Low Responder Gruppe. Der Unterschied war somit zwischen allen Gruppen hoch signifikant ($p=0,000$). Weiterhin gab es hinsichtlich der fertilisierten Eizellen zwischen der Normal Responder Gruppe ($4,5 \pm 2,5$), Low Responder Gruppe ($2,0 \pm 1,3$) und der High Responder Gruppe ($8,2 \pm 4,8$) hoch signifikante Unterschiede ($p=0,000$). Darüber hinaus war die Fertilisationsrate mit $57,8 \pm 34,0$ % in der Low Responder Gruppe am höchsten, gefolgt von $51,1 \pm 26,6$ % in der Normal Responder Gruppe und $48,1 \pm 25,9$ % in der High Responder-Gruppe. Bei getrennter Betrachtung zeigte sich ein hoch signifikanter Unterschied jeweils zwischen der High und Low und zwischen Normal und Low Responder Gruppe ($p=0,000$). Keine signifikanten Unterschiede zeigten sich wiederum zwischen der Low und Normal Responder Gruppe ($p=0,074$). In der Low Responder Gruppe konnten weniger Eizellen gewonnen werden als in den beiden anderen Gruppen, dennoch war die Fertilisationsrate in dieser Gruppe mit $57,8$ % am höchsten. Die Zahl der geteilten und transferierten Zellen betrug in der Normal Responder Gruppe $2,2 \pm 0,9$; in der Low Responder Gruppe $1,7 \pm 0,9$ und in der High Responder Gruppe $1,9 \pm 1,0$. Bei dem paarweise durchgeführten Vergleich aller Gruppen lässt sich deutlich erkennen, dass im Hinblick auf die Zahl der geteilten und transferierten Zellen in allen Konstellationen ein hoch signifikanter Unterschied vorliegt ($p=0,000$).

Wie schon bereits angeführt, wurden die oben genannten Parameter abhängig vom eingesetzten Stimulationsprotokoll erfasst. Unter Verwendung des Stimulationsprotokolls 1 (hMG + Urofollitropin) wurden in der Normal Responder Gruppe mit $8,2 \pm 1,8$ deutlich weniger Eizellen gewonnen. Im Gegensatz dazu betrug die Zahl der gewonnenen Eizellen in der Normal Responder Gruppe unter Verwendung des Stimulationsprotokolls 2 (rFSH-Mono) $9,1 \pm 2,0$ und war damit am höchsten. Interessanterweise war die Zahl der fertilisierten Eizellen und damit als Schlussfolgerung die Fertilisationsrate in der Stimulationsgruppe 2 mit $2,9 \pm 1,8$ bzw. $32,6 \pm 22,9$ % am niedrigsten. Unter keinem der angewendeten 5 Stimulationsprotokolle ließen sich eindeutige Zusammenhänge im Hinblick

auf die Zahl der geteilten und transferierten Eizellen aufzeigen.

Die Analyse der low Responder Gruppe zeigte, dass die Zahl der gewonnenen Eizellen unter Verwendung des Stimulationsprotokolls 0 (hMG) mit $3,0 \pm 1,4$ im Vergleich zu anderen Protokollen deutlich niedriger war. Dies gilt auch für die Zahl der fertilisierten ($1,7 \pm 1,1$) und geteilten und transferierten ($1,5 \pm 0,9$) Eizellen. Im Gegensatz dazu konnten bei Low Responder Patientinnen die besten Resultate im Hinblick auf die Zahl der gewonnenen ($3,7 \pm 1,3$), fertilisierten ($2,1 \pm 1,4$), geteilten und transferierten Eizellen ($1,7 \pm 1,0$) mit dem Protokoll 3 (rFSH + hMG) erzielt werden. Bemerkenswert ist die höchste Fertilisationsrate in der Stimulationsgruppe 0 ($61,2 \pm 33,7 \%$), obwohl die Zahl der gewonnenen, fertilisierten, geteilten und transferierten Eizellen im Vergleich zu den anderen Gruppen deutlich schlechter war. Zusammenfassend lässt sich für die Low Responder Gruppe sagen, dass mit dem Stimulationsprotokoll 3 (rFSH + hMG) die besten Resultate erzielt werden konnten.

In der Analyse der High Responder Gruppe erkennt man, dass unter Verwendung des Stimulationsprotokolls 1 (hMG + Urofollitropin) die Zahl der gewonnenen Eizellen mit $16,2 \pm 3,9$ und die Zahl der fertilisierten Eizellen mit $6,5 \pm 3,6$ sowie die Fertilisationsrate mit $40,6 \pm 22,2 \%$ im Vergleich zu anderen Protokollen etwas niedriger war. Unter Verwendung des Stimulationsprotokolls 2 (rFSH-Mono) war nicht nur die Zahl der gewonnenen Eizellen mit $19,0 \pm 6,3$ am höchsten, sondern auch die Zahl der geteilten und transferierten Eizellen deutlich höher.

Die Normal Responder Gruppe (n=924) verzeichnete eine Schwangerschaftsrate von 24,7%. Im Gegensatz dazu war die Schwangerschaftsrate in der Low Responder Gruppe nur 19,9 %. Dieser Unterschied war signifikant ($p=0,031$). Die Schwangerschaftsrate war in der High Responder Gruppe 22,0 %. Vergleicht man die High Responder mit der Low Responder Gruppe sind die Unterschiede im Hinblick auf die Schwangerschaftsrate nicht signifikant ($p=0,236$). Ebenso nicht signifikant ist der Unterschied bezüglich der Schwangerschaftsrate zwischen der Normal Responder und High Responder Gruppe ($p=0,169$).

In den vorliegenden Untersuchungen konnte festgestellt werden, dass eine mögliche praktische Umsetzung dieser Kenntnisse darin bestehen könnte, zukünftig bei Low Responder Patientinnen zur ovariellen Stimulation nur rekombinantes follikelstimulierendes Hormon (rFSH) in Kombination mit rekombinantem luteinisierten Hormon (rLH) oder humanem Menotropin zu verwenden. Bei High und Normal Respondern führte das rFSH-Mono zu den besten Resultaten.

1.2. Summary

In industrialised countries such as Germany, the postponement of the reproductive phase to an older age is the main reason for couples remaining involuntarily childless due to “decreasing fertility”.

In the literature no common definition can be found concerning the bad response rate to the ovarian gonadotropin stimulation. There are many different approaches for an improvement of the ovarian response rate. But randomised studies are still missing that could define the optimal treatment procedure for these women.

In the present paper on modern reproduction medicine which seems increasingly getting more complex, primarily the ovarian causes for an involuntarily childlessness and the therapeutic procedure will be examined.

The aim of this study is the examination concerning the consequences of different stimulations protocols on the ovarian responder rate and on the results of assisted reproduction medicine.

To achieve this aim, we evaluated the data raised from the IVF and ICSI treatments obtained by women with the wish for a baby who were consulting the surgery hours of the gynaecology department of the University of the Saarland during 1998 and 2006.

In the context of this examination a total of 1870 stimulation cycles were analysed.

At first, female patients remaining childless were divided into three groups depending on the response to an ovarian stimulation (low responder, normal responder, high responder). Female patients with gained egg cells equal to or less than 5 were allocated to the low responder group while female patients with gained egg cells more than 5 to 12 were regarded as normal responders. Female patients with more than 12 gained egg cells were assigned to the high responder group. In addition, the cohort was analysed in detail with respect to age, number of gained egg cells, number of fertilized and transferred cells. The results of all groups were compared with each other. Afterwards the results of the groups were documented concerning number of punctured follicles and gained egg cells, number of fertilized egg cells, rate of fertilization as well as number of divided and transferred egg cells, depending on the relevant stimulation protocols used.

Moreover, an analysis concerning the quality of the punctured follicles and gained egg cells as well as the resulting pregnancy rates among the three groups was performed.

Highly significant differences could be found concerning the age between normal responders

($38,8 \pm 5,1$) and low responders ($39,9 \pm 4,8$) and between low and high responders ($p=0,000$). In contrast to this result, there was no significant difference concerning the age of normal and high responders ($p=0,72$). In the group of normal responders an average of $8,7 \pm 2,0$ eggs were gained and in the group of the lower responders only $3,5 \pm 1,3$ eggs. The average number of gained eggs in the high responder group was $17,1 \pm 4,2$ and therefore approximately 5 times higher than in the low responder group. Thus, the difference among the groups was highly significant ($p=0,000$). In addition, there were highly significant differences ($p=0,000$) concerning the fertilized egg cells between the normal responder group ($45, \pm 2,5$), the low responder group ($2,0 \pm 1,3$) and the high responder group ($8,2 \pm 4,8$). Moreover the fertilization rate was highest with $57,8 \pm 34,0$ % in the low responder group, followed by $51,1 \pm 26,6$ % in the normal responder group and $48,1 \pm 25,9$ % in the high responder group. Separately seen, there was a highly significant difference between the high and normal and the normal and low responder groups ($p=0,000$). No significant differences could be found between the low and normal responder groups ($p=0,074$). In the low responder group fewer egg cells could be gained than in the two other groups, nevertheless the fertilization rate was the highest in these groups ($57,8 \pm 34,8$ %). The number of divided and transferred egg cells was $2,2 \pm 0,9$ for the normal responder group, $1,7 \pm 0,9$ for the low responder group and $1,9 \pm 1,0$ for the high responder group. When compared in pairs, there was a highly significant difference in all three groups concerning the number of divided and transferred cells for all constellations ($p=0,000$).

Like already mentioned above, the parameters were documented according to the used stimulation protocol.

When using the stimulation protocol 1 (hMG and urofollitropin) clearly fewer egg cells were gained in the normal responder group ($8,2 \pm 1,8$). In contrast to this, when using the stimulation protocol 2 (rFSH-mono) the number of gained egg cells was $9,1 \pm 2,0$ in the normal group and therefore the highest number. Interestingly, the number of fertilized egg cells and consequently the fertilization rate in the stimulation group 2 was the lowest ($2,9 \pm 1,8$ respectively $32,6 \pm 22,9$ %).

No clear connections concerning the number of divided and transferred egg cells could be shown among all five stimulation. The analysis of the low responder group revealed a much lower number of gained egg cells when using the stimulation protocol 0 (hMG) ($3,0 \pm 1,4$) compared to the other protocols. The same applies to the number of fertilized and divided and transferred egg cells ($1,5 \pm 0,9$). In contrast to it, the best results could be gained in the low

responder group concerning the number of gained ($3,7 \pm 1,3$), fertilised ($2,1 \pm 1,4$), divided and transferred egg cells ($1,7 \pm 1,0$) when using the protocol 3 (rFSH and hMG). It is quite remarkable that the fertilisation rate was the highest in the stimulation group 0 ($61,2 \pm 33,7$) although the number of gained, fertilized, divided and transferred egg cells were clearly lower than compared to the other groups. To sum up, it could be said for the low responder group that the best results were obtained when using the stimulation protocol 3 (rFSH and hMG). The analysis of the high responder groups showed that when using the stimulation protocol 1 (hMG and urofollitropin) the number of the gained egg cells ($16,2 + 3,9$) and the number of the fertilized egg cells ($6,5 + 3,6$) as well as the fertilization rate ($40,6 + 22,2$ %) was slightly lower compared to the other protocols. When using the stimulation protocol 2 (rFSH-mono) not only the number of gained egg cells was the highest ($19,0 + 6,3$) but also the number of the divided and transferred egg cells was clearly higher.

In the normal responder group ($n = 923$) there was a pregnancy rate of 24,7 %. In contrast to this, the pregnancy rate of the low responder group was only 19,9 %. This difference was significant ($p = 0,031$).

The pregnancy rate in the high responder group was 22,0 %. In comparison of the high responder group to the low responder group, the differences concerning the pregnancy rate are not significant ($p = 0,236$). Equally, the difference concerning the pregnancy rate between the normal responder group and the high responder group was not significant ($p = 0,169$).

The present study showed that a potential realisation of these findings into practice could consist in only using recombinant follicle stimulating hormone (rFSH) in combination with recombinant luteinized hormone (rLH) or humane menotropin in female patients of the low responder group to reach the best results. In the high and normal responder groups, the rFSH-mono lead to the best results.

2. Einleitung

2.1. Definitionen

Sterilität:

Ausbleiben der Konzeption trotz bestehenden Kinderwunsches und regelmäßigem ungeschützten Geschlechtsverkehrs innerhalb eines Jahres.

Infertilität:

Unfähigkeit, eine Schwangerschaft bis zur Geburt eines lebensfähigen Kindes auszutragen (primär, sekundär).

Subfertilität:

Gesundheitliche Veränderung, die lediglich zur Verminderung der Fertilität führt.

Hormonstimulation und Insemination:

Durch Hormonstimulation wird bei der Frau ein Eisprung ausgelöst und das aufbereitete Sperma des Mannes in einer Kappe vor die Portio der Frau gelegt oder direkt in den Portiokanal, den Uterus oder die Tuben eingebracht.

IVF-In-Vitro-Fertilisation:

Aus dem Ovar werden reife Eizellen entnommen und außerhalb des Körpers mit dem aufbereiteten Sperma des Mannes zusammengebracht. Erfolgt eine Befruchtung und Zellteilung werden maximal drei Eizellen zurück in den Uterus der Frau transferiert.

ICSI- Intrazytoplasmatische Spermieninjektion:

Reife Eizellen werden nach Hormonstimulation aus dem Ovar entnommen. Ein Spermium wird dann mit einer Injektionspipette in die Eizelle injiziert. Nach der Zellteilung werden maximal drei Eizellen in den Uterus zurückgegeben.

GIFT-Gamete intrafallopian Transfer:

Gemeinsames Einbringen von Eizellen und Spermien in den Eileiter

Embryotransfer:

Das Einbringen von befruchteten, geteilten Eizellen in die Gebärmutter

In Vitro Maturation unreifer Eizellen :

Unreife Eizellen werden in einem speziellen Kulturmedium bis zur Ausreifung (Metaphase II) kultiviert.

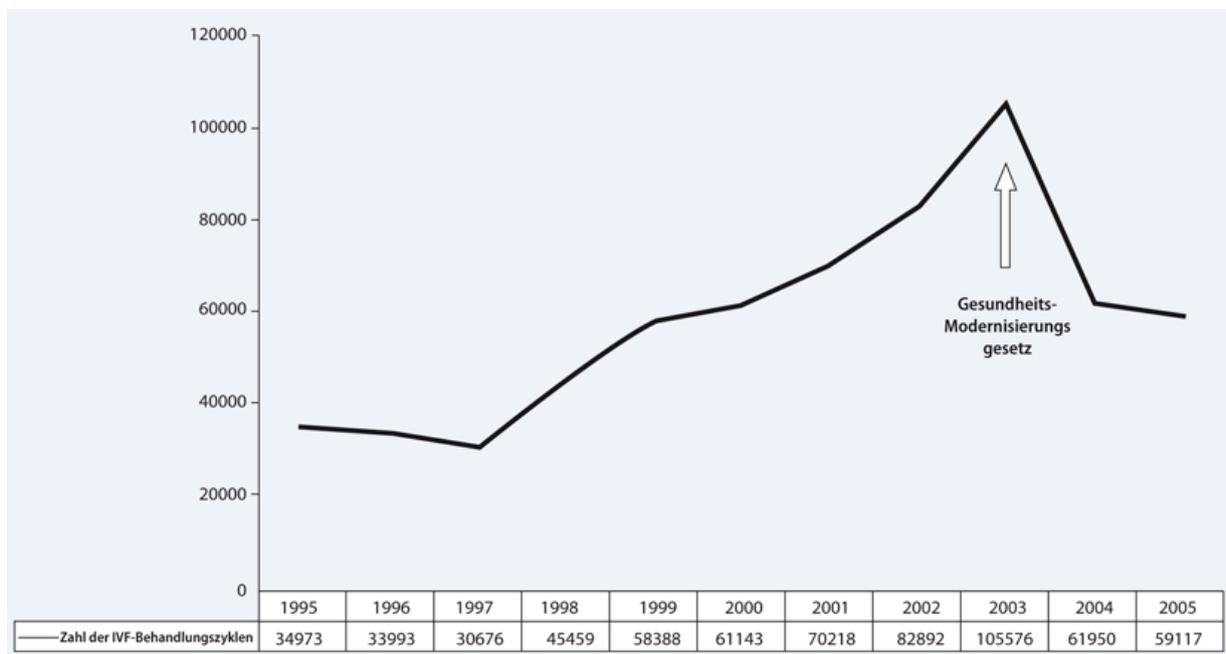
Kryokonservierung:

Das Einfrieren und Lagern von Zellen bei niedrigen Temperaturen in flüssigem Stickstoff.

2.2. Historische Entwicklung

Nach der ersten Publikation der Ergebnisse durch Clomifen für Ovulationsinduktion von Greenblatt et al. im Jahre 1961 entwickelte sich dieses Medikament weltweit zur meist eingesetzten Substanz weltweit für diese Indikation.

Das erste durch künstliche Befruchtung gezeugte Kind kam am 25.07.1978 im englischen Oldham zur Welt. Nach diesem Erfolg setzte die Reproduktionsmedizin ihre Entwicklung mit einem rasanten Tempo ihre Entwicklung fort. Bis 2006 wurden weltweit mehr als 3 Millionen Kinder durch die assistierte Reproduktion gezeugt.



Graphik 2-1: Anzahl der IVF-Behandlungszyklen in Deutschland (Quelle: Griesinger G 2009, Der Gynäkologe 42: 488, Springer Verlag)

Das erste durch künstliche Befruchtung gezeugte Kind in Deutschland kam 1980 in Erlangen zur Welt. Die Graphik 2-1 zeigt die historische Entwicklung der IVF-Behandlungszyklen in Deutschland.

Die Gonadotropine spielen in der Reproduktionsmedizin eine essentielle Rolle. Zunächst wurden die Gonadotropine aus humanem menopausalen Urin (humanes Menopausengonadotropin, hMG) gewonnen. Nach der Entwicklung der Immunoaffinitätschromatographie konnte das humane Menopausengonadotropin

hochgereinigt werden (highly purified, HP). Erst durch dieses Verfahren wurden die Entfernung der Fremdeiweiße und das ursprünglich vorhandene luteinisierende Hormon möglich geworden.

Die nächste bahnbrechende Entwicklung war die Herstellung des biotechnologisch hergestellten FSH (Rekombinantes FSH) im Jahre 1995 nach der Strukturaufklärung des menschlichen FSH. Durch diese Entwicklung konnte zum einen das Infektionsrisiko und Allergierisiko reduziert werden, zum anderen billiger und reichlich produziert werden.

Einen weiteren Meilenstein in der Entwicklung der IVF-Technik stellt die Einführung der ICSI (intrazytoplasmatische Spermieninjektion) im Jahre 1993 dar.

Die Forschung konzentriert sich heute auf die Reduktion der Mehrlingsschwangerschaften.

Nach dem deutschen Embryonen Schutz Gesetz und den Richtlinien der Bundesärztekammer ist weitere Kultivierung von mehr als drei Eizellen zu Embryonen nicht erlaubt.

2.3. Epidemiologie der ungewollten Kinderlosigkeit

Wissenschaftliche Schätzungen gehen davon aus, dass ca. 15 % aller Paare in Deutschland ungewollt kinderlos sind. Definitionsgemäß handelt es sich um ungewollte Kinderlosigkeit, wenn bei regelmäßigem ungeschütztem Verkehr über 1 Jahr, der Kinderwunsch sich nicht erfüllen lässt. Die Ursachen dafür sind vielfältig. Die Verantwortung des Mannes bei der ungewollten Kinderlosigkeit des Paares wurde für lange Zeit ignoriert. Neuere Untersuchungen belegen, dass die Ursache bis zu 40 % beim Mann liegt.

Die Tabelle 2-1 zeigt die Indikationsverteilung für IVF und ICSI 2008 in Deutschland.

Die Verschiebung der reproduktiven Phase in ein höheres Lebensalter der Paare ist in industrialisierten Länder wie Deutschland der häufigste Grund für eine ungewollte Kinderlosigkeit, wobei entzündliche Adnexerkrankungen und Endometriose ebenfalls eine große Rolle spielen. Das Diagramm 2-1 zeigt den Prozentsatz der Ursachen unterteilt in primäre und sekundäre Sterilität.

Tabelle 2-1: Indikationsverteilung IVF und ICSI 2008 in Deutschland (Quelle: Deutsches IVF-Register, Jahresbericht 2008)

		Indikationsverteilung IVF und ICSI 2008										
IVF	Frau Indikation	Indikation Mann	Normal	%	ingeschr. Spermiogr.	%	Sonstige**	%	Summe	%		
			Normal	1.085	11,19	825	8,51	248	2,56	2.158	22,25	
		Tubenpathologie	2.137	22,03	950	9,79	305	3,14	3.392	34,97		
		Endometriose	512	5,28	268	2,76	83	0,86	863	8,90		
		Hyperandrog./PCO	210	2,17	167	1,72	51	0,53	428	4,41		
		pathologischer Zyklus	351	3,62	285	2,94	67	0,69	703	7,25		
		psychogene Faktoren	3	0,03	4	0,04	3	0,03	10	0,10		
		Sonstige*	565	5,83	624	6,43	493	5,08	1.682	17,34		
		Keine Angaben	23	0,24	25	0,26	415	4,28	463	4,77		
		Summe	4.886	50,38	3.148	32,46	1.665	17,17	9.699	100,00		
ICSI	Frau Indikation	Indikation Mann	Normal	%	ingeschr. Spermiogr.	%	Azoo- spermie	%	Sonstige**	%	Summe	%
		Normal	803	2,69	11.136	37,24	696	2,33	901	3,01	13.536	45,26
		Tubenpathologie	749	2,50	2.094	7,00	32	0,11	209	0,70	3.084	10,31
		Endometriose	284	0,95	1.258	4,21	44	0,15	117	0,39	1.703	5,69
		Hyperandrog./PCO	176	0,59	1.197	4,00	54	0,18	128	0,43	1.555	5,20
		pathologischer Zyklus	144	0,48	1.699	5,68	71	0,24	136	0,45	2.050	6,85
		psychogene Faktoren	2	0,01	22	0,07	1	0,00	3	0,01	28	0,09
		Sonstige*	452	1,51	4.465	14,93	141	0,47	1.053	3,52	6.111	20,43
		Keine Angaben	11	0,04	168	0,56	11	0,04	1.649	5,51	1.839	6,15
		Summe	2621	8,76	22.039	73,69	1.050	3,51	4.196	14,03	29.906	100,00

*) Hier sind auch die Indikationen "Spermien-Antikörper" und "Path. Zervixfaktor" eingeschlossen
 **) Hier ist auch die Indikation "Path. Funktionstest" eingeschlossen

Es wurden nur prospektiv erfasste Daten verwendet.

Verteilung spezifischer Ursachen der Sterilität
 Angaben in Prozent
 Quelle: Templeton

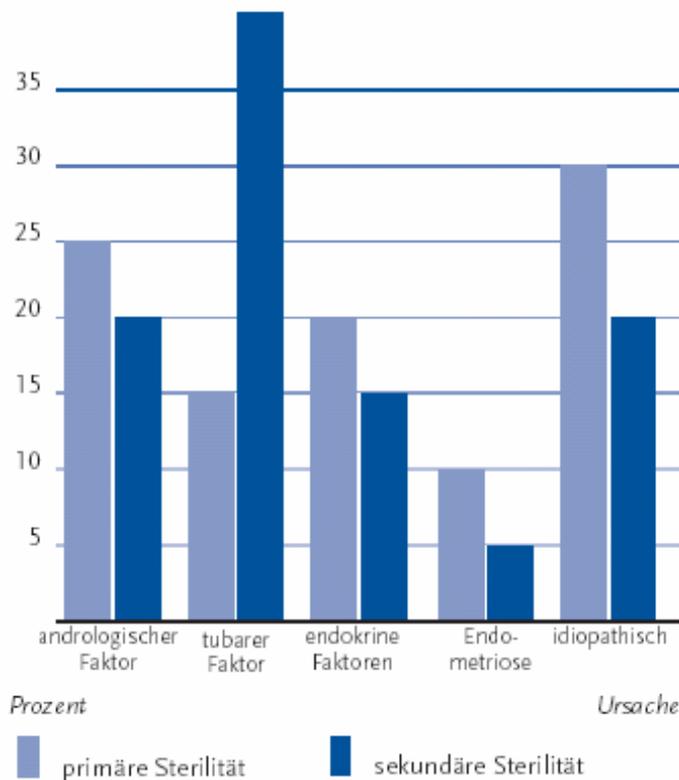


Diagramm 2-1: Prozentuale Verteilung spezifischer Ursachen für primäre und sekundäre Sterilität (Quelle: Strauß B et al. 2004, Gesundheitsberichterstattung des Bundes Heft 20)

2.4. Physiologie des Menstruationszyklus

2.4.1. Regulation der Ovarialfunktion

Die Ovarien sind paarig angelegt und bestehen aus Cortex Ovarii und Medulla Ovarii. Im fünften Embryonalmonat sind im Ovar etwa 6 Millionen Oozyten vorhanden. Bis zur Geburt sinkt die Zahl der Oozyten durch Atresie wieder auf eine Million. Die Verringerung der Keimzellzahl setzt sich fort bis zur Menarche. Zum Zeitpunkt der Menarche sind im Ovar noch etwa 300 000 Oozyten bzw. Primordialfollikel vorhanden. Die Abbildung 2-1 zeigt die Altersabhängigkeit der Oozytenzahl im Ovar. Die Primordialfollikel sind überwiegend im Stroma der Cortex Ovarii lokalisiert. Die Trennung erfolgt durch eine dünne Basalmembran vom übrigen ovariellen Stroma. Die Primordialfollikel sind durch ihre einlängige, dünne Epithelzellenschicht charakterisiert.

Einige von Ihnen können sich unter dem Einfluss der Geschlechtshormone zum primär-, sekundär-, tertiär bzw. Graafschen Follikel weiterentwickeln. (Abbildung 2-2)

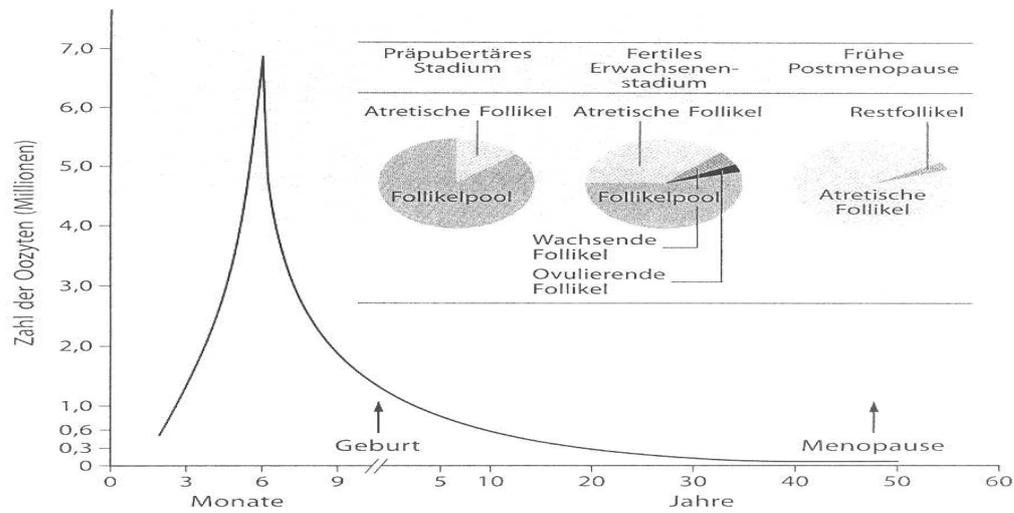


Abbildung 2-1: Altersabhängigkeit der Oozytenzahl im Ovar (Quelle: Leidenberger FA 2002, Klinische Endokrinologie für Frauenärzte, 2. Auflage, Springer Verlag)

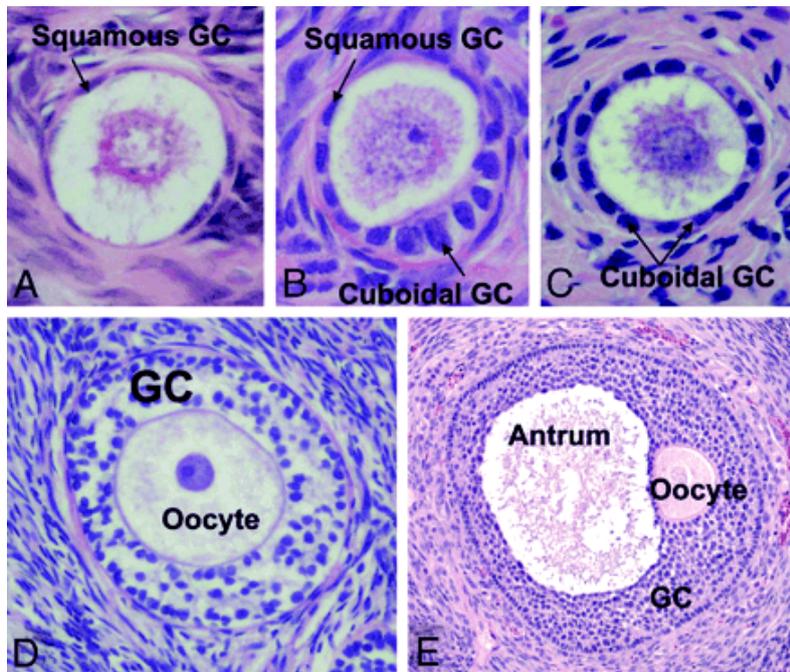


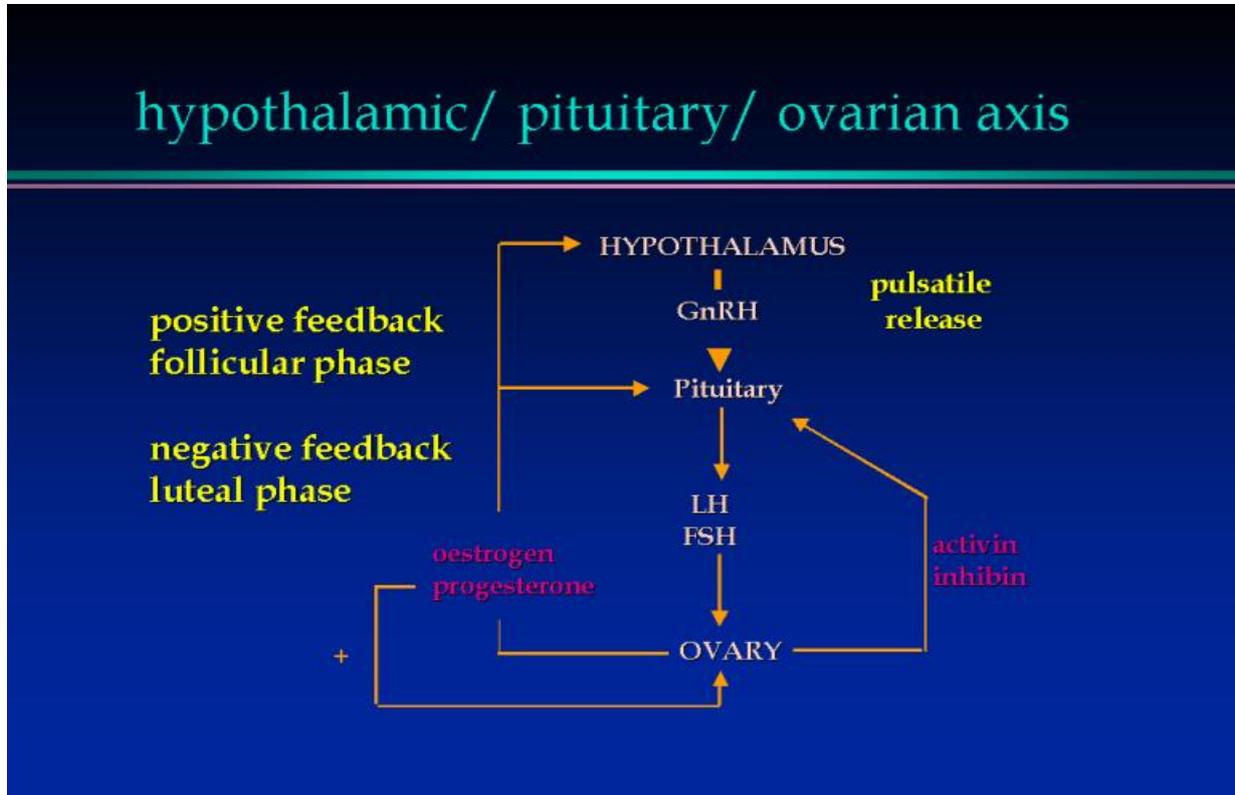
Abbildung 2-2: Darstellung der Follikeltypen: A: Primordialfollikel B: transitional primär Follikel C: klasik primär Follikel D: sekundär Follikel, E: Graafscher Follikel, GC: Granulosa Zellen (Quelle: Machiel G et al. (2004) The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 89; 11:5321-5327)

2.4.1.1. Hypothalamus-Hypophysen-Ovar-Achse

1929, also vor mehr als 80 Jahren, konnte B. Zondek die Steuerung der Hypophysen-Ovar-Uterus-Achse zeigen. Vor mehr als 100 Jahren gelang es S. J. Crowe, H. W. Cushing und J. Homans darzulegen, dass eine partielle Hypophysenentfernung bei erwachsenen Hunden zu einer Atrophie der Genitalorgane bei Welpen führt.

Bei der Hypothalamus-Hypophysen-Ovar-Achse handelt es sich um einen komplexen Regelkreis, der sich nach einer präpubertären Ruhephase langsam entwickelt (Grumbach MM 2002). Für die pubertäre sexuelle Reife müssen alle diese Organe ausnahmslos aufeinander abgestimmt funktionieren. Die neurosekretorischen Zellen des Hypothalamus produzieren durch verschiedene positive und negative Feedbackmechanismen.

Der Hypophysenvorderlappen bildet die Schaltstation zwischen Hypothalamus und Ovar. GnRH stimuliert die Freisetzung des FSH in der Adenohypophyse und diese wiederum binden überwiegend an den Rezeptoren des Ovars und regulieren die Steroidproduktion sowie die Eireifung. Die Graphik 2-2 zeigt die schematische Darstellung der Hypothalamus-Hypophysen-Ovar-Achse.



Graphik 2-2: Schematische Darstellung des Hypothalamus-Hypophysen-Ovar-Achse (Quelle: De Groot LJ and Jameson JL (2006) Endocrinology, Fifth Edition, Elsevier Saunders)

2.4.1.2. Follikelreifung, Ovulation und Luteinisierung

Die Oogenese bei Säugetieren geht synchron mit der Follikulogenese einher und erfolgt in den Ovarien in einem streng koordinierten Ablauf. Die Oozytenkompetenz wird während dieser Follikelreifung erworben und beruht auf einem abgestimmten Prozess der somatischen Zellproliferation und Differenzierung mit dem Wachstum und der Reifung der Oozyte. Die Bedeutung der somatischen Zellen für die Reifung der Oozyte und die Erkenntnis, dass die Granulosazellen mit der Oozyte über verschiedene Faktoren kommunizieren, ist schon früh erkannt und in verschiedenen Übersichtsartikeln beschrieben worden (Eppig JJ 2001 und Matzuk MM et al. 2002), aber dass die als sonst ‚ruhend‘ bezeichnete Oozyte umgekehrt die Differenzierung der Granulosazellen bestimmt, wurde erst durch die Etablierung von Mausmodellen deutlich. Parakrine Interaktionen zwischen der Oozyte und den umgebenden Granulosazellen sind die kritischen Faktoren, die diese Koordination über verschiedene Zellen und molekularbiologische Mediatoren leisten.

Um im gynäkologischen Alltag die Oozytenkompetenz durch zuverlässige molokulare Marker einschätzen und bewerten zu können, müssen die Schlüsselmoleküle und die Signalwege zwischen der Oozyte und den Kumuluszellen klar definiert werden. Letztendlich werden diese zu einer erhöhten Effizienz und auch zu einem besseren Schwangerschaftserfolg in der fötalen und kindlichen Gesundheit, wie z.B. zu einer reduzierten perinatalen Mortalität und zu reduzierten fötalen Komplikationen führen.

PARAKRINE KOMMUNIKATION ZWISCHEN OOZYTE UND SOMATISCHEN ZELLEN

Für die Untersuchung der Faktoren, die die Oozytenkompetenz beeinflussen, stehen derzeit weitgehend nur Tiermodelle zur Verfügung. Genetisch manipulierte Mäuse mit induzierten Gendefekten sowohl in der Oozyte als auch in den Granulosazellen zeigen, dass die Oozytenkompetenz während des Oozytenwachstums kontinuierlich erworben wird und dass diese in einer bidirektionalen Interaktion mit den somatischen Follikelzellen erfolgt. Es sind vor allem die von den Oozyten selbst sezernierten Faktoren, die als lokale Regulatoren ihrer eigenen Kompetenz fungieren.

Oozytensezernierende Faktoren sind vor allem GDF9 und BMP15, die die Hauptregulatoren der folliculären Entwicklung sind. GDF9 und BMP15 gehören zur TGFβ-Familie und wirken

auf die umgebenden Kumuluszellen über den SMAD2/3- und SMAD1/5/8-Signalweg, um die Gene für die Kumulusexpansion zu induzieren. Beide von der Oozyte sezernierte Wachstumsfaktoren der TGF β -Familie sind erstens für das Follikelwachstum, aber insbesondere für die Kumuluszellenexpansion verantwortlich. Die Kumulusexpansion dient als Vorbereitung für den Eisprung und zeigt die Oozytenkompetenz und die Reifung der Oozyte an.

Gezeigt wurde die Schlüsselrolle dieser Faktoren an Mäusen, denen das GDF-Gen deletiert wurde. Diese Mäuse sind infertil, da das Follikelwachstum in der frühen Follikulogenese arretiert ist (Dong J et al. 1996). Die Deletion des BMP15-Gens hingegen führt nur zu subfertilen Mäusen, die nur geringe histologische Veränderungen im Ovar aufweisen (Yan C. et al. 2001). Verpaart man allerdings heterozygote GDF9-Mäuse mit BMP15-Knock out-Mäusen, so zeigt sich ein synergistischer Effekt: Es kommt zwar noch zu einer spontanen Oozytenreifung, aber sowohl die Fertilisation als auch die Entwicklung der Präimplantationsembryonen sind stark gestört (Yan C et al. 2001). Transgene Mäuse, die das BMP15 in der Oozyte überexprimieren, zeigen, dass die Follikelreifung auch über BMP15 stimuliert wird (McMahon HE et al. 2008). Es konnte bereits gezeigt werden, dass Patientinnen mit einer primären Ovar Insuffizienz Mutationen im BMP15-und GDF9-Gen aufweisen (Di Pasquale E et al. 2004, Dixit H et al. 2006 und Welt CK 2008).

Etwa 1000 Primordialfollikel treten in die Wachstumsphase ein, aus denen nur einer zum dominanten Follikel selektiert wird, der zur Ovulation gelangt. Die kleineren Follikel mit weniger FSH-Rezeptoren können nicht mehr wachsen und werden atretisch. Die Abbildung 2-3 stellt schematisch die Rekrutierung eines Follikels dar.

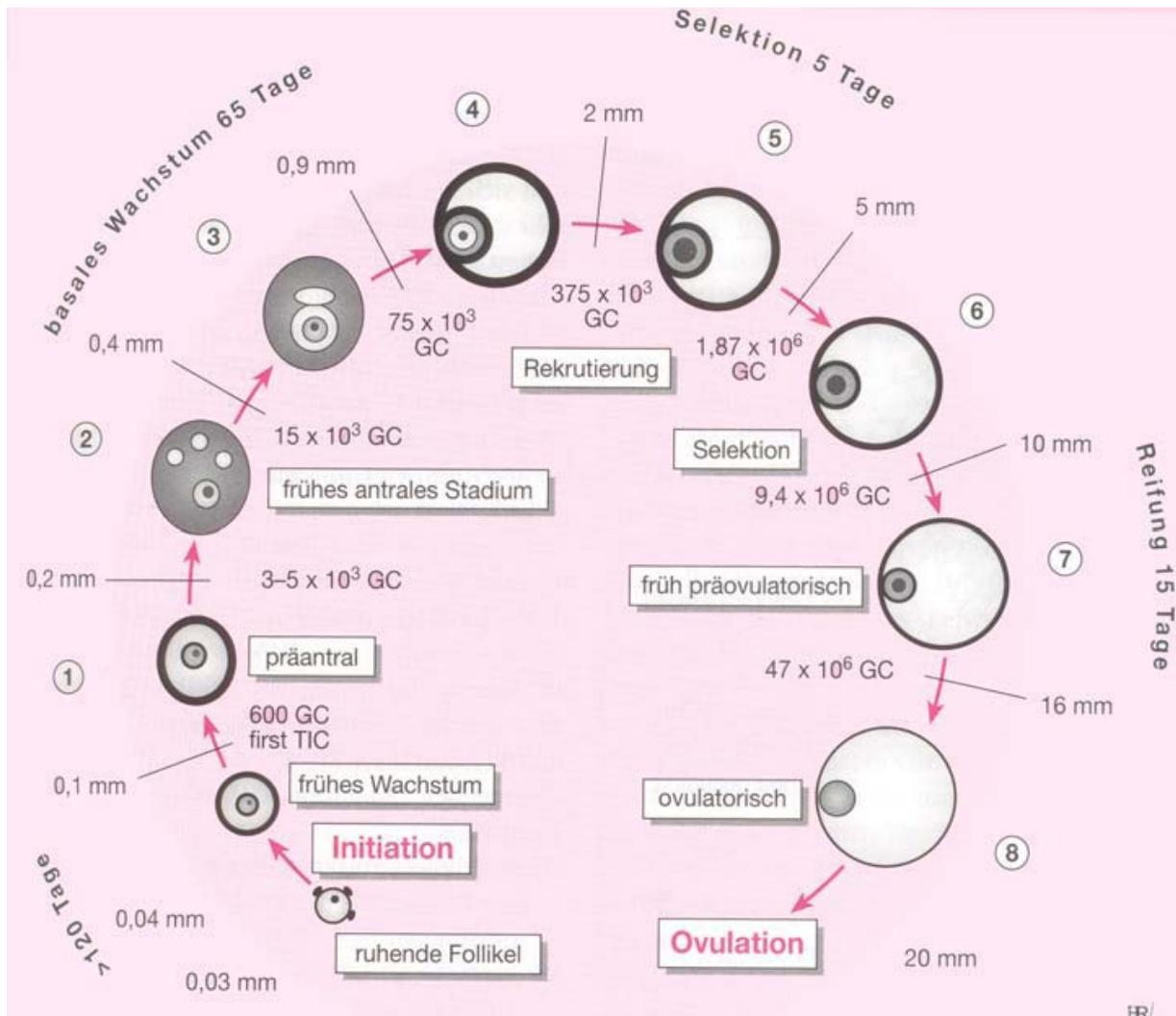


Abbildung 2-3: Schematische Darstellungen der Rekrutierung eines Follikels.

Quelle: Bender HG, Diedrich K und Künzel W (2001) Endokrinologie und Reproduktionsmedizin I. In: „Klinik der Frauenheilkunde und Geburtshilfe“ Band 1, 4. Auflage, Urban & Fischer Verlag

Lutealphase

Die Lutealphase bzw. Sekretionsphase beschreibt die Zeit zwischen dem Eisprung und der nächsten Menstruationsblutung. Der dominante Follikel produziert hohe Mengen an Östradiol. Durch eine positive Rückkoppelung kommt es zum LH-Anstieg. In Folge dessen wird die Eizelle aus dem dominanten Follikel freigesetzt. Durch den Einfluss des LH-Anstiegs erfolgt die Umwandlung der Überreste des dominanten Follikels in das Corpus luteum. Die Aufgabe des Corpus luteums ist die Progesteronproduktion. Die Granulosazellen wandeln sich in große

Lutealzellen um, die deutlich mehr Progesteron produzieren als die kleinen Lutealzellen, die aus den Thekazellen entstehen (Niswender GD 2002). Unter dem Einfluss des Gelbkörperhormons Progesteron geht das Endometrium in die Sekretionsphase über.

Durch die Auflockerung des Endometriums und Anreicherung mit Nährstoffen wird die Einnistung des befruchteten Ovars erleichtert. Nach der Befruchtung kommt es zur HCG Produktion, was wiederum das Fortbestehen des temporären endokrinen Organs Corpus Luteum auf 8-12 Wochen verlängert. Außer Progesteron werden im Corpus luteum auch Androgene und Östrogene produziert. Das Hauptandrogen ist das schwach androgen wirksame Androstendion (McNatty KP 1979). Die Abbildung 2-4 stellt schematische Darstellung der Follikel und Lutealphase dar.

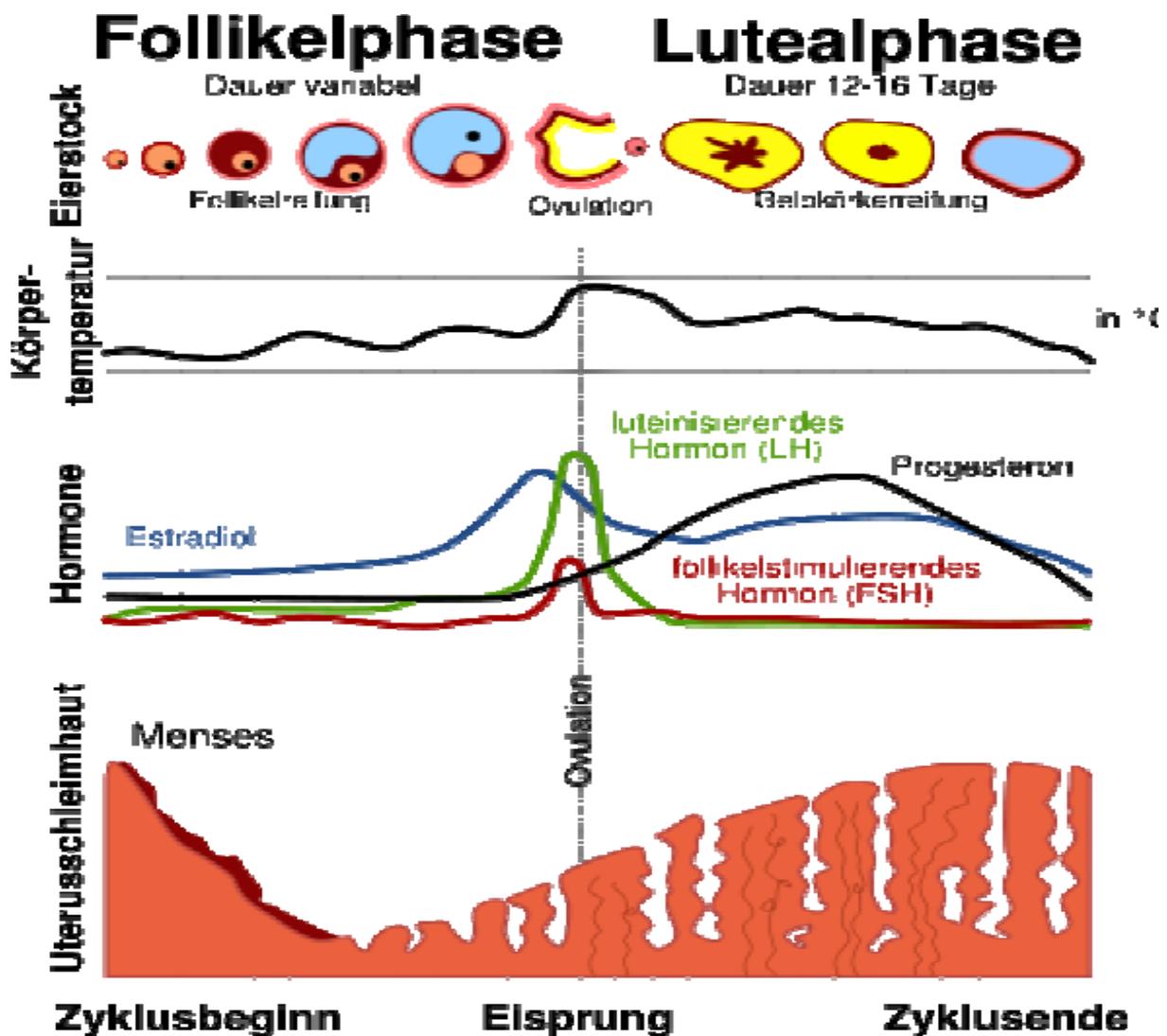


Abb. 2-4: Schematische Darstellungen der Follikel und Lutealphase (Quelle: Raith-Paula E et al. 2008, Natürliche Familienplanung heute, 4. Auflage. Springer Verlag, Seite 131)

2.4.1.3. Zyklische Veränderungen des Endometriums

Das Endometrium besteht aus zwei Schichten. Während die tiefer gelegene basale Schicht stabil bleibt, ändert sich die oberflächliche Schicht unter dem Hormoneinfluss ständig. Vor der Pubertät und nach der Menopause erfährt das Endometrium keine Veränderungen wegen des fehlenden Hormoneinflusses. In der Follikelphase, gleich nach der Menstruation, herrscht der Östrogeneinfluss auf das Endometrium. In dieser Phase bis zur Ovulation baut sich das Endometrium auf. Nach der Ovulation beginnt die Lutealphase. In dieser Phase, unter dem zusätzlichen Einfluss des Progesterons, wird das Endometrium so umgewandelt, dass sich die befruchtete Eizelle einnisten kann.

2.5. Physiologische Grundlagen der assistierten Reproduktion

Im Hypothalamus wird das GnRH produziert, welches über die portalen Kapillaren in den Hypophysenvorderlappen transportiert wird. Das GnRH wird nicht kontinuierlich, sondern pulsatil sezerniert. Das GnRH löst im Hypophysenvorderlappen (Adenohypophyse) die Freisetzung des FSH (follikelstimulierendes Hormon) und LH (lutenisierendes Hormon) aus. Außerdem wird im Hypothalamus das Oxytocin und Adiuretin produziert und über die Axone zum Hypophysenhinterlappen transportiert. Die Regulierung der Hypothalamusfunktion erfolgt durch verschiedene positive und negative Feedbackmechanismen. Der Hypophysenvorderlappen bildet die Schaltstation zwischen Hypothalamus und Ovar. GnRH stimuliert die Freisetzung des FSH in der Adenohypophyse und diese wiederum binden überwiegend an den Rezeptoren des Ovars und regulieren die Steroidproduktion sowie die Eizellreifung. Die Abbildung 2-5 stellt die assistierte Reproduktion dar.

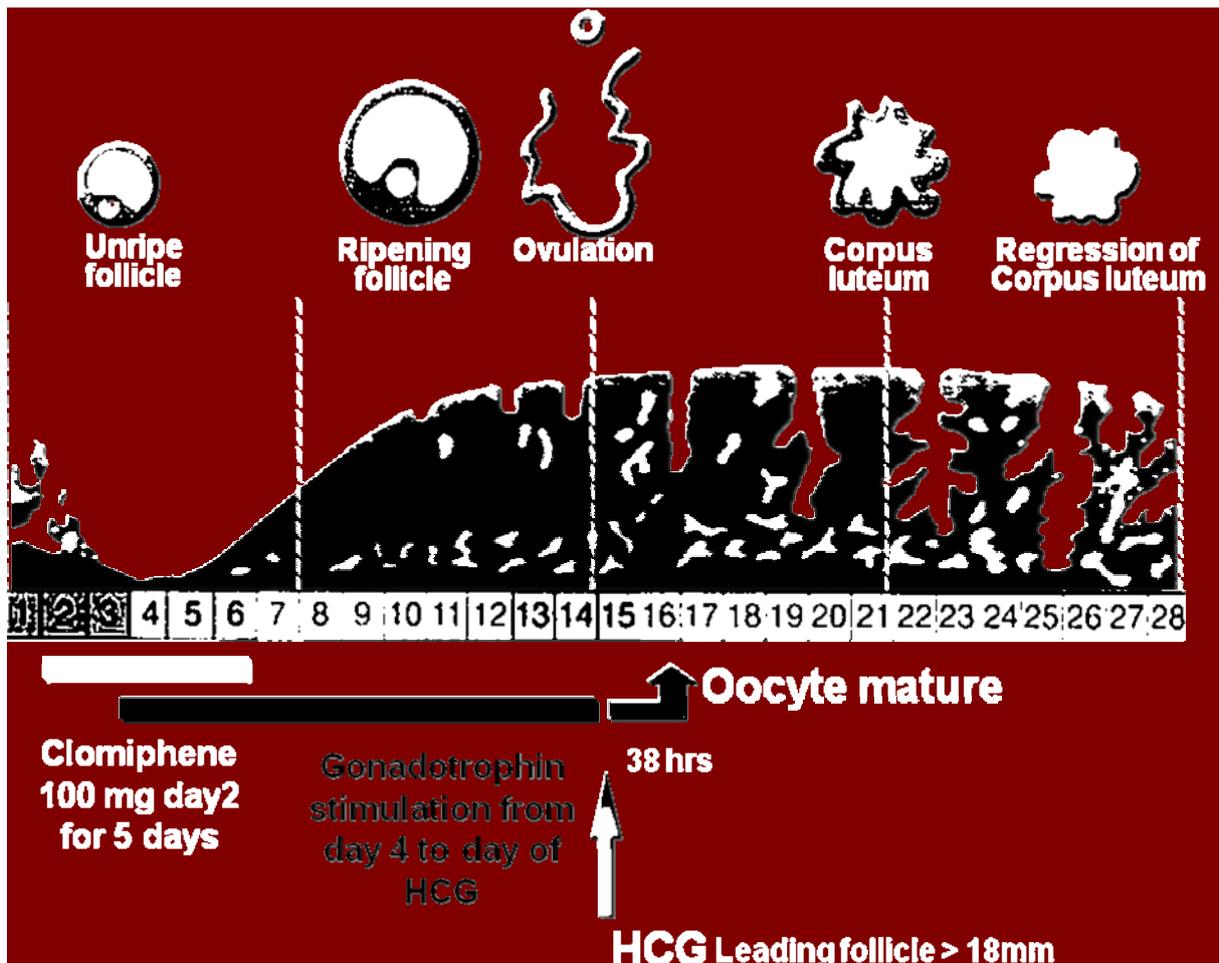


Abbildung 2-5: Schematische Darstellung der assistierten Reproduktion (Quelle: Knobil and Neill's Physiology of Reproduction (2006), third Edition, Editor in Chief: Jimmy D. Neill, Academic Press)

2.5.1. Einfluss der Gonadotropine auf den physiologischen ovariellen Zyklus

Während der frühen Follikelentwicklung wachsen die Oozyten und Granulosazellen um den Preantralfollikel zu bilden. Die Entwicklung des Follikels ist in den ersten 3 Monaten Gonadotropin unabhängig. Steroide, Testosteron und Androstendion werden in den Thekazellen unter LH-Einfluss produziert und in die Granulosazellen weitergeleitet. Dort findet die Aromatisierung unter FSH-Einfluss zu Estron und Estradiol. Diese regen mit dem FSH zusammen die Proliferation und Differenzierung der Granulosazellen an. Der sogenannte Antralfollikel ist in dieser Phase für seine weitere Entwicklung sehr vom FSH abhängig (Gougeon A 1998). In natürlichen Zyklen, kurz vor der Regelblutung sinkt der Östrogenlevel und folglich (Negative Feedback) auch der Gonadotropinlevel (Le Nestour E 1993). Die Abb. 2-6 zeigt die Schematische Darstellungen der Follikelreifung.

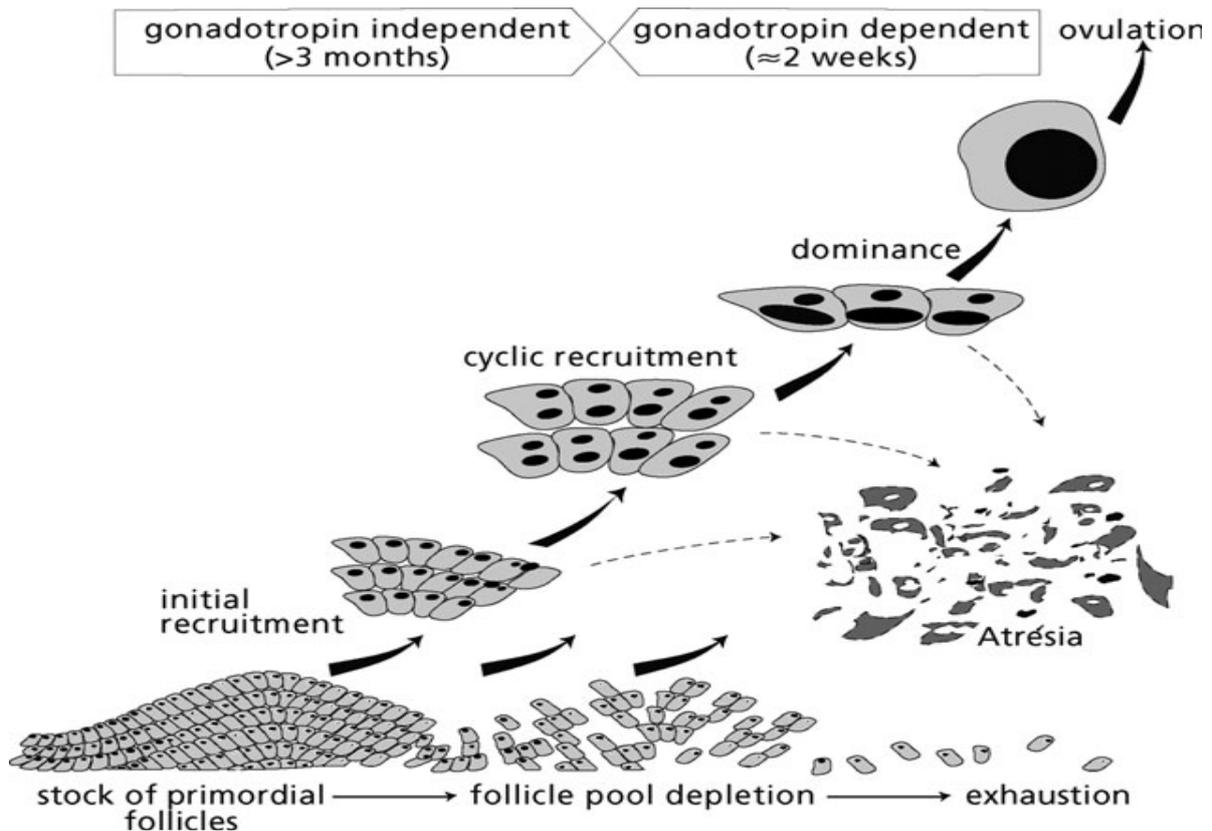


Abb. 2-6: Schematische Darstellungen der Follikelreifung (Quelle: McGee EA and Hsueh AJ 2000, Endocrine Reviews 21: 200-214).

2.6. Philosophie der ovariellen Stimulation

1929, also vor mehr als 80 Jahren, konnte B. Zondek die Steuerung der Hypophysen-Ovar-Uterus-Achse zeigen. Zuerst wurde im Urin der schwangeren Frauen eine Substanz entdeckt, die ähnliche Wirkungen zeigte wie die gonadotropen Faktoren des Hypophysenvorderlappens. Ein paar Jahre später konnten Forscher um Aschheim und Zondek die gleiche Substanz im Urin der postmenopausalen Frauen nachweisen. Das Extrahieren der Gonadotropine aus dem Urin der postmenopausalen Frauen gelang 1947 der Firma Serono in der Schweiz. Das erste Baby kam 1961 nach Behandlung einer sekundären Amenorrhö mit Pergonal© zur Welt.

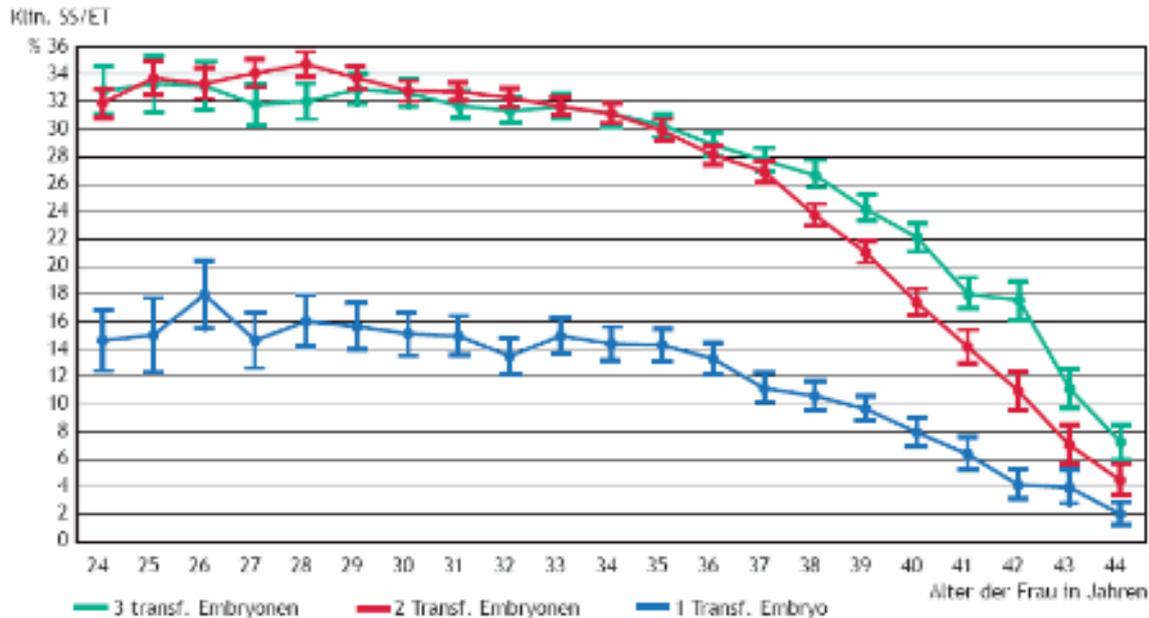
Humanes menopausales Gonadotropin (hMG) besteht zu gleichen Teilen aus FSH und LH. Mit Hilfe der Immunoaffinitätschromatographie wurde nicht nur die Aufreinigung möglich sondern auch FSH und LH-Aktivitäten voneinander zu trennen. Heute stehen sowohl hochaufgereinigte urinaire Präparate als auch biotechnologisch hergestellte (rekombinante) reine FSH bzw. LH-Präparate zur Verfügung.

Das erste durch künstliche Befruchtung gezeugte Kind, ist nicht durch einen stimulierten Zyklus entstanden, sondern im sogenannten „natürlichen“ Zyklus, in dem physiologischerweise nur eine Eizelle zur Befruchtung heranreift. Kontrollierte ovarielle Hyperstimulation ohne Gonadotropine ist heute kaum vorstellbar, weil ein polyfollikuläres Wachstum meist nur so gewährleistet ist. Einige ältere Studien zeigen die Korrelation zwischen der steigenden Zahl der gewonnenen Eizellen und der Zahl der Embryonen zum Transfer (Devreker et al.1999; Sharma et al. 2002). Die Fertilisationsrate liegt in vitro etwa bei 50-60%. Fertilisierte Eizellen entwickeln sich nur in 30% zu einer Blastozyste, und 50 % der Blastozysten schaffen nicht die Implantation (Edmonds et al. 1982). Bis zu 25 % der implantierten Embryonen sterben innerhalb von 7-14 Tagen nach dem Embryotransfer ab, was eine Qualitätsauswahl auf Basis mehrerer fertilisierter Oozyten und den Transfer meist mehrerer Embryonen erforderlich macht. Der Jahresbericht 2008 des deutschen IVF-Registers zeigt eindrucksvoll die Abhängigkeit der Erfolgsrate von der Embryonenzahl (Tabelle 2-2, Graphik 2-2).

Tabelle 2-2: Abhängigkeit der Erfolgsrate von Embryonenzahl (Quelle: DIR 2008)

 Klin. SS/ET in Abhängigkeit von der Anzahl übertragener Embryonen und Altersgruppen 2008								
IVF	1 Embryo		2 Embryonen		3 Embryonen		Gesamt	
	ET	Klin. SS/ET %	ET	Klin. SS/ET %	ET	Klin. SS/ET %	ET	Klin. SS/ET %
bis 24 Jahre	4	50,00	66	36,36	4	0,00	74	35,14
25 - 29 Jahre	79	15,19	925	41,30	99	39,39	1.103	39,26
30 - 34 Jahre	238	23,11	2.017	36,24	285	30,88	2.540	34,41
35 - 39 Jahre	523	13,96	2.360	31,48	813	30,87	3.696	28,87
40 - 44 Jahre	225	8,00	521	16,70	442	25,57	1.188	18,35
45Jahre und älter	13	7,69	20	0,00	16	0,00	49	2,04
Gesamt	1.082	14,88	5.909	33,29	1.659	29,60	8.650	30,28
ICSI	1 Embryo		2 Embryonen		3 Embryonen		Gesamt	
	ET	Klin. SS/ET %	ET	Klin. SS/ET %	ET	Klin. SS/ET %	ET	Klin. SS/ET %
bis 24 Jahre	29	17,24	240	37,50	15	26,67	284	34,86
25 - 29 Jahre	351	19,66	3.594	38,12	394	33,50	4.339	36,21
30 - 34 Jahre	745	18,26	6.622	36,68	1.211	34,02	8.578	34,71
35 - 39 Jahre	1.526	12,45	6.685	28,77	2.706	27,68	10.917	26,22
40 - 44 Jahre	736	5,57	1.418	14,81	1.286	18,20	3.440	14,10
45Jahre und älter	76	1,32	44	4,55	44	9,09	164	4,27
Gesamt	3.463	12,76	18.603	32,38	5.656	27,14	27.722	28,86
Kryotransfer	1 Embryo		2 Embryonen		3 Embryonen		Gesamt	
	ET	Klin. SS/ET %	ET	Klin. SS/ET %	ET	Klin. SS/ET %	ET	Klin. SS/ET %
bis 24 Jahre	14	7,14	73	23,29	17	35,29	104	23,08
25 - 29 Jahre	242	13,22	1.260	22,70	397	19,40	1.899	20,80
30 - 34 Jahre	657	11,11	2.843	20,65	951	24,92	4.458	20,12
35 - 39 Jahre	815	9,82	2.900	19,86	1.146	20,59	4.866	18,33
40 - 44 Jahre	274	6,93	781	11,65	434	16,36	1.491	12,14
45 und älter	19	0,00	25	0,00	15	20,00	59	5,08
Gesamt	2.021	10,14	7.882	19,75	2.960	21,28	12.877*	18,58

*) transferierte Embryonen plus PN; bei 14 nicht berechenbar. Es wurden nur prospektiv erfasste Daten verwendet.



Graphik 2-2: Klinische Schwangerschaftsraten in Abhängigkeit von der Anzahl der transferierten Embryonen und vom Alter der Frau 1997-2007 (DIR: Jahresbericht 2008)

2.6.1. Kontrollierte ovarielle Hyperstimulation im Rahmen der assistierten Reproduktionsmedizin

Drei nationale Erfolgsrate für alle Techniken in der Reproduktionsmedizin beträgt in den USA 28% (Daya et al. 2009, Broman et al. 2007). Im Jahr 2008 kam es in Deutschland mit medizinischer Hilfe in 30,0% aller durchgeführten Embryotransfers (ET), bei einer sogenannten konventionellen IVF zu der gewünschten Schwangerschaft. Bei der sogenannten ICSI kam es in 28,4% aller durchgeführten Behandlungszyklen mit Embryotransfer zur Schwangerschaft. Bei ungestörter Funktion der Eierstöcke hatte ein Paar in Deutschland 2008 bei einer konventionellen IVF eine über alle Altersklassen gemittelte Chance von 37,3% pro Embryotransfer eine Schwangerschaft zu erzielen. Bei der ICSI betrug diese Chance 36,11% pro Embryotransfer (Jahresbericht 2008 des deutschen IVF-Registers). Die „Baby-Take-home-Rate“ liegt im Mittel bei etwa 20%.

Im Spontanzyklus ist in der Regel nur ein präovulatorischer Follikel vorhanden, was die Chance für eine erfolgreiche IVF-Behandlung deutlich reduziert, weil eine 100% ige Befruchtungsrate technisch nicht möglich ist. Durch eine vorausgegangene ovarielle

Stimulationsbehandlung können meist mehrere Eizellen gewonnen und in vitro befruchtet und transferiert werden. Dies führt zur Steigerung der Erfolgsraten (Devreker et al. 1999, Sharma et al. 2002). Eine kontrollierte ovarielle Stimulation ist nur durch zeit- und kostenaufwändige Methoden möglich, die mit erheblichen potentiellen gefährlichen Nebenwirkungen vergesellschaftet sind, wie einer ovariellen Überreaktion auf die Anwendung von Gonadotropinen besonders bei jüngeren Patientinnen. Das OHSS tritt in 0,3-5 der stimulierten Zyklen auf (Neulen et al. 1997). Während die milde Form recht häufig auftritt (10-25%), kommt die schwere, gelegentlich letale Form recht selten vor. Die Tabelle 2-3 zeigt die Häufigkeit des Überstimulationssyndroms in Abhängigkeit von der Stimulation.

Tabelle 2-3: Überstimulationssyndrom in Abhängigkeit von der Stimulation bei erfolgtem Transfer IVF, ICSI 2008 (Quelle: Deutsches IVF-Register, Jahresbericht 2008)

 Überstimulationssyndrom in Abhängigkeit von der Stimulation bei erfolgtem Transfer IVF, ICSI 2008					
	Stimulation		Gewonnene Eizellen n	OHSS III/ST	
	n	%		n	%
GnRH-kurz	3.787	9,38	7,96	2	0,05
nur FSH	1.771		8,81	2	0,11
nur hMG	1.390		7,49	0	0,00
FSH und hMG	528		6,62	0	0,00
Sonstige	95		6,74	0	0,00
GnRH-lang	22.212	55,04	10,58	98	0,44
nur FSH	12.599		11,35	59	0,47
nur hMG	4.263		9,08	15	0,35
FSH und hMG	3.500		10,18	22	0,63
Sonstige	1.845		9,48	2	0,11
Ohne Analoga	1.731	4,29	8,12	0	0,00
nur FSH	808		10,48	0	0,00
nur hMG	341		7,43	0	0,00
FSH und hMG	162		8,81	0	0,00
Sonstige	245		4,62	0	0,00
Antagonisten	12.624	31,28	8,49	45	0,36
nur FSH	6.978		9,72	29	0,42
nur hMG	2.077		7,03	4	0,26
FSH und hMG	1.515		7,57	3	0,20
Sonstige	2.042		6,48	9	0,44
Summe	40.354*	100,00	9,57	145	0,36

Es wurden nur prospektiv erfasste Daten verwendet. *) In der Summe sind 195 Zyklen mit unbekannter Medikation enthalten

Weitere Komplikationen wie Adnextortion, Infektionen, Blutungen und Verletzung des Uterus bzw. der Nachbarorgane während der Punktion können nicht ausgeschlossen werden, kommen aber erfreulicherweise sehr selten vor.

Bei normaler Ovarialfunktion kommen meist eine FSH-Monotherapie oder die Gabe urinärer Kombinationspräparate (hMG) zur kontrollierten ovariellen Hyperstimulation zum Einsatz. Neben FSH stehen auch LH und hCG als rekombinante Präparate zur Verfügung. Während bei jüngeren Patientinnen eine Überreaktion auf die Stimulation mit Gonadotropinen auftritt, kommt ein schlechtes Ansprechen mit einer sehr niedrigen Zahl der gewonnenen Eizellen (Low Responder, Poor Responder) eher bei älteren Patientinnen vor. Eine Erhöhung der FSH-Dosis um eine adäquate Follikelreifung zu erzielen, lässt sich bei Poor Responder Patientinnen meist nicht umsetzen.

Tab.2-4: Stimulationsarten im Rahmen der Reproduktionsmedizin

STIMULATIONSARTEN IM RAHMEN DER REPRODUKTIONSMEDIZIN
KOH mit Gonadotropinen <ul style="list-style-type: none"> -mit HMG(ohne FSH) -mit rFSH (ohne HMG) -mit HMG+FSH -mit long acting FSH -mit rFSH + rLH
KOH mit Clomiphene Citrate(CC)
Neue Methoden der Ovulationsinduktion <ul style="list-style-type: none"> -Aromatasehemmer
KOH mit GnRH-analoga LANG-PROTOKOLL <ul style="list-style-type: none"> -mit rFSH(ohne HMG) -mit HMG(ohne rFSH) -sonstige Kombinationen
KOH mit GnRH-Analoga Kurz-PROTOKOLL <ul style="list-style-type: none"> -mit rFSH (ohne HMG) -mit HMG (ohne rFSH)
KOH mit GnRH-Antagonisten

Eine ovarielle Stimulation allein mit Gonadotropinen führt zu einem vorzeitigen Eisprung, sodass der Zyklus abgebrochen werden muss. Dies wird durch die gleichzeitige Gabe von GnRH-Agonisten bzw. GnRH-Antagonisten verhindert. Die Tab.2-4 zeigt alle aktuellen Stimulationsstrategien im Rahmen der Reproduktionsmedizin.

2.6.1.1. Kontrollierte ovarielle Hyperstimulation mit Gonadotropinen

Die Gonadotropine wurden zunächst aus dem Urin der postmenopausalen Frauen gewonnen. Erst 1947 gelang es Piero Donini im pharmazeutischen Institut der Firma Serono, humanes menopausales Gonadotrophin aus Urin aufzureinigen, welches ab dem Jahr 1950 als Pergonal© vermarktet wurde.

Humanes menopausales Gonadotrophin (hMG) enthält sowohl FSH als auch LH-Aktivität.

Die Firma Serono sammelte im Jahre 1996 mehr als 6 Millionen Liter Urin für die Extraktion der Gonadotropine. Dafür waren etwa 200.000 Spenderinnen nötig.

Mit dem Einsatz verbesserter Reinigungsmethoden durch spezifische Antikörper gelang es, FSH und LH-Aktivitäten voneinander zu trennen.

Im Laufe der Jahre ist der Bedarf an Gonadotropinen in einem Ausmaß gestiegen, dass die Nachfrage nicht mehr bewältigt werden konnte.

Heute existieren sowohl hochaufgereinigte urinaire Präparate als auch gentechnisch erzeugte reine FSH bzw. LH-Präparate nebeneinander. Die notwendigen Gonadotropine können entweder mit rekombinanten Produkten oder HMG appliziert werden. Bei den urinären Gonadotropinen muss herstellungsbedingt eine Schwankungsbreite von bis zu 20% einkalkuliert werden.

Die biotechnologisch hergestellten, rekombinanten Gonadotropine werden aus einer Zelllinie des Hamsters gewonnen und stehen in unbegrenzter Menge zur Verfügung. Sie werden als Follitropin Beta (Puregon®) und Follitropin Alfa (Gonal F®) Präparate vermarktet. Der wichtigste Vorteil dieser Präparate ist die hohe Reinheit. Die Tabelle 2-5 vergleicht die Eigenschaften von natürlichem und rekombinantem follikelstimulierenden Hormon.

Das lange GnRH-Agonisten Protokoll kombiniert mit exogenem follikelstimulierenden Hormon (FSH) ist weltweit das am häufigsten verwendete Protokoll (Macklon et al. 2006).

Diese konventionelle Stimulation ist teuer, komplex und verbunden mit mehr Nebenwirkungen und Stress. Aus dem Grund ist das Interesse für eine patientenfreundliche, komplikationsärmere (Cave: OHSS) milde Stimulationsform sehr groß (Fauser et al. 1999).

Bei den so genannten milden Stimulationsstrategien werden erst am 5. Tag mit der Gabe der GnRH-Antagonisten und FSH begonnen. Dies spart viel Zeit und Kosten.

Tabelle 2-5: Vergleich der Eigenschaften von natürlichem und rekombinantem follikelstimulierenden Hormon (Griesinger G. et al. 2003, Frauenarzt 44: 860-867)

Charakteristika	Natürliches FSH	Rekombinantes FSH
Spezifische Aktivität FSH/mg Protein(I.E)	Etwa 150	Etwa 10.000
Proteingehalt/75 I.E.(mg)	370-750	5-11
Reinheit(%)	<3	>99
Isoelektrischer Punkt(pH)	3,0-5,5	3,5-6,1

Die Autoren betonen einen weiteren wichtigen Vorteil der Ovarialstimulation mit niedrig dosierten Gonadotropinen. Da die Patientinnen mit der milden Stimulation nur einen Embryo transferiert bekommen, ist die wichtigste Komplikation der In Vitro Fertilisation höher gradige Schwangerschaften, extrem selten.

Als Schlussfolgerung wird festgehalten, dass der kumulative Anteil von Schwangerschaften mit Lebendgeburt für beide Stimulationsschemata (konventionell und mild) mit ca. 44% nicht signifikant unterschiedlich ist, sodass für viele Patientinnen am ehesten die nebenwirkungsarme und kostengünstige Alternative als milde Stimulation angeboten werden sollte.

Eine Zusammenfassung der auf dem deutschen Markt erhältlichen Gonadotropine sind auf der Tabelle 2-6 zu sehen.

Tabelle 2-6: Auf dem deutschen Markt erhältliche Gonadotropine (Quelle: Ludwig et al. 2007, Gynäkologische Endokrinologie 5: 223-234, Springer Verlag)

HMG: humanes Menopausengonadotropin;

r-hLH: rekombinantes humanes luteinisierendes Hormon

r-hFSH: rekombinantes humanes follikelstimulierendes Hormon(FSH)

Der Gonal F-Pen ist ein Einmalpen.

Der Puregon-Pen ist ein mehrfach verwendbarer Pen.

Inhaltstoff	Präparatenamen	Hersteller	Dosierungen	Preise(€)	
HMG	Menogon HP	Ferring Arzneimittel GmbH	Ampullen a 75 IE		
			-5 Stück	187,85	
			-10 Stück	315,75	
Urinäres FSH	Bravelle		Ampullen a 75 IE		
			-5 Stück	149,31	
			-10 Stück	269,49	
			-30 Stück	272,25	
r-hFSH	Gonal F	Merck-Serono GmbH	Ampullen a 75 IE		
			-1 Stück	51,43	
			-5 Stück	224,26	
			Pen mit 300 IE	181,33	
			Pen mit 450 IE	267,17	
			Pen mit 900 IE	524,72	
				Multidose 1050 IE	610,57
	Puregon	Organon GmbH	50 IE Ampullen		
			-5 Stück	148,48	
			75 IE Ampullen		
			-5 Stück	217,90	
			100 IE Ampullen		
			-5 Stück	287,31	
			Puregon Pen	70,79	
Puregon-Amp-Pen					
			-300 IE	101,23	
			-600 IE	169,53	
			-900 IE	332,63	
r-hLH	Luveris	Merck-Serono GmbH	75 IE Ampullen		
			-3 Stück	92,32	
			-10 Stück	307,77	

LONG-ACTING-FSH (FSH-CTP)

Es wurden Neue Gonadotropinpräparate mit längeren Halbwertzeiten entwickelt. Der erste Vertreter dieser Gruppe ist Corifollitropin Alpha. Die vor kurzem abgeschlossene multizentrische doppelblinde randomisierte Phase III- Studie konnte zeigen, dass Collitropin Alpha 1x gegeben in Kombination mit GnRH-Antagonisten genauso wirksam und effektiv ist, wie rekombinantes FSH. In der Studie wurden insgesamt 1506 Patientinnen in 34 IVF-Zentren entweder mit einmal 150 µg Corifollitropin Alpha oder mit 200 IU rekombinantem FSH über 7 Tage behandelt. Weder die Qualität der Eizellen und Embryonen noch die Schwangerschaftsraten zwischen den beiden Gruppen waren unterschiedlich (oral Präsentation der ENGAGE-Studie beim ESHRE in Amsterdam 28.06.-01.07.2009).

The future of ovarian stimulation?

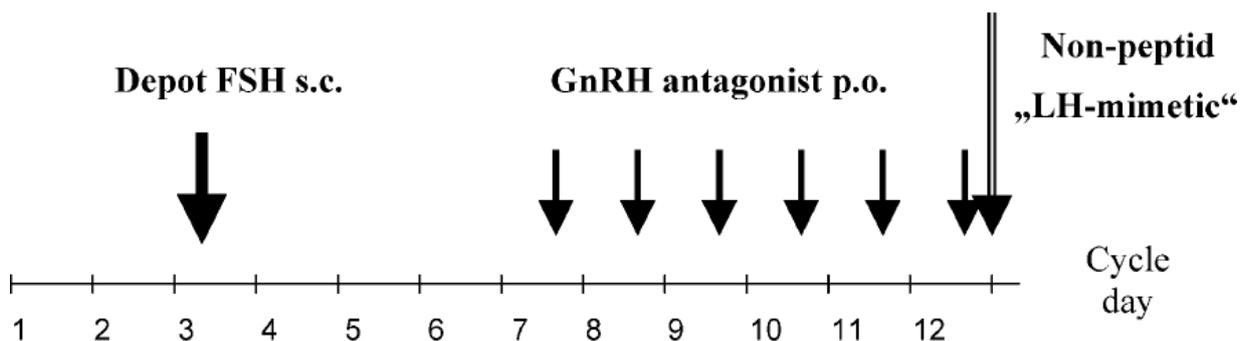


Abbildung 2-7: Schematische Darstellung des GnRH-Antagonisten-Mehrfach-Dosis-Protokolls („Lübecker Protokoll“) unter Verwendung eines FSH-Depot-Präparates, eines oralen GnRH-Antagonisten und eines oralen Nicht-peptid-LH-Präparates nach Griesinger G. et al. 2003, Gynäkologische Endokrinologie, Springer-Verlag

2.6.1.1.1. Die Rolle des LH im Rahmen der kontrollierten ovariellen Hyperstimulation- Kontrollierte Hyperstimulation mit HMG (FSH+LH)

Wie im Kapitel 2.4.1.2 ausführlich erläutert, ist die Reifung von Follikeln ab dem Sekundärfollikelstadium von Gonadotropinen abhängig. Ohne adäquate Konzentrationen an follikelstimulierendem Hormon (FSH) kann es nicht zur Entwicklung eines Graaf-Follikels kommen (Ludwig M 2006).

Ferner konnten Andoh K et al. 1998 zeigen, dass eine Follikelreifung ohne luteinisierendes Hormon (LH) in einer basal vorhandenen Konzentration ebenfalls nicht erfolgsversprechend ist. Es wird eine Dosis von 75 IU als ausreichend angesehen (Andoh K et al. 1998). Neben dem biotechnologisch hergestelltem rekombinanten humanem rLH existiert in Deutschland das Präparat Menogon® mit humanem Menopausengonadotropin.

Bei einer normalen ovariellen Reserve könnte meist eine alleinige FSH-Monotherapie oder die Gabe urinärer Kombinationspräparate (hMG) für eine erfolgreiche kontrollierte Hyperstimulation (KOH) ausreichend sein.

Besonders bei jüngeren Patientinnen kann die Gabe von Gonadotropinen eine Überreaktion hervorrufen (High-Responder). Im Gegensatz dazu zeigen einige Patientinnen auf die Standard Gonadotropin-Gabe ein schlechtes Ansprechen, so dass der Zyklus gelegentlich abgebrochen werden muss. Eine Dosissteigerung der Gonadotropine ist für diese Patientenpopulation (Low=Poor Responder) nötig, um eine adäquate Follikelreifung zu erzielen.

Bei schlechtem Ansprechen der normogonadotropischen Patientinnen auf die Standard rFSH Gabe im Rahmen eines GnRH-Agonisten long Protokolls kann entweder die Dosis der rFSH gesteigert oder bei gleichbleibender rFSH Dosis zusätzlich rLH ab dem 8. Stimulationstag gegeben werden.

2.6.1.2. Kontrollierte ovarielle Hyperstimulation mit Clomiphen Citrate

Nach der ersten Publikation der Ergebnisse durch Clomifen für Ovulationinduktion von Greenblatt et al. im Jahre 1961 entwickelte sich dieses Medikament weltweit zur meist eingesetzten Substanz für diese Indikation.

Clomifen ist ein nonsteroidales Triphenylethylen Derivate und gehört zu der Gruppe der selektiven Östrogenmodulatoren mit Östrogen agonistischen und antagonistischen Eigenschaften. Clomifen blockiert die Östrogenrezeptoren, was wiederum zur Ausschüttung des Gonadotropin-Releasing-Hormons führt. Das ausgeschüttete GnRH regt die für die ovarielle Stimulation essentielle Gonadotropin Freisetzung aus der Hypophyse an.

Obwohl die Einsatzgebiete des Clomifens sehr breit sind, wird es überwiegend bei hypothalamisch hypophysärer Dysfunktion wie z.B. hyperandrogenämischer Follikelreifungsstörung gegeben. Ohne eine LH-Restaktivität ist die Follikelreifung bzw. der Erfolg der Therapie ausgeschlossen. Weitere eher seltenere Einsatzgebiete sind die

Vorbereitung auf eine geplante intrauterine Insemination sowie die kombinierte Stimulation mit Gonadotropinen im Rahmen einer In-vitro-Fertilisation.

Wenn die Patientinnen zusätzlich zur hMG-Gabe Clomifen bekamen, hatten sie ein signifikant besseres Ansprechen. Problematisch ist jedoch das Risiko eines prämaturnen spontanen Anstiegs des luteinisierenden Hormons, welcher bei fast 20% der stimulierten Zyklen zu beobachten war und zu einem Abbruch der IVF-Behandlung bzw. einer beeinträchtigten Eizellqualität führte (Tarlatis BC 1992).

Begonnen wird mit der Therapie zwischen Tag 2 und 5 mit einer Anfangsdosis von 50 mg/Tag über 5 Tage, wobei die Dosis gewichtsadaptiert geändert werden kann. Eine hochdosierte Clomiphen-Therapie bei nicht Ansprechen, z.B. 150 mg/Tag, bringt genauso wenig wie bei einer exogenen Gonadotropin-Gabe (Wu CH, Winkel CA 1989).

Untersuchungen zur kumulativen Ovulation und Schwangerschaftsrate (SS-Rate) zeigen, dass die Anwendung von Clomifen länger als 6 Monate nacheinander ineffektiv ist (Imani et al. 2002).

Die unerwünschten Nebenwirkungen des Clomifens spielten eine erhebliche Rolle, weswegen sich in den letzten Jahren eine Stimulation mit reinem hMG oder rekombinantem FSH und ggf. mit rekombinantem luteinisierendem Hormon durchgesetzt hat.

Eine der wichtigsten Komplikationen der kontrollierten ovariellen Hyperstimulation sind die Mehrlingsschwangerschaften. Unter einer Clomiphen-Stimulation mit 50 mg/Tag beträgt die Bildung von mehr als 2 Follikeln etwa 14 % (Wingfield M et al. 2006). Trotz dieses Risikos folgt in der Praxis kein Zyklusmonitoring, was von vielen Autoren dringend empfohlen wird.

2004 konnten Rostami-Hodjegan et al. nach Analyse von 13 Studien zeigen, dass 46% der Patientinnen nach Gabe von 50 mg Clomifen/Tag ovulierten. Nach 100 mg/ Tag Clomiphen ovulierten dann weitere 21%. Lediglich 8% der dann verbliebenden „Versager“ ovulierten mit 150 mg/Tag. Unter Berücksichtigung aller Studienergebnisse lässt sich sagen, dass die Ovulationsrate unter Clomifen insgesamt bei 73% und die kumulative SS-Raten bei 36% liegen. Die Abortrate wird mit ca. 20% angegeben (Homburg R 2005).

Obwohl zur Zeit nicht genügend Daten aus prospektiv randomisierten Studien existieren, kann man anhand der Ergebnisse einiger kleinerer Studien sagen, dass eine 1-2 monatige Vorbehandlung mit einem oralen Kontrazeptivum bei CC-Resistenz die Ovulationrate einer ovariellen Stimulation mit Clomiphen leicht verbessern kann (Branigan EF, Estes MA 2003).

Bei Patientinnen mit PCO-Syndrom ist die Therapie mit Clomiphen für die Stimulationsbehandlung die erste Wahl. Eine additive Therapie mit Metformin bringt

wahrscheinlich keinen signifikanten Vorteil gegenüber der alleinigen Clomiphenstimulation (Moll et al.2006).

Die letzte Metaanalyse von 2005 zeigte keinen signifikanten Vorteil zugunsten des Tamoxifens gegenüber Clomifen (Steiner et al 2005). Zwei prospektiv randomisierte Studien untersuchten den Effektivitätsunterschied zwischen Clomiphen und Letrozol anhand diverser Parameter und fanden keinen Unterschied (Al Fozan et al. 2004, Bayar et al. 2006).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass im Fall anovulatorischer oder unregelmäßiger Zyklen nach wie vor Clomifen das Präparat der ersten Wahl ist. Wenn eine Clomifenstimulation nicht möglich ist, nicht angeschlagen hat oder zu viele Nebenwirkungen hatte (z.B. schlecht entwickeltes Endometrium, schlechte Zervixfaktoren, systemische Nebenwirkungen) sollten den Gonadotropinen Vorzug gegeben werden (Nawroth et al. 2007).

Die Effektivität einer Gonadotropinstimulation bei CC-Resistenz ist bewiesen (Homburg R 2005). In Vorbereitung auf eine intrauterine Insemination lassen sich durch eine ovarielle Stimulation mit Gonadotropinen signifikant höhere SS-Raten gegenüber einer vorbereitenden Clomifenstimulation erreichen (Cantineau et al. 2006).

Durch eine periphere antiöstrogene Wirkung des CC am Endometrium und an der Cervix kommt es trotz positiver Ovulationsbilanz zu enttäuschend schlechten Schwangerschaftsraten.

2.6.1.3. Kontrollierte ovarielle Hyperstimulation mit GnRH-Analoga (GnRHa)

Das GnRH-Molekül ist ein aus 10 Aminosäuren bestehendes Peptid und hat eine Halbwertszeit von 2-5 Minuten und wird durch Peptidasen schnell inaktiviert. Die Freisetzung des GnRH erfolgt in einem Abstand von 60-120 Minuten. Das GnRH wird aus dem Hypothalamus pulsatil sezerniert und regt im Hypophysenvorderlappen die Gonadotropinsekretion an. Eine kontinuierliche Abgabe von GnRH führt zunächst zu einer vermehrten Ausschüttung der Gonadotropine. Nach etwa 12 Stunden tritt ein FSH-Anstieg um Faktor 5, und eine LH-Zunahme um Faktor 10 ein. Dies ist der so genannte „flare-up“-Effekt. Anschließend reduziert sich die Rezeptorzahl wieder und damit auch die Gonadotropinkonzentration.

Dies wird als „Down-Regulation“ bzw. Desensitivierung der Gonadotropine sezernierenden Zellen bezeichnet (Knobil E 1980, Karck M 1996).

Erst nach Steigerung der Rezeptoraffinität auf das 100-200fache durch das Ersetzen der Aminosäureketten an Position 6 und 10 wurde dieser Effekt möglich (Coy et al. 1973, Koch et al. 1977, Clayton und Catt 1981).

Die Tab. 2-8 zeigt die Aminosäuresequenz des nativen sowie der GnRH Agonisten und der GnRH-Antagonisten.

Tab 2-8:Aminosäuresequenz des nativen GnRH und der GnRH-Agonisten sowie der GnRH-Antagonisten (2009) Dorn C und Greisinger G, Gynäkologische Endokrinologie 7: s164, Springer Verlag)

GnRH Rezeptor Aktivierung			GnRH Rezeptor Affinität		Biologische Aktivität			Natives GnRH		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
pGlu	His	Trp	Ser	Tyr	Gly	Leu	Arg	Pro	Gly	NH ₂
					DLeu				Ethy.	Leuprorelin
					DTrp					Tryptorelin
					DLeu				AzaGly	Goserelin
					DNal				Gly	Nafarelin
					DLeu				Ethy	Buserelin
DNal	Phe	DPal			DhArg		LhArg		DAla	Ganirelix
DNal	Phe	DPal			DCitt				DAla	Cetrorelix

Die GnRH-Analoga haben sich als Standardmedikation zur Prophylaxe eines vorzeitigen LH-Anstiegs im Rahmen der ovariellen Stimulation zur IVF durchgesetzt.

Sie werden außerdem zur reversiblen Kastration in Vor- und Nachbehandlung der Endometriose, Fertilitätsprotektion sowie Therapie bei Rezeptor positiven Tumoren eingesetzt.

Bei dem langen Protokoll erfolgt die GnRH-Agonisten-Gabe in der mittleren Lutealphase oder frühen Follikelphase des vorangehenden Zyklus und endet mit der hCG-Gabe. Der GnRH-Agonist kann als Einmaldepotgabe oder täglich verabreicht werden. Die Effektivität der beiden Applikationsformen ist gleich (Albuquerque LE et al. 2005, Daya S 2000). Nach mindestens 2 Wochen der Desensibilisierung der Hypophyse also am 2. oder 3. Zyklustag

wird mit der Gonadotropin-Gabe begonnen. Die Stimulation mit Gonadotropinen kann entweder mit hMG (human Menopausal Gonadotropin) oder mit FSH erfolgen (Daya et al. 2000).

Das „**lange Protokoll**“ ist das am häufigsten angewendete Stimulationsprotokoll mit den besten Schwangerschaftsraten in der IVF (Tan SL 1992).

Problematisch am langen Protokoll ist die mögliche ovarielle Zystenbildung v.a. bei anovulatorischen Frauen durch den initialen Flare-up Effekt, der Hormonentzug aufgrund der hypophysären Suppression und das erhöhte Risiko eines ovariellen Überstimulationssyndroms (OHSS; Ludwig et al. 1997), welches zumindest potenziell ein lebensbedrohliches Risiko darstellen kann (Elchalal u. Schenker 1997; Ludwig et al. 1999). Abgesehen von den Symptomen der hormonellen Kastration, wie postmenopausale Beschwerden, kann darüber hinaus die Applikation unbeabsichtigt in der Frühschwangerschaft erfolgen. Trotzdem haben sich GnRH-Agonisten aufgrund der guten Effizienz und Kontrollierbarkeit sowie mangels besserer Alternativen als Goldstandard etabliert.

Eine Metaanalyse fasste die Ergebnisse aller randomisiert kontrollierten Studien zusammen, die sich mit den Unterschieden eines kurzen und langen GnRH Protokolls befasst haben.

Die kurzen Flare-up- Protokolle erwiesen sich gegenüber dem langen Protokoll im Hinblick auf Schwangerschaftsrate und Zahl der gewonnenen Eizellen als unterlegen. Der Gonadotrophin-Verbrauch war beim langen GnRH-Protokoll signifikant höher (Tan SL 1991, Daya S 2000).

Im „**kurzen GnRH-Agonisten-Protokoll**“ erfolgt die tägliche Agonisten-Verabreichung in der frühen Follikelphase ab dem 2. Zyklustag bis zur hCG-Gabe (Garcia JE 1990).

Durch den flare-up-Effekt vorhandene FSH-Werte können für die Follikelrekrutierung in der frühen Follikelphase therapeutisch genutzt werden. Die exogene Gonadotropinsubstitution kann entweder mit hMG oder mit FSH erfolgen. Die Follikelpunktion wird üblicher Weise 36 Stunden nach der hCG Applikation durchgeführt. Der Embryotransfer erfolgt nach etwa 2-3 Tagen.

Der flare-up-Effekt mit hohen endogenen FSH-Werten kann theoretisch bei Patientinnen mit bestätigtem oder erwarteten schlechten Ansprechen auf exogene Gonadotropine (Low Responder) nützlich sein.

Das „**ultralange Protokoll**“ ist speziell für Endometriose Patientinnen entwickelt worden. Es wird in der Regel 2-6 Monate vor Gonadotropinstimulation mit der Gabe der GnRH-Agonisten-Gabe begonnen (Kim CH 1996).

Beim ultrakurzen Protokoll endet die GnRH-Agonisten-Gabe frühzeitig in der mittleren bis späten Follikelphase bereits vor der Ovulationsinduktion (Dorn C und Griesinger G 2009).

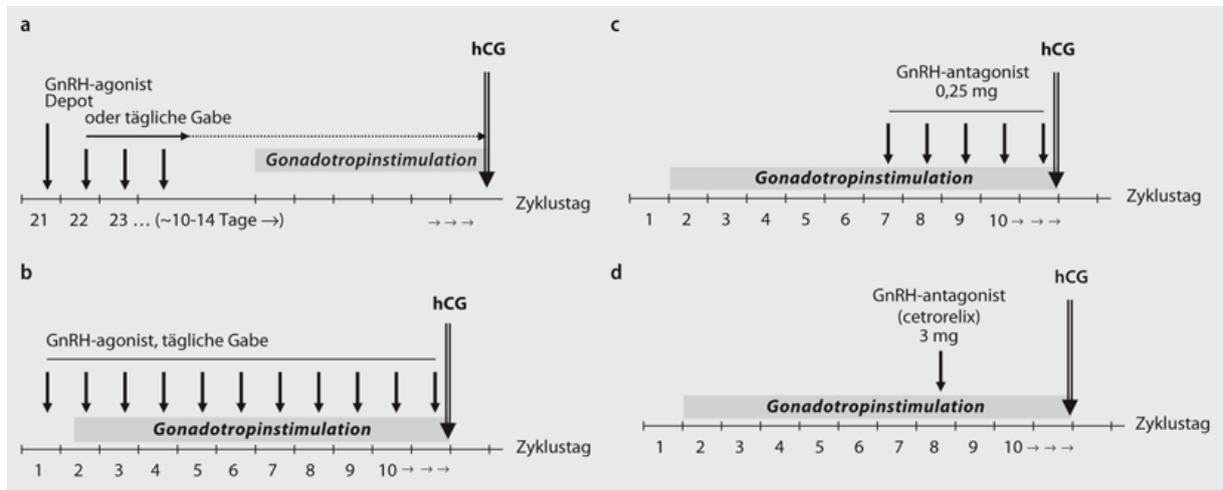


Abb. 2-9: a) GnRH-Agonist, langes luteales Protokoll

b) GnRH-Agonist, kurzes Protokoll

c) GnRH-Antagonist, Mehrfach-Dosis-Protokoll

d) GnRH-Antagonist, Einfach-Dosis Protokoll

Dorn C und Griesinger G 2009, Gynäkologische Endokrinologie 7: 167, Springer Verlag

2.6.1.4. Kontrollierte ovarielle Hyperstimulation mit GnRH-Antagonisten

Die GnRH-Antagonisten blockieren kompetitiv die Rezeptoren an den gonadotropen Zellen ohne zeitliche Verzögerung.

Erstmalig zeigten 1994 Diedrich et al., dass eine ovarielle Stimulation zur IVF unter Kontrolle mit dem GnRH-Antagonisten Cetorelix möglich war (Diedrich et al.1994). Zur Bestimmung der minimal effektiven Dosis wurde in verschiedenen Dosisfindungsstudien mit absteigenden Dosierungen eine tägliche Gabe von 0,25 mg als ausreichend erachtet (Albano et al. 1997, Felberbaum et al.1996). Cetorelix und Ganirelix sind die Vertreter dieser Gruppe und können ihre Wirkung durch eine einmalige Gabe (3 mg am 7. Stimulationstag) oder als Mehrfach-Gabe (0,25 mg ab dem 5. oder 6. Stimulationstag) entfalten. Die unmittelbar eintretende Wirkung der Antagonisten ist Dosis abhängig und wird unter Dauerbehandlung aufrecht erhalten. Nach Beendigung der Applikation kommt es zur Normalisierung der Funktion der Gonaden innerhalb weniger Tage.

Die Metaanalyse von Wilcox et al. konnte zeigen, dass beide Applikationsformen im Hinblick

auf die Schwangerschaftsrate equieffektiv sind (Wilcox et al.2005).

Eine weitere Metaanalyse beschäftigte sich mit dem Vergleich der sogenannten fixen-GnRH-Antagonisten-Gabe (am Tag 6) und an Follikel Durchmesser orientierter Gabe und fand keinen signifikanten Unterschied für die Schwangerschaftsrate (Al-Inany et al. 2005).

Die ersten klinischen Ergebnisse deuteten darauf hin, dass die Antagonistenprotokolle den Agonistenprotokollen überlegen sind.

Einige kleine Untersuchungen konnten aber zeigen, dass im Vergleich zu einem flexiblen GnRH-Antagonisten Protokoll mit einem langen Agonistenprotokoll mehr Oozyten gewonnen wurden (Hohman et al. 2003, Weghofer et al. 2004, Ragni et al., 2005). Die Metaanalyse von Al-Inany und Aboulgar bestätigte dieses Ergebnis. Eine Antagonistenbehandlung war aber im Vergleich zu GnRH-Agonisten kurz, sicher und nebenwirkungsarm (Al-Inany H, Aboulghar M 2002).

Obwohl unter dem Einsatz der Antagonisten der gefürchtete vorzeitige LH-Anstieg etwas häufiger vorkommt und die Zahl der gewonnenen Eizellen geringer ist, bleibt die Wahrscheinlichkeit einer Lebendgeburt nach IVF bei Agonisten und Antagonisten Protokollen ähnlich. Dies bestätigten 2 unabhängige Metaanalysen aus dem Jahre 2006 nach Analyse 22 bzw.15 randomisierter Studien (Al-Inany et al. 2006, Kolibianakis EM et al. 2006).

Eine Vortherapie mit Östrogenen oder Ovulationshemmern ist eine einfache Alternative für die Gonadotropinsuppression in der frühen Follikulärphase.

Viele Studien konnten zeigen, dass durch die zusätzliche Gabe eines Ovulationshemmers zu GnRH-Antagonisten (fix oder flexibel) die Zahl der gewonnenen Eizellen und Schwangerschaftsraten bei der normalen IVF-Population (Vlaisavljevic et al. 2003, Hwang et al. 2004, Sauer et al. 2004, Barmat et al. 2005, Huirne et al. 2006, Rombauts et al. 2006) sowie bei PCO-Patientinnen (Bahceci et al. 2005) und bei Low Respondern (Cheung et al. 2005) auf das Niveau des Agonisten angehoben werden kann. Die Subgruppenanalyse dieser Studien zeigt, dass die flexiblen GnRH-Antagonist-Protokolle mit einer Ovulationshemmer Vortherapie dem langen Agonisten-Protokollen im Hinblick auf die Zahl der gewonnenen Eizellen und Schwangerschaftsraten unterlegen sind. Außerdem bestätigten diese Metaanalysen, dass das Risiko für die Entwicklung eines schweren Überstimulationssyndroms durch GnRH-Antagonisten-Protokolle signifikant gesenkt werden kann. Der Gonadotropinverbrauch ist auch mit Antagonistenprotokollen signifikant geringer

(Al-Inany HG et al. 2006, Kolibianakis EM et al. 2006). Die Tabelle 2-10 zeigt die Verwendung von GnRH-Analoga zur ovariellen Hyperstimulation in Deutschland. Hierbei fällt eine Zunahme der GnRH-Antagonisten-Protokolle im Vergleich zu vorangegangenen Jahren auf.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Antagonistenprotokolle kompakter, physiologischer und nebenwirkungsärmer sind und daher in der Zukunft häufiger eingesetzt werden sollten.

Tab. 2-10: Verwendung von GnRH-Analoga zur kontrollierten Hyperstimulation: Ergebnisse des Deutschen IVF-Registers (DIR) 2008

	Behandlungszyklen (n) IVF / ICSI	Embryotransfer(%) IVF / ICSI	Klinische Schwangerschaftsrate(%) IVF / ICSI
GnRH-Kurz	934 / 2815	92,93 / 91,97	25,69 / 21,92
GnRH-Lang	5266 / 16429	89,29 / 93,73	31,77 / 31,61
Antagonisten Protokoll	3131 / 9344	88,63 / 91,64	28,98 / 26,30

2.6.1.5. Neue Methoden der Ovulationsinduktion

2.6.1.5.1 Aromataseinhibitoren

Auf der Suche nach Alternativen zu CC stieß man auf die Aromatasehemmer, die ebenfalls per os gegeben werden können, da sie einfach in der Anwendung, relativ günstig und ohne nennenswerte Nebenwirkungen sind. Aromatasehemmer verhindern die Bildung des Östrogens aus Androstendion und Testosteron (Cole PA et al. 1990). Als Folge davon steigt die FSH-Ausschüttung aus der Hypophyse, welche Ovarialfollikel stimulieren. Gleichzeitig reichern sich Androgene im Ovar an, da sie nicht mehr zu Östrogenen aromatisiert werden. Diese Androgene erhöhen wiederum die Sensitivität der Follikel für FSH (Hohl MK, 2007).

Im Rahmen der Dosisfindungsstudie verglichen Al-Fadhli et al. 2006 in einer prospektiv randomisierten Studie 2,5 mg Letrozol mit 5 mg zur Superovulation mit intrauteriner Insemination bei Frauen unter 40 Jahren, offenen Tuben und unerfülltem Kinderwunsch seit mehr als einem Jahr. 38 Patientinnen erhielten 5 mg Letrozol und 34 erhielten 2,5 mg Letrozol für jeweils 5 Tage. Bei einem führenden Follikel von 18 mm wurde zur Ovulationsinduktion HCG appliziert und die Insemination 24 und 48 Stunden später vorgenommen. Unter 5 mg war das Endometrium dicker, die Zahl der Follikel signifikant höher und die Schwangerschaftsrate pro Zyklus ebenfalls signifikant höher (26,3% versus 5,9%, $p < 0,05$). Mehrlingsschwangerschaften traten nicht auf.

Tehrani et al. haben in einer randomisierten Studie (n=140) täglich 5 mg Aromatasehemmer (Letrozol) mit 100 mg Clomifen täglich bei infertilen, nicht vorbehandelten Patientinnen verglichen. Während die Zahl der gewonnenen Eizellen in der Letrozol-Gruppe niedriger war, war die klinische Schwangerschaftsrate 32,8% vs. 14,3% signifikant besser (Tehrani SH et al. 2008). Im Vergleich zu CC findet man bei Letrozol-Patientinnen ein dickeres Endometrium (Hohl MK 2007). Die selektiven Aromataseinhibitoren haben mit ca. 45 Stunden eine relativ kurze Halbwertszeit, was für diesen Einsatz sehr günstig ist (Sioufi A et al. 1997). Möglicherweise könnten Aromatasehemmer zukünftig die 2. Wahl nach einer Clomifen-Resistenz vor einer FSH-Stimulation darstellen (Quintero et al. 2007).

2.6.1.5.2. Aromatasehemmer plus Gonadotropine

Kombiniert man Letrozol mit Gonadotropinen zur Ovulationsinduktion braucht es weniger Gonadotropine zur Ovulationsinduktion bei gleichbleibender Schwangerschaftsrate.

Erste Daten deuten auf vorteilhafte Effekte einer Komedikation bei der IVF hin (Bohlmann et al. 2008). 1387 Clomifen resistente PCOS-Patientinnen wurden randomisiert. Eine Gruppe erhielt zusätzlich zum rFSH Letrozol und die zweite Gruppe Clomifen. Die klinische Schwangerschaftsrate war mit 23,4% im Vergleich zur 17,9% in der Letrozol-Gruppe tendenziell besser (Ganesh A et al. 2009).

Bei sogenannten Poor Responder Patientinnen, die einen niedrigen AMH-Wert aufweisen und auf eine hohe FSH-Dosis gegebenenfalls nur mit dem Wachstum von 1 oder 2 Leitfollikeln reagieren, scheinen die AH eine kosteneffektive Option zu sein (Dorn C et al. 2009).

Bereits 2002 konnten Mitwally et al. zeigen, dass durch die zusätzliche Letrozol-Gabe zum rFSH die Zahl der gewonnenen Eizellen (3,3 vs. 1,9) gesteigert und die FSH-Dosis bei gleichbleibender Schwangerschaftsrate reduziert werden kann (Mitwally MFM et al. 2002).

In diesem Zusammenhang wäre auch ein Stimulationsprotokoll im modifizierten natürlichen Zyklus möglich, d.h. keine Stimulation bis Tag 7 oder 8, dann r-hFSH mit 75/150 I.E. täglich und gleichzeitige Applikationen eines GnRH Antagonisten bis zu einer Leitfollikelgröße von 16-17 mm mit anschließender hCG-Applikation (Cordes A et al.,2008).

Trotz der zahlreichen Daten sind entscheidende Fragestellungen der Aromatasehemmer-Anwendung z.B. Fehlbildungsrisiko und optimale Dosis im Rahmen einer Sterilitätsbehandlung noch nicht ausreichend beantwortet.

2.7. Adjuvante Therapien

Seit Einführung der assistierten Reproduktionsmedizin liefen diverse Optimierungprozesse im Bereich der kontrollierten ovariellen Hyperstimulation.

2.7.1. Vorbehandlung mit oralen Kontrazeptiva

In jedem Zyklus treten etwa 1000 Primordialfollikel in die Wachstumsphase ein, aus denen nur einer zum dominanten Follikel selektiert wird, der zur Ovulation gelangt. Die kleineren Follikel mit weniger FSH-Rezeptoren können nicht mehr wachsen und werden atretisch. Durch die Synchronisierung des Wachstums könnten mehrere Follikel gleichzeitig wachsen, was die Zahl der gewonnenen Eizellen steigern könnte. Anderson et al. konnte 1990 zeigen, dass Progesteron durch die Kontrolle des luteinisierenden Hormons in den Synchronisations-

prozess involviert ist. In den früheren Studien konnte gezeigt werden, dass durch Ethynil-östradiol und Suppression des Gonadotropins die folliculäre Phase verlängert und der LH-Peak verschoben werden kann. Der Einsatz eines Ovulationshemmers in Antagonisten Protokollen ist mittlerweile gut etabliert (Fischl et al. 2001, Cedrin-Durnerin et al. 2004).

Eine Vortherapie mit Östrogenen oder Ovulationshemmern ist eine einfache Alternative für die Gonadotropinsuppression in der frühen Follikulärphase. Es wird außerdem über das optimale Medikament und die Therapiedauer debattiert. Eine der ersten Studien konnte zeigen, dass durch die Gabe von Ovulationshemmer vor der GnRH Analogon-Applikation die ovarielle Zystenbildung, ohne den Erfolg zu beeinträchtigen, signifikant reduziert werden können (Biljan MM et al. 1998). Frauen mit polyzystischen Ovarien (PCOS) haben jedoch ein hohes Risiko für ein Überstimulationssyndrom (OHSS).

Die Kombination des Ovulationshemmers mit dem GnRH Analogon könnte helfen bei den Patientinnen ein Hyperstimulationssyndrom zu reduzieren. Dieser Effekt wird zurzeit in mehreren Studien überprüft (Szekeres-Bartho und Balasch J 2008).

Obwohl zur Zeit nicht genügend Daten aus prospektiv randomisierten Studien existieren, kann man anhand der Ergebnisse einiger kleineren Studien sagen, dass eine 1-2 monatige Vorbehandlung mit einem oralen Kontrazeptivum bei CC-Resistenz die Ovulationsraten einer ovariellen Stimulation mit Clomiphen leicht verbessern kann (Branigan EF und Estes MA 2003).

2.7.2. Östrogene

Das Corpus Luteum produziert nicht nur Progesteron, sondern auch Östrogen. Aus dem Grund macht eine Östrogensubstitution nach dem Embryotransfer möglicher Weise Sinn.

Görkemli et al. untersuchten 2004 die Auswirkungen einer transdermalen Östradiol-Applikation auf die Implantations- und Schwangerschaftsraten in ICSI-Zyklen. Insgesamt wurden 310 ICSI-Zyklen in 2 Gruppen randomisiert. Gruppe 1 erhielt täglich 600 mg mikronisiertes Progesteron vaginal, und Gruppe II zusätzlich zum Progesteron 100 Mikrogramm Östradiol transdermal täglich. In der Östrogen-Gruppe waren die Implantations- und Schwangerschaftsraten signifikant besser. Die Metaanalyse von Fatemi et al. 2007 bestätigt diese Ergebnisse.

Bekannterweise ist Clomiphen ein nonsteroidales Triphenylethylen-Derivat und gehört zu der Gruppe der selektiven Östrogenmodulatoren mit Östrogen-agonistischen und antagonistischen

Eigenschaften. Zusätzliche Gabe von Ethinylöstradiol (20-50µg/Tag) oder Östradiol (z.B.2-6 mg Östradiol/Tag) vom 8-12. Zyklustag kann die negativen Effekte des Clomiphens an Zervix und /oder Endometrium und in Folge dessen die Schwangerschaftsraten verbessern. Obwohl einige kleine Studien diese Hypothese bestätigen, reichen diese Daten für eine abschließende Bewertung noch nicht.

2.7.3. Androgene

Nach dem bereits schon im Jahre 1979 Zeleznik et al. in Tiermodellen zeigen konnten, dass Androgene die Empfindlichkeit der Eierstöcke auf die Gonadotropine steigern können, untersuchten mehrere Arbeitsgruppen einen möglichen Zusammenhang zwischen dem niedrigen basalen Testosteron Level und einem schlechten IVF Outcome. Frattarelli et al. konnten 2004 den prädiktiven Wert der Testosterons bei IVF Patientinnen nachweisen.

Durch die Down-Regulation mittels GnRH-Analoga im Rahmen der IVF/ICSI kommt es zu einer LH-Suppression und daraus resultierendem Progesterondefizit. Entsprechend spielen die Gestagene in der Lutealphasenunterstützung eine große Rolle.

2.7.4. Insulin sensitisierende Substanzen

Das polyzystische Ovarien Syndrom (PCOS) ist die häufigste Ursache einer anovulatorischen Infertilität. Viele Patientinnen mit einem PCO-Syndrom zeigen eine Insulinresistenz und die Hyperinsulinämie spielt in der Pathogenese der ovariellen Dysfunktion eine Schlüsselrolle (Dunaif A et al. 1992, Utiger RD 1996). Patientinnen mit einem PCO-Syndrom brauchen während einer ovariellen Stimulation deutlich länger und mehr FSH. Es lassen sich mehr Follikel mit einem hohen Estradiollevel produzieren, was für die Entwicklung eines Überstimulationssyndroms ein erhöhtes Risiko darstellt. Daraus resultierten meist eine höhere Stimulationsabbruchrate und geringer Schwangerschaftsraten (Yarali H et al. 2004, Abulghar MA et al. 2003). In einer retrospektiven Analyse konnten Stadtmauer et al. (2001) durch eine vorgeschaltete Metformin Therapie bei 46 Patientinnen mit PCOS signifikant höhere Fertilisations- und Schwangerschaftsraten nachweisen. Daraufhin wurden mehrere randomisiert kontrollierte Studien durchgeführt um die Ergebnisse zu kontrollieren. Alle Studien hatten ein unterschiedliches Design, insbesondere variierte die Länge der Metformintherapie

erheblich (4W-16W). Nur die Zahl der gewonnenen Zellen war bei adipösen Patientinnen mit Insulinresistenz und PCOS signifikant besser. Außerdem ließ sich eine signifikante Reduktion des Überstimulationssyndroms in fast allen Studien nachweisen.

Abschließend muss festgehalten werden, dass für diese heterogene Patientinnen Population noch mehrere Studien durchgeführt werden müssen, um das richtige Therapieprotokoll zu etablieren.

2.7.5. Growth Hormon

Mendosa et al. konnten 2002 zeigen, dass die Growth Hormon Konzentration in der folliculären Flüssigkeit bei älteren Patientinnen signifikant niedriger ist als bei jüngeren Patientinnen. Anderen Forschern gelang es eine Beziehung zwischen dem IGF-I und Growth Hormon zu zeigen. IGF-I kombiniert mit Gonadotropinen führt zur besseren Stimulierbarkeit der Follikel sowie deren Maturation (Adashi et al. 1985, Erickson GF et al. 1989). In den folgenden Jahren durchgeführte diverse randomisiert kontrollierte Studien mit eher kleineren Fallzahlen kamen zu widersprüchlichen Ergebnissen (Owen et al. 1991, Homburg et al. 1995). Eine Metaanalyse durch Harper et al. aus dem Jahr 2003 untersuchte alle randomisiert kontrollierten Studien mit kleinen Fallzahlen und kam zur Schlussfolgerung, dass eine additive Growth Hormon-Gabe im Hinblick auf lebend Geburtenrate nur bei Patientinnen der Low Responder-Gruppe nachweisbar ist. Eine weitere Studie von Tesarik et al. konnte Vorteile einer additiven Growth Hormone Gabe bei Frauen über 40 Jahre zeigen (Tesarik et al 2005).

Eine generelle Empfehlung kann wegen der Aussagekraft der kleinen Studien und Kosten bzw. potenziellen Nebenwirkungen nicht ausgesprochen werden.

2.7.6. Acetylsalicylsäure

Acetylsalicylsäure ist eine vasoaktive Substanz und hemmt irreversibel Cyclooxygenase. Diese Inhibition ändert die Balance der vasoaktiven Substanzen zu Gunsten des Prostacyclins, was eine Vasodilatation hervorruft. Es wurde die Hypothese aufgestellt, dass sich die verbesserte Durchblutung der Ovarien in IVF Ergebnissen niederschlagen könnte. Eine der ersten Studien mit einer kleinen Fallzahl konnte diese Theorie bestätigen. Es konnten im Vergleich zur Placebo-Gruppe signifikant mehr Oozyten gewonnen werden (Rubinstein et al.

1999). Eine weitere Studie von Lok et al. im Jahre 2004 kam zu einem völlig anderen Ergebnis. Weder die Schwangerschaftsrate noch die Zahl der gewonnenen Eizellen konnte durch eine niedrig dosierte ASS-Gabe vor und während der Stimulation verbessert werden. Gelbaya et al. analysierten 2007 alle randomisiert kontrollierten Studien zu diesem Thema und kamen zur Schlussfolgerung, dass eine niedrig dosierte Acetylsalicylsäure-Gabe weder die Schwangerschaftsrate noch die Embryotransferrate signifikant verbessert. Die letzte publizierte Studie von Drickxs et al. bestätigte dieses Ergebnis (Drickxs et al. 2009).

Bewiesen ist, dass es durch eine hypoxische Umgebung zur Abnahme der Zahl der Granulosa Zellen kommt, was wiederum die Steroid- und Glykoproteinproduktion verschlechtert (Seifer DB und Naftolin F, 1996). Dieser Prozess lässt sich anscheinend durch eine Aspirin-Gabe nicht beeinflussen.

2.8. Low (Poor) Responder Patienten

Die erste Beschreibung erfolgte im Jahre 1981 durch Garcia et al.. Bis heute werden durch mehrere Autoren verschiedene Aspekte dieses Phänomens kontrovers diskutiert.

Eine weltweit akzeptierte einheitliche Definition in der Literatur für Low Responder existiert aber bisher nicht. Die Inzidenz variiert aufgrund dessen zwischen 9 und 24 % (Keay et al. 1997, Karande und Gleicher 1999, Fasouliotis et al. 2000, Tarlatzis et al. 2003). Trotz fehlendem Konsens wird häufig die Entwicklung von weniger als 3-5 Follikeln als Reaktion auf die ovarielle Stimulation mit Gonadotropinen (225 IU FSH täglich) (Hoomans et al. 1999, Yong et al. 2003, Out et al. 2004) sowie abgebrochene vorausgegangene Stimulation und hoher basaler FSH-Level (Surrey und Schoolcraft 2000, Tarlatzis et al. 2003) als Hinweise beschrieben. Die Abbildung 2-10 zeigt ein Ultraschallbild eines Ovars mit einem einzigen Follikel, wie es bei Low Respondern häufig vorkommt.



Abb. 2-10: Ultraschallbild eines Ovars mit einem einzigen Follikel nach der kontrollierten ovariellen Hyperstimulation

Die Ursachen für das schlechte Ansprechen der Ovarien auf die Stimulation können in den meisten Fällen nicht geklärt werden. Als potenzielle Ursachen werden Adipositas, Nikotinabusus, vorausgegangene entzündliche Erkrankungen der Ovarien, Endometriose, Zustand nach Ovarialchirurgie (Zhen XM 2008), Zustand nach Radiatio und Chemotherapie sowie Autoimmunerkrankungen genannt (Nikolau D et al., Zollner U et al., Tibiletti M et al.). Im zunehmenden Alter nimmt die Follikelzahl ab und die ovarielle Reserve verschlechtert sich. Das Alter über 39 Jahre wird als ein entscheidender Faktor für Poor Responder definiert (Muasher SJ 1993). Gelegentlich sind die Patientinnen mit einem schlechten Ansprechen auf die Gonadotropinstimulation deutlich jünger. Diese junge Patientinnen haben nicht immer erhöhte FSH-Werte und trotzdem reagieren sie mit einem schlechten Ansprechen auf die Stimulation (Jacobs SL et al. 1990, Cameron IT et al. 1988).

Auf der Basis dieser Kenntnisse werden 3 unterschiedliche Low Responder Populationen definiert (Barri et al. 2000).

- 1) Ältere Patientin mit abnormalem endokrinen Profil
- 2) Junge Patientin mit älterem endokrinen Profil
- 3) Junge Patientin mit einem normalen basal Hormon Profil

Eine verständliche akzeptable Hypothese für die Ursache des schlechten Ansprechens bei jungen Patientinnen mit einem normalen basalen Hormon Profil konnte bisher nicht aufgestellt werden.

Diese Vielzahl von Definitionen, abgesehen davon, dass dies verwirrend ist, erschwert die Vergleiche zwischen den Studien, da ein Poor Responder in einer Studie in einer anderen nicht als solcher akzeptiert wird (Pellicer et al. 1998). Die Bestimmung der ovariellen Reserve vor der Stimulation könnte helfen ein geeignetes Stimulationsprotokoll zu finden. Das Bestimmen der ovariellen Reserve ist jedoch extrem schwierig, weil ein genauer prädiktiver Test weiterhin nicht zur Verfügung steht.

Die Bestimmung des basalen FSH bzw. Estradiol einzeln lässt keine Aussage zu, weil die starken Schwankungen zwischen den einzelnen Zyklen erheblich sind. Eine verlässliche Abschätzung ist nur durch mehrfache Messung (FSH 3x, Estradiol 14x) möglich (Feyereisen E et al. 2006). Eine Aussage ist jedoch nur durch Kombination beider Werte möglich. Bereits bei FSH Konzentrationen von $>8 -15$ mIU/ml ist eine spontane Konzeption sehr unwahrscheinlich (van der Steeg et al. 2007).

Eine Hormondiagnostik, insbesondere die Bestimmung des basalen FSH und Estradiol ist nur in der frühen Follikelphase (Tag 3-5 des Zyklus) wertvoll. Einzige Ausnahme ist das Anti-Müller-Hormon, was wenige Schwankungen im Zyklusverlauf aufweist, die klinisch kaum relevant sind (Wunder D et al. 2008, Streuli I et al. 2008).

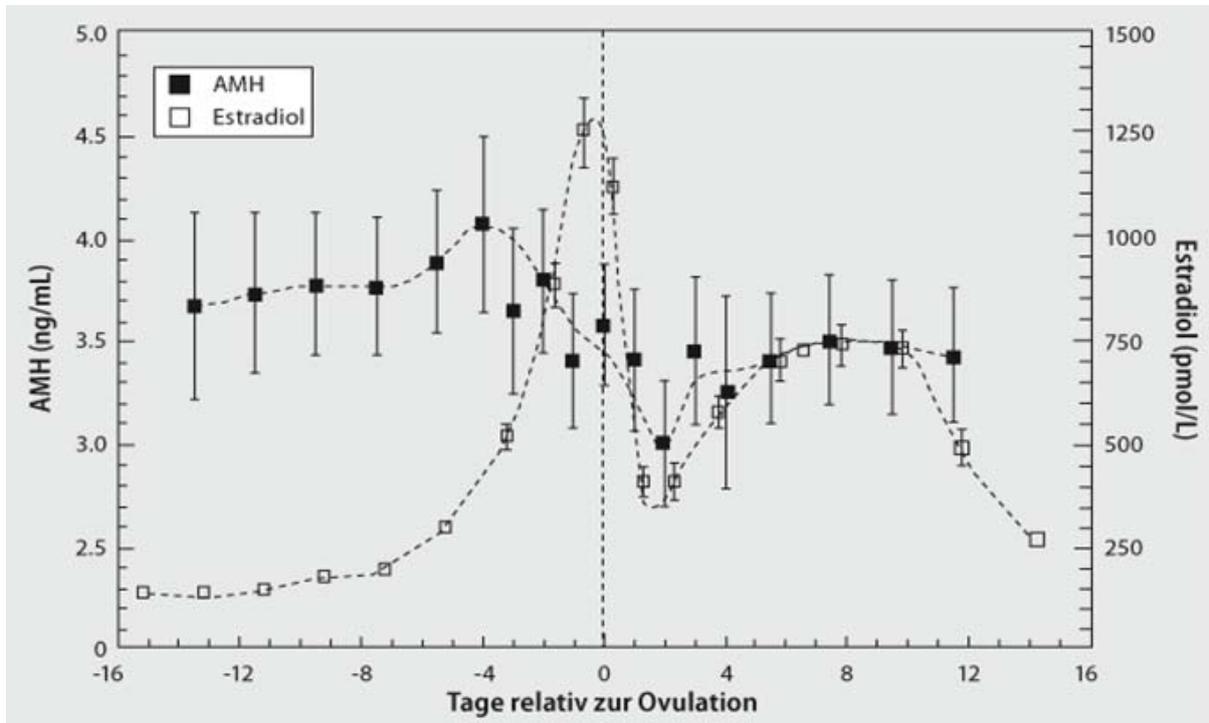


Abb. 2-11 Signifikante Schwankungen des AMH im Zyklusverlauf. Zu beachten ist v. a. der geringe, aber signifikante Abfall direkt postovulatorisch, was klinisch nicht relevant ist.

(Quelle: Wunder DM et al. 2007, Fertil Steril 90: 2203-2208)

Das Hormon Inhibin B wird in den Granulosazellen produziert und hemmt die FSH-Sekretion. Die Abnahme dieses Hormons bedeutet demnach eine kleine Follikelkohorte und führt zum Anstieg der basalen FSH-Werte. Schwellenwerte für die ovarielle Reserve sind nicht etabliert.

Das Anti-Müller-Hormon korreliert mit der Größe der heranwachsenden Kohorte von antralen Follikeln, was auf die funktionelle Aktivität des Ovars Hinweise gibt. Bei zyklusunabhängigen Werten $<1,0$ ng/ml ist die Wahrscheinlichkeit einer Gravidität deutlich geringer (Sütterlin S und Hoßmann I 2007).

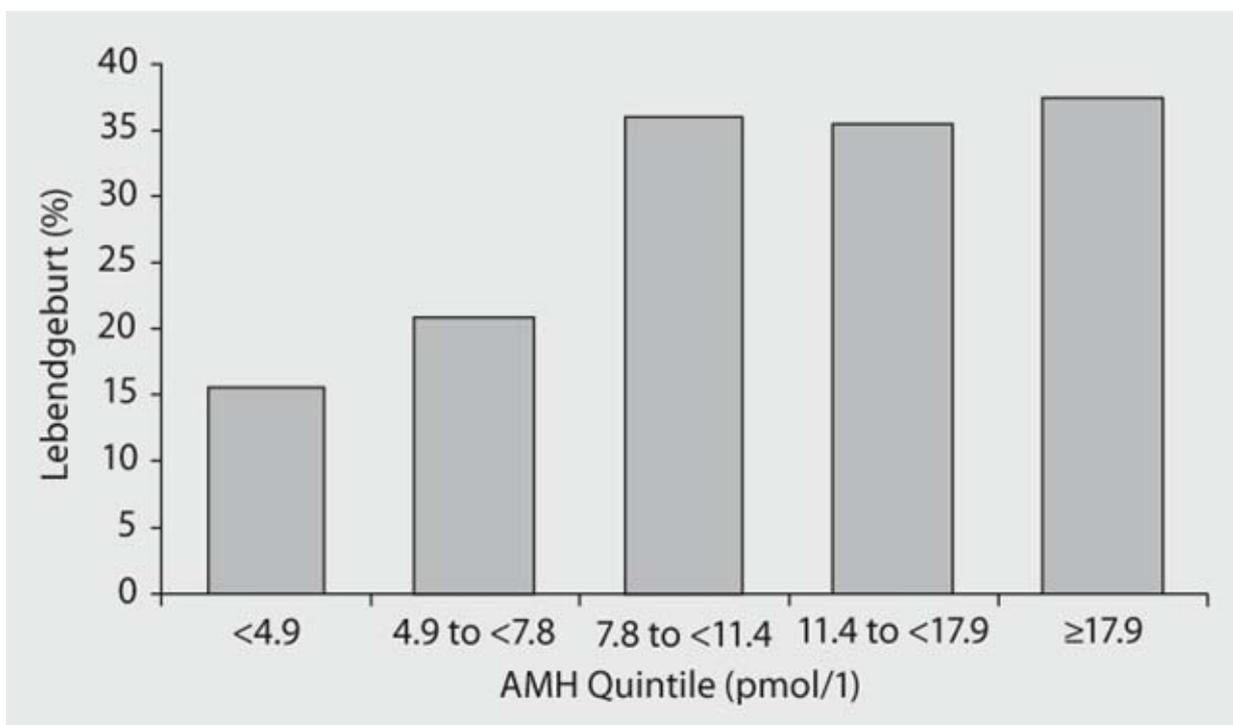


Abb. 2-12: Korrelation einer Lebendgeburt mit dem AMH-Spiegel im Rahmen einer IVF nach Nelson et al. 2007, Human Reproduction 22, S: 2414 (Ein Wert von 7,8 pmol/l entspricht etwa 1,1 ng/ml ($\text{pmol/l} = \text{ng/ml} \times 7,143$))

Trotz fehlender großer, prospektiver und randomisierter Studienergebnisse kann man heute davon ausgehen, dass in der Zukunft die Dosis der Stimulation vom AMH-Spiegel abhängig sein wird (Nelson S et al. 2009).

Ebenso deutet ein niedriger Estradiolspiegel von <50 pg/ml auf ein schlechtes Ansprechen bzw. ein Nichteintreten einer Gravidität (Sütterlin S und Hoßmann I 2007).

Weiterhin wird seit der Erstbeschreibung durch Chang et al. 1998 die Gesamtzahl der

sonographisch sichtbaren antralen Follikel (antraler Follikelcount, AFC) als Messverfahren zur Einschätzung der ovariellen Reserve propagiert. Der Aussagewert von Anti-Müller-Hormon und Inhibin B ist gleichwertig (Broekmann FJ et al. 2006).

Die Herausforderung bei all diesen Maßnahmen, die die ovarielle Reserve bestimmen sollen, ist die sichere und frühzeitige Identifikation jüngerer Frauen mit einer schlechten ovariellen Reserve. Validierte Tests zur Abschätzung der ovariellen Reserve sind leider noch nicht etabliert. Die neuesten Publikationen bestätigen die Aussagekraft des Anti-Müller-Hormons als Prädiktor für die ovarielle Reserve bei der kontrollierten ovariellen Hyperstimulation. Das AMH ist als Prädiktor besser als Alter der Patientin, FSH, Estradiol und Inhibin B und genauso effektiv wie Antralfollikelcount (La Marca A et al. 2009).

2.8.1. Kontrollierte ovarielle Hyperstimulation bei Low Responder Patientinnen

Ein universelles Stimulationsschema für diese Population fehlt ebenso, weil das Kollektiv der behandelten Patientinnen in den Studien sehr heterogen ist.

Es gibt diverse Therapieoptionen, die bei Low Responder Patientinnen angewendet werden. Es kommt entweder eine niedrig dosierte (natürlicher Zyklus) oder eine hoch dosierte Therapie zur Anwendung. Eine weitere Frage ist ob GnRH Agonisten oder GnRH Antagonisten zur Verhinderung eines frühzeitigen LH-Peaks eingesetzt werden sollen.

Nach der ersten Publikation der Ergebnisse durch Clomifen zur Ovulationinduktion von Greenblatt et al. im Jahre 1961 entwickelte sich dieses Medikament weltweit zur meist eingesetzten Substanz für diese Indikation. Die Clomifen-Gabe wurde meist mit einem Gonadotropin kombiniert. 1992 analysierten Dor et al. retrospektiv 1099 IVF Zyklen mit GnRH-a/hMG, hMG oder CC/hMG. Die mit GnRHa/hMG behandelte Gruppe wies die niedrigste Abbruchrate auf. Die höchste Zahl der gewonnenen, fertilisierten und geteilten Zellen ließ sich unter GnRHa-hMG erzielen. In der Subgruppenanalyse ließ sich jedoch eine schlechte Ansprechrate bei über 40 jährigen feststellen. Die Schwangerschaftsrate war jedoch mit CC/hMG im Vergleich zu beiden anderen Protokollen am höchsten. In den folgenden Jahren wurden 3 retrospektive Analysen eher mit kleineren Fallzahlen publiziert. Wenn die Patientinnen zusätzlich zur hMG-Gabe Clomifen bekamen, hatten sie ein signifikant besseres Ansprechen (Pellicer et al. 1987, Ben-Rafael Z et al. 1993, Pantos C et al. 1990, Awonuga et al. 1997). Problematisch ist jedoch das Risiko eines prämaturnen spontanen Anstiegs des luteinisierenden Hormons, welcher bei fast 20% der stimulierten Zyklen zu beobachten war

und zu einem Abbruch der IVF-Behandlung bzw. einer beeinträchtigten Eizellqualität führte (Tarlatis BC 1992). Unerwünschte Nebenwirkungen spielten auch eine erhebliche Rolle, weswegen sich in den folgenden Jahren eine Stimulation mit reinem hMG oder mit rekombinantem FSH und ggf. mit rekombinantem luteinisierendem Hormon auch bei Low Responder Patientinnen durchgesetzt hat. Das Antiöstrogen wirksame Clomiphenzitrat gilt weiterhin als kostengünstiges und erprobtes Mittel der Wahl zur Ovulationsinduktion bei hypothalamisch/ hypophysärer Dysfunktion.

Welches FSH besser geeignet ist, rekombinantes oder urinäres, wird kontrovers diskutiert. Eine klare Empfehlung diesbezüglich existiert nicht.

Humanes menopausales Gonadotrophin (hMG) enthält sowohl FSH als auch LH-Aktivität. Mit dem Einsatz verbesserter Aufreinigungsmethoden durch spezifische Antikörper gelang es, FSH und LH-Aktivitäten voneinander zu trennen. Heute existieren sowohl hochaufgereinigte urinäre Präparate als auch gentechnisch erzeugte reine sog. rekombinante FSH bzw. LH-Präparate nebeneinander. Die ersten Studienergebnisse gaben Hinweise darauf, dass die Stimulation mit rekombinantem FSH im Vergleich zu urinärem FSH günstigere Behandlungsergebnisse in der Low Responder-Population bringen kann (Raga et al. 1999, De Placido G et al. 2000).

Die zusätzliche Gabe eines Growth Hormons bei Poor Responder Patientinnen brachte leider nicht die erhoffte Erhöhung der Schwangerschaftsraten (Dor et al. 1995, Howels et al. 1999)

Die adjuvante Gabe von L-Arginine (Battaglia et al. 1999) und das niedrig dosierte Acetylsalicylsäure-Zufuhr führt möglicherweise zur Verbesserung der Durchblutung im Ovar und somit zum besseren Ansprechen der Ovarien auf die Stimulation, wie in kleineren Studien gezeigt werden konnte. Kan et al. 2006 führten systematische perifollikuläre dopplersonographische Messungen bei Poor Responder Patientinnen durch und stellten fest, dass das Outcome nicht von der guten oder schlechten perifollikulären Durchblutung abhängt, somit durch eine Verbesserung der Durchblutung z.B. durch Gabe von niedrig dosiertem Acetylsalicylsäure, das Outcome nicht verbessert werden kann.

2.9. High Responder

Wenn sich nach der konventionellen Stimulation der Ovarien übermäßig viele Oozyten gewinnen lassen, ist das mit einem schlechten klinischen Outcome assoziiert. Die High Response mit vielen Follikeln führt zu einer Steigerung der Östrogenkonzentration.

Nachweislich wirkt ein hoher Estradiolwert negativ auf die Entwicklung und das Implantationspotential der Oozyten (Valbuena et al. 1999, Forman R et al. 1988, Simon C et al. 1995, Ng EHY et al. 2000). Es ist jedoch unklar, ob High Response sich direkt auf Oozyt und Embryoqualität negativ auswirkt (Basir GS et al. 2001).

Pellicer et al. 1988 konnten zeigen, dass bei mehr als 10 gewonnenen Oozyten die Qualität der Oozyten abnimmt und in Folge dessen die Fertilisationsrate sinkt. Außerdem konnte nachgewiesen werden, dass durch die Überreaktion der Ovarien in Folge einer konventionellen Stimulation die Östradiol-Konzentration in den einzelnen Follikeln abnimmt und die Diploidierate steigt, was zu einer Verschlechterung der Fertilisationsrate führt (Aboulghar et al. 1997, Akagbosu S et al. 1997). Die Abbildung 2-13 zeigt ein Ultraschallbild eines Ovars mit mehreren Follikeln, wie es bei High Respondern häufig vorkommt.



Abb. 2-13: Ultraschallbild eines Ovars mit mehreren Follikeln nach der kontrollierten ovariellen Hyperstimulation

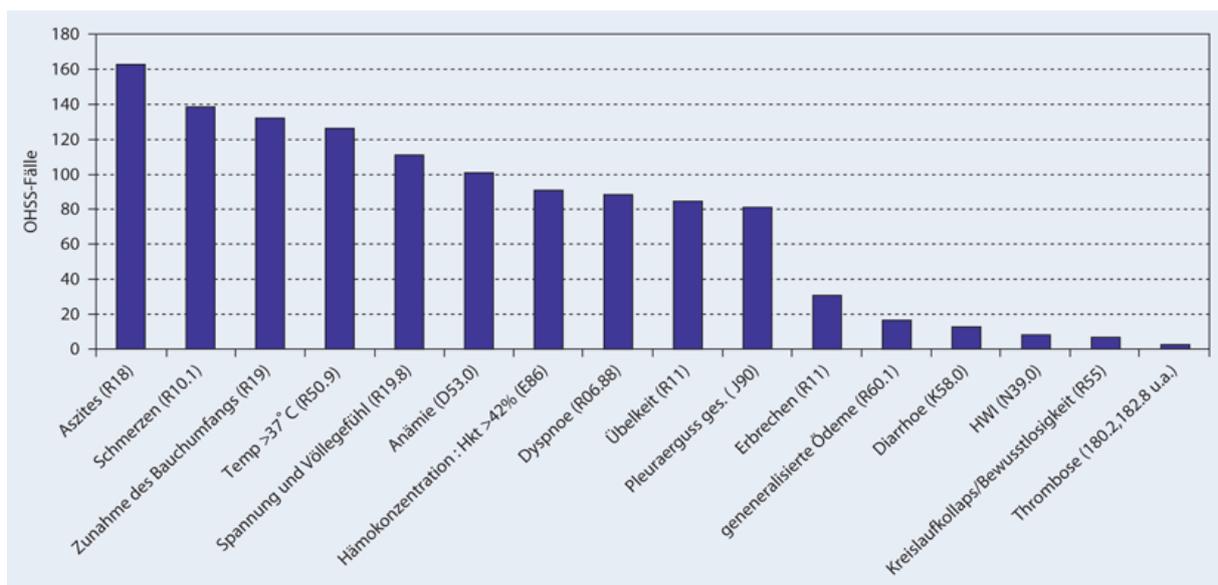
Eine klare Definition der High Response auf die ovarielle Stimulation existiert nicht. Während einige Autoren 15 gewonnene Eizellen als High Response definieren, sehen andere die Untergrenze bei 20 gewonnenen Eizellen. Hinzu kommt, dass einige Eizellen wegen der anatomischen Gegebenheiten einer Punktion nicht zugänglich sind.

Ein niedriger Anti-Müller Hormon-Wert kann ein Low Response voraussagen, da es in den Granulosazellen produziert wird. Viele Untersucher beschäftigen sich zurzeit, auf der Basis dieser Erkenntnisse, damit eine mögliche Korrelation zwischen einer hohen Anti-Müller-

Hormon-Konzentration und High Response nachzuweisen. Die ersten Ergebnisse sind ermutigend, so dass möglicherweise in naher Zukunft einige biochemische Parameter die Diagnosestellung bzw. Definition erleichtern werden (Aflatoonian A et al. 2009).

2.9.1 Überstimulationssyndrom

Ein Überstimulationssyndrom macht sich meist 48 Stunden nach hCG-Gabe mit Völlegefühl, Bauchschmerzen, Übelkeit und Erbrechen bemerkbar. Die Tabelle 2-11 zeigt die Verteilung der Symptome bei Überstimulationssyndrom. Die Sonographie des Abdomens zeigt meist deutlich vergrößerte Ovarien mit darin befindlichen zystisch veränderten Corpora lutea. Der Anti-Müller Hormonspiegel ist bei diesen Patientinnen im Vergleich zu normalen Kontrollen auf das sechsfache erhöht (Nakhuda GS et al. 2006).



Tab 2-11: Verteilung der Symptome bei OHSS-Patientinnen (Quelle: Binder H et al. 2007, Ovariellles Überstimulationssyndrom, Gynäkologische Endokrinologie 5:203-211, Springer Verlag)

Die Inzidenz der schweren OHSS liegt in Deutschland bei 0,36% (Deutsches IVF-Register, Jahresbericht 2008, Seite 28)

Schweregrade des Überstimulationssyndroms

(nach WHO-Definition von 1973 (Keck et al., 1997))

Grad I: Ovargröße <6 cm; geringer Aszites; Östradiol im Serum <5500 pmol/l; keine klinischen Symptome.

Grad II: Ovargröße <12 cm; mäßiger Aszites; Östradiol im Serum <18000 pmol/l; klinische Symptomatik: abdominales Spannungsgefühl, Übelkeit, Erbrechen.

Grad III: Ovargröße >12 cm; reichlich Aszites; Pleuraerguß; starke klinische Symptomatik: Schmerzen, Übelkeit, Erbrechen, Diarrhö, akutes Abdomen; Paraklinik: Hämokonzentration, Hypovolämie.

Das OHSS ist eine ernstzunehmende Komplikation im Rahmen der ovariellen Hyperstimulation und sollte zügig und adäquat behandelt werden. Die Behandlung besteht aus einer Infusionstherapie, ausreichender Antikoagulation und bei schweren Verlaufsformen sind die medikamentöse Unterstützung der Diurese und die Aszitesableitung gelegentlich erforderlich.

3. Fragestellung

In der Literatur existiert keine einheitliche Definition des schlechten Ansprechens auf die ovarielle Gonadotropinstimulation. Es gibt viele verschiedene Ansätze zur Verbesserung der ovariellen Ansprechrate. Jedoch fehlen immer noch große randomisierte Studien, die das beste Management für diese recht schwierig zu behandelnde Patientinnen definieren.

Ziel dieser Arbeit ist die Untersuchung der Auswirkung verschiedener Stimulationsprotokolle auf das ovarielle Ansprechen und auf die Ergebnisse assistierter Reproduktionsmedizin.

In der vorliegenden Arbeit werden die Daten der IVF- und ICSI-Behandlungen der Kinderwunschprechstunde der Frauenklinik der Universität des Saarlandes der Jahre 1998 bis 2006 ausgewertet.

Es wurden zunächst die Patientinnen mit unerfülltem Kinderwunsch je nach Ansprechen auf die ovarielle Stimulation in 3 Gruppen unterteilt. Die Anzahl der punktierten Follikel und der gewonnenen Eizellen, sowie die resultierenden Schwangerschaftsraten wurden abhängig vom eingesetzten Stimulationsprotokoll erfasst. Die Ergebnisse wurden bezüglich des im Stimulationsprotokoll verwendeten Gonadotropins verglichen.

Zusammenfassend kann man die Fragestellung dieser Arbeit in folgenden Punkten festhalten:

- Vergleich der Subgruppen untereinander im Hinblick auf das Outcome
- Vergleich der eigenen Ergebnisse mit den nationalen Ergebnissen
- Welche Rolle spielt das Alter bei Low Response auf die ovarielle Stimulation?
- Welches Stimulationsprotokoll führt bei Normal Responder Patientinnen zu besseren Ergebnissen?
- Welches Stimulationsprotokoll führt bei Low Responder Patientinnen zu besseren Ergebnissen?

4. Material und Methoden

4.1 Patientinnen

Die Daten wurden im Bereich der Reproduktionsmedizin und gynäkologischen Endokrinologie der Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe des Universitätsklinikums des Saarlandes retrospektiv aus den Akten erhoben und in einer Excel Tabelle (Microsoft Excel, Version 2000) zusammengestellt. Das ovarielle Ansprechen auf die Gonadotropen Hormone konnte bei insgesamt 1870 Stimulationszyklen evaluiert werden.

Die protokollierten Daten wurden zwischen Februar 1998 bis Februar 2006 erhoben.

Die untersuchten Parameter waren wie folgt:

- Alter
- Art der Stimulation
- Anzahl gewonnener Eizellen
- Zahl der fertilisierten Eizellen
- Fertilisationsrate
- Zahl der geteilten und transferierten Zellen
- Zahl der schwangeren Frauen
- Schwangerschaftsrate

Die Patientinnen mit unerfülltem Kinderwunsch wurden zunächst je nach Ansprechen auf die ovarielle Stimulation in 3 Gruppen (Low Responder, Normal Responder und High Responder) unterteilt. Die Patientinnen mit ≤ 5 gewonnenen Eizellen wurden der Low Responder-Gruppe zugeteilt, während die Patientinnen mit $>5-12$ gewonnenen Eizellen als Normal Responder betrachtet wurden. Die Patientinnen mit mehr als 12 gewonnenen Eizellen bildeten die Gruppe der High Responder.

4.2. Kontrollierte ovarielle Hyperstimulation

Zur Hypophysensuppression kamen ausschließlich GnRH-Agonisten im sogenannten langen Protokoll zur Anwendung. Dafür erhielten die Patientinnen täglich ab dem 21. Tag des vorhergehenden Zyklus bis zur Ovulationsauslösung entweder Triptorelinacetat (Decapeptyl® 0,1 mg, Ferring, Deutschland) oder Goserelin (Zoladex Gyn-Depot, Takeda Pharma, Japan)

subkutan. Mit der Stimulation mit Gonadotropinen wurde meist am 2. oder 3. Zyklustag begonnen. Zur Anwendung kamen viele verschiedene Gonadotropinpräparate und deren Kombinationen. Es wurden insgesamt 5 Gonadotropinstimulationsprotokolle definiert:

Protokoll 0: reines urinäres Gonadotropin (hMG) Menotropin (z.B. Menogon®HP; 75 IE FSH und 75 IE LH)

Protokoll 1: hMG (Menogon®HP + Urofollitropin (z.B. Fertinorm® HP=FSH Monopräparat, hochgereinigt, besteht aus 75 IE FSH, Serono, Deutschland

Protokoll 2: rFSH-Mono (Follitropin alpha, z.B. Gonal F® 75 IE ,5,5µ, Merk-Serono, Deutschland oder Follitropin Beta, Puregon®, 75 IE Organon, Deutschland)

Protokoll 3: rFSH+ hMG (z.B. Menogon®HP; 75 IE FSH+75 IE LH)

Protokoll 4: rFSH + rLH (Lutropin Alpha z.B. Luveris®, 75 IE LH, Merk-Serono, Deutschland)

Das Ansprechen des Ovars wurde anhand der Follikelgröße und Follikelzahl durch transvaginale Sonographie kontrolliert. Bei einer Leitfollikelgröße von mind. 18 mm wurde die Ovulationsinduktion durch eine i.m. Injektion von 10.000 IE HCG erfolgt. 36 Stunden später wurde die Gewinnung der Kumulus-Oozyte-Komplexe durch sonographisch gesteuerte Follikelaspiration vorgenommen. In etwa 85-90% der Fälle lässt sich die Eizelle aus dem Follikel ablösen. Die somit gewonnenen Oozyten werden kultiviert und zur Befruchtung verwendet. Je nach Befund kam entweder IVF (in-vitro-Fertilisation) oder ICSI (intrazytoplasmatische Spermieninjektion) als Fertilisationsmethode zur Anwendung.

4.3. Fertilisationsmethoden

4.3.1. In vitro Fertilisation(IVF)

Die durch die Punktion gewonnene Eizelle wird zunächst in einem Kulturmedium gewaschen und dann kultiviert. Die Aufbewahrung erfolgt im Inkubator bei 37°C und 5% Kohlendioxid

für ca. 3 Stunden. Nach anschließender Begutachtung und Eliminierung der unreifen Eizellen werden die Spermien durch Zentrifugation vom Seminalplasma getrennt und jeweils jeder Kultur zugefügt. Die unreifen Eizellen können durch weitere mehrstündige Kultivierung nachgereift werden. Ob eine Befruchtung stattgefunden hat, kann erst 15 bis 20 Stunden später per Mikroskopie überprüft werden. Die befruchtete Eizelle kann nach weiterer 24 h Kultivierung im Inkubator im zwei bis Achtzellstadium in die Uterushöhle oder Tube transferiert werden. Laut dem deutschen Embryonenschutzgesetz dürfen in Deutschland um das Risiko einer höhergradigen Mehrlingsschwangerschaft zu vermindern, maximal drei Embryonen transferiert werden.

4.3.2. Intrazytoplasmatische Spermieninjektion (ICSI)

Die Oozyten werden zur Ablösung der Kumuluszellen in ein 280 IU/ml Hyaluronidase enthaltendes Medium überführt. Da die Kumuluszellen weiteres maternales Erbmaterial enthalten, ist die komplette Befreiung sehr wichtig. Nach der anschließenden Beurteilung der Reife können die ausreichend reifen Eizellen direkt für die Spermieninjektion verwendet werden. Die unreifen werden wie oben beschrieben nachgereift. Ein motiles Spermium mit normaler Morphologie wird ausgesucht und in die Oozyte injiziert. Nach der Injektion müssen die Oozyten mehrfach mit Kulturmedium gewaschen und danach für 24 Stunden bei 37°C und 5 % Kohlendioxid inkubiert und die befruchteten Eizellen (maximal 3) werden in den Uterus transferiert.

4.3.3. Lutealphasenunterstützung

Unter GnRH-Agonisten-Gabe kommt es zu einem Lutealphasendefizit, welches medikamentös ausgeglichen werden muss. Unsere Patientinnen erhielten Progesteron entweder in Form von Kapseln oder als Vaginalgel 8%-ig (Crinone® Merck-Serono, Deutschland) oder (Utrogest ®, Dr. Kade Pharma, Deutschland). Die Lutealphasenunterstützung dauerte ab dem Tag der Follikelpunktion etwa 15-16 Tage. Wenn eine Schwangerschaft eintrat, wurde die Therapie bis zur 12. Schwangerschaftswoche fortgesetzt.

4.3.4. Schwangerschaftsnachweis

Der β hCG Wert im Serum, zur Feststellung der Schwangerschaft, wurde am 12. und 14. Tag nach Embryotransfer durchgeführt. Eine klinische Schwangerschaft ist definiert mit dem sonographischen Nachweis von mindestens einer intra oder extrauterinen Fruchthöhle (Steck, 2001). Das deutsche IVF-Register fordert den Nachweis eines β hCG Serumtiters von 100 IU/l zur Dokumentation einer Schwangerschaft.

4.3.5. Befruchtungsrate und Schwangerschaftsrate

Die folgende Formel ermittelt die Befruchtungsrate:

$$\text{Befruchtungsrate (\%)} = (\text{befruchtete Eizellen/gewonnene Eizellen}) \times 100$$

Die folgende Formel ermittelt die Schwangerschaftsrate:

$$\text{Schwangerschaftsrate (\%)} = (\text{alle Schwangeren/alle Patientinnen}) \times 100$$

4.3.6. Statistische Auswertung

Die erfassten Daten wurden mit der SPSS Software (SPSS Inc., Version 13.0) statistisch ausgewertet. Zur deskriptiven Statistik wurden die Häufigkeitsverteilungen mit Anzahl, Mittelwert und Standardabweichung sowie Median, Minimum und Maximum sowohl für das Gesamtkollektiv als auch für die Stimulationsprotokolle bestimmt.

Die Mittelwerte der quantitativen Variablen wurden immer mit ihren Standardabweichungen angegeben. Zur Prüfung der Variablen auf Normalverteilung wird der Kolmogorov-Smirnov-Test durchgeführt, wobei ein p-Wert >0.05 das Vorliegen einer Normalverteilung anzeigt. Durch den t-Test für mathematische Stichproben und den Mann-Whitney-U-Test wurde die Korrelation zwischen kategorialen und stetigen Merkmalen ermittelt. Die graphische Darstellung erfolgte über Boxplots.

4.3.6.1. Signifikanzniveau

Ein p-Wert <0.05 wurde als signifikant, ein p-Wert ≤ 0.01 als stark signifikant und ein p-Wert ≤ 0.001 als hoch signifikant bezeichnet.

Die Beratung zur statistischen Auswertung erfolgte durch Frau Dr. Ong (Institut für Biometrie und Epidemiologie der Universität des Saarlandes).

4.3.7. Datenschutz und Ethikvotum

Da es sich um eine retrospektive Datenanalyse handelt, wurde auf eine Begutachtung der Ethikkommission verzichtet. Vor der reproduktionsmedizinischen Behandlung gibt in der Regel jede Patientin nach entsprechender Aufklärung ihre Zustimmung zur Verwendung ihrer Daten zu Studienzwecken.

5. ERGEBNISSE

5.1. PARAMETER DES GESAMTKOLLEKTIVS

Die erste Tabelle zeigt die Ergebnisse der retrospektiv aus den Akten erhobenen Parameter für das Gesamtkollektiv. Von den insgesamt 1870 analysierten Stimulationenzyklen wurde anhand der Zahl der gewonnenen Eizellen 924 als Normal Responder, 569 als Low Responder und 377 als High Responder eingeteilt.

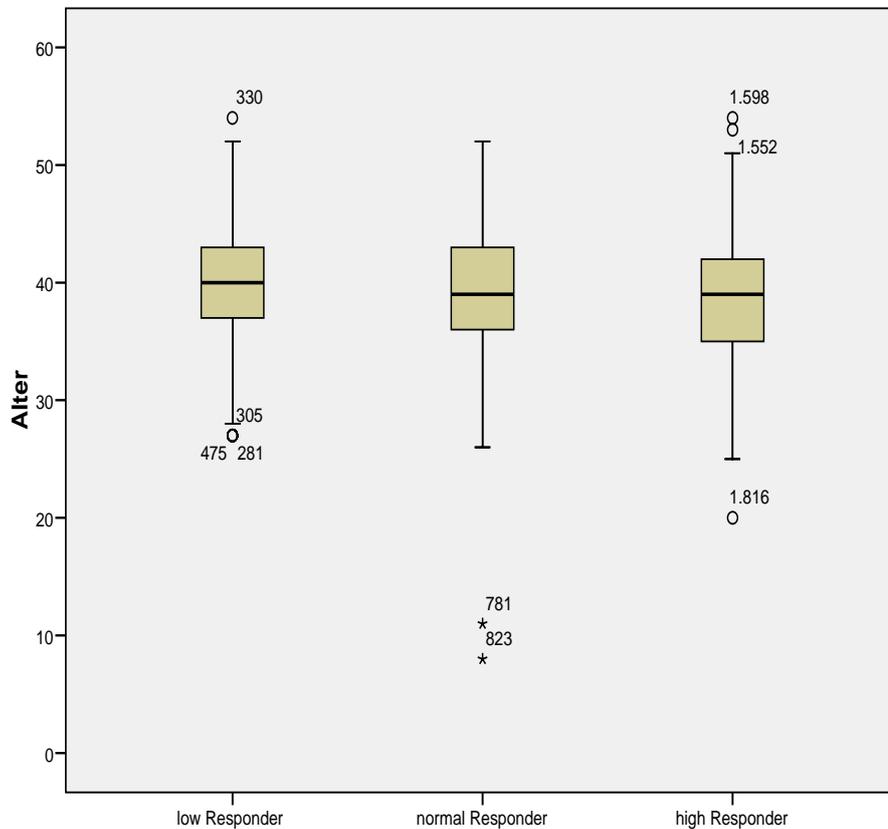
Tab. 5-1: Parameter des Gesamtkollektivs (n=1870)

	Normal Responder (n=924)	Low Responder (n=569)	High Responder (n=377)
Alter	38,8±5,1	39,8±4,8	38,4±5,2
Zahl der gewonnenen Eizellen	8,7±2,0	3,5±1,3	17,1±4,2
Zahl der fertilisierten Eizellen	4,5±2,5	2,0±1,3	8,2±4,8
Fertilisationsrate	51,1±26,6 %	57,8 ±34,0 %	48,1±25,9 %
Zahl der geteilten und transferierten Eizellen	2,2±0,9	1,7±0,9	1,9±1,0
Zahl der schwangeren Frauen	228	113	83
Schwangerschaftsrate	24,7%	19,9%	22,0%

5.1. 1. Altersverteilung im Gesamtkollektiv

Wie aus Tabelle 5-1 hervorgeht, gibt es in Bezug auf das Alter hoch signifikante Unterschiede zwischen Normal Responder (38,8±5,1) und Low Responder (39,8±4,8) ($p=0,000$) sowie

zwischen Low ($39,8 \pm 4,8$) und High Responder ($38,4 \pm 5,2$) ($p=0,000$). Im Gegensatz dazu besteht kein signifikanter Unterschied ($p=0,72$) in Bezug auf das Alter zwischen Normal ($38,8 \pm 5,1$) und High Responder ($38,4 \pm 5,2$), was auch graphisch mittels Boxplotdarstellung in Graphik 5-1 verdeutlicht wird.



Graphik 5-1: Altersverteilung im Gesamtkollektiv

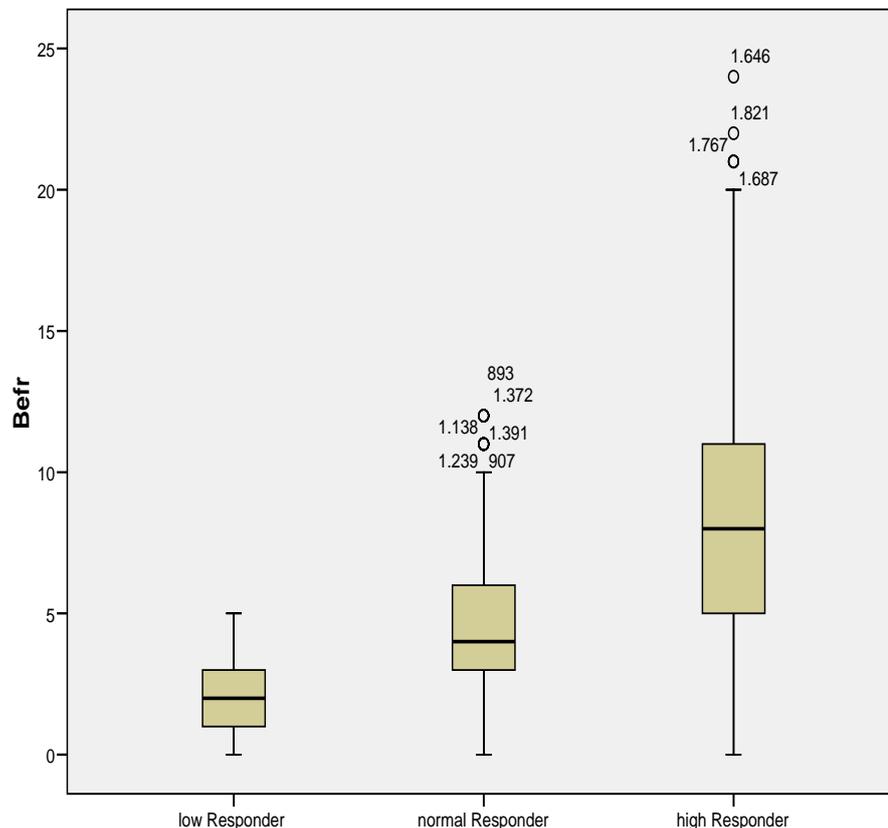
5.1.2. Zahl der gewonnenen Eizellen

In der Normal Responder Gruppe wurden durchschnittlich $8,7 \pm 2,0$ und in der Low Responder Gruppe durchschnittlich nur $3,5 \pm 1,3$ Eizellen gewonnen. Die durchschnittliche Zahl der gewonnenen Eizellen war in der High Responder Gruppe mit $17,1 \pm 4,2$ fast 5 Mal höher als in der Low Responder Gruppe und doppelt so viel wie in der Normal Responder Gruppe. Der Unterschied ist somit zwischen allen Gruppen hoch signifikant ($p=0,000$).

5.1.3. Zahl der fertilisierten Eizellen und Fertilisationsrate

Wie aus Tabelle 5-1 ersichtlich wird, gibt es hinsichtlich der fertilisierten Eizellen zwischen

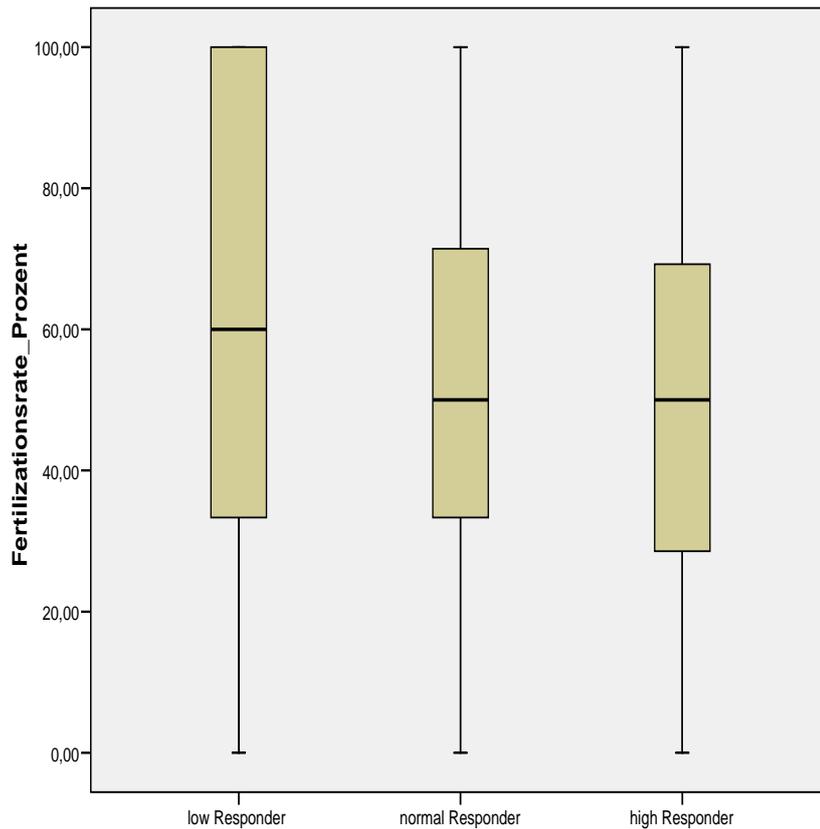
der Normal Responder Gruppe ($4,5 \pm 2,5$), Low Responder Gruppe ($2,0 \pm 1,3$) und High Responder Gruppe ($8,2 \pm 4,8$) hoch signifikante Unterschiede ($p=0,000$). Der Unterschied beträgt zwischen Low Responder und High Responder mehr als das 4-fache und zwischen Normal und Low Responder mehr als das 2-fache, was auch graphisch mittels Boxplotdarstellung auf der Graphik 5-2 sichtbar wird.



Graphik 5-2: Zahl der fertilisierten Eizellen im Gesamtkollektiv

Darüber hinaus ist die Fertilisationsrate mit $57,8 \pm 34,0$ % in der Low Responder Gruppe am höchsten, gefolgt von $51,1 \pm 26,6$ % in der Normal Responder Gruppe und $48,1 \pm 25,9$ % in der High Responder Gruppe. Bei getrennter Betrachtung zeigt sich ein hoch signifikanter Unterschied zwischen der High und Low und Normal und Low Responder Populationen ($p=0,000$). Kein signifikanter Unterschiede ($p=0,074$) zeigt sich wiederum zwischen der High und Normal Responder Gruppe (Graphik 5-3).

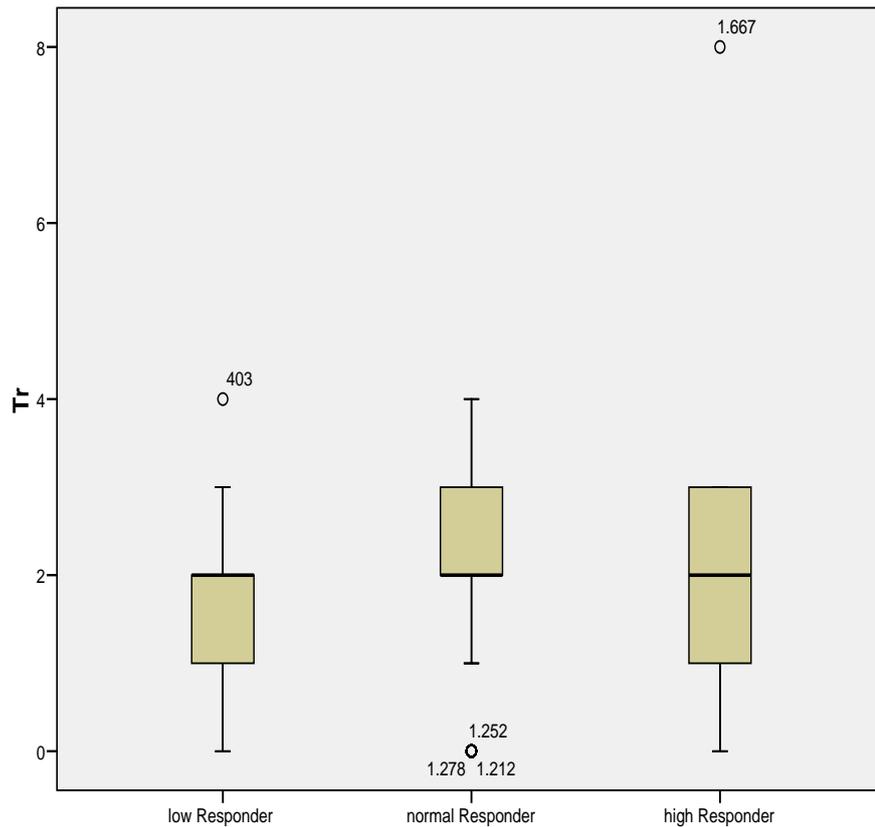
Im Low Responder Kollektiv konnten zwar weniger Eizellen ($3,5 \pm 1,3$) gewonnen werden als in den beiden anderen Gruppen, dennoch ist die Fertilisationsrate in dieser Gruppe mit $57,8 \pm 34,0$ % am höchsten.



Graphik 5-3: Fertilisationsrate im Gesamtkollektiv

5.1.4. Die Zahl der geteilten und transferierten Zellen

Die Zahl der geteilten und transferierten Eizellen betrug in der Normal Responder Gruppe $2,2 \pm 0,9$; in der Low Responder Gruppe $1,7 \pm 0,9$ und in der High Responder Gruppe $1,9 \pm 1,0$. Bei dem paarweise durchgeführten Vergleich der Gruppen lässt sich deutlich erkennen, dass im Hinblick auf die Zahl der geteilten und transferierten Zellen in allen Konstellationen ein hoch signifikanter Unterschied vorliegt ($p=0,000$).



Graphik 5-4: Zahl der transferierten Zellen

5.1.5 Schwangerschaftsrate

In der Normal Responder Population konnten durch 924 Stimulationen insgesamt 228 Schwangerschaften erzielt werden. Dies entspricht einer Schwangerschaftsrate von 24,7% pro Patient. Am schlechtesten schnitt die Low Responder Gruppe ab, wobei sich bei 569 Patientinnen nur 113 Schwangerschaften erzielen ließen. Dies entspricht einer Schwangerschaftsrate von 19,9%. Obwohl in der High Responder Gruppe mit $17,1 \pm 4,2$ Eizellen quantitativ zunächst ein gutes Ergebnis erzielt werden konnte, führte dies nicht automatisch zu einer besseren Schwangerschaftsrate pro Patient (22,0%).

Zu bemerken ist jedoch, dass nur der Unterschied zwischen der Normal und Low Responder Gruppe signifikant ist ($p=0,031$). Trotz oben genannter Tendenzen zu Ungunsten der High Responder Gruppe ist sie nicht der Normal Responder-Gruppe signifikant unterlegen ($p=0,169$). Beim Vergleich der High und Poor Responder Gruppen zeigt sich ebenfalls kein signifikanter Unterschied ($p=0,236$).

5.2. Zusammenhang zwischen Stimulationsprotokoll und IVF/ICSI Outcome in der Normal Responder Gruppe

In der assistierten Reproduktionsmedizin verläuft die kontrollierte ovarielle Hyperstimulation unter dem Einfluss der Gonadotropine bzw. GnRH-Analoga. Aus diesem Grund wurde die Analyse möglicher Einflüsse der verschiedenen Protokolle in die vorliegende Arbeit einbezogen. Die Tabelle 5-2 zeigt die Ergebnisse unter verschiedenen Stimulationsprotokollen in der Normal Responder Gruppe.

	Stimulations -Protokoll 0 (n=69)	Stimulations -Protokoll 1 (n=91)	Stimulations -Protokoll 2 (n=20)	Stimulations -Protokoll 3 (n=488)	Stimulations -Protokoll 4 (n=256)
Zahl der gewonnenen Eizellen	8,4±1,9	8,2±1,8	9,1±2,0	8,8±2,0	8,8±2,0
Zahl der fertilisierten Eizellen	4,7±2,3	3,7±2,3	2,9±1,8	4,5±2,5	4,7±2,7
Fertilisations- rate %	56,8±25,3 %	45,3±27,2 %	32,6±22,9 %	51,7±26,5 %	52,0±26,6 %
Zahl der get. u. transf. Zellen	2,1±0,8	2,2±1,0	2,3±1,2	2,1±0,9	2,2±0,8

Tab. 5-2: Zusammenhang zwischen Stimulationsprotokoll und IVF/ICSI Outcome in Normal Responder Gruppe (n=924)

Von insgesamt 924 Normal Responder Patientinnen wurden 69 Patientinnen nach dem Stimulationsprotokoll 0, 91 Patientinnen nach dem Stimulationsprotokoll 1, 20 Patientinnen nach dem Stimulationsprotokoll 2, 488 Patientinnen nach dem Stimulationsprotokoll 3 und 256 Patientinnen nach dem Stimulationsprotokoll 4 behandelt. Alle angewendeten

Stimulationsprotokolle wurden unten dargestellt:

Protokoll 0: reines urinäres Gonadotropin (hMG) Menotropin (z.B. Menogon®HP; 75 IE FSH und 75 IE LH)

Protokoll 1: hMG (Menogon®HP) + Urofollitropin (z.B. Fertinorm® HP=FSH Monopräparat, hochgereinigt, besteht aus 75 IE FSH, Serono, Deutschland)

Protokoll 2: rFSH-Mono (Follitropin Alpha, z.B. Gonal F® 75 IE ,5,5µ, Merk-Serono, Deutschland oder Follitropin Beta, Puregon®, 75 IE Organon, Deutschland)

Protokoll 3: rFSH+ hMG (z.B. Menogon®HP;75 IE FSH+75 IE LH)

Protokoll 4: rFSH + rLH (Lutropin Alpha z.B. Luveris®, 75 IE LH, Merk-Serono, Deutschland)

Die Analyse zeigt, dass unter Verwendung des Stimulationsprotokolls 1 mit $8,2 \pm 1,8$ deutlich weniger Eizellen gewonnen werden konnten. Im Gegensatz dazu ließ sich unter Verwendung des Protokolls 2 die Zahl der gewonnenen Eizellen mit $9,1 \pm 2,0$ am besten präsentieren. Interessanterweise ist die Zahl der fertilisierten Eizellen und als Schlussfolgerung die Fertilisationsrate in der Stimulationsgruppe 2 mit $2,9 \pm 1,8$ bzw. $32,6 \pm 22,9$ % am niedrigsten. Im Hinblick auf die Zahl der fertilisierten Eizellen und die Fertilisationsrate lieferte das Protokoll 1 das zweitschlechteste Ergebnis mit $3,7 \pm 2,3$ bzw. $45,3 \pm 27,2$ %.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass unter keinem der angewendeten 5 Stimulationsprotokolle sich deutliche Unterschiede im Hinblick auf die Zahl der geteilten und transferierten Zellen ergaben, wobei insbesondere unter Verwendung des Stimulationsprotokolls 1 (hMG (Menogon®HP) + Urofollitropin (z.B. Fertinorm® HP=FSH Monopräparat, hochgereinigt, besteht aus 75 IE FSH), Serono, Deutschland) deutlich weniger und unter Stimulationsprotokoll 2 (rFSH-Mono (Follitropin Alpha, z.B. Gonal F® 75 IE ,5,5µ, Merk-Serono, Deutschland oder Follitropin Beta, Puregon®, 75 IE Organon, Deutschland) das beste Ergebnis im Hinblick auf die Zahl der gewonnenen Eizellen in der Normal Responder Gruppe erzielt wurde. Bei dem Stimulationsprotokoll 2 war die Fertilisationsrate deutlich schlechter.

5.3. Zusammenhang zwischen Stimulationsprotokoll und IVF/ICSI Outcome in der Low Responder Gruppe

Die Ursachen für das schlechte Ansprechen der Ovarien auf die Stimulation konnten in

meisten Fällen nicht geklärt werden. Der Einfluss des Stimulationsprotokolls auf die Ergebnisse bei Low Responder Patientinnen wurde sehr früh erkannt. Eine der ersten Studien untersuchte den Einfluss unterschiedlicher Gonadotropindosen auf die Schwangerschaftsrate. Die Tabelle 5-3 zeigt die Ergebnisse im Einzelnen bei Low Responder Patientinnen je nach Stimulationsprotokoll.

Tab. 5-3: Zusammenhang zwischen Stimulationsprotokoll und IVF/ICSI Outcome in Low Responder Gruppe

	Stimulations- Protokoll 0 (n=59)	Stimulations- Protokoll 1 (n=52)	Stimulations- Protokoll 2 (n=6)	Stimulations- Protokoll 3 (n=266)	Stimulations- Protokoll 4 (n=186)
Zahl der gewonnenen Eizellen	3,0±1,4	3,5±1,4	3,7±1,4	3,7±1,30	3,6±1,2
Zahl der fertilisierten Eizellen	1,7±1,1	1,9±1,4	1,7±1,6	2,1±1,4	2,0±1,3
Fertilisations- rate	61,2±33,7 %	52,9±35,3 %	40,0±32,9 %	58,2±35,1 %	58,2±32,0 %
Zahl d. geteilt. u. transferiert. Zellen	1,5±0,9	1,5±1,0	1,5±1,4	1,7±1,0	1,7±0,9

Von insgesamt 569 Low Responder Patientinnen wurden 59 Patientinnen nach dem Stimulationsprotokoll 0 (reines urinäres Gonadotropin (hMG) Menotropin (z.B. Menogon®HP; 75 IE FSH und 75 IE LH)), 52 Patientinnen nach dem Stimulationsprotokoll 1 (hMG (Menogon® HP) + Urofollitropin (z.B. Fertinorm® HP=FSH Monopräparat, hochgereinigt, besteht aus 75 IE FSH, Serono, Deutschland) , 6 Patientinnen nach dem Stimulationsprotokoll 2 (rFSH-Mono (Follitropin Alpha, z.B. Gonal F® 75 IE ,5,5µ, Merk-Serono, Deutschland oder Follitropin Beta, Puregon®, 75 IE Organon, Deutschland), 266 Patientinnen nach dem Stimulationsprotokoll 3 (rFSH+ hMG (z.B. Menogon®HP; 75 IE

FSH+75 IE LH)) und 186 Patientinnen nach dem Protokoll 4 (rFSH + rLH (Lutropin Alpha z.B. Luveris®, 75 IE LH, Merk-Serono, Deutschland) behandelt.

Die Analyse zeigt, dass die Zahl der gewonnenen Eizellen unter Verwendung des Stimulationsprotokolls 0 mit $3,0 \pm 1,4$ im Vergleich zu anderen Protokollen deutlich niedriger ist. Dies gilt auch für die Zahl der fertilisierten ($1,7 \pm 1,1$) und Zahl der geteilten und transferierten ($1,5 \pm 0,9$) Eizellen.

Das Stimulationsprotokoll 2 führte zu ähnlich schlechten Ergebnissen ($1,7 \pm 1,6$ und $1,5 \pm 1,4$), wobei hier die geringe Patientenzahl ($n=6$) berücksichtigt werden muss.

Geringfügig bessere Ergebnisse für die Zahl der gewonnenen Eizellen ($3,5 \pm 1,4$), Zahl der fertilisierten Eizellen ($1,9 \pm 1,4$) sowie Zahl der geteilten und transferierten Eizellen ($1,5 \pm 1,0$) konnte unter Einfluss des Stimulationsprotokolls I erreicht werden.

Im Gegensatz dazu konnten bei Low Responder Patientinnen die besten Ergebnisse im Hinblick auf die Zahl der gewonnenen ($3,7 \pm 1,3$), fertilisierten ($2,1 \pm 1,4$), geteilten und transferierten Zellen ($1,7 \pm 1,0$) mit dem Protokoll 3 erzielt werden. Durch die Verwendung des Stimulationsprotokolls 4 konnten fast genauso gute Ergebnisse im Hinblick auf die Zahl der gewonnenen ($3,6 \pm 1,2$), Zahl der fertilisierten Eizellen ($2,0 \pm 1,3$) und Zahl der geteilten und transferierten Zellen ($1,7 \pm 0,9$) erreicht werden.

Interessanterweise ist die Fertilisationsrate in der Stimulationsgruppe 0 mit $61,2 \pm 33,7$ % am besten, obwohl die Zahl der gewonnenen, fertilisierten, geteilten und der transferierten Eizellen im Vergleich zu den anderen Gruppen deutlich schlechter war.

Ähnlich gute Fertilisationsraten konnten unter dem Protokoll 3 und 4 mit $58,2 \pm 35,1$ % gesehen werden. Die schlechteste Fertilisationsrate mit $40,0 \pm 32,9$ % war mit dem Stimulationsprotokoll 2 erzielt worden.

Zusammenfassend lässt sich für die Low Responder Gruppe sagen, dass die Protokolle 3 und 4 für fast alle Parameter die besten Ergebnisse erzielen.

5.4 Zusammenhang zwischen Stimulationsprotokoll und IVF/ICSI Outcome in High Responder Gruppe

Die Tabelle 5-4: zeigt die Ergebnisse im Einzelnen bei High Responder Patientinnen je nach Stimulationsprotokoll.

Tab. 5-4: Zusammenhang zwischen Stimulationsprotokoll und IVF/ICSI Outcome in High Responder Gruppe

	Stimulations- Protokoll 0 (n=23)	Stimulations- Protokoll 1 (n=43)	Stimulations- Protokoll 2 (n=13)	Stimulations- Protokoll 3 (n=200)	Stimulations- Protokoll 4 (n=99)
Zahl der gewonnenen Eizellen	16,7±4,5	16,2±3,9	19,0±6,3	17,4±4,4	16,6±3,3
Zahl der fertilisierten Eizellen	9,8±5,2	6,5±3,6	7,9±3,5	8,6±5,2	7,9±4,6
Fertilisations- rate	58,7±26,3 %	40,6±22,2 %	41,9±16,5 %	49,2±27,1 %	47,4±25,0 %
Zahl der geteilten und transferierten Zellen	2,0±0,7	2,1±1,2	2,3±1,3	1,9±1,1	1,9±0,9

Von insgesamt 378 High Responder Patientinnen wurden 23 Patientinnen nach dem Stimulationsprotokoll 0, 43 Patientinnen nach dem Stimulationsprotokoll 1, 13 Patientinnen nach dem Stimulationsprotokoll 2, 200 Patientinnen nach dem Stimulationsprotokoll 3 und 99 Patientinnen nach dem Protokoll 4 behandelt. Die Analyse zeigt, dass unter Verwendung des Stimulationsprotokolls 1, die Zahl der gewonnenen Eizellen mit 16,2±3,9 und Zahl der fertilisierten Eizellen mit 6,5±3,6 sowie die Fertilisationsrate (40,6±22,2%) im Vergleich zu anderen Protokollen etwas niedriger war. Unter Verwendung des Stimulationsprotokolls 2 war nicht nur die Zahl der gewonnenen Zellen mit 19,0±6,3 am höchsten, auch die Zahl der geteilten Zellen, die letztendlich auch transferiert wurden, deutlich höher (2,3 ± 1,3), wobei hier die geringe Patientenzahl (n=13) berücksichtigt werden muss. Die übrigen 3 Stimulationsprotokolle (0, 3, 4) zeigten bis auf minimale Unterschiede ähnlich gute Ergebnisse im Hinblick auf alle Parameter.

Zusammenfassend lässt sich für die High Responder Gruppe sagen, dass durch das Protokoll

2 (rFSH-Mono (Follitropin Alpha, z.B. Gonal F® 75 IE, 5,5µ, oder Follitropin Beta, Puregon®, 75 IE)) deutlich mehr Eizellen gewonnen und transferiert wurden.

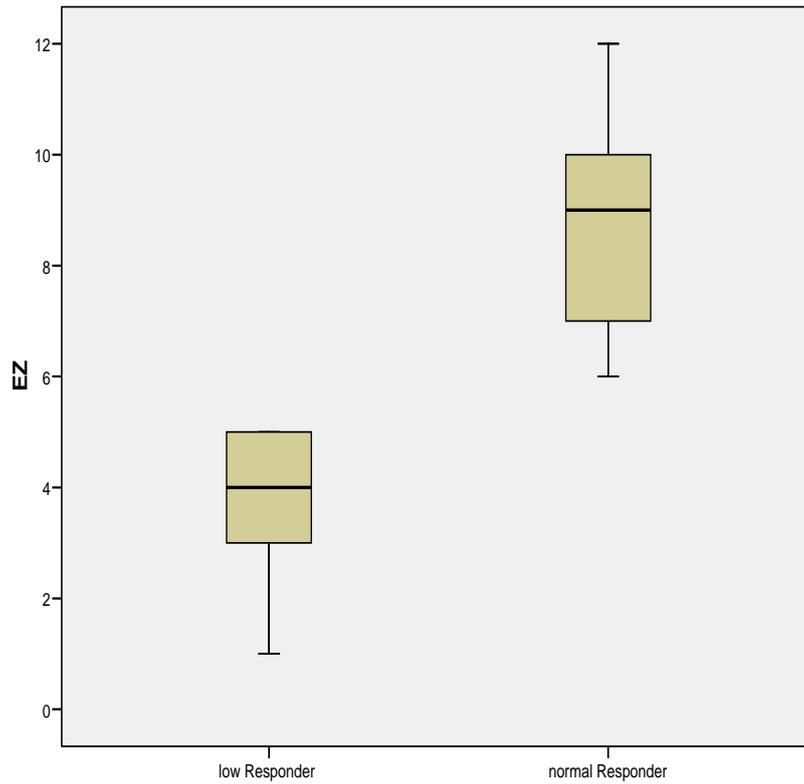
5.5. Vergleich der Ergebnisse zwischen Normal Responder und Low Responder

Die Tabelle 5-5 zeigt den Vergleich der Ergebnisse zwischen Normal und Low Responder Gruppe.

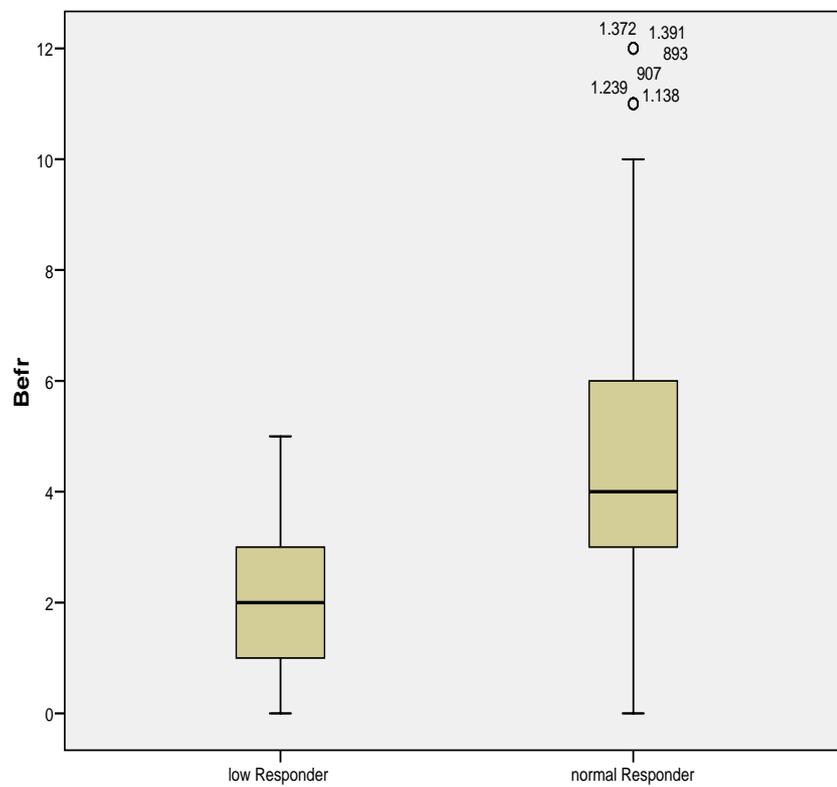
Tab.5-5: Vergleichende Untersuchungen zwischen der Normal und Low Responder Gruppen

	Normal Responder (n=923) (mittlerer Rang)	Low Responder (n=569) (mittlerer Rang)	P-Wert
Zahl der gewonnenen Eizellen	1031,5	285	0,000
Zahl der fertilisierten Eizellen	913,1	474,2	0,000
Fertilisationsrate	705,4	810,5	0,000
Zahl der geteilten und Transferierten Eizellen	831,6	606,1	0,000
Zahl der schwangeren Frauen	228	113	
Schwangerschaftsrate pro transferiertem Embryo	24,7%	19,9%	0,031

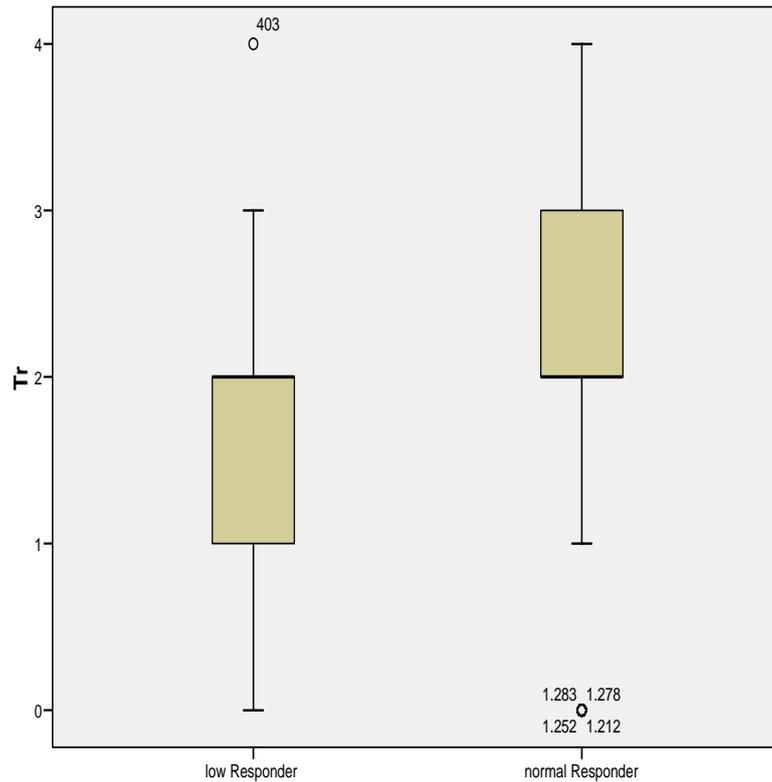
Im Vergleich zwischen Normal und Low Responder Gruppen lassen sich in Tabelle 5-5 für die Zahl der gewonnenen (p=0,000), Zahl der fertilisierten (p=0,000), der geteilten und transferierten (p=0,000) durchweg zu Gunsten der Normal Responder Gruppe hoch signifikante Ergebnisse erkennen, was auch mittels Boxplotdarstellung auf den Graphiken 5-5 bis 5-7 gezeigt wird.



Graphik 5-5: Zahl der gewonnenen Eizellen in der Low und Normal Responder Gruppe

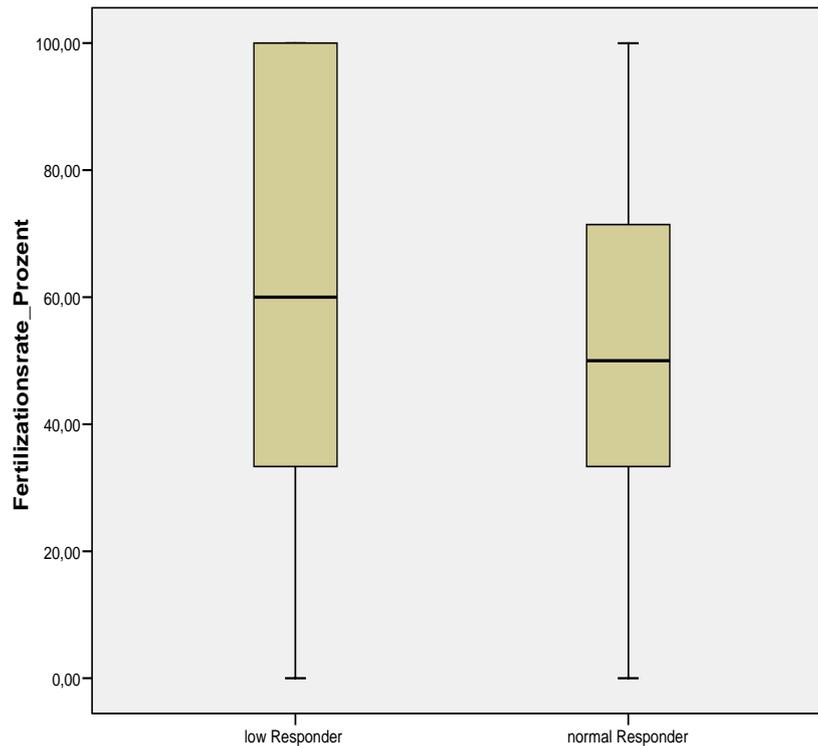


Graphik 5-6: Zahl der befruchteten Eizellen in der Low und Normal Responder Gruppe



Graphik 5-7: Zahl der transferierten Eizellen in der Low und Normal Responder Gruppe

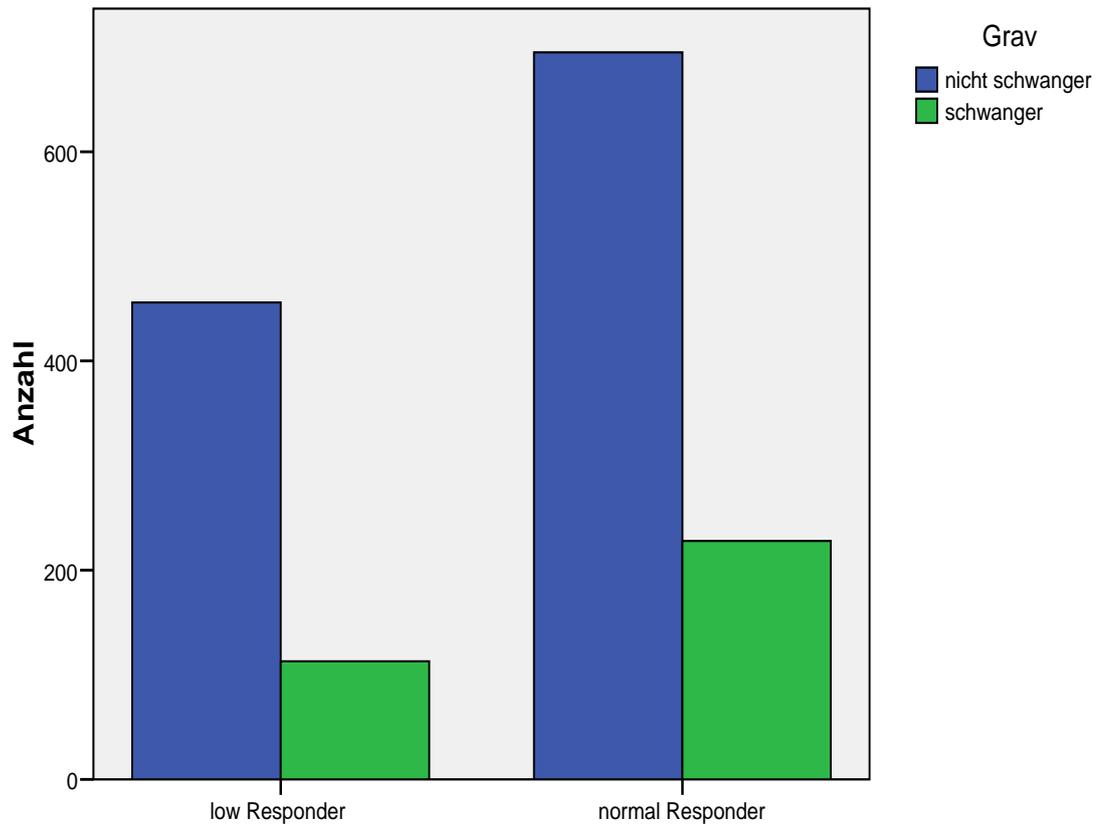
Im Gegensatz dazu, wenn man die Fertilisationsrate betrachtet, so ist der Unterschied, wie auf der Graphik 5-8 zu erkennen, zu Gunsten der Low Responder Gruppe hoch signifikant ($p=0,000$).



Graphik 5-8: Die Fertilisationsrate in der Low und Normal Responder Gruppe

Wie aus Tabelle 5 und Balkendiagramm 1 hervorgeht, verzeichnet die Normal Responder Gruppe (n=923) insgesamt 228 Schwangerschaften, so dass sich eine Schwangerschaftsrate von 24,7% ergibt. Im Gegensatz dazu konnten in der Low Responder Gruppe (n=569) nur 113 Schwangerschaften erzielt werden, so dass sich eine deutlich schlechtere Schwangerschaftsrate von 19,9 % ergibt. Dennoch sind die Unterschiede zwischen den Patientengruppen bezüglich der Schwangerschaftsrate nicht signifikant ($p=0,031$).

Balkendiagramm



Balkendiagramm 5-1: Schwangerschaftsrate in der Low und Normal Responder Gruppe

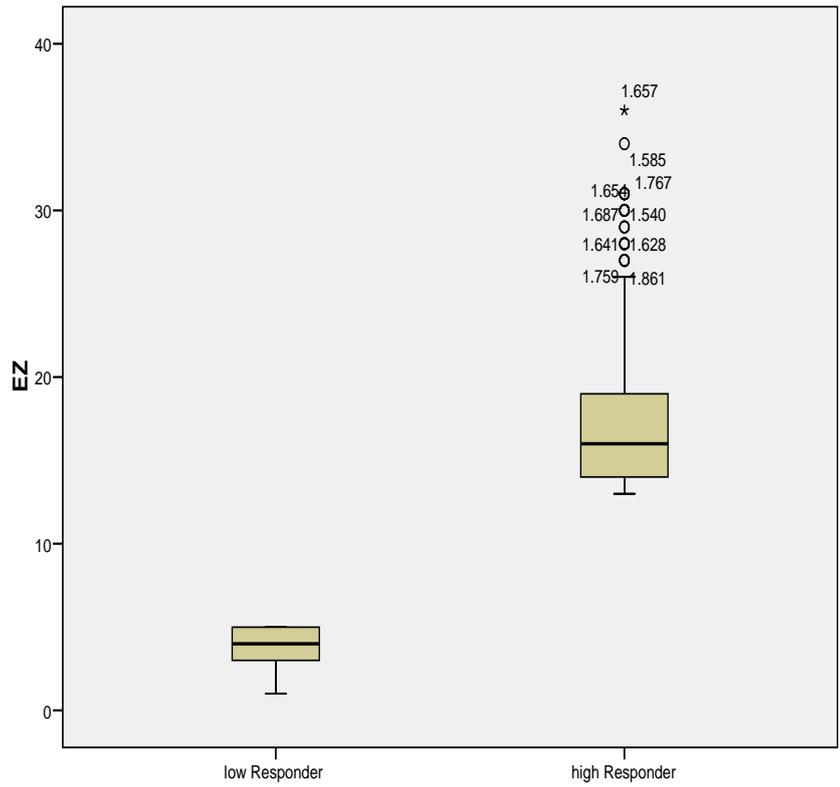
5.6. Vergleich der Ergebnisse zwischen High und Low Responder

Die Tabelle 5-6 zeigt den Vergleich der Ergebnisse zwischen High und Low Responder Gruppe.

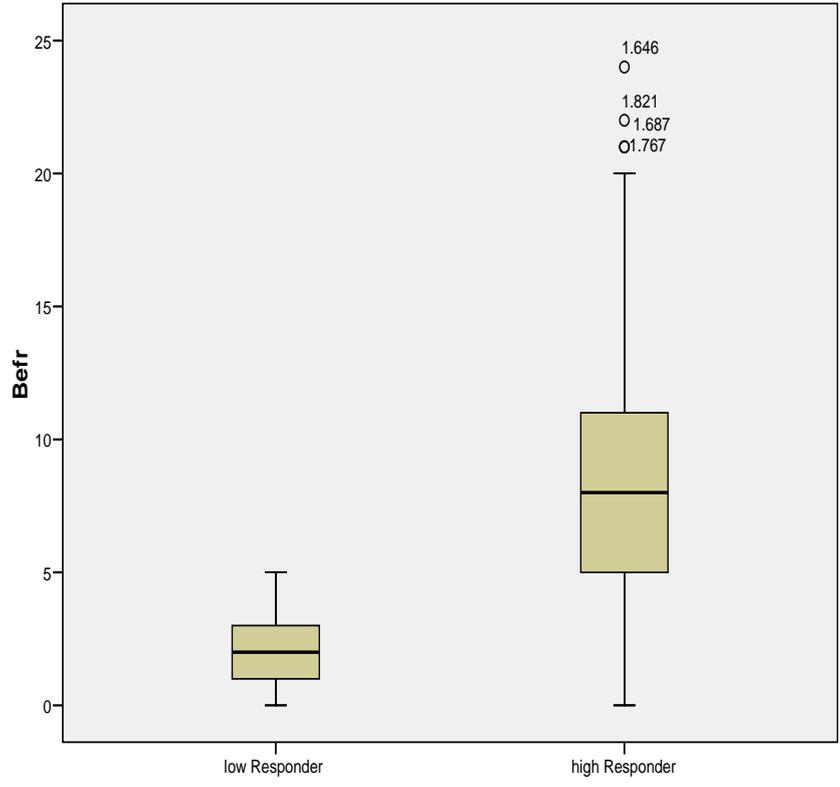
	High Responder (n=378) (mittlerer Rang)	Low Responder (n=569) (mittlerer Rang)	P-Wert
Zahl der gewonnenen Eizellen	758,5	285,0	0,000
Zahl der fertilisierten Eizellen	692,2	328,6	0,000
Fertilisationsrate	419,5 %	509,3 %	0,000
Zahl der geteilten und transferierten Eizellen	519,5	443,1	0,000
Zahl der schwangeren Frauen	83	113	
Schwangerschaftsrate pro transferiertem Embryo	22,0 %	19,9 %	0,236

Tab.5-6 Vergleichende Untersuchungen zwischen der High und Low Responder Gruppen

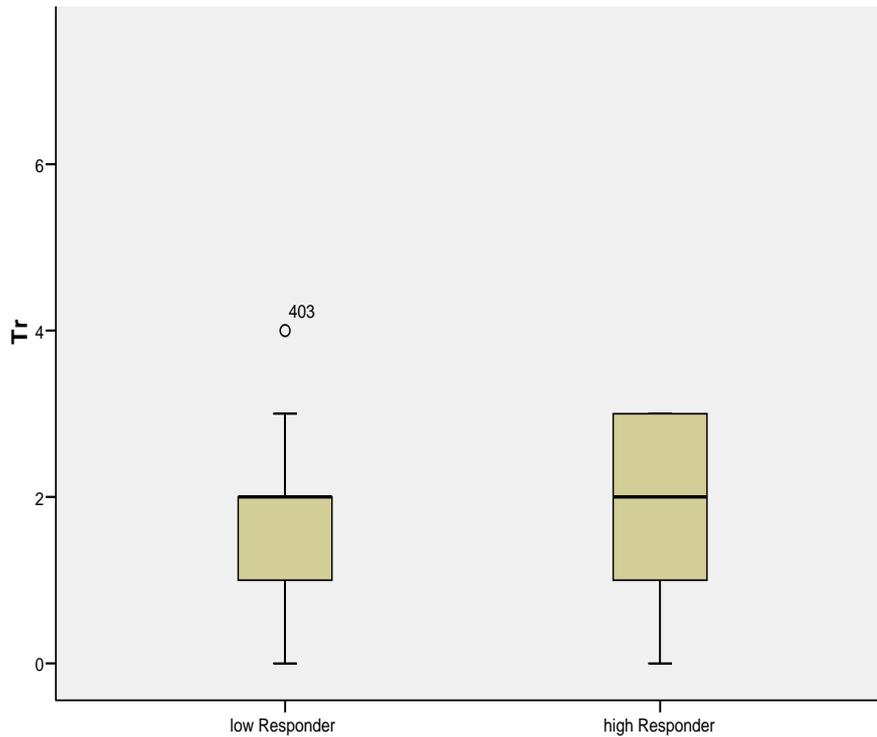
Im Vergleich zwischen High und Low Responder Gruppen lassen sich in Tabelle 5-6 für die Zahl der gewonnenen ($p=0,000$), Zahl der fertilisierten ($p=0,000$), der geteilten und transferierten Zellen ($p=0,000$) durchweg hoch signifikante Ergebnisse zu Gunsten der High Responder Gruppe erkennen. Siehe Boxplotdarstellung auf den Graphiken von 5-9 bis 5-11 verdeutlicht wird.



Graphik 5-9: Die Zahl der gewonnenen Eizellen in der Low und High Responder Gruppe

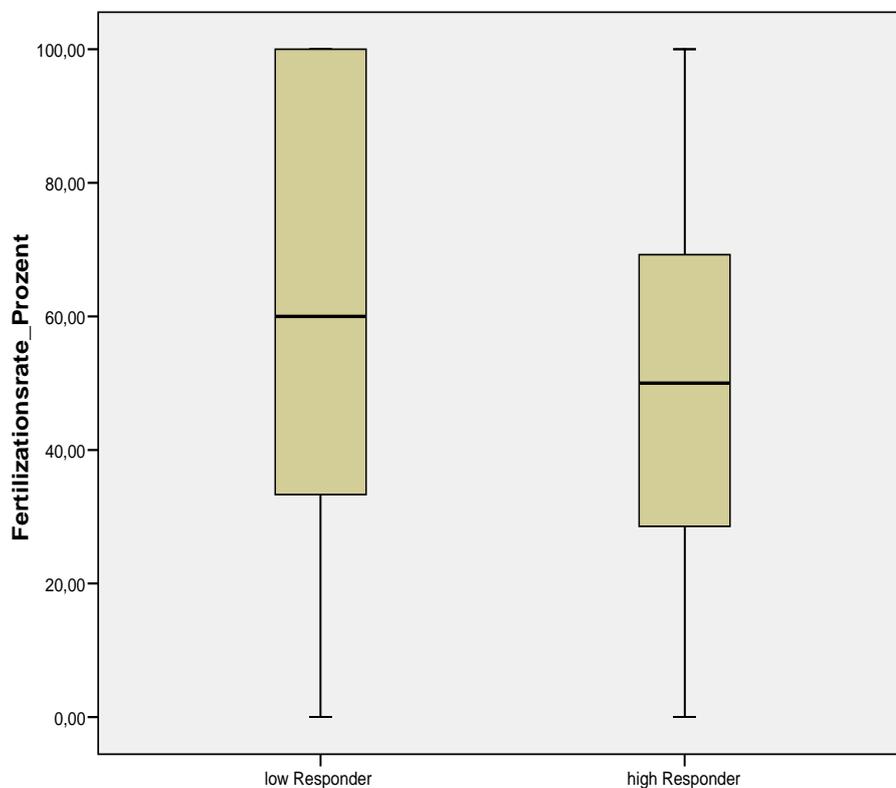


Graphik 5-10: Die Zahl der befruchteten Eizellen in der Low und High Responder Gruppe



Graphik 5-11: Die Zahl der transferierten Eizellen in der Low und High Responder Gruppe

Betrachtet man die Fertilisationsrate, so ist der Unterschied, zu Gunsten der Low Responder Gruppe. Dies ist hoch signifikant ($p=0,000$) (Graphik 5-12).



Graphik 5-12: Die Fertilisationsrate in der Low und High Responder Gruppe

Wie aus Tabelle 5-6 und Balkendiagramm 5-2 hervorgeht, verzeichnet die High Responder Gruppe (n=378) insgesamt 83 Schwangerschaften, so dass sich eine Schwangerschaftsrate von 22,0% ergibt. Im Gegensatz dazu, konnten in der Low Responder Gruppe (n=569) nur 113 Schwangerschaften erzielt werden, so dass sich eine deutlich schlechtere Schwangerschaftsrate von 19,9 % ergibt. Dennoch sind die Unterschiede zwischen den Patientengruppen bezüglich der Schwangerschaftsrate nicht signifikant (p=0,236).

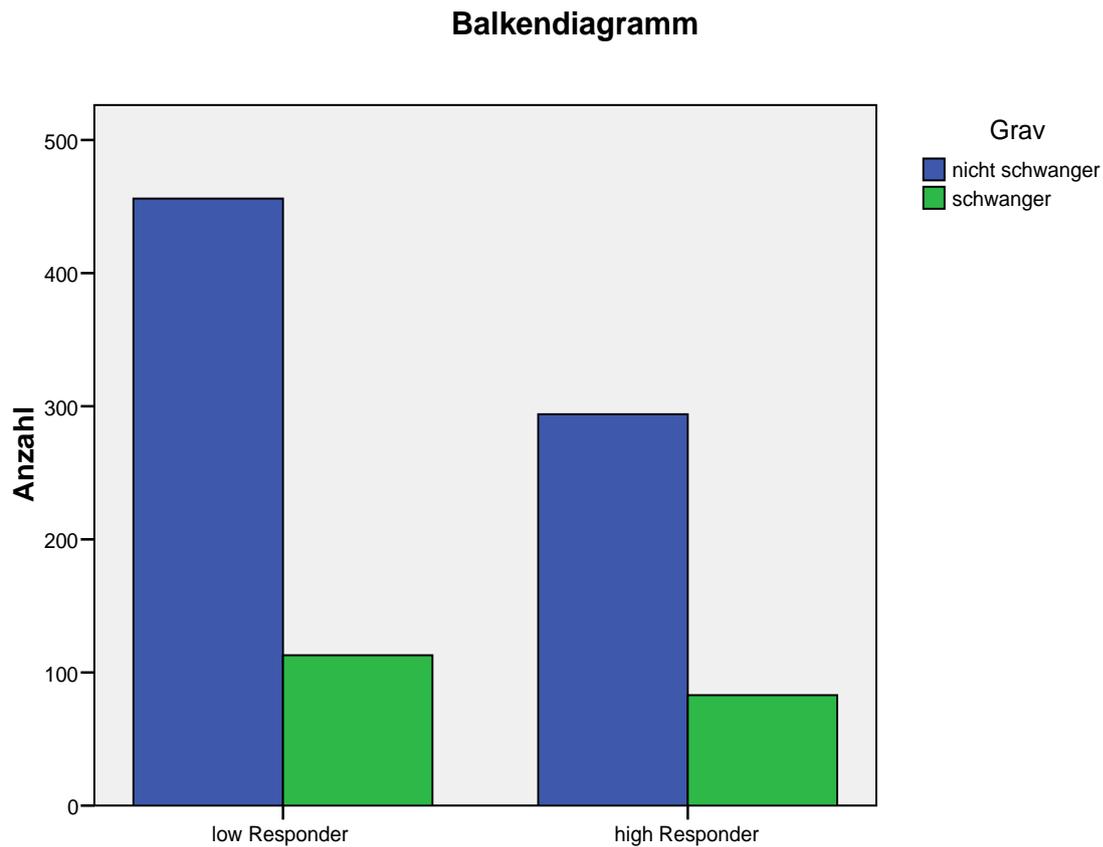


Diagramm 5-2: Schwangerschaftsrate in der Low und High Responder Gruppe

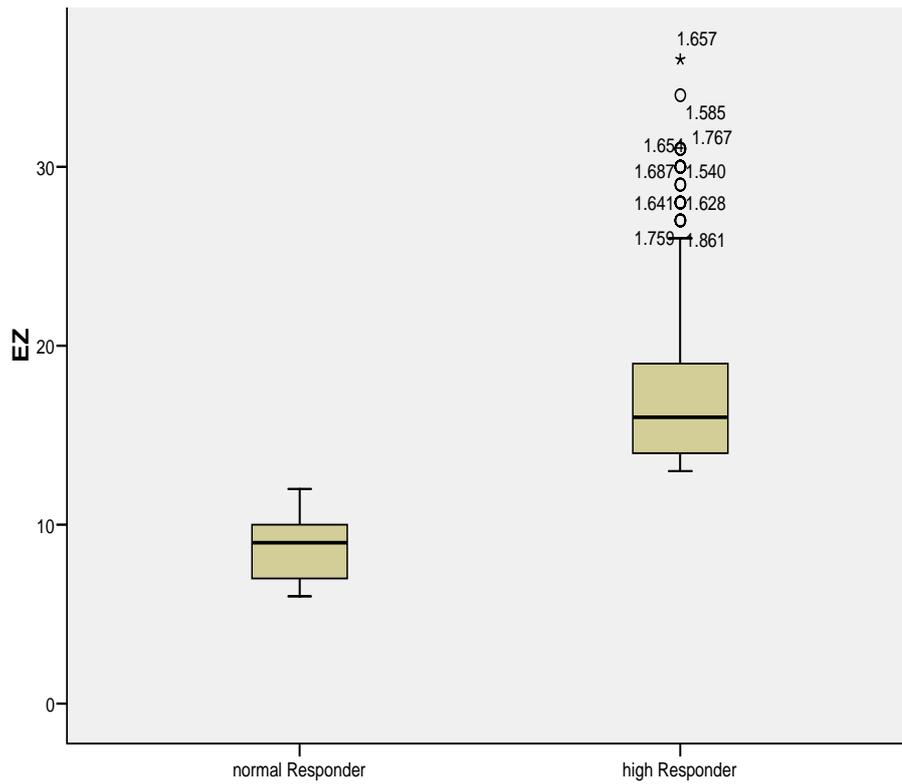
5.7. Vergleich der Ergebnisse zwischen Normal und High Responder

Die Tabelle 5-7 zeigt den Vergleich der Ergebnisse zwischen Normal und High Responder Gruppe.

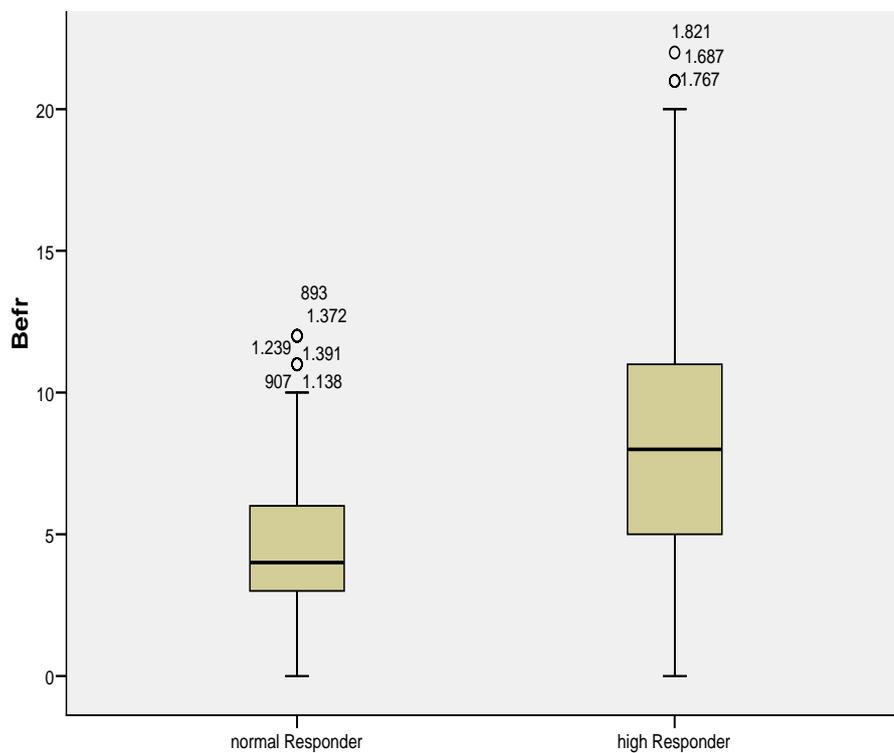
Tab.5-7 Vergleichende Untersuchungen zwischen Normal und High Responder Gruppen

	Normal Responder (n=923) (mittlerer Range)	High Responder (n=378) (mittlerer Range)	P-Wert
Zahl der gewonnenen Eizellen	462,5	1113,5	0,000
Zahl der fertilisierten Eizellen	558,6	871,7	0,000
Fertilisationsrate	661,4 %	620,5 %	0,074
Zahl der geteilten und transferierten Eizellen	672,9	592,3	0,000
Zahle der schwangeren Frauen	228	83	83
Schwangerschaftsrate pro transferiertem Embryo	24,7%	22,5%	0,169

In der High Responder Gruppe wurden nicht nur im Vergleich zur Normal Responder Gruppe signifikant mehr Eizellen gewonnen ($p=0,000$), sondern auch fertilisiert ($p=0,000$). (Graphik 5-13 und 5-14).

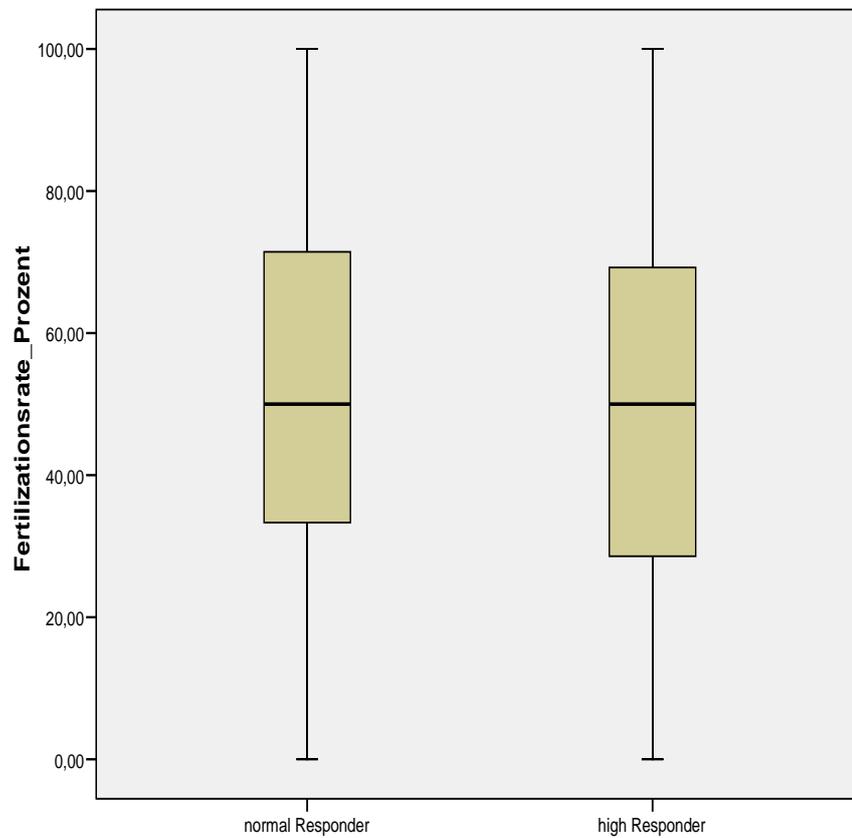


Graphik 5-13: Die Zahl der gewonnenen Eizellen in der Normal und High Responder Gruppe



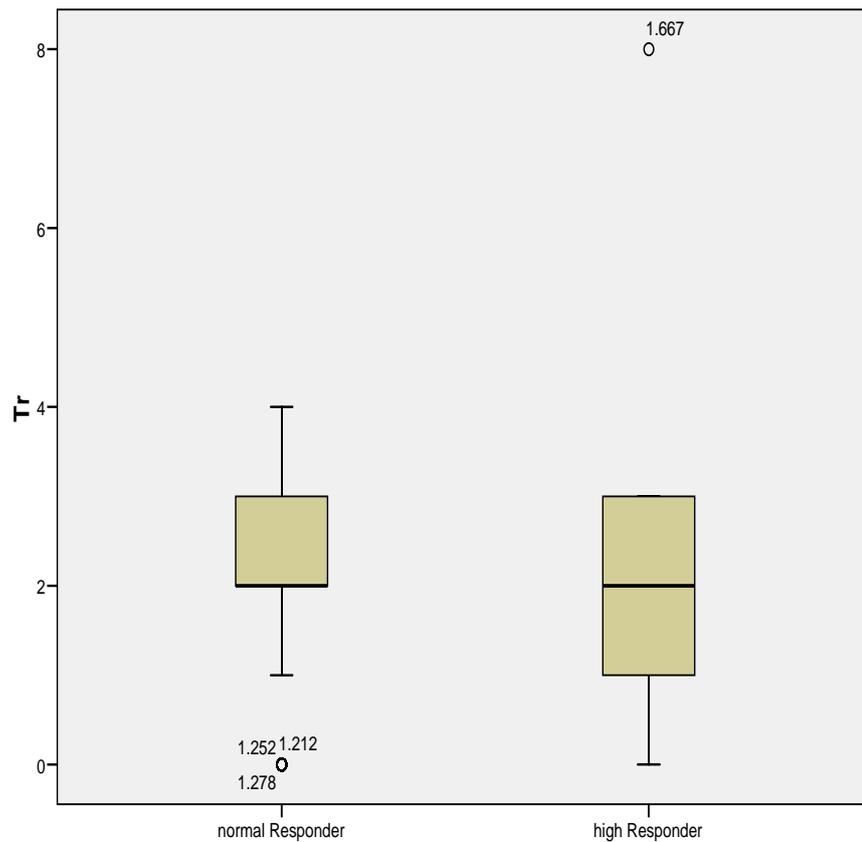
Graphik 5-14: Die Befruchtungsrate in der Normal und High Responder Gruppe

Wie die Tabelle 5-7 zeigt, gibt es keine signifikanten Unterschiede ($p=0,074$) im Hinblick auf die Fertilisationsrate zwischen Normal und High Responder Gruppe. Dies wird mittels Boxplotdarstellung (Graphik 5-15) verdeutlicht.



Graphik 5-15: Die Fertilisationsrate in der Normal und High Responder Gruppe

Betrachtet man zuletzt noch die Zahl der geteilten und transferierten Zelle an, so sieht man interessanterweise einen signifikanten Unterschied ($p=0,000$) zu Gunsten der Normal Responder Population im Vergleich zur High Responder Gruppe (Graphik 5-16).



Graphik 5-16: Die Zahl der geteilten und transferierten Zellen in der Normal und High Responder Gruppe

Die Schwangerschaftsrate pro transferiertem Embryo lag in der Normal Responder Gruppe bei 24,7% und bei der High Responder Gruppe bei 22,5%. Auch hier gab es keinen signifikanten ($p=0,169$) Unterschied (Balkendiagramm 5-3).

Balkendiagramm

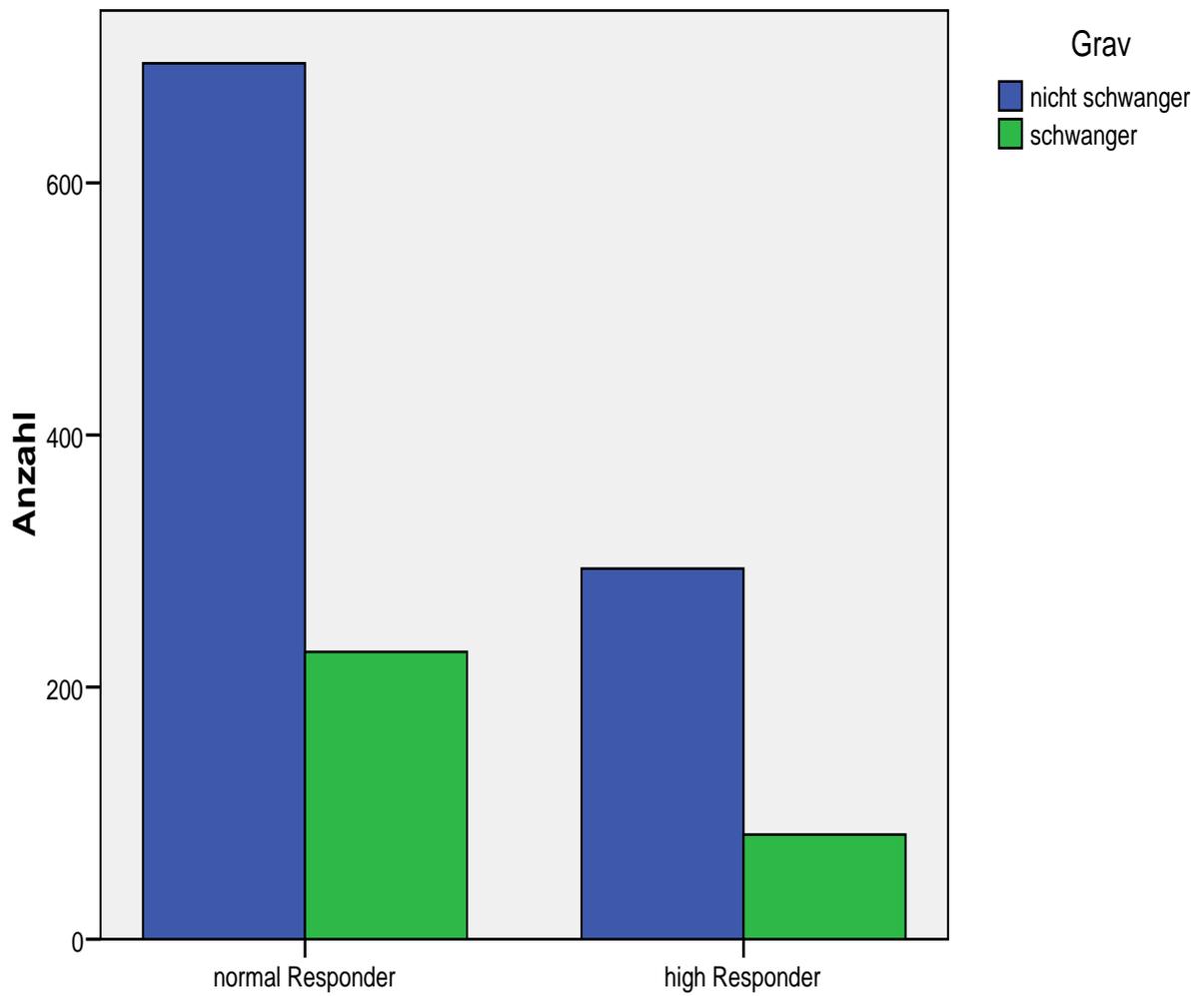


Diagramm 5-3: Die Schwangerschaftsrate in der Normal und High Responder Gruppe

6- Diskussion

Da in der vorliegenden Dissertation Untersuchungen und Berechnungen von vielen Parametern durchgeführt wurden, muss aufgrund der Komplexität der Ergebnisse eine strukturierte Darstellung vorgenommen werden.

6.1. Altersverteilung

Die ovarielle Reserve reflektiert das reproduktive Alter einer Frau (Broekmans et al. 2007). Bereits vor 20 Jahren konnte gezeigt werden, dass die ovarielle Reserve und damit verbunden die Lebendgeburtenrate bei einer natürlichen Konzeption ab 31 Jahren und bei der assistierten Reproduktionsmedizin ab 35 Jahren stetig nachläßt (van Noerd-Zaadstra BM et al. 1991, Templeton A et al. 1996). Der Jahresbericht 2007 des deutschen IVF-Registers bestätigt diese Ergebnisse. Wie in Kapitel 2.2 und in Graphik 2-2 dargestellt, sieht man eine stetige Abnahme der klinischen Schwangerschaftsrate nach IVF/ICSI ab 35 Jahren, unabhängig von der Zahl der transferierten Embryonen (DIR Jahresbericht 2007). Das Alter über 39 Jahre wird als ein springender Faktor für Low Responder Population definiert (Muasher SJ 1993). In einer grossen retrospektiven Studie fanden 2008 Vollenhofen et al., während 53,8 % der Low Responder ≥ 40 Jahre alt waren, waren nur 8 % der "non Low Responder" - Patientinnen ≥ 40 .

Das durchschnittliche Alter unserer Low Responder Gruppe ($39,9 \pm 4,8$) lag ebenfalls über 39 Jahre. Im Vergleich dazu war das durchschnittliche Alter unserer Normal Responder und High Responder Gruppe um mehr als 1 Jahr jünger. Unsere Daten zeigen, dass es in Bezug auf das Alter signifikante Unterschiede zwischen Poor Responder ($39,9 \pm 4,8$) und Normal Responder ($38,8 \pm 5,1$), sowie zwischen Poor Responder ($39, \pm 4,8$) und High Responder ($38,4 \pm 5,2$) gibt (Tabelle 5-1, Graphik 5-1).

Zur Frage, ob das schlechte Ansprechen der Ovarien auf die Stimulation mit dem hohen Alter assoziiert ist, liefern unsere Ergebnisse breite Zustimmung.

Im zunehmenden Alter nimmt die Follikelzahl ab und die ovarielle Reserve verschlechtert sich. Durch die hypoxische Umgebung kommt es zur Abnahme der Zahl der Granulosa Zellen, so dass die Steroid- und Glykoproteinproduktion sinkt (Seifer und Naftolin, 1996).

Bei IVF-Patientinnen korreliert zwar das biologische Alter mit der Erfolgsrate, es kann jedoch nicht als ein genauer prädiktiver Test für die ovarielle Reserve angesehen werden.

Gelegentlich sind die Patientinnen mit einem schlechten Ansprechen auf die Gonadotropinstimulation deutlich jünger. Diese jungen Patientinnen haben nicht immer erhöhte FSH-Werte und weisen dennoch ein schlechtes Ansprechen auf die Stimulation auf (Jacobs SL et al. 1990, Cameron IT et al. 1988).

Ein validierter prädiktiver Test ist noch nicht zugelassen, so dass bei der Bestimmung der ovariellen Reserve weiterhin die Zahl der gewonnenen Eizellen eine zentrale Rolle spielt.

6.2. Zahl der gewonnenen Eizellen

Das ovarielle Ansprechen wird als endokrine und folliculäre Reaktion auf die Stimulation definiert. Ein angemessenes Ansprechen wird bei 5-14 gewonnenen Eizellen gesehen (Popovic -Todorovic 2003). Mehrere Studien haben versucht heraus zu finden, welche die optimale Oozytenzahl ist, wenn mit einem konventionellen Protokoll stimuliert wurde. Timeva et al. fanden 2006 heraus, dass die besten Ergebnisse mit 5-15 Oozyten erreicht werden können. Auch die Studie von van der Gaast et al. 2006 konnte zeigen, dass die besten Resultate im Hinblick auf die Schwangerschaftsrate mit 13 gewonnenen Eizellen assoziiert sind. Allerdings zeigten ältere Studien die Korrelation zwischen der steigenden Zahl der gewonnenen Eizellen und der Anzahl der Embryonen zum Transfer (Devreker et al. 1999, De Vries et al. 1999, Sharma et al. 2002, HungYu Ng E et al. 2003).

Während die niedrige Zahl der gewonnenen Eizellen nach einer milden Stimulation eher ein physiologisches Ansprechen präsentiert, ist nach der konventionellen Stimulation die niedrige Zahl der gewonnenen Eizellen eher ein pathologisches Ansprechen (Low Response).

Wiederum andere Studien konnten belegen, dass die niedrig bzw. moderat hohe Zahl der gewonnenen Zellen nach einer milden Stimulation mit einer höheren Chance auf eine Schwangerschaft assoziiert ist (Hohmann et al. 2003). Verberg et al. 2009 führten eine Metaanalyse der publizierten Studien durch, die sich mit den Ergebnissen der milden Stimulation beschäftigt haben. Während bei 5 gewonnenen Eizellen die Schwangerschaftsrate 30,7 % betrug, sank die Rate ab 8 gewonnenen Eizellen rapide und wenn die Zahl der gewonnenen Eizellen nach der milden Stimulation mehr als 18 betrug, war die Rate gleich 0%.

Auf der anderen Seite waren die Ergebnisse im Hinblick auf die Schwangerschaftsrate unter den konventionellen Stimulationsprotokollen erst ab 10 gewonnenen Eizellen mit 28,5% am höchsten (Hohmann et al. 2003, Heijnen et al. 2007, Baart et al. 2007, Verberg et al. 2009).

Als Ursache für die guten Ergebnisse trotz der niedrigen Zahl der gewonnenen Eizellen unter einem milden Stimulationsprotokoll käme am ehesten die Selektion der gut qualifizierten Oozyten und Minimierung der potentiellen negativen Einflüsse der zahlreichen großen Follikel in Frage. Nachweislich wirkt ein hoher Estradiolwert negativ auf die Entwicklung und das Implantationspotential der Oozyten (Valbuena et al. 1999).

Wenn die ovarielle Stimulation mit FSH in der mittfollikulären Phase beginnt, kann davon ausgegangen werden, dass sich nur die besten Oozyten weiter entwickeln können (Keay et al. 1997).

Zusammenfassend läßt sich feststellen, wenn die Zahl der gewonnenen Eizellen, unabhängig vom Stimulationsprotokoll (mild oder konventionell), etwa 6-10 beträgt, kann mit den besten Folgeergebnissen gerechnet werden.

Außerdem besteht eine sehr niedrige Chance auf eine Schwangerschaft, wenn die Anzahl der gewonnenen Eizellen mehr als 18 beträgt (High Response). Auch hierbei ist die Protokollart nicht ausschlaggebend.

In der eigenen Untersuchung, stimuliert nur nach dem konventionellen Schema, war die durchschnittliche Zahl der gewonnenen Eizellen in der High Responder Gruppe mit $17,1 \pm 4,2$ fast 5 mal höher als in der Low Responder Gruppe und doppelt so viel wie in der Normal Responder Gruppe. Der Unterschied ist somit zwischen allen Gruppen hoch signifikant ($p=0,000$) (Tabelle 5-5, 5-6, 5-7; Graphik 5-5, 5-9, 5-13). Die Schwangerschaftsraten in der jeweiligen Gruppe wird im Kapitel 6.8. diskutiert.

6.3. Zahl der fertilisierten Eizellen und Fertilisationsrate

Die Fertilisationsrate hängt von der Oozytenqualität sowie Spermatozoenqualität ab und beträgt durchschnittlich zwischen 50-70 %. Die ovarielle Stimulation und die daraus resultierende Oozytenreife beeinflusst die Oozytenqualität. Bereits 1995 konnten Wolf et al. zeigen, dass die Oozytengröße einen entscheidenden Einfluß auf die Fertilisationsrate hat. Die Fertilisationsrate war bei kleineren Oozyten im Vergleich zu grösseren signifikant geringer. Neben diesem Faktor spielt sicherlich die Maturation der Oocyte ebenfalls eine grosse Rolle.

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen einen signifikanten Unterschied ($p=0,001$) im Hinblick auf die Fertilisationsrate zwischen Low Responder ($57,8 \pm 34,0\%$) und High Responder ($48,1 \pm 25,9\%$) (Tabelle 5-6; Graphik 5-10, 5-12) sowie zwischen Low Responder

(57,8±34,0%) und Normal Responder (51,1± 26,6%) (Tabelle 5-5; Graphik 5-6, 5-7). Überraschenderweise ist der Unterschied im Hinblick auf die Fertilisationsrate zwischen Normal Responder (51,1± 26,6%) und High Responder (48,1±25,9%) nicht signifikant ($p=0,074$) (Tabelle 5-7; Graphik 5-14, 5-15).

Die hohe Fertilisationsrate bei Low Respondern resultiert möglicherweise daraus, dass die Qualität der Oozyten in dieser Gruppe deutlich besser ist. Auf der anderen Seite werden in der High Responder Gruppe neben den reifen, gut qualifizierten Eizellen, möglicherweise auch viele nicht ausgereifte Oozyten gewonnen, was wiederum zur niedrigen Fertilisationsrate führt. Darüber hinaus wird vermutet, dass mehrere Follikel zu hohen Östradiolwerten führen, was wiederum über die zentrale Rückkopplungsmechanismen zur eine vorzeitige Sekretion des luteinisierenden Hormons bedingt. Dies beeinträchtigt wiederum die Eizellqualität.

6.4. Zahl der geteilten und transferierten Eizellen

Etwa 36 % der befruchteten Eizellen erreichen das 4-8 Zell-Stadium. Wie unter 5.1.4. dargestellt, zeigen sich im Hinblick auf die Zahl der geteilten und transferierten Zellen bei dem paarweise durchgeführten Vergleich in allen drei Gruppen und Konstellationen ein signifikanter Unterschied ($p=0,000$) (Tabelle 5-5, 5-6, 5-7; Graphik 5-7, 5-11, 5-16). Am besten schnitt die Normal Responder Gruppe ab, was möglicherweise neben der Oozyten Qualität auch mit der Anzahl der gewonnenen Oozyten zusammenhängt.

Laut dem deutschen Embryonenschutzgesetz (ESchG, 1990 BGBI S. 2746) darf keine Selektion der Embryonen für den Transfer vorgenommen werden. Es dürfen maximal drei PN-Stadien weiterkultiviert werden. Alle daraus resultierenden Embryonen müssen transferiert werden.

Die Schwangerschaftsrate korreliert mit der Anzahl der bei einem Transfer übertragenen Embryonen. Bereits 1992 zeigten Lancaster et al. bei 3836 ausgewerteten Schwangerschaften nach frischem Transfer eines Embryos eine Schwangerschaftsrate von 9,8%, nach 2 Embryonen 21,9% und nach 3 Embryonen 33,8%

6.5. Zusammenhang zwischen Stimulationsprotokoll und IVF/ICSI Outcome in der Normal Responder Gruppe

Wie im Kapitel 2.4.1.2. ausführlich erläutert, ist die Reifung von Follikeln ab dem

Sekundärfollikelstadium von Gonadotropinen abhängig. Ohne adäquate Konzentrationen an follikelstimulierendem Hormon (FSH) kann es nicht zur Entwicklung eines Graaf-Follikels kommen (Ludwig M 2006). Weiterhin spielt die Zahl der gewonnenen Eizellen für den Erfolg eine Schlüsselrolle. Aus dem Grund fanden in der vorliegenden Arbeit die Auswirkungen verschiedener Gonadotropinstimulationsprotokolle auf die gewonnenen, fertilisierten Eizellen und die Fertilisationsrate eine besondere Berücksichtigung.

Die Bestimmung der ovariellen Reserve vor der Stimulation könnte helfen ein geeignetes Stimulationsprotokoll zu finden. Bei eingeschränkter ovarieller Reserve könnte primär mit höheren Dosen stimuliert werden und umgekehrt durch eine reduzierte Stimulationsdosis ein Überstimulationsyndrom vermieden werden. Validierte Tests zur Abschätzung der ovariellen Reserve sind leider noch nicht etabliert, so dass meistens die Standard Stimulationsprotokolle zum Einsatz kommen. Eine einheitliche FSH-Dosis für jede Patientin gibt es nicht. Die Dosis hängt vom Alter, der Menstruationsanamnese und dem FSH-Wert der Patientin ab. In der Regel wird mit täglich 100-250 IE FSH begonnen.

Seit der Einführung rekombinanter Gonadotropin-Präparate in den 90er Jahren wird kontrovers diskutiert, welches das „optimale“ Präparat ist. Die erste Metaanalyse von Daya et al. konnte 1995 zeigen, dass eine Monotherapie mit humanem FSH im Vergleich zu einer fixen FSH und LH Kombination (z.B Menotropin) überlegen ist. Nach dem die biotechnologische Produktion des FSH möglich war und das Hormon unbegrenzt zur Verfügung stand, wurde der damalige Standard des urinären FSH (uFSH) mit dem rekomb. FSH (rFSH) in mehreren Studien verglichen. Diese Studien konnten zeigen, dass die Stimulation mit rekomb. FSH (rFSH) im Vergleich zu urinärem FSH bei Normal Responder Patientinnen bessere Ergebnisse bringen kann (Bergh et al. 1997, Out et al. 1997).

Die Metaanalyse von Daya et al. konnte 2002 die signifikante Überlegenheit des rekombinanten FSH dem urinären FSH zeigen.

Nach dem die wichtige Rolle des LH durch Andoh K et al. 1998 nachgewiesen werden konnte, haben sich mehrere Studien mit dem Vergleich der rekombinanten FSH und hMG (FSH+LH) beschäftigt. Die erste Metaanalyse aus dem Jahre 2003 (Al Inany et al.) konnte zwischen den beiden Präparaten keinen signifikanten Unterschied nachweisen, jedoch die European and Israeli Study Group publizierte 2002 eine Subgruppenanalyse, die die Überlegenheit des hMG dem rFSH gegenüber zeigen konnte. Daraufhin wurden mehrere große randomisiert kontrollierte Studien initiiert worden. Nahezu alle Studien mit guter Qualität (Westergaard et al. 2001, Ng et al. 2001, Gordon et al. 2001, Diedrich et al. 2002,

Balash et al. 2003, Kilani et al. 2003, Andersen et al. 2006) wurden durch zwei unterschiedliche Arbeitsgruppen (Coomarasamy et al. 2008, Al-Inany et al. 2008) analysiert. So wurden zwar

unter rFSH mehr Oozyten gewonnen, jedoch ließ sich unter hMG-HP eine frühere embryonale Teilung dokumentieren und daraus resultierend 4% mehr Lebendgeburten. Dieser Unterschied ist signifikant. Die für diesen Erfolg zugrunde liegenden Mechanismen, die möglicherweise zu einer Optimierung der embryonalen Entwicklung unter hMG-HP führen, sind unklar und müssen weiter analysiert werden.

Unsere Analyse der Normal Responder Gruppe bestätigt die oben genannten Ergebnisse der Metaanalyse von Coomarasamy et al. und Al-Inany et al. aus dem Jahre 2008. Unter Verwendung des rFSH Mono war die Zahl der gewonnenen Eizellen am höchsten. Die Kombination bestehend aus urinären Gonadotropinen (hMG) und hochgereinigtem FSH, führt zu deutlich niedrigeren Anzahl an gewonnenen Eizellen. Wie vermutet war die Zahl der fertilisierten Eizellen und als Folge die Fertilisationsrate in der rFSH-Mono Gruppe mit $2,9 \pm 1,8$ bzw. $32,6 \pm 22,9$ % am niedrigsten (Tabelle 5-2). Dieses Ergebnis unterstreicht erneut, dass möglicherweise bei einem guten Ansprechen neben den reifen, gut qualifizierten Eizellen auch viele nicht ausgereifte Oozyten gewonnen werden, was wiederum zur niedrigen Fertilisationsrate führt.

Im Gegensatz zu den oben genannten Studien konnten wir in der Normal Responder Gruppe im Hinblick auf die Zahl der geteilten und transferierten Zellen keinen signifikanten Unterschied nachweisen, was möglicherweise mit dem verwendeten GnRH-Analoga zusammenhängt. In den oben genannten Studien kamen ebenfalls GnRH Kurz Protokolle zum Einsatz. Diese sind jedoch dem langen GnRH-Agonisten-Protokoll tendenziell unterlegen.

Als ein wichtiges Ergebnis für die Normal Responder Gruppe lässt sich feststellen, dass rFSH Mono in einem GnRH Lang-Protokoll genauso effektiv ist, wie GnRH-Analoga+hMG +HP-FSH.

Eine konventionelle kontrollierte ovarielle Stimulation ist nur durch zeit- und kostenaufwändige Methoden möglich, die mit erheblichen potentiellen gefährlichen Nebenwirkungen vergesellschaftet sind.

Wenn die ovarielle Stimulation mit FSH in der mittfollikulären Phase beginnt, kann davon ausgegangen werden, dass sich nur die besten Oozyten weiter entwickeln können (Keay et al. 1997). Die Autoren betonen einen weiteren wichtigen Vorteil der Ovarialstimulation mit

niedrig dosierten Gonadotropinen. Da bei den Patientinnen mit der milden Stimulation nur ein Embryo transferiert wurde, ist die wichtigste Komplikation der In vitro-Fertilisation, höhergradige Schwangerschaften, extrem selten. Als Schlussfolgerung wird festgehalten, dass der kumulative Anteil an Schwangerschaften mit Lebendgeburten für beide Stimulationsschemata (konventionell und mild) mit ca. 44% nicht signifikant unterschiedlich ist, so dass für Patientinnen mit einem normalen Zyklus ohne vorausgegangene Therapie am ehesten die nebenwirkungsarme und kostengünstige Alternative, die milde Stimulation, angeboten werden sollte.

6.6. Zusammenhang zwischen Stimulationsprotokoll und IVF/ICSI Outcome in der Low Responder Gruppe

Ein ideales Stimulationsprotokoll für Low Responder existiert nicht. Mehrere kleine Untersuchungen kamen zu unterschiedlichen Ergebnissen.

Besonders bei jüngeren Patientinnen kann die Gabe von Gonadotropinen eine Überreaktion hervorrufen (High-Responder).

Bei schlechtem Ansprechen der normogonadotropischen Patientinnen auf die Standard rFSH Gabe im Rahmen eines GnRH-Agonisten long Protokolls, kann entweder die Dosis der rFSH gesteigert oder bei gleichbleibender rFSH Dosis zusätzlich rLH ab dem 8. Stimulationstag gegeben werden.

Eine der ersten Studien untersuchte den Einfluss unterschiedlicher Gonadotropindosen auf die Schwangerschaftsrate. Ein Anstieg der i.m. Dosen von 4 Amp./Tag FSH auf 6 Amp./Tag führte zu einer Verbesserung der Schwangerschaftsrate im Vergleich zum vorherigen Zyklus (Hofmann et al. 1989). Zwei weitere Studien mit einem ähnlichen Design konnten die Ergebnisse von Hofmann et al nicht bestätigen. In beiden Studien brachte die Erhöhung der FSH Dosis keine Verbesserung der Schwangerschaftsraten (Karande et al. 1990; Van Hoof et al., 1993; Land JA et al. 1996).

Bei der neuesten prospektiv randomisierten Studie (n=119) aus dem Jahre 2007 wurden drei Gruppen gebildet. Während die erste Gruppe 300 IU rFSH erhielt, wurde in den anderen Gruppen die Dosis zunächst auf 450IE(B) dann auf 600 IU FSH(C) erhöht. Die Schwangerschaftsrate war in der ersten Gruppe 13,1%, in der zweiten Gruppe 15,3% und in der dritten Gruppe 16,1%. Die Autoren kommen zur Schlussfolgerung, dass eine Erhöhung der FSH Dosis nicht zur erhofften Erhöhung der Schwangerschaftsraten führt (Berkkanoglu

M 2009).

In unsere Studie kamen viele verschiedene Gonadotropinpräparate und deren Kombinationen zur Anwendung, wobei hohe Dosen, > 300 IE, vermieden wurden.

Es gab Überlegungen mit der Follikelstimulierung einige Tage früher als üblich anzufangen um das Ansprechen zu verbessern. Bei einer prospektiv randomisierten Studie (Rambouts et al. 1998) wurden 40 Patientinnen mit einem schlechten Ansprechen im vorherigen Zyklus in zwei Gruppen unterteilt. Während die erste Gruppe rekombinantes humanes FSH vor Beginn der Menstruation erhielt, basierend auf der Idee, dass die Rekrutierung von antralen Follikeln erfolgt, erhielt die Kontrollgruppe die Medikation in der frühen Follikelphase. Nicht nur die Ergebnisse im Hinblick auf die Stimulationsmerkmale waren identisch, sondern auch die Schwangerschaftsrate zeigte keinen signifikanten Unterschied, so dass mit der Änderung des Therapiebeginns ebenfalls keine Verbesserung des Outcomes erreicht werden konnte.

Alle Patientinnen, die in unserer Studie behandelt wurden, erhielten die Gonadotropine in der frühen Follikelphase.

Zur Klärung der Frage, welches das ideale Protokoll bei Low Respondern ist, analysierten Vollenhoven et al. retrospektiv 1608 Zyklen der Low Responder Patientinnen und stellten fest, dass zwischen dem langen und kurzen Agonisten Protokollen sowie Antagonisten Protokollen im Hinblick auf die Schwangerschaftsrate kein signifikanter Unterschied besteht (Vollenhoven B et al. 2008).

Eine italienische Studiengruppe beschäftigte sich vor kurzem mit der Frage, ob junge normogonadotropische Frauen im Falle eines schlechten Ansprechens auf die Standard rFSH-Gabe, eine Dosiserhöhung der rFSH oder rLH erhalten sollen, um bessere Ergebnisse zu erzielen. Es wurden in die Studie insgesamt 260 Frauen eingeschlossen und mit GnRH-Agonist Lang-Protokollen begonnen. Wenn das Ansprechen nicht adäquat war, wurden drei Gruppen gebildet. Die erste Gruppe erhielt zusätzlich zum Standard 225 IE rFSH-Dosis 150 IE rLH, die zweite Gruppe erhielt eine Dosiserhöhung um 150 IU rFSH. Die dritte Gruppe bildete den Kontrollarm. In der Gruppe 1 war die Zahl der gewonnenen Eizellen mit durchschnittlich 9,0 signifikant höher als in der Gruppe 2 mit 6,1 Eizellen. Auch die Implantations- und die Schwangerschaftsraten waren in der rLH-Gruppe mit 29,3 statt 10,5 signifikant höher. Diese Ergebnisse betonen, wie wichtig eine LH-Supplementation in der kontrollierten ovariellen Hyperstimulation ist (De Placido G et al 2005). Dies stimmt mit den Resultaten der vorliegenden Arbeit überein. 1998 konnte Andoh K et al. zeigen, dass eine

Follikelreifung ohne luteinisierendes Hormon (LH) in einer basal vorhandenen Konzentration ebenfalls nicht erfolgsversprechend ist. Es wird eine Dosis von 75 IU als ausreichend angesehen (Andoh K et al.1998).

Bei einigen Patientinnen mit einem schlechten Ansprechen im vorausgegangenen Stimulationszyklus kann trotz hoher Dosen an Gonadotropinen weiterhin nicht das adäquate Ansprechen erzielt werden. In diesen Fällen erscheint die Fortsetzung nicht sinnvoll, insbesondere wenn regelmäßige spontane ovulatorische Zyklen nachgewiesen werden können. Um das Problem des frühen LH-Anstiegs zu vermeiden, kann in dem sogenannten modifizierten natürlichen Zyklus, ein GnRH-Antagonist in der Follikelphase bis ein Follikel eine Größe von 13-14 mm erreicht, appliziert werden. Ab dieser Größe wird der Zyklus mit FSH-Gabe unterstützt. Nach der Ovulationsinduktion mit hCG erfolgt die Follikelpunktion. Bassil et al. 1999 berichteten, dass eine akzeptable Schwangerschaftsrate von 18,8 % pro gestartetem Zyklus erzielt werden kann. Eine weitere Studie von Kollibianakis aus dem Jahr 2004 konnte dies nicht bestätigen. Eine recht aktuelle Analyse aus dem Jahre 2009 unterstreicht die Vorteile eines so genannten natürlichen Zyklus im Rahmen der IVF bei Low Responder Patientinnen: Schimberni et al. analysierten retrospektiv 500 natürliche Zyklen von 294 Poor Responder Patientinnen. Bei 391 Fällen (78,1%) konnte ein Oozyt gefunden werden. Daraus resultierten insgesamt 49 (9,8% pro Zyklus) Schwangerschaften. Die Schwangerschaftsrate war bei der Patientenpopulation 35 Jahre und jünger mit 18,1 % pro Zyklus am höchsten. Die Schwangerschaftsrate war bei der Gruppe der 36-40 jährigen 11,7 % und bei der dritten Gruppe 40 Jahre und älter immer noch 5,8% pro Zyklus. Die Autoren propagieren eine ovarielle Stimulation im natürlichen Zyklus insbesondere bei jungen Poor Responder Patientinnen, nicht nur wegen der akzeptablen Ergebnisse, sondern auch der guten Verträglichkeit und Kostenersparnisse wegen. Als Erklärung für die guten Ergebnisse trotz der niedrigen Zahl der gewonnenen Eizellen unter einem milden Stimulationsprotokoll, ist die Rekrutierung der besten Oozyten naheliegend.

In der vorliegenden Dissertation konnten bei Low Responder Patientinnen die besten Ergebnisse im Hinblick auf die Zahl der gewonnenen ($3,7 \pm 1,30$), fertilisierten ($2,1 \pm 1,4$), geteilten und transferierten Zellen ($1,7 \pm 1,0$) unter der Kombination von rFSH+hMG erzielt werden. Durch die Verwendung der Kombination rFSH+rLH konnten folgende Ergebnisse erzielt werden: Zahl der gewonnenen Eizellen ($3,6 \pm 1,2$), Zahl der fertilisierten Eizellen ($2,0 \pm 1,3$) und Zahl der geteilten und transferierten Zellen ($1,7 \pm 0,9$).

Die Zahl der gewonnenen ($3,0\pm 1,4$), fertilisierten ($1,7\pm 1,1$), geteilten und der transferierten Eizellen ($1,5\pm 0,9$) war unter Verwendung des urinären Gonadotropins (hMG) alleine im Vergleich zur anderen Gruppen deutlich niedriger (Tabelle 5-3). Zusammenfassend lässt sich für die Low Responder Gruppe sagen, dass wir die besten Ergebnisse mit der Kombination von rFSH+hMG oder rFSH+rLH erzielen konnten. Dies unterstreicht die große Rolle des LH im Rahmen der ovariellen Stimulation bei Poor Responder Patientinnen.

Durch die Down-Regulation mittels GnRH-Analoga im Rahmen der IVF/ICSI kommt es zu einer LH-Suppression und daraus resultierendem Progesterondefizit.

In einer der neuesten randomisierten Studie von Fabregues et al. 2009 erhielten Patientinnen vor der hohen Dosis Gonadotropin-Gabe beim GnRH-Antagonisten-Protokoll transdermal Testosteron.

In der Poor Responder Population war die Empfindlichkeit der Eierstöcke auf das FSH signifikant höher in der Testosteron vorbehandelten Gruppe als in der Kontrollgruppe. Es wurden deutlich weniger Gonadotropine verbraucht und weniger Zyklen abgebrochen. Die Autoren weisen darauf hin, dass die Aussagekraft der Studie aufgrund der geringen Fallzahl eingeschränkt ist und weitere große prospektiv randomisierte Studien initiiert werden müssen (Fabregues et al. 2009).

6.7. Zusammenhang zwischen Stimulationsprotokoll und IVF/ICSI Outcome in der High Responder Gruppe

Unsere Analyse der High Responder Gruppe zeigt, dass unter Verwendung des urinären Gonadotropins (hMG) in Kombination mit hochgereinigtem FSH mit $16,2\pm 3,9$, weniger Eizellen gewonnen werden kann. Im Gegensatz dazu war unter Verwendung des rFSH-Mono die Zahl der gewonnenen Eizellen mit $19,0\pm 6,3$ am höchsten. Interessanterweise ist die Zahl der fertilisierten Eizellen in der hMG-Mono Gruppe mit $9,8\pm 5,2$ am niedrigsten. Hinsichtlich der Zahl der geteilten und transferierten Zellen schneidet wiederum die rFSH-Mono-Gruppe mit $2,3\pm 1,3$ am besten (Tabelle 5-4) ab. Die vorliegenden Ergebnissen bestätigen die Resultate von Devreker et al. 1999 und Sharma et al. 2002 und zeigten, dass zwischen der steigenden Zahl der gewonnenen Eizellen und der Anzahl der Embryonen zum Transfer eine Korrelation besteht. Im Gegensatz dazu stimmen die vorliegenden Ergebnisse nicht mit denen von Valbuena et al. und Keay et al. überein, welche eine sehr niedrige Chance auf eine Schwangerschaft vorhersagen, wenn die Zahl der gewonnenen Eizellen mehr als 18 beträgt.

Die Schwangerschaftsrate ist in unserer Studie trotz Tendenzen zu Ungunsten der High Responder Gruppe (22,0%) nicht der Normal Responder-Gruppe (24,7%) signifikant unterlegen ($p=0,169$).

6.8. Schwangerschaftsrate

Laut dem deutschen IVF-Register aus dem Jahre 2008 ist die Schwangerschaftsrate pro Embryotransfer 30,3% bei IVF und 28,9 % bei ICSI. Die Geburtenrate pro Behandlung beträgt bei IVF 18,1% und 19,42 % bei ICSI. Die Schwangerschaftsrate pro Embryotransfer lag vor 10 Jahren nur bei 22,4 %.

Von den insgesamt analysierten 1870 Stimulationszyklen konnten anhand der Zahl der gewonnenen Eizellen 924 als Normal Responder definiert werden. Wir konnten in dieser Gruppe zwischen 1998 und 2006 eine durchschnittliche Schwangerschaftsrate pro Embryotransfer von 24,7% erreichen, was den Werten des DIR und anderen Länder entspricht. In der Low Responder Gruppe war die Schwangerschaftsrate nur 19,9%. Obwohl in der High Responder Gruppe mit $17,1 \pm 4,2$ Eizellen quantitativ zunächst ein gutes Ergebnis erzielt werden konnte, blieb die Schwangerschaftsrate mit 22,0 % unter dem Wert der Normal Responder Gruppe. Zu bemerken ist jedoch, dass nur der Unterschied zwischen der Normal- und Low Responder Gruppe signifikant ist ($P=0,031$) (Tabelle 5-5; Diagramm 5-1). Trotz oben genannter Tendenzen zu Ungunsten der High Responder Gruppe ist sie nicht der Normal Responder-Gruppe signifikant unterlegen ($p=0,169$) (Tabelle 5-7; 5-3). Bei dem Vergleich der High und Low Responder Gruppen zeigte sich ebenfalls kein signifikanter Unterschied ($P=0,236$) (Tabelle 5-6; Diagramm 5-2).

Zwei Arbeiten in der Literatur fanden eine positive Korrelation zwischen dem schlechten ovariellen Ansprechen auf eine konventionelle Stimulation und der Schwangerschaftsrate (Beckers et al. 2002, Tarlatzis et al. 2003). Diese Ergebnisse konnten in der eigenen Untersuchung bestätigt werden.

Das Hauptziel der kontrollierten ovariellen Hyperstimulation (COH) besteht darin für genügend gut qualifizierte Oozyten, die zu gesunden Embryos führen, zu sorgen. (Arslan et al. 2005). Das schlechte Ansprechen der Ovarien (Low Responder) auf die Standard-Stimulation bei verminderter ovarieller Reserve ist nicht selten (Tarlatzis BC et al. 2003). Im Rahmen der ovariellen Stimulation eingesetzte Gonadotropine führen zum Wachstum mehrerer Follikel und damit zu hohen Östradiolwerten, was wiederum über die zentrale

Rückkopplungsmechanismen zur vorzeitigen Sekretion des luteinisierenden Hormons führt. Die vorzeitige Luteinisierung ist im Rahmen der IVF-Behandlung unerwünscht, weil dadurch eine verminderte Befruchtungsfähigkeit der Eizellen unvermeidbar ist (Antoine et al. 1990, Kingsland et al. 1992, Maclachlan et al. 1989, Neveu et al. 1987, Ron-El et al. 1991).

Um einen prämaternen LH-Anstieg zu verhindern, wird die ovarielle Stimulationsbehandlung der Gonadotropinen mit GnRH Analogon kombiniert. In der Regel beginnt die Suppression der Hypophysenvorderlappenfunktion mittluteal im vorangehenden Zyklus (langes Protokoll). Es muss jedoch exogen das für die Stimulation erforderliche Gonadotropin zugefügt werden.

Bei Patientinnen mit einem schlechten Ansprechen auf die Stimulation im vorausgegangenem Zyklus und bei denen das Risiko auf Low Response ohnehin erhöht ist, könnte ein GnRH-Agonist-short-Protokoll mit einem flare-up-Effekt im Vergleich zum standard long Protokoll bezüglich des Outcomes Vorteile bieten (Padilla et al. 1996, Tasdemir et al. 1996). Daraufhin wurde in neueren Studien versucht, durch diverse Modifikationen, insbesondere Verkürzung der Protokolle auf so genannte Short-, Ultrashort Mini- oder Micro-Flare-up-Protokolle, die Ergebnisse zu optimieren, was jedoch nicht gelang (Anserini P et al. 1997, Karande V et al. 1997, Daya S 2000). Der Vorteil dieser kurzen Protokolle ist die Kostenersparnis.

Die üblichen downregulationsbedingten Nebenwirkungen wie hot flashes und klimakterische Symptome und die höhere Inzidenz des ovariellen Hyperstimulationssyndroms bei dem langen Protokoll trieb die Suche nach Alternativen weiter. In diesem Zusammenhang kamen die GnRH-Antagonisten zum Einsatz. Sie verhindern ebenso den LH-Anstieg durch sofortiges Unterdrücken der endogenen Gonadotropine ohne einen initialen Gonadotropin-Anstieg hervorzurufen, daher kann man sie erst bei fortgeschrittener Follikelreifung mit der ovariellen Gonadotropinstimulation geben. Hierdurch kann eine natürlichere Rekrutierung der Follikel erzielt werden. Die Ergebnisse der Studien sind kontrovers. Während einige Studien (Akman et al. 2000, De Placido et al. 2006) mit kleinen Fallzahlen (n=40 bzw. 133) einen signifikanten Benefit zu Gunsten der Antagonisten-Protokolle zeigen konnten, konnten andere Studien diese Ergebnisse für die Normal Responder-Population nicht bestätigen.

Die Metaanalyse von Griesinger et al. nahm 2006 alle randomisierte GnRH-Antagonisten-Studien bei Low Respondern unter die Lupe. Es war ein signifikanter Unterschied im Hinblick auf die Länge der Stimulation und erforderliche Gonadotropinmenge zugunsten der GnRH-Antagonisten-Protokolle, im Vergleich zu GnRH-Agonisten festzustellen ($p < 0.01$). Die Zahl der gewonnenen Eizellen war in der Antagonisten-Gruppe höher, wenn mit dem Long Agonisten-Protokoll verglichen wurde. Die klinische Schwangerschaftsrate war

tendenziell unter den GnRH-Antagonisten basierten Protokollen höher (20 - 22,2% vs. 6,5 - 26.3%), der Unterschied erreichte jedoch das statistische Signifikanzniveau nicht. Nur drei Studien mit kleineren Fallzahlen (n=20, 23 und 24) untersuchten diesen Aspekt, was die Aussagekraft deutlich einschränkt.

In der eigenen Untersuchung erfolgte die Desensitivierung der Hypophyse standardmässig in allen Gruppen mit GnRH-Agonisten im langen Protokoll, womit in Deutschland knapp 60% der Stimulationsbehandlungen vorbereitet werden (DIR, Jahresbericht 2008). Die Schwangerschaftsrate von 19,9% in der eigenen Low Responder Gruppe ist den Resultaten der oben genannten Studien, die GnRH-Antagonisten verwendet haben, ähnlich.

In den vorliegenden Untersuchungen, konnte festgestellt werden, dass eine mögliche praktische Umsetzung dieser Kenntnisse darin bestehen könnte, zukünftig bei Poor Responder- Patientinnen zur ovariellen Stimulation nur rekombinantes follikelstimulierendes Hormon (rFSH) in Kombination mit rekombinantem luteinisierten Hormon (rLH) oder humanem Menotropin zu verwenden um die besten Ergebnisse zu erzielen. In der Normal und High Responder Gruppe führte das rFSH-Mono zu den besten Resultaten.

7. Literaturverzeichnis

1. Aboulghar MA, Mansour RT, Serour GI, Ramzy AM, Amin YM (1997) Oocyte quality in patients with severe ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS). *Fertil Steril* 68: 1017–1021
2. Aboulghar MA, Mansour RT (2003) Ovarian hyperstimulation syndrome: classifications and critical analysis of preventive measures. *Hum Reprod Update* 9: 275-289
3. Adashi EY (1985) Insulin-like growth factors as intraovarian regulators of granulosa cell growth and function. *Endocr Rev* 6: 400-420
4. Aflatoonian A, Oskouian H, Ahmadi S, Oskouian L (2009) Prediction of high ovarian response to controlled ovarian hyperstimulation: anti-Müllerian hormone versus small antral follicle count (2-6 mm). *J Assist Reprod Genet* 26: 319-325
5. Akagbosu F, Marcus S, Abusheikha N, Avery S, Brinsden P (1998) Does ovarian hyperstimulation syndrome affect the quality of oocytes? *Hum Reprod* 13: 2583–2584
6. Akman M, Erden HF, Tosun SB, Bayazit N, Aksoy E, Bahceci M (2000) Addition of GnRH antagonist in cycles of poor responders undergoing IVF. *Human Reprod* 15: 2145-2147
7. Akman M, Erden HF, Tosun SB et al. (2001) Comparison of agonistic flare-up-protocol and antagonististic multiple dose protocol in ovarian stimulation of poor responders; results of a prospective randomized trial. *Human Reproduction* 16: 868-870
8. Albuquerque LE, Saconato H, Maciel MC (2005) Depot versus daily administration of gonadotrophin releasing hormone agonist protocols for pituitary desensitization in assisted reproduction cycles. *Cochrane Database of Systematic Reviews*; CD002808

9. Al-Fadhli R, Sylvestre C, Buckett W, Tan SL, Tulandi T (2006) A randomized trial of superovulation with two different doses of letrozole. *Fertil Steril* 85: 161-4
10. Al-Fozan H, Al-Khadouri M, Tan SL, Tulandi T (2004) A randomized trial of letrozole Versus clomiphene citrate in women undergoing superovulation. *Fertil Steril* 82: 1561-1563
11. Al-Inany HG, Abou-Setta AM, Aboulghar M (2007) Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted conception: a Cochrane Review. *Reprod Biomed Online* 14: 640-649
12. Al-Inany HG, Abou-Setta AM, Aboulghar MA, Mansour RT, Serour GI (2008) Efficacy and safety of human menopausal gonadotrophins versus recombinant FSH: a meta-analysis. *Reproductive BioMedicine Online* 16: 81-88
13. Al Mizyen E, Sabatini L, Lower AM, Wilson CM, al Shawaf T, Grudzinkas JG (2000) Does pretreatment with progesterone or oral contraceptive pills in low responders followed by the GnRHa flare protocol improve the outcome of IVF-ET? *J Assist Reprod Genet* 17: 140-146
14. Andersen AN, Devroey P, Arce JC (2006) Clinical outcome following stimulation with highly purified hMG or recombinant FSH in patients undergoing IVF: a randomized assessor-blind controlled trial. *Human Reproduction* 21: 3217-3227
15. Andoh K, Mizunuma H, Liu X et al. (1998) A comparative study of fixed-dose, step-down, and low-dose step-up regimens of human menopausal gonadotropin for patients with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 70: 840-846
16. Anserini P, Magnasco A, Remorgida V, Gagero G, Testa D, Capitanio GL (1997) Comparison of a blocking vs. a flare –up protocol in poor responders with a normal and abnormal clomiphene citrate challenge test. *Gynecol Endocrinol* 4: 321-6
17. Antoine JM, Salat-Baroux J, Alvarez, S, Cornet D, Tibi CH, Mandelbaum J (1990)

- Ovarian stimulation using human menopausal gonadotropins with or without LHRH analogues in a long protocol for in vitro fertilisation: a prospective randomised comparison. *Human Reprod* 5: 565-569
18. Arslan M, Bocca S, Mirkin S (2005) Controlled ovarian hyperstimulation protocols for in vitro fertilization: two decades of experience after the birth of Elisabeth Carr. *Fertil Steril* 84: 555-569
 19. Awonuga AO und Nabi A (1997) In vitro fertilization with low dose clomiphene citrate stimulation in women who respond poorly to superovulation. *J Assist Reprod Genet* 14: 503-507
 20. Bahceci M, Ulug U, Ben-Shomo I, Erden HF, Akman MA (2005) Use of GnRH antagonist in controlled ovarian hyperstimulation for assisted conception in women with polycystic ovary disease. *J Reprod Med* 4: 084-90
 21. Barri PN, Martinez F, Coroleu B, Parera N, Veiga A (1998) Managing non responders. In: Kempers R, Haney A, Younger B (Eds.) *Proceedings of the XVI World Congress of IFFS*. Elsevier Science, San Francisco pp. 127-137
 22. Barri PN, Buenaventura C, Martinez F, Veiga A (2000) Stimulation protocols for poor responders and aged women, *Molecular and cellular Endocrinology* 166:15-20
 23. Bassil S, Godin PA, Donnez J (1999) Outcome of in-vitro fertilization through natural cycles in poor responders. *Human Reproduction* 14: 1262-1265
 24. Bayar U, Tanriverdi HA, Barut A (2006) Letrozole vs. Clomiphene citrate in patients with ovulatory infertility. *Fertil Steril* 85: 1045-1048
 25. Beckers NG, Macklon NS, Eikemans MJ, Van Opstal D, Fauser BC. (2002) Women with regular menstrual cycles and a poor response to ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization exhibit follicular phase characteristics suggestive of ovarian aging. *Fertil Steril* 78: 291-297

26. Ben-Rafael Z, Feldberg D (1993) The poor responder patient in an in vitro fertilization-embryo transfer program. *J Assist Reprod Genet* 10: 118-120

27. Bender HG, Diedrich K, Künzel W (2001) Endokrinologie und Reproduktionsmedizin I. In: „Klinik der Frauenheilkunde und Geburtshilfe“, Band 1, 4. Auflage Urban & Fischer Verlag, München, Jena

28. Bergh C, Howles CM, Borg K et al. (1997) Recombinant follicle stimulating hormone (r-h-FSH; Gonal-F) versus highly purified urinary FSH (Metrodin HP): results of a randomized comparative study in women undergoing assisted reproductive techniques. *Hum Reprod* 12: 2133-39

26. Berkkanoglu M, Ozgur K (2007) What is the optimum maximal gonadotropin dosage used in micro dose flare-up cycles in poor responders? *Fertil and Steril* 88, Supplement 1: 281-282

27. Biljan MM (2006) Pre-treatment with an oral contraceptive is effective in reducing the incidence of functional ovarian cyst formation during pituitary suppression by gonadotropin-releasing hormone analogues. *J Assist Reprod Genet* 15: 599-604

28. Binder H, Griesinger G, Kiesel L (2007) Ovarielles Überstimulationssyndrom. *Gynäkologische Endokrinologie* 5: 203-211

29. Branigan EF, Estes MA (2003) A randomized clinical trial of treatment of clomiphene citrate-resistant anovulation with the use of oral contraceptive pill suppression and repeat clomiphene citrate treatment. *Am J Obstet Gynecol* 188: 1424-1428

30. Bromer JG, Cetinkaya MB, Arici A (2007) Pretreatments before the Induction of Ovulation in Assisted Reproduction Technologies: Evidence-based Medicine in (2008) *Annals of the New York Academy of Sciences* 1127: 31-40

31. Cameron IT, O'Shea FC, Rolland JM, Hughes EG, De Kretser DM, Healy DL (1998) Occult ovarian failure: A syndrome of infertility, regular menses, and elevated follicle-

- stimulating hormone concentration. *J Clin Endocrinol Metab* 67: 1190-1194
32. Cantineau AE, Cohlen BJ, Heineman M (2006) The search for an optimal stimulation protocol for intrauterine insemination (IUI): a Cochrane systematic review. *Fertil Steril* 86 (Suppl 2): 422
 33. Cheung LP, Lam PM, Lok IH et al. (2005) GnRH antagonist versus long GnRHa protocol in poor responders undergoing IVF: a randomized controlled trial. *Human Reproduction* 20: 616-621
 34. Choudhury SR, Knapp LA (2001) Human reproductive failure I: immunological factors. *Hum Reprod Update* 7: 113-134
 35. Clayton RN, Catt KJ (1981) Gonadotropin-releasing hormone receptors: characterization, physiological regulation and relationship to reproductive function. *Endocrinol Rev* 2: 186
 36. Cole PA, Robinson CH (1990) Mechanism and inhibition of cytochrome P-450 aromatase. *J Med Chem* 33: 2933-44
 37. Coomarasamy A, Afnan M, Cheema D, van der Veen F, Bossuyt PMM, van Wely M (2008) Urinary hMG versus recombinant FSH for controlled ovarian hyperstimulation following an agonist long down-regulation protocol in IVF or ICSI treatment: a systemic review and meta-analysis. *Hum Reprod* 23: 310-315
 38. Coy DH, Labrie F, Savary M, Coy EJ, Schally AV (1975) LH-releasing activity of potent LH-RH analogs in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 67: 576-582
 39. Daya S, Collins JA, Gunby J, Sagle MA, Hughes EG (1995) Follicle-stimulating hormone versus human menopausal gonadotropin for in vitro fertilization cycles: a meta-analysis. *Fertil Steril* 64: 347-354
 39. Daya S (2000) Gonadotropin releasing hormone agonist protocols for pituitary

desensitization in vitro fertilization and gamete intrafallopian transfer cycles.
Cochrane Database Syst Rev (2): CD001299

40. Daya S, Gunby J (2002) Recombinant versus urinary follicle stimulating hormone for ovarian stimulation in assisted reproduction cycles. The Cochrane Library 1
41. Dayal MB, Gindoff P, Dubey A, Spitzer TLB, Bergin A, Peak D, Frankfurter D (2009) Does ethnicity influence in vitro fertilization birth outcomes. *Fertil Steril* 91: 2414-2418
42. De Groot LJ, Jameson JL (eds) (2006) *Endocrinology*, Fifth Edition, Elsevier Saunders
43. De Placido G, Alviggi C, Mollo M Strina I, Varichio MT, Molis M (2000) Recombinant follicle stimulating hormone is effective in poor responders to highly purified follicle stimulating hormone. *Hum Reprod* 15: 17-20
44. De Placido G, Alviggi C, Perino A, Strina I, Lisi F, Fasolino A, De Palo R, Ranieri A, Colacurci N, Mollo (2005) Recombinant Human LH supplementation versus recombinant human FSH (rFSH) step-up protocol during controlled ovarian stimulation in normogonadotrophic women with initial inadequate ovarian response to rFSH. A multicentre, prospective, randomized controlled trial. *Human Reproduction* 20: 390-396
45. De Placido G, Mollo A, Clariza R (2006) Gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) antagonist plus recombinant luteinizing hormone versus a standard GnRHa short protocol in patients at risk for poor ovarian response. *Fertil Steril* 85: 247-250
46. De Placido G, Mollo A, Clarizia R, Strina I, Conforti S, Alviggi C (2006) Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) antagonist plus recombinant luteinizing hormone vs. A standard GnRH agonist short protocol in patient at risk for poor ovarian response *Fertil Steril* 85: 247-250

47. Devreker F, Pogonici E, De Maertelaer V, Revelard P, Van den Bergh M, Englert Y (1999) Selection of good embryos for transfer depends on embryo cohort size: implications for the mild ovarian stimulation debate. *Hum Reprod* 14: 3002-3008
48. Diedrich K., Diedrich C, Santos E, Zoll C, Al-Hasani S, Reissmann T, Krebs D (1994) Suppression of the endogenous luteinizing hormone surge by the Gonadotrophin-releasing hormone antagonist Cetrorelix during ovarian stimulation. *Hum Reprod* 9: 788-791
49. Di Pasquale E, Beck-Peccoz P, Persani L (2004) Hypergonadotropic ovarian failure associated with an inherited mutation of human bone morphogenetic protein-15 (BMP15) gene. *Am J Hum Genet* 75: 106-11
50. DIR (Deutsches IVF-Register e.V.) Jahresbericht 2008 Online unter www.deutsches-ivf-register.de/Jahresberichte.
51. Dirckx K, Cabri P, Merien A, Galajdova L, Gerris J, Dhont M, De Sutter P (2009) Does low-dose aspirin improve pregnancy rate in IVF/ICSI? A randomized double-blind placebo controlled trial *Hum Reprod* 24: 856-860
52. Dixit H, Rao LK, Padmalatha W, Kanakavalli M, Deenadayal M, Gupta N, Chakrabarty B, Singh L (2006) Missense mutations in the BMP15 gene are associated with ovarian failure. *Hum Genet* 119: 408-15
53. Doldi N (2006) Gonadotropin-releasing hormone antagonist and metformin for treatment of polycystic ovary syndrome patients undergoing in vitro fertilization-embryo transfer. *Gynecol Endocrinol* 22: 235-238
54. Dong J, Albertini DF, Nishimori K, Kumar TR, Lu N, Matzuk MM (1996) Growth differentiation factor-9 is required during early ovarian folliculogenesis. *Nature* 383: 531-5
55. Dor J, Ben-Shlomo I, Levran D, Rudak E, Yunish M, Mashiach S (1992) The relative

- success of Gonadotropin-releasing hormone analogue, clomiphene citrate, and gonadotropin in 1099 cycles of in vitro fertilization. *Fertil Steril* 58: 986-990
56. Dorn C, Griesinger G (2009) GnRH-Analoga in der Reproduktionmedizin. *Gynäkologische Endokrinologie* 7: 161-170
 57. Dunaif A (1992) Evidence for distinctive and intrinsic defects in insulin action in polycystic ovary syndrome. *Diabetes* 41: 1257-1266
 58. Edmonds DK, Lindsay KS, Miller JF (1982) Early embryonic mortality in women. *Fertil Steril* 38: 447-453
 59. Eppig JJ, (2001) Oocyte control of ovarian follicular development and function in mammals. *Reproduction* 122: 829-38
 60. Erickson GF (1989) Insulin-like growth factor-I regulates aromatase activity in human granulosa and granulosa luteal cells. *J Clin Endocrinol Metab* 69: 716-724
 61. Faber BM, Mayer J, Cox B, Jones D, Toner JP, Oehninger S, Muasher SJ (1998) Cessation of gonadotropin-releasing hormone agonist therapy combined with high-dose gonadotropin stimulation yields favourable pregnancy results in low responders. *Fertil Steril* 69: 826-30
 62. Fabregues F, Penarrubia J, Creus M, Manau D, Casals G, Carmona F, Balasch J (2009) Transdermal testosterone may improve ovarian response to gonadotrophins in low-responder IVF patients: a randomized, clinical trial. *Human Reproduction* 2: 349-359
 63. Fatemi HM, Popovic-Todorovic B, Papanikolaou E et al (2007) An update of luteal phase support in stimulated IVF cycles. *Hum Reprod Update* 13: 581-590
 64. Fauser BC, Devroey P, Yen SS, Gosden R, Crowley WF Jr, Baird DT, Bouchard P

- Minimal ovarian stimulation for IVF: appraisal of potential benefits and drawbacks.
Hum Reprod 14: 2681-2686
65. Felberbaum R, K pker W, Ludwig M, Diedrich K (2002) Die Konzeption der Frau. Gynäkologische Endokrinologie 0: 18-25
 66. Feldeberg D, Farmi J, Ashkenazi J, Dicker D, Shalev J, Ben - Rafael Z (1994) Minidose GnRH agonist is the treatment of choice in poor responders with high FSH levels. Fertil Steril 62: 343-346
 67. Ferraretti AP, Gianaroli L, Magli MC, Bafaro G, Colacurci N (2000) Female poor responders. Molecular and Cellular Endocrinology 161: 59-66
 68. Feyereisen E (2006) Anti-Müllerian hormone: clinical insights into a promising biomarker of ovarian follicular status. Reprod Biomed online 12: 695-703
 69. Fisch B, Royburt M, Pinkas H, Avrech OM, Goldman GA, Bar J, Tadir Y, Ovadia J (1996) Augmentation of low ovarian response to superovulation before in vitro fertilization following priming with contraceptive pills. Isr J Med Sci 32: 1172-1176
 70. Frattarelli JL, Peterson EH (2004) Low basal testosterone may predict poor IVF outcome. Fertil Steril 81: 1713-1714
 71. Frazier L, Grainger DA, Schieve LA, Toner JP (2004) Follicle-stimulating hormone and estradiol levels independently predict the success of assisted reproductive technology treatment. Fertile Steril 82: 834-840
 72. Fujii S, Sagara M, Kudo H, Kagiya A, Sato S, Saito Y (1997) A prospective randomized comparison between long and discontinuous-long protocols of gonadotropin releasing hormone agonist for IVF. Fertil Steril 67: 1166-1168
 73. Ganesh A, Goswami SK, Chaddopathyay K, Chakrawathy B (2009) Comparison of letrozol with continuous gonadotropins and clomiphene-gonadotropin combination for

- ovulation induction in 1387 PCOS women after clomiphene citrate failure: a randomized prospective clinical trial. *J Assist Reprod Genet* 26: 19-24
74. Garcia JE, Padilla SL, Bayati J, Baramki TA (1990) Follicular phase gonadotropin-releasing hormone agonist and human gonadotropins: a better alternative for ovulation induction in in vitro fertilization. *Fertil Steril* 53: 302-305
 75. Gelbaya TA, Kyrgiou TC Li, Stern C, Nardo LG (2007) Low-dose aspirin for in vitro fertilization: a systemic review and meta-analysis. *Human Reproduction Update* 13: 357-364
 76. Gorkemli H, Akyurek C (2004) Comparison of pregnancy outcomes of progesterone+estradiol for luteal phase support in ICSI-ET cycles. *Gynecol Obstet Invest* 58: 140-144
 77. Gougeon A (1986) Dynamics of follicular growth in the human: a model from preliminary results. *Hum Reprod* 1: 81-87
 78. Gougeon A (1998) Ovarian follicular growth in humans; ovarian ageing and population of growing follicles. *Maturitas* 30: 137-142
 79. Greenblatt RB, Barfield WE, Jungck EC, Ray AW (1961) Induction of Ovulation with MRL/41 Preliminary Report. *J Am Med Assoc* 178: 101-104
 80. Greisinger G, Schultze-Mosgau A, Felberbaum R, Diedrich K (2003) Zukünftige Wege der ovariellen Stimulation. *Gynäkologische Endokrinologie* 1: 150-158
 81. Greisinger G, Schultze-Mosgau A, Felberbaum R, Diedrich K (2003) Reproduktionsmedizin: Aktueller Stand und Zukunft. *Frauenarzt* 44:860-867
 82. Griesinger G, Diedrich K, Tarlatzis BC, Kolibianakis EM (2006) GnRH-antagonist in ovarian stimulation for IVF in patients with poor response to gonadotrophins, polycystic ovary syndrome, and risk of ovarian hyperstimulation: a meta-analysis.

83. Griesinger G (2007) Stronger reduction of assisted reproduction technique treatment cycle numbers in economically weak geographical regions following the German healthcare modernization law in 2004. *Hum Reprod* 22: 3027-3030
84. Griesinger G (2009) Reproduktionsmedizin in Europa und Deutschland. *Der Gynäkologe* 42: 487-494
85. Grumbach MM (2002) The neuroendocrinology of human puberty revisited. *Horm Res* 57: 2-14
86. Harper K, Proctor M, Hughes E (2003) Growth hormone for in vitro fertilization, *Cochrane Database Syst Rev* 3: CD000099
87. Hayden Catherine (2008) GnRH Analogues: applications in assisted reproductive techniques. *European Journal of Endocrinology* 159:17-25
88. Heijnen EM, Eijkemans MJ, De Klerk C, Polinder S, Beckers NG, Klinkert ER, Broekmanns FJ, Passchier J, Te Velde ER, Macklon NS (2007) A mild treatment for in-vitro fertilization: a randomized non-inferiority trial randomized trial. *Lancet* 369: 743-749
89. HFEA (2000) Ninth Annual report and Accounts, Human Fertilization and Embryology Authority, London
90. Hofmann GE, Toner JP, Muasher SJ, Jones GS (1989) High dose follicle stimulating in low responder patients for in Vitro fertilisation. *J In Vitro Fert Embryo Transf* 6: 285-289
91. Hohl MK (2007) Neues zur Ovulationsinduktion. *Frauenheilkunde-aktuell* 4: 14-16
92. Hohmann FP, Macklon NS, Fauser BC (2003) A randomized comparison oft who

ovarian stimulation protocols with gonadotropin-releasing hormone (GnRH) antagonist cotreatment for in vitro fertilization commencing recombinant follicle-stimulating hormone on cycle day 2 or 5 with the standard long GnRH agonist protocol. *J Clin Endocrinol Metab* 88: 166-173

93. Homburg R, Levy T and Ben-Rafael Z (1995) Adjuvant growth hormone for induction of ovulation with gonadotropin-releasing hormone agonist and gonadotrophins in polycystic ovary syndrome: a randomized, double-blind, placebo controlled trial. *Hum Reprod* 10: 2550-2553
94. Homburg R (2005) Clomiphene citrate - end of an era? A mini-review. *Hum Reprod* 20: 2043-2051
95. Hughes E, Collins J, Vandekerckhove P (2000) Gonadotrophin-releasing hormone analogue as an adjunct to gonadotropin therapy for clomiphene-resistant polycystic ovarian syndrome. *Cochrane Database Sys Rev* 2: CD000097
96. Huirne JA, van Loenen AC, Donnez J, Pirard C, McDonnell J, Schats R, Homburg R, Lambalk CB (2006) Effect of timing gonadotropins administration after oral contraceptive pill on follicular development in IVF/ICSI patients receiving a GnRH antagonist: a randomized study. *Reprod Biomed Online* 13: 235-245
97. Huirne JA, Hugues JN, Pirard C, Fischl F, Sage JC, Pouly JL, Obruca A, Braat DM, van Loenen AC, Lambalk CB (2006) Cetrorelix in an oral contraceptive-pretreated stimulation cycle compared with buserelin in IVF/ICSI patients treated with r-hFSH: a randomized, multicentre, phase IIIb study. *Hum Reprod* 21: 1408-1415
98. Huirne JA, Homburg R, Lambalk CB (2008) Are GnRH antagonists comparable to agonists for use in IVF? *Human Reproduction* 22: 2805-2813
99. Imani B, Eijkemans MJ, te Velde ER (2002) A nomogram to predict the probability of live birth after clomiphene citrate induction of ovulation in normogonadotropic

oligoamenorrhoeic infertility. *Fertil Steril* 7: 91-97

100. Jacobs SL, Metzger DA, Dodson WC, Haney AF (1990) Effect of age on response to human menopausal gonadotropin stimulation. *J Clin Endocrinol Metab* 71: 1525-1530
101. Jenkins JM, Davies DW, Devenport H, Anthony FW, Godd SC, Watson RH, Masson GM (1991) Comparison of poor responders with good responders using a standard buserelin/HMG regime for IVF. *Hum Reprod* 6: 918-921
102. Kan A, Hung Ng EHY, Yeung WSB, Ho CP (2006) Perifollicular vascularity in poor ovarian responders during IVF. *Human Reproduction* 21: 1539-1544
103. Karande VC, Jones GS, Veeck LL, Muasher SJ (1990) High-dose follicle-stimulating hormone stimulation at the onset of the menstrual cycle does not improve the in vitro fertilization outcome in low-responder patients. *Fertil Steril* 53: 486-489
104. Karande V, Morris R, Rinehart J, Miller C, Rao R, Gleicher N (1997) Limited success using the „flare“ protocol in poor responders in cycles with low basal follicle-stimulating hormone levels during in vitro fertilisation. *Fertil Steril* 67: 900-903
105. Karck U (1996) GnRH und seine Analoga. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart
106. Keay SD, Liversedge NH, Mathur RS, Jenkins JM (1997) Assisted conception following poor ovarian response to gonadotrophin stimulation. *Br J Obstet Gynaecol* 104: 521-527
107. Keck Ch (2002) Diagnostik und Therapie des unerfüllten Kinderwunsches, 1. Auflage Uni-Med Verlag AG, Bremen, London, Boston
108. Kentenich H und Pietzner K (2007) Qualitätssicherung in der assistierten Reproduktion auf der Grundlage einer qualifizierten Beratung. *Gynäkologische Endokrinologie* 5: 187-192

109. Kim CH, Cho YK, Mok JE (1996) Simplified ultralong protocol of gonadotrophin releasing hormone agonist for ovulation induction with intrauterine insemination in patients with endometriosis. *HumReprod* 11: 398-402
110. Kingsland C, Tan SL, Bickerton N, Mason B, Campbell S (1992) The routine use of gonadotropin-releasing hormone agonists for all patients undergoing in vitro fertilisation. Is there any medical advantage? A prospective randomized study. *Fertil Steril* 57: 804-809
111. Kjosrod SB (2004) Metformin treatment before IVF/ICSI in women with polycystic ovary syndrome; a prospective, randomized, double blind study. *Hum Reprod* 19: 1315-1322
112. Klingmuller D (1994) Suppression of the endogenous luteinizing hormone surge by the gonadotrophinreleasing hormone antagonist Cetrorelix during ovarian stimulation. *Hum Reprod* 9: 788
113. Klinkert ER, Broekmans FJM, Looman CWN, te Velde ER. (2004) a poor response in the first in vitro fertilization cycle is not necessarily related to a poor prognosis in subsequent cycles. *Fertil Steril* 81: 1247-1253
114. Koch Y, Baram T, Hazum E, Fridkin M (1977) Resistentance to enzymatic degradation of LRRH analogues possessing increased biological activity. *Biochem Biophys Res Commun* 74: 488-491
115. Kolibianakis EM, Collins J, Tarlatzis BC et al. (2006) Among patients treated for IVF with gonadotrophins and GnRHanalogues, is the probability of live birth dependent on the type of anologue used? A systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 12: 651-671
116. Kolibianakis E, Zikopoulos K, Camus M, Tournaye H, van Steirteghem A, Devroey P (2006) Modified natural cycle for IVF does not offer a realistic chance of parenthood in poor responders with high day 3 FSH levels, as a last resort prior to oocyte

- donation. *Human Reproduction* 19: 2545-2549
117. Knobil E (1980) The neuroendocrine control of the menstrual cycle. *Recent Prog Horm Res* 36: 53-58
 118. Knobil E, Neill JD (2006) *Physiology of Reproduction, Third Edition*, Editor in Chief: Jimmy D. Neill, Elsevier Academic Press, St. Louis, San Diego, London
 119. La Marca A, Sighinolfi G, Radi D, Argento C, Baraldi E, Carducci Artensio A, Stabile G, Volpe A (2009) Anti-müllerian hormone (AMH) as a predictive marker in assisted reproductive technology (ART). *Human Reproduction Update* doi: 10.1093
 120. Land JA, Yarmolinskaya MI, Dumoulin JC, Evers JL (1996) High-dose human menopausal gonadotropin stimulation in poor responders does not improve in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril* 65: 961–965
 121. Leidenberger FA. (2002) *Klinische Endokrinologie für Frauenärzte, 2. Auflage* Springer Verlag, Berlin, Heidelberg
 122. Lok IH (2004) Adjuvant low-dose aspirin therapy in poor responders undergoing in vitro fertilization: a prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Fertil Steril* 81: 556-561
 123. Ludwig M, Felberbaum ER, Diedrich K, Hamm W, Riethmueller-Winzen H, Ulrich H (2000) Cetorelix im Mehrfachgabe-Protokoll zur ovariellen Stimulation bei der IVF. *Reproduktionsmedizin* 16: 390-399
 124. Ludwig M (2006) Ovar. In: Siegenthaler W, Blum HE (Eds) *Klinische Pathophysiologie, 9. Auflage*, Thieme, Stuttgart New York, S 368-405
 125. Ludwig M, Nawroth F. (2007) Niedrig dosierte Gonadotropinstimulation in der gynäkologischen Praxis *Gynäkologische Endokrinologie* 5: 223-234

126. Maciel G, Barakat EC, Benda CA, Markham SM, Hensinger K, Chang RJ and Erickson GF (2004) Stockpiling of Transitional and Classic Primary Follicles in Ovaries of Women with polycystic Ovary Syndrome. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 89: 5321-5327
127. MacLachlan V, Besanko M, O'Shea F, Wade H, Wood C, Trounson A, Healy DL (1989) A controlled study of luteinizing hormone releasing hormone agonist (buserelin) for the induction of folliculogenesis before in vitro fertilization. *N Engl J Med* 320: 1233-1237
128. Macklon NS, Stouffer RL, Giudice LC, Fauser BC (2006) The science behind 25 years of ovarian stimulation for in vitro fertilisation. *Endocr Rev* 27:170-207
129. Malmusi La Marca A, Giulini S et al. (2005) Comparison of a gonadotrophin releasing hormone (GnRH) antagonist and GnRHa flare-up regimen in poor responders undergoing ovarian stimulation. *Fertility and Sterility* 84: 402-406
130. Marci R, Caserta D, Dolo V et al. (2005) GnRH antagonist in IVF poor responders patients: results of a randomized trial. *Reproductive BioMedicine Online* 11: 189-193
131. Matzuk MM, Burns KH, Viveiros MM, Eppig JJ (2002) Intercellular communication in the mammalian ovary: oocytes carry the conversation. *Science* 296: 2178-2180
132. McGee EA and Hsueh AJ (2000) Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles. *Endocr Rev* 21: 200-214
133. McMahon HE, Hashimoto O, Mellon PL, Shimasaki S (2008) Oocyte specific overexpression of mouse bone morphogenetic protein 15 leads to accelerated folliculogenesis and an early onset of a cyclicity in transgenic mice. *Endocrinology* 149: 2807-15
134. Mc Nantty KP, Makris A, De Grazia C (1979) The production of progesterone, androgens and estrogens by granulosa cells, thecal tissue and stromal tissue from

- human ovaries in vitro. *J Clin Endocrinol Metab* 49: 687-699
135. Mendosa C, Ruiz-Requana E, Ortega E, Cremades N, Martinez F, Bernabeu R, Greco E and Tesarik J (2002) Follikular fluid markers of oocyte developmental potential. *Hum Reprod* 17: 1017-1022
 136. Mitwally MFM, Casper RF (2002) Aromatase inhibition improves ovarian response to follicle-stimulating hormone in poor responders. *Ferti Steril* 774: 776-780
 137. Moll E, Bossuyt PM, Korevaar JC et al. (2006) Effect of clomiphene citrate plus placebo on induction of ovulation in women with newly diagnosed polycystic ovary syndrome: randomized double blind clinical trial. *Brit Med J* 332: 1485-1488
 138. Mollo A, Clarizia R, Strina I et al. (2005) GnRH antagonist plus hCG versus GnRHa short protocol in patients at risk for poor ovarian response. *Human Reproduction* 20 (Suppl.1): 348
 139. Muasher SJ. (1993) Controversies in assisted reproduction: treatment of low responders. *J Assist Reprod Genet* 10: 112-114
 140. Nakhuda GS, Chu MC, Wang JG, Sauer MV, Lobo RA (2006) Elevated serum müllerian-inhibiting substance may be a marker for ovarian hyperstimulation syndrome in normal women undergoing in vitro fertilization. *Fertile Steril* 85: 1541-43
 141. Nawroth F (2007) Anwendung von Clomifen zur ovariellen Stimulation. *Gynäkol Endokrinol* 1: 39-47
 142. Nelson SM, Yates RW, Fleming R (2007) Serum anti-müllerian hormone and FSH: prediction of live birth and extremes of response in stimulated cycles- implications for individualization of therapy. *Hum Reprod* 22: 2414-2421
 143. Neulen J (1997) Rationelle Therapie der weiblichen Sterilität. In: Keck C, Neulen J, Breckwoldt M (Eds) *Endokrinologie, Reproduktionsmedizin, Andrologie*. 1. Aufl.,

Thieme, Stuttgart, New York

144. Neveu S, Hedon NB, Bringer J, Clinichole JM, Arnal F, Humeau C, Cristol P, Viala JL (1987) Ovarian stimulation by a combination of gonadotropin-releasing hormone agonist and gonadotropins for in vitro fertilization. *Fertil Steril* 47: 639-643
145. Ng J EH, Lan Lau EY, Shu Biu Yeung W, Chung Ho1 P (2003) Oocyte and Embryo Quality in Patients with Excessive Ovarian Response During In Vitro Fertilization Treatment. *Journal of Assisted Reproduction and Genetic* 20: 5186-191
146. Nikolaou D, Lavery S, Turner C, Margara R, Trew G (2002) Is there a link between an extremely poor response to ovarian hyperstimulation and early ovarian failure? *Hum Reprod* 17: 1106-1111
147. Niswender GD (2002) Molecular control of luteal secretion of progesterone. *Reproduction* 123: 333-339
148. Onalan G (2005) Metformin treatment in patients with polycystic ovary syndrome undergoing in vitro fertilization: a prospective randomized trial. *Fertil Steril* 84: 798-801
149. Out HJ, Driessen SGAJ, Mannerts BMJL and Coelink-Bennik HJT (1997) Recombinant follicle –stimulating hormone (follitropin Beta, Puregon®) yields higher pregnancy rates in vitro fertilization than urinary gonadotropins. *Fertil Steril* 68: 138-142
150. Owen EJ, West C, Mason BA, Jacobs HS (1991) Co-treatment with growth hormone of sub-optimal responders in IVF-ET. *Hum Reprod* 6524-6528
151. Padilla SL, Dugan K, Maruschak V et al. (1996) Use of the flare-up protocol with high dose human follicle stimulating hormone and human menopausal gonadotrophins for in vitro fertilize in poor responders. *Fertil Steril* 65: 796-799

152. Pandian Z, Bhattacharya S, Ozturk O, Serour G, Templeton A. (2009) Number of embryos for transfer following in-vitro fertilization or intra-cytoplasmic sperm injection. *Cochrane Database Syst Rev* Apr 15: CD003416

153. Pantos C, Thornton SJ, Speirs AL, Johnston I. (1990) Increasing the human menopausal gonadotropin dose-Does the response really improve? *Fertil Steril* 53: 436-439

154. Pelinck MJ, Vogel NEA, Hoek A, Arts EGJM, Simons AHM and Heinemann MJ (2005) Minimal stimulation ivf with late follicular phase administration of the GnRH antagonist cetrorelix and concomitant substitution with recombinant FSH: a pilot study. *Human Reproduction* 20: 642-648

155. Pellicer A, Ballaster MJ, Serrano MD, Mir A, Serra-Serra V, Remohi J, Bonilla-Musoles MF (1994) Aetiological factors involved in the low response to gonadotrophins in infertile women with normal basal serum follicle stimulating hormone levels. *Hum Reprod* 9: 806-811

156. Pellicer A, Ruiz A, Castellvi RM, Calatayud C, Ruiz M, Tarin JJ, Miro' F, Bonilla-Musoles F (1998) Is the retrieval of high numbers of oocytes desirable in patients treated with gonadotrophinreleasing hormone analogues (GnRHa) and gonadotrophins? *Hum Reprod* 4: 536-54

157. Phelps J, Levine A, Hickmann T, Zacur H, Wallach E, Hirten E (1998) Day 4 estradiol levels predict pregnancy success in women undergoing controlled ovarian hyperstimulation for IVF. *Fertil Steril* 69: 1015-1019

158. Ragni G, Vegetti W, Riccaboni A, Engl B, Brigante C, Crosignani PG (2005) Comparison of GnRH agonists and antagonists in assisted reproduction cycles of patients at high risk of ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum Reprod* 20: 2421-2425

159. Raith-Paula E, Frank-Hermann P, Freundl G, Strowitzki T (Eds) (2008) "Natürliche

Familienplanung heute: Modernes Zykluswissen für Beratung und Anwendung.” 4. Auflage. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg

160. Rambauts L, Suikkari A-M, Maclachlan V, Trounson AO, Healy DL (1998) Recruitment of Follicles by Recombinant Human Follicle-Stimulating Hormone Commencing in the Luteal Phase of the Ovarian Cycle. *Fertil Steril* 69: 665-9
161. Roga F, Banillo-Musoles F, Casan EM, Banilla F (1999) recombinant follicle-stimulating hormone stimulation in poor responders with normal basal concentrations of follicle stimulating hormone and oestradiol; improved reproductive outcome. *Hum Reprod* 14: 1431-1434
162. Ron-EI R, Herman A, Golan A, Nachum H, Soffer Y, Caspi E. (1991) Gonadotropins and combined gonadotropins protocols in a randomized prospective study *Fertil Steril*, 55: 574-578
- 163 Rostami-Hodjegan A, Lennard MS, Tucker GT, Ledger WL (2004) Monitoring plasma concentrations to individualize treatment with clomiphene citrate. *Fertil Steril* 81: 1187-1193
164. Rubinstein M (1999) Low-dose aspirin treatment improves ovarian responsiveness, uterine and ovarian blood flow velocity, implantation, and pregnancy rates in patients undergoing in vitro fertilization: a prospective, randomized, double-blind placebo-controlled assay. *Fertil Steril* 71: 825-829
165. Schimberni M, Morgia F, Colabianchi J, Giallonardo A, Piscitelli C, Giannini P, Montigiani M, Sbracia M (2009). Natural-cycle in vitro fertilization in poor responder patients: a survey of 500 consecutive cycles. *Fertil Steril* 4: 1297-301
166. Schmidt DW, Bremner T, Orris JJ et al. (2005) A randomised prospective study of microdose leuprolide versus ganirelix in in vitro fertilization cycles for poor responders. *Fertility and Sterility* 83: 1568-1571

167. Schmidt P (2001) Arzneiformen design für den Urogenitaltrakt. Pharmazeutische Zeitung 14, Govi Verlag GmbH
168. Seifer DB, Naftolin F (1996) Moving toward and earlier and better understanding of perimenopause. Fertil Steril 69: 387-388
169. Sharma V, Allgar V, Rajkhowa M (2002) Factors influencing the cumulative conception rate and discontinuation of in vitro fertilization treatment for infertility. Fertil Steril 78: 40-46
170. Sh Tehrani NE, Abediasl Z, Rashidi BH, Azimi NE, Shariat M, Amirchaghmaghi E (2008) Comparison of the efficacy of the aromatase inhibitor letrozole and clomiphene citrate gonadotropins in controlled ovarian hyperstimulation: a prospective, simply randomized, clinical trial. J Assist Reprod Genet 25: 187-190
171. Sioufi A, Gauducheau N, Pineau V, Marfil F, Jaouen A, Cardot JM, Godbillon J, Czendlik C, Howald H, Pfister C, Vreeland F (1997) Absolute bioavailability of letrozole in healthy postmenopausal women. Biopharm Drug Dispos 18: 779-789
172. Stadtmauer LA (2001) Metformin treatment of patients with polycystic ovary syndrome undergoing in vitro fertilization improves outcomes and is associated with modulation of the insulin-like growth factors. Fertil Steril 75: 505-509
173. Strauß B, Beyer K, Henning K, Hoppe I, Starker W (2004) Ungewollte Kinderlosigkeit. Gesundheitsberichterstattung des Bundes Robert Koch-Institut in Zusammenarbeit mit dem Statistischen Bundesamt Heft 20
174. Streuli I, Fraisse T, Chapron C, Bijaoui G, Bischof P, de Ziegler D (2008) Clinical uses of Anti-Mullerian hormone assays: pitfalls and promises Fertil Steril 91: 226-230
175. Sutterlin S, Hoßmann I (2007) Ungewollt Kinderlos. <http://www.berlin-institut.org/Studien>

176. Tan SL, Kingsland C, Campbell S, Mills C, Bradfield J, Alexander N, Yovich J, Jacobs HS (1992) 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* 57: 810-814
177. Tang T et al. (2006) The use of metformin for women with PCOS undergoing IVF treatment. *Hum Reprod* 21: 1416-1425
178. Tasdemir M, Tasdemir I, Kodama H et al. (1996) Short protocol of gonadotropin releasing hormone agonist administration gave better results in long protocol poor-responders in IVF-ET. *J Obstet Gynaecol Res* 22: 73-77
179. Tarlatzis BC, Zepiridis L, Grimbizis G et al (2003) Clinical management of low ovarian response to stimulation for IVF: a systematic review. *Hum Reprod Update* 9: 61-76
180. Tarlatzis BC, Bili H (2004) Safety of GnRH agonist and antagonist. *Expert Opin Drug Saf* 3: 39-46
181. Templeton A (1995) Infertility-Epidemiology, Aetiology and Effective Management. *Health Bulletin* 53: 294-298
182. Tibiletti M, Testa G, Vegetti W et al. (1999) The idiopathic forms of premature menopause and early menopause show the same genetic pattern. *Hum Reprod* 14: 2731-2734
183. Timeva T, Milachich T, Antonova I, Arabaji T, Shterev A, Omar HA (2006) Correlation between number of retrieved oocytes and pregnancy rate after in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm infection. *Scientific World Journal* 216: 686-690
184. Trout S, Seifer D (2000) Do women with unexplained recurrent pregnancy loss have higher day 3 serum FSH and estradiol values? *Fertil Steril* 74: 335-337

185. Toth TL, Awwad JT, Veeck LL, Jones HW, Muasmer S (1996) Suppression and flare regimens of GnRH agonist. Use in women with different basal gonadotropin values in an IVF program. *J Reprod Ed* 41: 321-326
186. Utiger RD (1996) Insulin and the polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 335: 657-658
187. Valbuena D, Jasper M, Remohi J, Pellicer A, Simon C. (1999) Ovarian stimulation and endometrial receptivity. *Hum Reprod* 14 (Suppl 2): 757-764
188. Van der Steeg J et al. (2007) Predictive value and clinical impact of Basal follicle-stimulating hormone in subfertile, ovulatory women. *Clin Endocrinol Metab* 92: 2163-2168
189. Verberg MFG, Eijkemans MJC, Macklon NS, Heijnen EMEW, Baart EB, Homann FP, Fauser BCJM, Broekmans FJ (2009) The clinical significance of the retrieval of a low number of oocytes following mild ovarian stimulation for IVF: a meta-analysis. *Human Reproduction Update* 15: 5-12
190. Vollenhoven B, Osianlis T, Catt J (2008) Is there an ideal stimulation regimen for IVF for poor responders and does it change with age? *J Assist Reprod Genet* 25: 523-529
191. Weghofer A, Margreiter M, Bassim S, Sevelde U, Beilhack E, Feichtinger W (2004) Minimal stimulation using recombinant follicle-stimulating hormone and a gonadotropin-releasing hormone antagonist in women of advanced age. *Fertil Steril* 81: 1002-1006
192. Welt CK (2008) Primary ovarian insufficiency: a more accurate term for premature ovarian failure. *Clin Endocrinol* 68: 499-509
193. Wingfield M, Fitzgerald J, Milne P (2006) Is it safe to prescribe clomiphene citrate without ultrasound monitoring facilities? *Hum Reprod* 21 (Suppl 1): i101

194. Wirthner D, Germond M, Grandi P de (2005) Die premature Menopause, J. Menopause 1: 14-20
195. Wolf JP, Bulwa S, Rodrigues D und Jouannet P (1995) Human oocyte cytometry and fertilisation rate after subzonal insemination. Zygote 3: 101-109
196. Wu CH, Winkel CA (1989) The effect of therapy initiation day on clomiphene citrate therapy. Fertil Steril 52: 564-568
197. Wunder D, Guibourdenche J, Birkhäuser M, Bersinger N (2008) Anti-müllerian hormone and Inhibin B as predictors of pregnancy after treatment by in vitro fertilisation / intrastoplasmic sperm injection. Fertile Steril 90: 2203-2210
198. Wunder DM, Bersinger NA, Yared M et al. (2008) Statistically significant changes of antimüllerian hormone and inhibin levels during the physiologic menstrual cycle in reproductive age women Fertil Steril 89: 927-933
199. Yan C, Wang P, De Mayo J, De Mayo FC, Elvin JA, Carino C, Prasad SV, Skinner SS, Dunbar BS, Dube JL et al. (2001) Synergistic roles of bone morphogenetic protein 15 and growth differentiation factor 9 in ovarian function. Mol Endocrinol 15: 854-66
200. Yarali H, Zeyneloglu HB (2004) Gonadotrophin treatment in patients with polycystic ovary syndrome. Reprod Biomed Online 8: 528-537
201. Zeleznik AJ, Hillier SG, Ross GT (1979) Follicle-stimulating hormone-induced follicular development: an examination of the role of androgens. Biol Reprod 21: 673-681
202. Zhen XM, J. Qiao, R. Li, L. N. Wang, and P. Liu (2008) The clinical analysis of poor ovarian response in in-vitro-fertilization embryo-transfer among Chinese couples J Assist Reprod Genet 25;1: 17–22
203. Zollner U, Steck T (2003) low responder in der IVF, Gyn Endokrin 1: 108-114

8. Publikationen / Danksagung

8.1 Publikationen

Hammadeh ME, **Deryal M**, Zeginiadou T, Hamad MF, Amer AS (2009) Correlation between reactive oxygen species (ROS) in seminal plasma and sperm quality of infertile men before and after semen processing by PureSperm and IVF/ICSI Outcome. 15th World Congress on In Vitro Fertilization and the 4th Congress on In Vitro Maturation L419C0021:149-154

Hammadeh ME, Amer AS, Zeginiadou T, **Deryal M** (2009) Pregnancy rate of frozen-thawed pronucleate stages embryos from IVF and ICSI. 15th World Congress on In Vitro Fertilization and the 4th Congress on In Vitro Maturation L419C0020: 57-61

Hammadeh ME, Sobek A, Alexidis FI, Schmidt W, **Deryal M** (2007) Correlation Between Reactive Oxygen Species (ROS), Total Antioxidant (TAS) Concentration of Seminal Plasma and their Effect on Spermatozoa Quality and IVF/ICSI Outcome. 14th World Congress on In Vitro Fertilization and the 3th Congress on In Vitro Maturation H915C0032: 203-208

Hammadeh ME, **Deryal M**, Sobek A, Dostert T, Alexidis FI, Schmidt W (2007) The Impact of Sperm Incubation on the Chromatin Condensation, DNA Strand Breaks and their Effect on ICSI Outcome. 14th World Congress on In Vitro Fertilization and the 3th Congress on In Vitro Maturation H915C0031: 195-201

8.2 Danksagung

Ganz besonders möchte ich mich hiermit bei Herrn Prof. Dr. med. vet. Dr. rer. nat. M. E. Hammadeh, Leiter des Labors der Klinik für Frauenheilkunde, Geburtshilfe und Reproduktionsmedizin des Universitätsklinikums des Saarlandes, für die Vergabe des Themas bedanken sowie für die geduldige, ständige Unterstützung während der Ausführung der Dissertation.

Mein Dank gilt ebenfalls Frau Dr. Ong und bei Herrn PD Dr. med. Stefan Gräber vom Institut für Medizinische Biometrie, Epidemiologie und Medizinische Informatik (der Universität des Saarlandes, Homburg/ Saar) für deren Hilfe bei der statistischen Auswertung der Resultate und Erstellung von Graphiken.

Großer Dank gebührt auch meinen Kollegen Dr. Resmiye Ermis und OA Peter Rosenbaum für die fachkundige Unterstützung und kritische Durchsicht der Arbeit.

Zum Schluss möchte ich mich bei meiner Frau Nuray Deryal und meinen Kindern Bengi und Artun für ihre Geduld und moralische Unterstützung bedanken.

9-Lebenslauf

Name : Deryal
Vorname : Mustafa
Geburtsdatum : 27.02.1968
Geburtsort : Gülsehir/Türkei
Staatsangehörigkeit : deutsch
Religion : Islam
Familienstand : verheiratet mit Nuray Deryal, Ing. für Elektronik
2 Kinder

Schulbildung:

09.74 – 06.79 Grundschule Karavezir

09.79 – 05.85 Gülsehir Gymnasium

Studium: 09.85 – 07.91 Medizinische Fakultät, Karadeniz
Technische Universität, Trabzon

Berufstätigkeit: 11.91 - 01.93 Arzt, Notaufnahme der staatlichen
Poliklinik Hakkari /Türkei
07.93 - 09.93 Arzt im Rettungsdienst bei MKT
in München
10.93 - 08.00 Assistenzarzt in der Frauenklinik
des Ev. Krankenhauses Gelsenkirchen
09.00 - 12.03 Oberarzt in der Frauenklinik des EVK-
Gelsenkirchen
01.04 - 07.06 Ltd. Oberarzt in der Frauenklinik des
EVK- Gelsenkirchen
Chefarzt Dr. Gerd Mohnfeld
07. 06- 06.07 Oberarzt im Klinikum Bremen-Mitte
Direktor: Prof. Dr. Schröder
Schwerpunkt: Operative Gynäkologie
07.07 -11.07 Oberarzt in der Frauenklinik des
Universitätsklinikums Saarland

Seit 12/2007

Ltd. Oberarzt in der Klinik für
Frauenheilkunde, Geburtshilfe und
Reproduktionsmedizin / Univ. Saarland

Referententätigkeiten u. a.:

- 10.06.2009 Adjuvante Therapie beim Mammakarzinom
- 13.12.2008 Operative Behandlung des Mammakarzinoms
unter onkologischen Aspekten
- 12.06.2008 Post-Asco
- 29.05.2008 Update Urogynäkologische Operationen-
Meshes / Live-Surgery
- 05.03.2008 Update endoskopische Operationen
LASH oder TLH
- 26.01.2008 Operative Therapie des Mammakarzinoms
- 18.02.2006 Fortbildungsseminar Mamma-Ca
-Brustkrebsakademie-
- 07.12.2005 Diag. und Therapie d. Mammakarzinoms
- 17.10.2005 -Wie groß ist der Nutzen adjuvanter
Therapie beim Mammakarzinom-
- 14.12.2004 Differenzierte Therapie Konzepte
beim Mammakarzinom
- 22.11.2004 Plastische und rekonstruktive Chirurgie
der Brust

Mitgliedschaften: Breast Competence Club der European Academy of Senology

DEGUM (Deutsche Gesellschaft für Ultraschall in der Medizin)

DGGG (Deutsche Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe)

BVF (Berufsverband der Frauenärzte e. V.)

NOGGO (Nord-Ostdeutsche Gesellschaft Gynäkologische Onkologie)

DTGG (Deutsch –Türkische Gynäkologen Gesellschaft)

AGE (Arbeitsgemeinschaft Gynäkologische Endoskopie)

27.03.2010

M. Deryal