

Aus der Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe
der Universität zu Lübeck
Direktor: Prof. Dr. med. K. Diedrich

Evaluation von Prognosefaktoren für den Erfolg einer testikulären
Spermienextraktion (TESE) und das Ergebnis einer
intrazytoplasmatischen Spermieninjektion (ICSI) nach TESE:
retrospektive Auswertung von 311 Hodenbiopsien und 327 ICSI
Zyklen

Inauguraldissertation

zur
Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck
– **Aus der Medizinischen Fakultät** –

vorgelegt von
Bettina Schulze
aus Duisburg

Lübeck 2006

1. Berichterstatter:
 Herr Prof. Dr. med. M. Ludwig

2. Berichterstatter:
 Herr Prof. Dr. rer. nat. Heinz Winking

Tag der mündlichen Prüfung: 26.04.2007

Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 26.04.2007

gez. Prof. Dr. med. Werner Solbach

- Dekan der Medizinischen Fakultät -

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	8
1.1.	Einführung	8
1.2.	Geschichte der IVF und ICSI	8
1.3.	Indikation zur TESE	9
1.4.	Prognosefaktoren	10
1.4.1.	Histologische Prognosefaktoren	10
1.4.2.	Ätiologische Prognosefaktoren	11
1.4.3.	Anatomische Prognosefaktoren	11
1.4.3.1.	Lokalisation der Biopsie	11
1.4.3.2.	Hodenvolumen	11
1.4.4.	Biochemische Prognosefaktoren	12
1.4.4.1.	FSH im Serum	12
1.4.4.2.	Inhibin B im Serum	12
1.4.5.	Prognosefaktor Spermogramm	12
1.4.6.	Genetische Prognosefaktoren	13
1.4.7.	Prognosefaktoren der Frau	13
1.4.8.	Prognosefaktor: frische TESE versus kryokonservierte TESE	13
1.4.9.	Prognosefaktor: TESE Spermien versus ejakulierte Spermien	14
1.5.	Fragestellung	14
I.	Prognosefaktoren für eine positive TESE	15
a.	Prognosefaktoren des Mannes	15
b.	Biopsische Prognosefaktoren	16

II.	Prognosefaktoren für eine erfolgreiche ICSI	16
a.	Prognosefaktoren des Mannes	16
b.	Bioptische Prognosefaktoren	16
c.	Prognosefaktoren der Frau	17
d.	Prognostischer Wert der IVF Parameter	17
III.	Erfolg von ICSI unter Verwendung von TESE Spermien gegenüber ejakulierten Spermien	17
2.	Material und Methoden	19
2.1.	Erhebung der Daten	19
2.2.	Datenschutz und Ethikvotum	20
2.3.	Zusammensetzung der Daten	20
2.4.	Beschreibung der angewandten Methoden	22
2.4.1.	TESE	22
2.4.2.	Ovarielle Stimulation der Frau	24
2.4.3.	ICSI	25
2.5.	Statistik	26
3.	Ergebnisse	27
3.1.	TESE	27
3.2.	Ausgang der Behandlungzyklen	31
3.3.	Prognosefaktoren für eine positive TESE	35
3.3.1.	Prognosefaktoren des Mannes	35
3.3.2.	Bioptische Prognosefaktoren	36
3.3.3.	Korrelation der Spermienzahl in der wet Präparation mit der histologisch gefundenen Spermienzahl	38

3.4.	Prognosefaktoren für eine erfolgreiche ICSI	40
3.4.1.	TESE Zyklen	40
3.4.1.1.	Prognosefaktoren des Mannes	40
3.4.1.2.	Bioptische Prognosefaktoren	40
3.4.1.3.	Prognosefaktoren der Frau	40
3.4.1.4.	Prognostischer Wert der IVF Parameter	41
3.4.2.	Zyklen mit Verwendung ejakulierter Spermien bei ICSI	42
4.	Diskussion	44
4.1.	Prognosefaktoren für eine positive TESE	44
4.1.1.	Prognosefaktoren des Mannes	44
4.1.2.	Bioptische Prognosefaktoren	45
4.2.	Prognosefaktoren für eine erfolgreiche ICSI	47
4.2.1.	Prognosefaktoren des Mannes/ Bioptische Prognosefaktoren	47
4.2.2.	Prognosefaktoren der Frau	47
4.2.3.	Prognostischer Wert der IVF Parameter	47
4.3.	Untersuchung der vorliegenden Kollektive – TESE Zyklen und Zyklen mit Verwendung ejakulierter Spermien bei ICSI	49
5.	Zusammenfassung	54
6.	Literaturverzeichnis	55
7.	Anhang	66
7.1.	Tabelle zur Erfassung der Daten	66

7.1.1.	Daten des Mannes	66
7.1.2.	Daten der Frau	67
7.2.	Kreuztabellen zwischen den Daten der Zyklen unter Verwendung ejakulierter Spermien und einer sonographisch nachweisbaren Schwangerschaft	68
8.	Danksagung	72
9.	Lebenslauf	73
10.	Publikationen	74

Abkürzungsverzeichnis

caud	caudal
cran	cranial
d	Tage
ELSI	elongated spermatid injection
ET	Embryotransfer
EUG	Extrauterin gravidität
FSH	follikelstimulierendes Hormon
hCG	humanes Choriongonadotropin
histol	histologisch
HMG	humanes Menopausengonadotropin
ICSI	intrazytoplasmatische Spermieninjektion
IU	international unit
IVF	in vitro Fertilisation
l	Liter
li	links
MESA	mikrochirurgische epididymale Spermienaspiration
Mio	Millionen
ml	Milliliter
MW	Mittelwert
n	gesamt
nnbez	nicht näher bezeichnet
pg	pikogramm
PN	Pronuclei

re	rechts
r-hFSH	rekombinantes humanes follikelstimulierendes Hormon
ROSI	round spermatid injection
SD	Standardabweichung
SS	Schwangerschaft
SSW	Schwangerschaftswoche
TESE	testikuläre Spermienextraktion
u-FSH	urinäres follikelstimulierendes Hormon
US	Ultraschall
Z.n.	Zustand nach

1. Einleitung

1.1. Einführung

Die assistierte Reproduktion dient der Behandlung von Paaren mit unerfülltem Kinderwunsch. In den Industrienationen beträgt die Lebenszeitprävalenz hierfür etwa 19.5%. 10.4% aller Paare mit Kinderwunsch begeben sich in die Behandlung eines Spezialisten (Ludwig und Diedrich 1998).

1.2. Geschichte der IVF und ICSI

Die konventionelle in vitro Fertilisation (IVF) endete 1978 zum ersten Mal erfolgreich mit der Geburt eines Kindes (Steptoe und Edwards 1978). Die Betrachtung der Sterilitätsursachen bei einer Untersuchung in den Niederlanden zeigte, dass die männliche Subfertilität 40% der Sterilitätsursachen ausmachen, während Anovulation 21%, tubare Ursachen 14%, Zervixfaktor 5%, und idiopathische Sterilität 20% in den restlichen 60% der Fälle ursächlich sind (Ludwig und Diedrich 1998). Da der Erfolg der IVF, Schwangerschaftsrate und Fertilisationsrate, abhängig von den Spermienparametern – Zahl, Morphologie und Motilität – ist, hatten kinderlose Paare mit männlicher Subfertilität in den ersten Jahren der IVF eine deutlich geringere Erfolgsrate (Tandler–Schneider et al. 1996, Tournaye 2000).

1992 wurde dann mit der Behandlung durch intrazytoplasmatische Spermieninjektion (ICSI) eine sehr erfolgreiche Methode zur non-kausalen Therapie der schweren männlichen Subfertilität entwickelt (Palermo et al. 1992). Es zeigte sich, dass ICSI bei eben solchen Indikationen der konventionellen IVF überlegen war. Es konnten, wenn motile Spermien im Ejakulat gefunden wurden, signifikant höhere Fertilisations- und Schwangerschaftsraten verzeichnet werden (van Steirteghem et al. 1993 und 1995).

Mit der Gewinnung epididymaler Spermien durch mikrochirurgische epididymale Spermienaspiration (MESA) und testikulären Spermien aus Hodenbiopsaten, testikuläre Spermienextraktion (TESE), wurde auch für Patienten mit einer Azoospermie die Möglichkeit zur Erzielung einer Schwangerschaft geschaffen (Devroy et al. 1994, Silber et al. 1995a). Hierbei wird mit zuvor durch MESA oder TESE gewonnenen Spermien eine ICSI durchgeführt. Dabei konnte eine relative Unabhängigkeit von den bisherigen Spermienparametern – Zahl, Morphologie und Motilität – erreicht werden. Das Auffinden verwendbarer Spermien im Hodenbiopsiematerial stellt die Voraussetzung für eine erfolgreiche TESE/ICSI Behandlung dar. Die Verwendung von unreifen Spermien, *round spermatid injection* (ROSI) und *elongated spermatid injection* (ELSI), zeigte eine deutlich geringere Erfolgsrate (Tesarik et al. 1996b und 1998, Tesarik und Mendoza 1996a, Silber und Johnson 1998).

Mittlerweile wird angenommen, dass zwar mit elongierten, nicht aber mit runden Spermiden, Schwangerschaften erzielt werden können.

1.3. Indikation zur TESE

Für Patienten mit einer Azoospermie wurden verschiedene Behandlungsschemata entwickelt. Im Falle einer obstruktiven Azoospermie gilt die mikrochirurgische Rekonstruktion als Therapie erster Wahl. Dabei sollte direkt Hodengewebe im Rahmen einer TESE asserviert werden, um ggf. – bei nicht erfolgreicher Rekonstruktion – eine ICSI durchführen zu können. Im Falle der nicht obstruktiven Azoospermie kommt direkt die TESE zum Einsatz.

Jährlich unterziehen sich zahlreiche männliche Patienten einer TESE. Nur bei einem Teil der Patienten lassen sich verwendbare Spermien im Biopsiematerial auffinden. Es wäre wünschenswert, die Wahrscheinlichkeit einer erfolgreichen TESE durch klinische Marker im voraus bestimmen zu können, um unnötige TESE Operationen zu minimieren.

Im Gegensatz zur konventionellen IVF lassen sich herkömmliche prognostische Marker wie Spermienzahl, –morphologie und –motilität hinsichtlich der zu erwartenden Fertilisations-, Implantations- und Schwangerschaftsrate bei ICSI nach TESE/MESA nicht verwenden. So zeigen sich z.B. auch bei der Verwendung immotiler Spermien nach TESE keine signifikant schlechteren Ergebnisse hinsichtlich der Erfolgsrate nach ICSI (Shulman et al. 1999). Nur eine Untersuchung verzeichnet eine signifikant erhöhte Fertilisationrate in Abhängigkeit von der Motilität des verwendeten Spermiums (Kitamura et al. 2000a und 2000b).

Um auch für TESE/ICSI Behandlungen im Vorfeld eine prognostische Aussage machen zu können, wäre es hilfreich klinische Parameter zu finden, welche als Prognosefaktoren für eine erfolgreiche TESE/ICSI Behandlung genutzt werden könnten.

1.4. Prognosefaktoren

1.4.1. Histologische Prognosefaktoren

Der histopathologische Befund nach erfolgter Hodenbiopsie wurde mehrfach bereits als prognostischer Marker für eine positive TESE untersucht, wobei in den meisten Studien signifikante Ergebnisse gefunden werden konnten (Tournaye et al. 1996 und 1997, Silber et al. 1997b, Seo und Ko 2001). Dies wird aber auch widersprüchlich diskutiert (Schlegel et al. 1997, Ou et al. 2002).

Der histopathologische Befund ist jedoch nur von Bedeutung in den Fällen, wo nach diagnostischer Biopsie weitere Biopsien zu therapeutischen Zwecken durchgeführt werden. Ist die Möglichkeit eines einzeitigen Eingriffes mit direkter Kryokonservierung des gewonnenen Materials gegeben, erübrigt sich dieser prognostische Eingriff.

Eine Sonderstellung nimmt der histopathologische Befund besonders dann ein, wenn hierbei maligne Veränderungen des Hodengewebes primär auffallen (Jacobeit et al. 2004).

1.4.2. Ätiologische Prognosefaktoren

Untersuchungen bezüglich des Einflusses der Ursache der Azoospermie auf die Prognose einer erfolgreichen TESE zeigten signifikante Ergebnisse für eine obstruktive Azoospermie gegenüber nicht obstruktiver Azoospermie (Friedler et al. 2002).

Untersuchungen hinsichtlich der Erfolgsrate nach TESE/ICSI in Abhängigkeit von der vorliegenden Ursache der Azoospermie ergaben unterschiedliche Ergebnisse. Bei Unterteilung in obstruktive und nicht obstruktive Azoospermie zeigte sich eine signifikante Erhöhung der Geburtenrate bei Patienten mit ursächlicher obstruktiver Azoospermie im Vergleich zu Patienten mit nicht obstruktiver Azoospermie (Schwarzer et al. 2003). Studien anderer Autoren kamen jedoch zu keinem einheitlichen Ergebnis (Pasqualotto et al. 2002, Windt et al. 2002).

1.4.3. Anatomische Prognosefaktoren

1.4.3.1. Lokalisation der Biopsie

Bezüglich der Lokalisation der entnommenen Hodenbiopsien ergaben sich ebenfalls unterschiedliche Ergebnisse. Von verschiedenen Gruppen wurde bei unterschiedlicher Erfolgsrate in Abhängigkeit von der Seite der Biopsie daher die multiple Biopsieentnahme empfohlen (Hauser et al. 1998, Schulze et al. 1999).

1.4.3.2. Hodenvolumen

Für das Hodenvolumen als Prognosefaktor einer positiven TESE konnten keine signifikanten Ergebnisse verzeichnet werden (Schlegel et al. 1997, Seo und Ko 2001, Hauser et al. 2002, Bailly et al. 2003).

Hinsichtlich des Erfolges einer ICSI/TESE Behandlung zeigte sich in einer Untersuchung eine Korrelation zwischen Hodenvolumen und der Fertilisationsrate (Kitamura et al. 2000a und 2000b).

1.4.4. Biochemische Prognosefaktoren

1.4.4.1. FSH im Serum

Bei Überprüfung des prognostischen Wertes des Parameters follikelstimulierenden Hormons (FSH) im Serum für das Auffinden von Spermien im TESE Präparat konnten ebenfalls keine signifikanten Ergebnisse gefunden werden (Schlegel et al. 1997, Seo und Ko 2001, Hauser et al. 2002, Bailly et al. 2003).

1.4.4.2. Inhibin B im Serum

Weitere Untersuchungen befassten sich mit Inhibin B, einem Hormon, welches in den Sertolizellen produziert wird und auch in Spermatogonien, Spermatozyten und Spermatisden nachweisbar ist. Beim erwachsenen Mann korreliert es positiv mit Spermienzahl und Hodenvolumen und negativ mit dem FSH Spiegel (Krause und Bohring 2002). Es konnte eine positive Korrelation zwischen Inhibin B im Serum und dem Auffinden von Spermien in der entnommenen Hodenbiopsie, bei gleichzeitigem Vorliegen von nicht signifikanten Ergebnissen für FSH, nachgewiesen werden (Ballesca et al. 2000, Bailly et al. 2003). Nach Untersuchung von Sensitivität und Spezifität von Inhibin B und FSH erfolgt schlussfolgernd die Empfehlung der Bestimmung von FSH und Inhibin B in Kombination (Bohring et al. 2002). Insofern scheint aber Inhibin B der sensitivere Parameter zu sein. Allerdings ist die Bestimmung von Inhibin B in der täglichen Routine schwierig und in vielen Zentren noch nicht etabliert.

1.4.5. Prognosefaktor Spermogramm

Einen anderen Ansatz verfolgten Untersucher, welche das Auffinden von Spermatisden im Ejakulat bei Azoospermie quantitativ auswerteten und mit einer erfolgreichen TESE korrelierten. Signifikante Ergebnisse, im Gegensatz zu FSH, Hodenvolumen und Histopathologie, zeigten sich bei der Anwendung der May–Grunwald–Giemsa Färbung runder Spermatisden im Ejakulat bei nicht obstruktiver Azoospermie (Amer et al. 2001). Die Lokalisation von Spermatisden im Ejakulat durch Immunfluoreszenzmarkierung zeigte ähnliche Ergebnisse, mit Ausnahme

falsch negativer Ergebnisse beim Vorliegen eines Sertoli Cell Only Syndroms (Ezeh et al. 1998).

1.4.6. Genetische Prognosefaktoren

Weitere Untersuchungen für die Wahrscheinlichkeit einer positiven TESE können bei Azoospermie durch genetische Untersuchungen geschätzt werden. Mikrodeletionen im Y Chromosom in der AZF Region können je nach Lokalisation in AZF–a, –b und –c eingeteilt werden. Beim Vorliegen einer AZF–c oder partiellen AZF–b Deletion liegt die Wahrscheinlichkeit, Spermien im Biopsiematerial zu finden, bei ca 50%. Liegt eine komplette AZF–b Deletion vor, ist die Wahrscheinlichkeit für eine positive TESE fast null (Krausz et al. 2000).

Insgesamt ergibt sich beim Vorliegen von Mutationen der AZF Region eine schlechtere Prognose für die TESE (Brandell et al. 1998).

1.4.7. Prognosefaktoren der Frau

Hinsichtlich der Prognose für das Eintreten einer Schwangerschaft nach erfolgreicher Fertilisierung von Eizellen durch ICSI ließen sich bis jetzt nur signifikante Ergebnisse abhängig von Alter und Eizellreserven der Frau finden (Silber et al. 1997a, Altay et al. 2002). Diskutiert werden könnte aber auch, ob Parameter des Mannes oder Biopsieparameter ebenfalls von prognostischem Wert sein könnten.

1.4.8. Prognosefaktor: frische TESE versus kryokonservierte TESE

In verschiedenen Kollektiven wurden mögliche Auswirkungen durch die Verwendung kryokonservierten und frischen TESE Materials auf den Erfolg der ICSI/TESE Behandlung untersucht. Es konnten keine signifikanten Unterschiede vermerkt werden (Friedler et al. 1997 und 2002, Windt et al. 2002, Schwarzer et al. 2003).

1.4.9. Prognosefaktor: TESE Spermien versus ejakulierte Spermien

Weiter stellt sich die Frage nach dem Erfolg von ICSI/TESE unter Verwendung von TESE Spermien gegenüber ICSI mit ejakulierten Spermien. Bei Patienten mit Kryptozoospermie, d.h. einer Verminderung der Spermienzahl auf unter 1 Millionen Spermien pro ml im Ejakulat, gibt es sowohl die Option der TESE als auch die der Gewinnung ejakulierter Spermien. Im Rahmen der klinischen Beratung wäre es von Vorteil bei diesen Patienten entscheiden zu können, ob die Verwendung gefrorener TESE Proben oder ejakulierter Spermien prognostisch günstiger wäre.

Bisher durchgeführte Studien gelangten zu keinem einheitlichem Ergebnis. Während sich bei einigen Studien kein signifikanter Unterschied für verschiedene Erfolgsparameter finden ließ (Sukcharoen et al. 1998, Hammadeh et al. 1999, Bukulmez et al. 2001, Ludwig und Katalinic 2003), zeigten andere Studien signifikante Vorteile zugunsten obstruktiver gegenüber nicht obstruktiver Azoospermie (Aboulghar et al. 1997, Balaban et al. 2001), sowie zugunsten der Verwendung ejakulierter Spermien gegenüber testikulärer Spermien (Goker et al. 2002).

1.5. Fragestellung

Aus dem Überblick der Literatur ergibt sich, dass die TESE eine wesentliche Option in der Behandlung von Kinderwunschpaaren beim Vorliegen einer Azoospermie bietet. In der klinischen Beratung wäre es hilfreich, den Patienten bereits im Voraus, sowie kurz nach der TESE Operation, über die Wahrscheinlichkeit einer erfolgreichen TESE informieren zu können. Bis jetzt lassen sich dazu keine eindeutigen Aussagen in der Literatur finden. Nach erfolgter TESE mit anschließender sog. „wet“ Präparation (Sofortpräparation nach der Operation) des Hodenmaterials könnte die dabei bestimmte Spermienzahl ein Kriterium für das Auffinden verwendbarer Spermien in der Histologie darstellen. Dies könnte in der Beratung des Patienten bis zum Eintreffen des histologischen Ergebnisses bereits genutzt werden.

Ebenfalls wäre es von Vorteil das kinderlose Paar bereits vor Beginn der Behandlung, nach der Hodenbiopsie, bei einer geplanten TESE/ICSI, über die Wahrscheinlichkeit einer eintretenden Schwangerschaft beraten zu können und die Prognose im Laufe der Behandlung anhand klinischer Parameter anzupassen.

Deshalb führten wir eine retrospektive Datenanalyse aller zwischen Februar 1996 bis Mai 2002 durchgeführten TESE, sowie der anschließenden Behandlungen durch. Erfasste potentielle prognostische Parameter stützten sich hierbei auf die routinemäßig erhobenen Daten der Klinik. Die Daten aus TESE Behandlungszyklen wurden mit denjenigen bei der Verwendung von ejakulierten Spermien verglichen, wenn trotz durchgeführter TESE doch am Tag der Follikelpunktion ejakulierte Spermien zur Verfügung standen. Dabei wurden folgende Sachverhalte untersucht:

I. Prognosefaktoren für eine positive TESE

Untersuchung des prognostischen Wertes der klinischen Daten des Mannes sowie der Biopsieparameter hinsichtlich eines Zusammenhanges mit dem histologisch gesicherten Vorliegen von Spermien in der Hodenbiopsie.

a. Prognosefaktoren des Mannes

- biologische Prognosefaktoren: Alter des Mannes zum Zeitpunkt der TESE Operation
- ätiologische Prognosefaktoren: Ursache der Azoospermie des Mannes
- biochemische Prognosefaktoren: Verifizierung des prognostischen Wertes von FSH im Serum als nicht signifikant
- anatomische Prognosefaktoren: Verifizierung der prognostischen Aussagekraft des Hodenvolumens als nicht signifikant

b. Bioptische Prognosefaktoren

- quantitative Prognosefaktoren:
 - Zahl der entnommenen und eingefrorenen Hodenbiopsien
 - Gezählte Spermienzahl in der wet Präparation
- gezählte Spermienzahl in der wet Präparation in Korrelation zu der gefundenen Spermienzahl in der histologischen Begutachtung.
- Häufigkeit der histologisch primär aufgefallenen malignen Veränderungen

II. Prognosefaktoren für eine erfolgreiche ICSI

Untersuchung des prognostischen Wertes der klinischen Daten des Mannes, der Biopsieparameter, der klinischen Daten der Frau und deren Behandlung, sowie der IVF Parameter bezüglich eines Zusammenhanges mit einer sonographisch gesicherten Schwangerschaft.

a. Prognosefaktoren des Mannes

- biologische Prognosefaktoren: Alter des Mannes zum Zeitpunkt der TESE Operation
- ätiologische Prognosefaktoren: Ursache der Azoospermie des Mannes
- biochemische Prognosefaktoren: FSH Wert im Serum
- anatomische Prognosefaktoren: Hodenvolumen

b. Bioptische Prognosefaktoren

- quantitative Prognosefaktoren: Zahl der entnommenen Hodenbiopsien
- Spermienzahl in der wet Präparation
- Spermienzahl im histologischen Befund

c. Prognosefaktoren der Frau

- biologische Prognosefaktoren: Alter der Frau bei Follikelpunktion
- therapeutische Prognosefaktoren: Stimulationsart, Gonadotropintyp, Dauer der Gonadotropingabe, Gesamtdosis der Gonadotropine
- biochemische Prognosefaktoren: Östradiolwerte im Serum bei humaner Choriongonadotropin (hCG) Gabe

d. Prognostischer Wert der IVF Parameter

- Zahl der gewonnenen Eizellen bei Follikelpunktion
- Zahl der Eizellen mit 2 Pronuclei (2PN), Fertilisationsrate
- Zahl der Eizellen mit 3 Pronuclei (3PN), Polyploidierate
- Modifizierter kumulativer Embryoscore
- Zahl der implantierten Embryonen

III. Erfolg von ICSI unter Verwendung von TESE Spermien gegenüber ejakulierten Spermien

Untersuchung signifikanter Unterschiede im Vergleich der beiden Kollektive bezüglich:

- Fertilisationsrate bzw. 2PN Rate
(Summe aller Eizellen 2PN pro Summe aller gewonnenen Eizellen)
- Polyploidierate bzw. 3PN Rate
(Summe aller Eizellen 3PN pro Summe aller gewonnenen Eizellen)
- Implantationsrate
(Summe aller implantierten Embryonen pro Summe aller transferierten Embryonen)

- Schwangerschaftsrate
(Summe aller Schwangerschaften pro Summe aller Zyklen oder aller Embryotransfers je nach Angabe)
- Abortrate
(Summe aller Aborte pro Summe aller Schwangerschaften)
- fortlaufende Schwangerschaftsrate
(Summe aller Schwangerschaften abzüglich der Summe aller Aborte pro Summe aller Embryotransfers)

2. Material und Methoden

2.1. Erhebung der Daten

Die Daten wurden im Bereich Reproduktionsmedizin und gynäkologische Endokrinologie der Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe an der Universität zu Lübeck erhoben und in einer Excel Tabelle (Microsoft Excel, Version 2000) zusammengestellt. Die einzelnen Felder der Excel Tabelle sind im Anhang (siehe Anhang 7.1. Seite 66) aufgeführt.

Ausgegangen wurde von den Kryokonservierungsprotokollen der IVF Labore. Die bei der TESE entnommenen Proben wurden hier kryokonserviert und gelagert. Die protokollierten Daten geben Aufschluss über durchgeführte TESE im Zeitraum Februar 1996 bis Mai 2002 und erfassen Patientendaten, Zahl der eingefrorenen Proben pro Biopsielokalisation und die gefundene Spermienzahl in der wet Präparation.

Die histologische Begutachtung und Zahl der histologisch gefundenen Spermien ließ sich den histologischen Befunden entnehmen, die entweder mit den Kryokonservierungsprotokollen abgeheftet vorlagen oder separat aus dem Institut für Pathologie angefordert wurden.

Vervollständigt wurde die Datenerhebung aus den Akten und der elektronischen Datenbank Recdate der Poliklinik. Angaben zu männlichen Patienten (Alter, Ursache der Azoospermie, FSH Werte, Hodenvolumen) und deren Partner, sowie zur Behandlung (Art der Stimulation, Gonadotropintyp, Dauer und Dosis der Stimulation, Östradiolwerte bei hCG Gabe, Datum der Follikelpunktion) und Schwangerschaft (klinischer Nachweis, Zahl der positiven Herzaktionen, Abort vor der 12. Schwangerschaftswoche (SSW), Verlauf bis zur Geburt, Zahl geborener Kinder) waren hier aufgeführt.

Daten zur IVF (Zahl der gewonnen Eizellen, Zahl der fertilisierten Eizellen 2PN und 3PN, Zahl kryokonservierter Eizellen, Zahl der transferierten Embryonen, modifizierter kumulativer Embryoscore) wurden den IVF Listen der IVF Labore entnommen.

Eine Darstellung der Tabelle findet sich im Anhang (siehe Anhang 7.1. Seite 66).

Die erfassten Daten wurden mit der SPSS Software (SPSS Inc., Version 11.5) statistisch ausgewertet.

2.2. Datenschutz und Ethikvotum

Im Rahmen der Einwilligung zur reproduktionsmedizinischen Behandlung gaben die Patienten nach entsprechender Aufklärung die Zustimmung zur Verwendung ihrer Daten zu Studienzwecken. Eine Begutachtung durch die Ethikkommission wurde nicht beantragt, da es sich um eine retrospektive Erhebung vorliegender Daten handelte.

2.3. Zusammensetzung der Daten

Der Begriff Zyklus umfasst im Folgenden den Zeitraum beginnend mit der ovariellen Stimulation der Patientin, über die Eizellgewinnung durch Follikelpunktion, ICSI und Embryotransfer bis zum Schwangerschaftstest zwei Wochen nach der Follikelpunktion. Werden bei ICSI testikuläre Spermien injiziert, wird der Begriff TESE Zyklus verwendet. Dem entsprechend gilt der Begriff MESA Zyklus bei Verwendung von durch MESA gewonnenen Spermien bei ICSI.

Aus den Kryokonservierungsprotokollen wurden Datensätze von 311 TESE Operationen bei 286 Männern erhoben. Zu 57 Patienten (19.9%, 57/286) ließen sich keine klinischen Daten finden, 229 Paare (80.1%, 229/286) stellten sich in der Frauenklinik vor. Von den Patienten mit klinischen Daten wurden 159 (69.4%, 159/229) behandelt, 70 (30.1%, 70/229) wurden nicht behandelt. In der Gruppe der behandelten Patienten wurden 360 Zyklen durchgeführt.

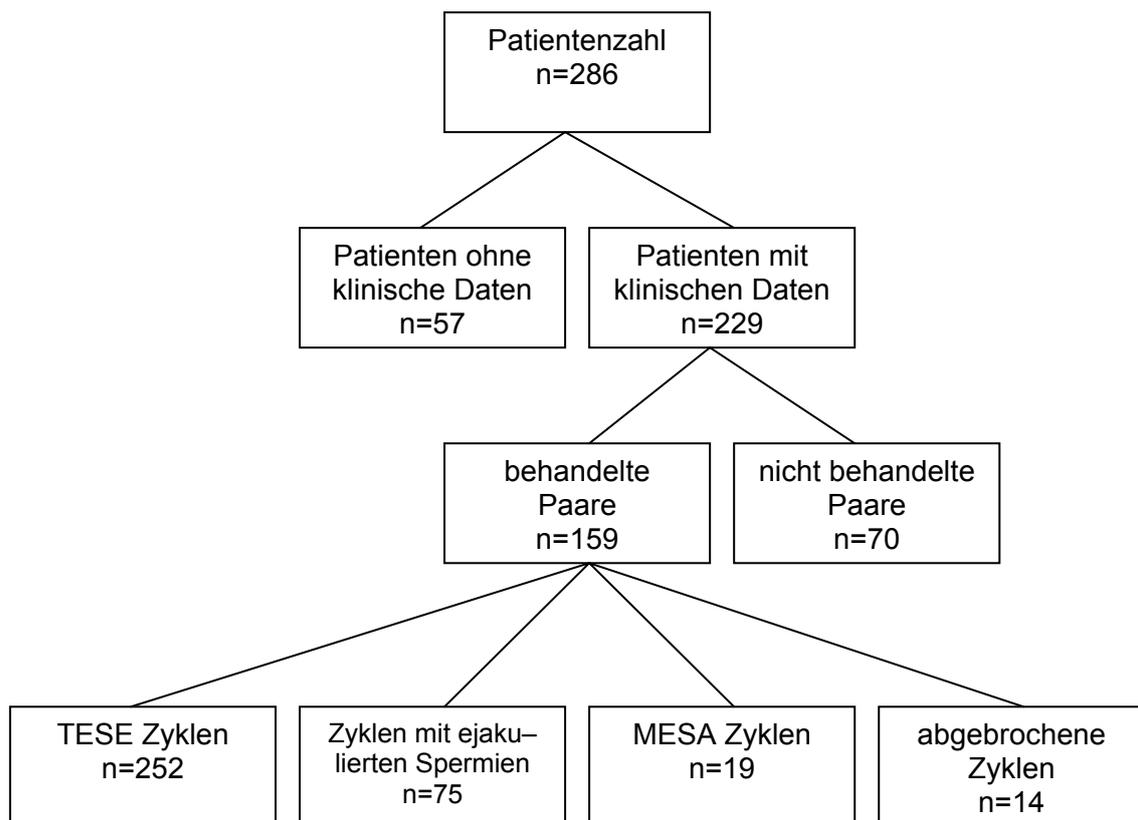
Davon wurden bei ICSI in 75 Zyklen (20.8%, 75/360) ejakulierte Spermien, in 252 Zyklen (70.0%, 252/360) durch TESE gewonnenene Spermien und in 19 Zyklen (5.3%, 19/360) durch MESA gewonnenen Spermien verwendet. 14 Zyklen (3.9%, 14/360) wurden abgebrochen (Abbildung 1).

Bei den 75 Zyklen mit Verwendung von ejakulierten Spermien bei ICSI wurden 75 Follikelpunktionen durchgeführt. Es fanden 71 Embryotransfers statt.

Bei den 252 Zyklen mit Verwendung von testikulären Spermien bei ICSI wurden 252 Follikelpunktionen durchgeführt. Es fanden 236 Embryotransfers statt.

Bei 19 Zyklen mit Verwendung von durch MESA gewonnenen Spermien bei ICSI wurden 19 Follikelpunktionen durchgeführt. Es fanden 18 Embryotransfers statt.

Abbildung 1: Zusammensetzung des Kollektivs



n: gesamt, MESA: mikrochirurgische epididymale Spermienaspiration, TESE: testikuläre Spermienextraktion

Die folgenden Auswertungen stützen sich nur auf Daten der 252 TESE Zyklen und der 75 Zyklen mit Verwendung ejakulierter Spermien bei ICSI. Die Daten der 19 MESA Zyklen werden von der Betrachtung dieser Arbeit ausgeschlossen, da die Zahl der erfassten Zyklen eine repräsentative Analyse nicht zulässt.

Die Auswertung gliedert sich gemäß der Fragestellung (siehe Fragestellung 1.5. Seite 14) in drei Abschnitte. Der erste Teil befasst sich mit den Daten der 286 männlichen Patienten, der zweite Teil bezieht sich auf die Daten der 311 Hodenbiopsien und der dritte Teil umfaßt die Auswertungen der 252 TESE Zyklus Daten bzw. der 75 Zyklen mit Verwendung ejakulierter Spermien bei ICSI.

2.4. Beschreibung der angewandten Methoden

2.4.1. TESE

Die TESE Operationen wurden als offene Operationen durchgeführt. Nach Einleitung der Allgemeinanästhesie wurde über eine mediane Inzision das Skrotum der Patienten freipräpariert. Die freigelegten Hoden und Nebenhoden wurden mikroskopisch mit 8–15 facher Vergrößerung inspiziert. Unter Schonung der gefäßreichen Areale wurde die Tunica albuginea durchtrennt und Biopsien an unterschiedlichen Lokalisationen des Hodengewebes entnommen. Vor Verschließung des Operationsgebietes wurde die Tunica albuginea mit 2 ml heparinisierte Kochsalzlösung gespült, um Narbenbildung zu minimieren. Es erfolgte eine Naht mit 4/0 Polyglactin 910 (Vicryl; Ethicon, Hamburg, Germany) an der Tunica albuginea und eine Naht mit 3/0 Catgut Nahtmaterial am Skrotum.

Die entnommenen Hodenbiopsien wurden in 1 ml Ham's F–10 Medium in 5 ml Falcon Röhrchen (Falcon 2003; Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ) überführt, beschriftet und in das IVF Labor transportiert. Die entnommenen Biopsien der unterschiedlichen Lokalisationen wurden anschließend anhand der wet Präparation auf ihre Spermienzahl untersucht. Dabei wurde das entnommene Material mit einer sterilen Schere, unter Zugabe von Ham's F–10 Medium, zerkleinert, um die einzelnen Tubuli seminiferi zu trennen. Das so behandelte Gewebe wurde auf einen Objekträger gegeben und unter einem Phasenkontrastmikroskop (Standard 20; Zeiss, Jena, Deutschland) bei 200–400 facher Vergrößerung begutachtet. Die Zahl der freien, motilen Spermien wurde für jede Lokalisation bestimmt.

Proben aller entnommenen Hodenbiopsien wurden zur histologischen Begutachtung in das Institut für Pathologie der Universität zu Lübeck geschickt. Hier wurde das Gewebe zur Fixation für 2 Stunden in 5.5% Glutaraldehyd gegeben, gefolgt von 2 weiteren Stunden in Osmium Tetroxid zur Postfixation. Danach wurde die Probe in Ethanol und Propylenoxid entwässert und in einer Polymerisationsmischung aus Epon (Epon 812; Hert, München, Deutschland) eingebettet. Nach Anfertigung von Semidünnschnitten und Färbung mit Toluidin Blau/Pyronin wurde das Gewebe auf einen Objektträger aufgetragen. Es erfolgte die histologische Begutachtung des Hodengewebes und der verschiedenen Reifestadien der Spermien, falls vorhanden. Die Anzahl der für ICSI tauglichen Spermien im Präparat wurde bestimmt.

Die unterschiedlichen Methoden der wet Präparation und des Semidünnschnittes der Histologie mit der jeweiligen Größe der verwendeten Probe erklären die jeweils unterschiedlichen Ergebnisse der bestimmten Spermienzahl. Während die Spermienzahlbestimmung der wet Präparation Zahlen in der Größenordnung von Millionen ergab, wurden im Semidünnschnittpräparat Spermienzahlen zwischen 0 bis 500 bestimmt.

Die entnommenen Hodenbiopsien wurden nach Entnahme und Nachweis der Spermienzahl mittels wet Präparation im IVF Labor in 0.5 ml HEPES Puffermedium (Sperm Freeze; Medicult, Hamburg, Deutschland) gegeben und mit einem Planer Kryo10 III Apparat (Messer Griesheim, Griesheim, Deutschland) eingefroren. Nach 60 Minuten wurden die Proben in flüssigen Stickstoff gegeben, wo sie über Stickstoffdampf in den ersten 5 Minuten auf -30°C und über die folgenden 55 Minuten exponentiell auf -150°C abgekühlt wurden.

Nach Auswahl der kryokonservierten Hodenbiopsie mit der, laut wet Präparation und Histologie, höchsten enthaltenen Spermienzahl, wurde das Biopsat enzymatisch und/oder mechanisch aufgearbeitet.

Der enzymatischen Methode zufolge wurde das gefrorene Gewebe nach einer 3–5 minütigen Erwärmung im Wasserbad (37°C) in 1 ml Sperm Prep Medium (Medicult, Hamburg, Deutschland) mit 0.8 mg Kollagenase, Typ AI (Sigma, Heidelberg, Deutschland), und 0.2 µg Trypsin Inhibitor (Sigma, Heidelberg, Deutschland) gegeben und für 2 Stunden bei 5% CO₂ und 37°C kontrolliert inkubiert. Nach Filtern durch einen 0.2 µm Sartorius Filter (Sartorius, Göttingen, Deutschland) wurde weitere 2 Stunden inkubiert. Danach wurde das Gewebe unter Entfernung größerer Gewebestücke weiter zerkleinert und zentrifugiert. Das Sediment wurde in einen Tropfen Medium gegeben, sich freischwimmende Spermien pipettiert und einem 5 µl Tropfen Ham's F–10 Medium zugeführt. Ein einzelnes Spermium wurde in einem Tropfen 10% Polyvinylpyrrolidon (Medicult, Hamburg, Deutschland) immobilisiert und in die Eizelle injiziert.

Die mechanische Methode wurde ebenfalls mit einem Wasserbad (37°C für 3–5 Minuten) begonnen. Nach zweimaligem Waschen in 15% humanem Nabelschnur Serum wurde das Gewebe jedoch unter Zusatz von Ham F–10 Medium mit steriler Schere und Skalpell zerkleinert. Nach 3–5 stündiger Inkubation in Ham F–10 Medium und folgender Zentrifugation wurde das Sediment in Ham F–10 Medium resuspendiert und 1 ml davon in einen Tropfen Ham F–10 Medium mit 5 µl Polyvinylpyrrolidon (Medicult, Hamburg, Deutschland) gegeben (Küpker et al. 2000).

2.4.2. Ovarielle Stimulation der Frau

Beim Vorliegen ICSI tauglicher Spermien wurde die Patientin für die Entnahme von Eizellen vorbereitet. Am 20. bis 24. Zyklustag wurde mit der Einnahme eines Gonadotropin Releasing Hormon GnRH Agonist, –Antagonist oder Clomifencitrat, zur Ausschaltung der körpereigenen Hormonproduktion begonnen. Entsprechend dem gewählten Protokoll wurde nach Eintreten der Suppression mit der Gonadotropingabe (rekombinantes humanes FSH (r-hFSH), urinäres FSH (u-FSH), humanes Menopausengonadotropin (HMG), Kombinationen verschiedener Gonadotropine) zur Stimulation der Follikelreifung begonnen. Dauer und Dosis der Gonadotropingabe wurde im Verlauf anhand der Östradiolwerte im Serum und der sonographisch bestimmten Follikelgröße festgelegt. Bei einer mittleren

Leitfollikelgröße von 20 mm wurde 36 Stunden nach Gabe des ovulationsauslösenden humanen Choriongonadotropins (hCG) eine transvaginale ultraschallgesteuerte Follikelpunktion durchgeführt (Küpker et al. 2000).

2.4.3. ICSI

Die Eizellen wurden zur Entfernung des Cumulus oophorus für 10 Sekunden in 0.5% Hyaluronidase (Sigma, Heidelberg, Deutschland) gegeben. Zellen der Corona radiata wurden mechanisch entfernt. Danach wurde ein zuvor motiles Spermium nach Immobilisation in einem Tropfen Polyvinylpyrrolidon unter mikroskopischer Sicht in die Eizelle injiziert (ICSI). Nach 18 Stunden wurden die injizierten Eizellen mikroskopisch über das Eintreten des Vorkernstadiums kontrolliert. Bei regelrechter Fertilisation hatten sich zu diesem Zeitpunkt im Anschluss an die 2. Reifeteilung der Eizelle 2 Vorkerne (2PN) ausgebildet. Diese entsprechen dem weiblichen sowie dem männlichen haploiden Chromosomensatz des Zellkerns der Eizelle bzw. des Spermiums kurz vor ihrer Verschmelzung. Die Bildung von 3 Vorkernen (3PN) entsprechend eines triploiden Chromosomensatzes, sowie das Ausbleiben des Vorkernstadiums wurde als erfolglose Fertilisation gewertet. Maximal 3 Eizellen im Vorkernstadium 2PN wurden weitere 24 Stunden kultiviert. Überzählige Vorkernstadien 2PN wurden, falls vorhanden, kryokonserviert. Kurz vor dem Transfer der Embryonen in den Uterus wurden diese hinsichtlich Qualität und Furchung beurteilt und das Ergebnis gemäß des modifizierten kumulativen Embryoscores dokumentiert. Dieser berechnet sich aus der Summe der Qualitätsscores der einzelnen Embryonen, dem Produkt aus der Anzahl der vorhandenen Blastomeren des Embryos und dessen Qualitätsgrades (1=unregelmässig, 2=schön, 3=ideal) (Ludwig et al. 2001). Zur Lutealphasensubstitution erhielt die Patientin Progesteron vaginal täglich (Ludwig et al. 2001, Ludwig und Diedrich 2001).

2.5. Statistik

Für die deskriptive Analyse wurden für stetige (quantitative) Variablen Mittelwerte mit Standardabweichung, sowohl für das Gesamtkollektiv, als auch für Subgruppen berechnet. Für qualitative Variablen wurden Häufigkeitstabellen (mit absoluten Werten und relative Häufigkeiten in Prozent) bzw. für die Subgruppen Vierfeldertafeln erstellt.

Mittelwertsvergleiche zwischen den unabhängigen Stichproben wurden mit dem T-Test durchgeführt, wobei bei nicht gegebener Varianzgleichheit (Lavene-Test) die entsprechende Varianzkorrektur berücksichtigt wurde. Beim Vergleich von mehreren Gruppen wurde die einfache Varianzanalyse (ANOVA – Analysis of Variance) angewandt.

Kreuztabellen wurden mit dem Chi-Quadrat-Test nach Pearson und bei zu geringen Fallzahlen mit dem exakten Test nach Fischer durchgeführt.

Für die Überprüfung des Zusammenhangs zweier stetiger (quantitativer) Variablen wurde der Korrelationskoeffizient nach Pearson (R) berechnet. Dabei zeigt ein R von „Null“ keine Korrelation, ein Wert von „1“ bzw. „-1“ eine absolute (bzw. absolute inverse) Übereinstimmung an.

Das Signifikanzniveau wurde auf 5% festgelegt. P-Werte der einzelnen statistischen Tests, die kleiner als das Signifikanzniveau waren, werden als signifikant angenommen.

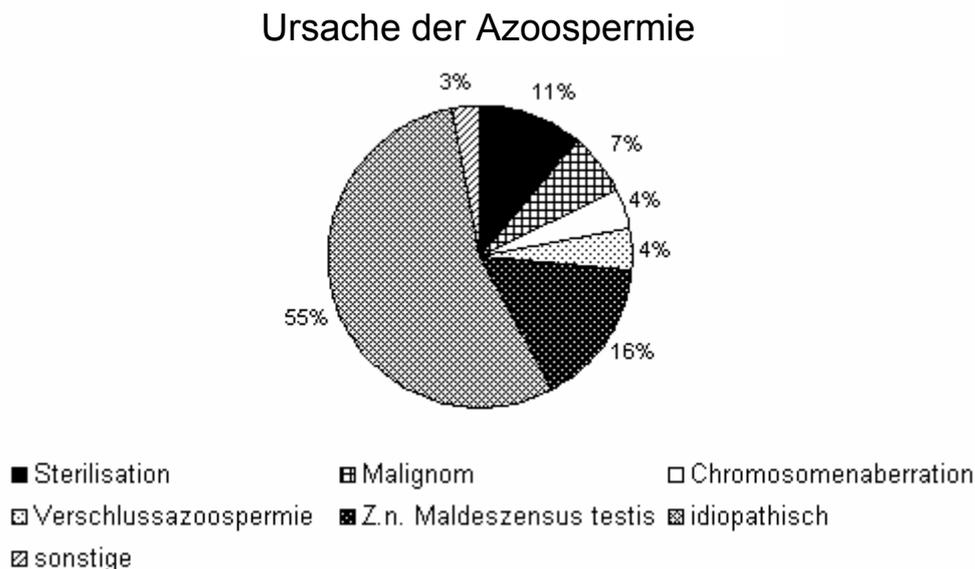
Die Beratung zur statistischen Auswertung erfolgte durch Herrn Priv. Doz. Dr. med. A. Katalinic (Institut für Sozialmedizin & Krebsregister Schleswig-Holstein e.V.).

3. Ergebnisse

3.1. TESE

Bei 286 Männern wurden 311 TESE durchgeführt. Zum Zeitpunkt der Operation betrug das mittlere Alter 35.32 ± 6.70 Jahre (Mittelwert \pm Standardabweichung). Die Ursache der Azoospermie war in 231 Fällen (80.8%, 231/286) dokumentiert. Eine vorangegangene Sterilisation war ursächlich bei 26 Patienten (11.3%, 26/231), ein Malignom bei 15 Patienten (6.5%, 15/231), eine Chromosomenanomalie bei 9 Patienten (3.9%, 9/231) und eine Verschlussazoospermie bei 10 Patienten (4.3%, 10/231). Ein anamnestischer Maleszensus testis fand sich in 37 Fällen (16.0%, 37/231) und ein Zustand nach (Z.n.) Mumps in 2 Fällen (0.9%, 2/231). Hinzu kamen 1 Patient (0.4%, 1/231) mit systemischen Lupus erythematodes und 1 Patient (0.4%, 1/231) mit Z.n. Polytrauma. Kongenitale urogenitale Fehlbildungen waren in 3 Fällen (1.3%, 3/231) vorhanden. In 127 Fällen (55.0%, 127/231) wurde eine idiopathische Genese angenommen (Abbildung 2). 10 der bereits genannten Patienten (4.3%, 10/231) hatten Kombinationen verschiedener Ursachen.

Abbildung 2: Ursache der Azoospermie

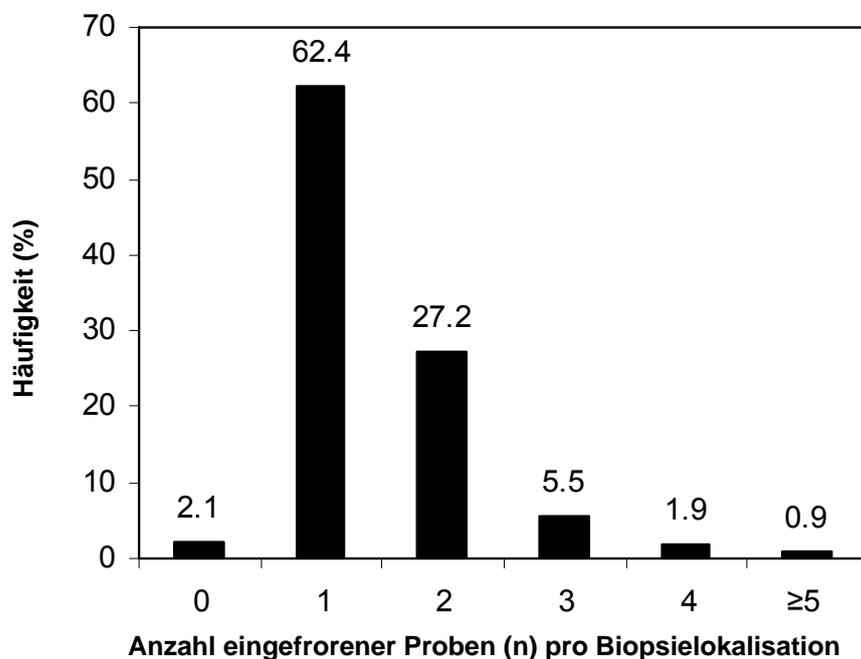


Z.n.: Zustand nach

Eine Bestimmung des FSH im Serum bei 221 (77.3%, 221/286) Patienten ergab einen Mittelwert von 14.64 ± 10.59 IU/l. Die sonographische Bestimmung des Hodenvolumens lag bei 9.02 ± 5.02 ml links und 9.36 ± 5.16 ml rechts, dokumentiert in 197 (68.9%, 197/286) bzw. 193 Fällen (67.5%, 193/286).

Die bei der TESE gewonnenen Proben wurden an unterschiedlichen Lokalisationen des Hodens entnommen und kryokonserviert. Insgesamt wurden in 311 TESE Operationen an 960 Lokalisationen Hodenmaterial gewonnen. Dabei wurde überwiegend eine Probe pro Lokalisation entnommen (62.4%, 599/960). In den restlichen Fällen wurden 2 (27.2%, 261/960), 3 (5.5%, 53/960), 4 (1.9%, 18/960) oder ≥ 5 (0.9%, 9/960) Biopsien pro Lokalisation entnommen. In 20 Fällen (2.1%, 20/960) wurde der Hoden an der jeweiligen Lokalisation zwar biopsiert, das gewonnene Material jedoch nicht kryokonserviert. Eine Übersicht über die eingefrorenen Probenzahl pro Biopsielokalisation gibt Abbildung 3.

Abbildung 3: Eingefrorene Probenzahl (n) pro Biopsielokalisation



n: gesamt

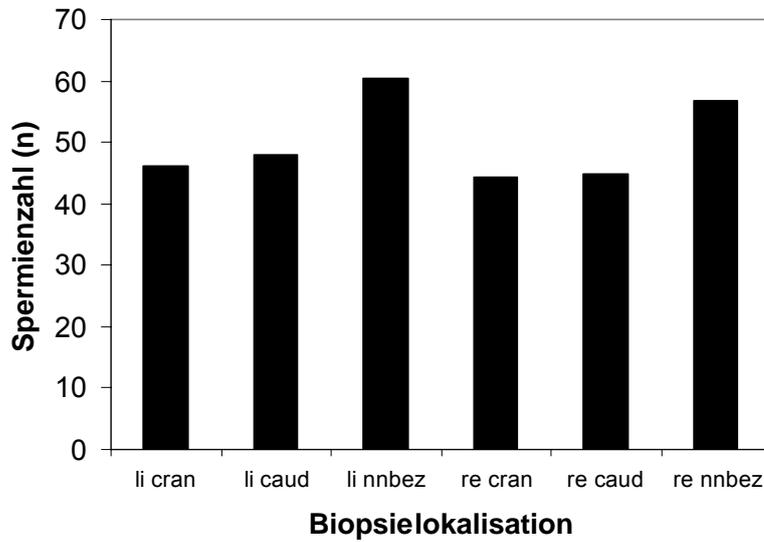
Das entnommene Material wurde jeweils auf vorhandene Spermien untersucht. Dabei kamen zwei verschiedene Methoden zur Anwendung. Ein Teil des Materials wurde nach der Entnahme aufbereitet und frisch mittels wet Präparation untersucht. Zusätzlich wurde ein Teil des Materials zum histologischen Spermienachweis und zur histologischen Begutachtung in die Pathologie geschickt. Mittelwerte und Standardabweichungen der nachgewiesenen Spermienzahlen beider Untersuchungsmethoden sind in Tabelle 1 und Abbildungen 4 und 5 dargestellt. Die Lokalisation der entnommenen Probe wurde durch die Zuordnung der Parameter rechts, links, cranial und caudal bestimmt. Bei fehlenden Angaben hinsichtlich der craniocaudalen Achse wurden die Daten der Gruppe „nicht näher bezeichnet“ zugeteilt.

Tabelle 1: Übersicht der Proben- und Spermienzahlen an den verschiedenen Lokalisationen

Parameter		links		rechts	
		MW ± SD	Bereich	MW ± SD	Bereich
cranial	eingefrorene Probenzahl (n)	1.38 ± 0.63	0–4	1.46 ± 0.87	0–8
	histologische Spermienzahl (n)	46.27 ± 74.56	0–500	44.44 ± 68.98	0–300
	wet Präparation Spermienzahl (Mio)	1.28 ± 2.21	0–15	1.56 ± 2.76	0–18
caudal	eingefrorene Probenzahl (n)	1.38 ± 0.66	0–6	1.34 ± 0.64	0–4
	histologische Spermienzahl (n)	48.02 ± 78.94	0–500	44.73 ± 71.40	0–400
	wet Präparation Spermienzahl (Mio)	1.31 ± 2.55	0–25	1.50 ± 2.60	0–18
nicht näher bezeichnet	eingefrorene Probenzahl (n)	2.63 ± 1.48	0–6	2.09 ± 1.79	0–8
	histologische Spermienzahl (n)	60.36 ± 74.05	0–240	56.85 ± 64.85	0–240
	wet Präparation Spermienzahl (Mio)	1.78 ± 2.41	0–10	1.85 ± 2.82	0–11

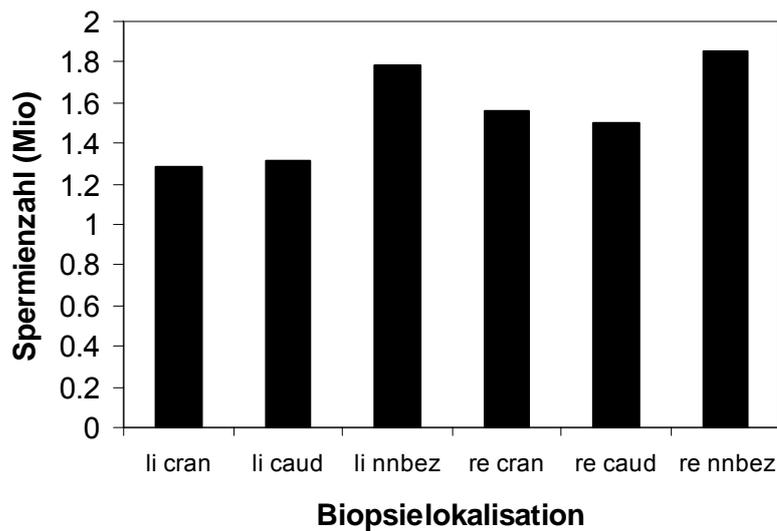
n: gesamt, Mio: Millionen, MW: Mittelwert, SD: Standardabweichung

Abbildung 4: Mittelwerte der histologischen gefundenen Spermienzahlen an den verschiedenen Biopsielokalisationen



caud: caudal, cran: cranial, li: links, n: gesamt, nnbez: nicht näher bezeichnet, re: rechts

Abbildung 5: Mittelwerte der in der wet Präparation gefundenen Spermienzahlen an den verschiedenen Biopsielokalisationen



caud: caudal, cran: cranial, li: links, nnbez: nicht näher bezeichnet, Mio: Millionen, re: rechts

3.2. Ausgang der Behandlungszyklen

Es wurden 360 Zyklen begonnen. 14 Zyklen (3.9%, 14/360) wurden aus unterschiedlichen Gründen abgebrochen. In 19 Zyklen (5.3%, 19/360) wurden durch MESA gewonnenen Spermien verwendet. Sie werden hier, auf Grund der im Abschnitt Material und Methoden erläuterten Gründe, nicht weiter besprochen. 131 Frauen unterzogen sich 252 TESE Zyklen (70.0%, 252/360). Dies ergibt eine mittlere TESE Zykluszahl von 1.92 ± 1.01 pro Patientin. Bei 44 Frauen wurden in 75 Zyklen (20.8%, 75/360) ejakulierte Spermien bei ICSI verwendet, entsprechend einer mittleren Zykluszahl von 1.70 ± 1.09 pro Patientin.

Die Art der Stimulation wurde in der Gruppe der TESE Zyklen in 250 Fällen (99.2%, 250/252) dokumentiert. In 181 Zyklen (72.4%, 181/250) wurde mit einem GnRH Agonisten, in 68 Zyklen (27.2%, 68/250) mit einem GnRH Antagonisten und in einem Zyklus (0.4%, 1/250) mit Clomifencitrat stimuliert. In 2 Fällen (0.8%, 2/252) war das exakte Stimulationsprotokoll aufgrund der fehlenden Dokumentation retrospektiv nicht nachvollziehbar.

Als Gonadotropine wurde in 97 Fällen (38.8%, 97/250) r-hFSH verwendet, in 5 Fällen (2.0%, 5/250) u-FSH, in 137 Fällen (54.8%, 137/250) HMG und in 11 Fällen (4.4%, 11/250) eine Kombination verschiedener Gonadotropine. In den 2 Fällen (0.8%, 2/252) mit fehlendem Stimulationsprotokoll war auch das verwendete Gonadotropin nicht eruierbar.

In der Gruppe der Zyklen mit Verwendung ejakulierter Spermien bei ICSI wurde in 52 Zyklen (70.3%, 52/74) mit einem GnRH Agonisten, in 20 Zyklen (27.0%, 20/74) mit einem GnRH Antagonisten und in 2 Zyklen (2.7%, 2/74) mit Clomifencitrat stimuliert. In einem Zyklus (1.3%, 1/75) ließen sich keine Angaben finden.

In 32 Fällen (44.4%, 32/72) wurde als Gonadotropin r-hFSH verwendet, in 35 Fällen (48.6%, 35/72) HMG und in 5 Fällen (6.9%, 5/72) eine Kombination der genannten Gonadotropine. 3 Fälle (4.0%, 3/75) waren diesbezüglich nicht dokumentiert.

Tabelle 2: Übersicht über Stimulationsdaten und IVF Parameter. Die Daten sind Mittelwerte \pm Standardabweichung, wenn nicht anders definiert.

Parameter	TESE Zyklen		Zyklen mit ejakulierten Spermien bei ICSI		p	Test
	Resultat	n	Resultat	n		
Anzahl der Zyklen (n)	252	252	75	75	–	–
Alter der Frau	31.37 \pm 4.11	131	31.69 \pm 3.99	44	n.s.	T
Dauer der Gonadotropingabe (d)	12.70 \pm 3.23	247	12.96 \pm 3.58	71	n.s.	T
Gonadotropindosis (IU)	2676 \pm 1454	239	3651 \pm 3146	65	<0.001	T
Östradiol bei hCG Gabe (pg/ml)	2672 \pm 1768	242	2149 \pm 1621	67	0.03	T
Eizellzahl pro Zyklus (n)	12.94 \pm 6.69	252	9.77 \pm 5.44	75	<0.001	T
Zyklen ohne 2PN Stadium nach ICSI	3.6% (9/252)	9	5.3% (4/75)	4	n.s.	Chi ²
Zyklen ohne ICSI taugliche Spermien im TESE Material	2.4% (6/252)	6	–	–	–	–
Eizellzahl 2PN pro Zyklus (n)	3.72 \pm 2.70	243	3.29 \pm 2.49	75	n.s.	T
2PN Rate aller gewonnenen Eizellen	27.7% (903/3260)	243	33.7% (247/733)	75	0.001	Chi ²
2PN Rate aller injizierten Eizellen	28.3% (903/3189)	237	33.7% (247/733)	75	0.004	Chi ²
3PN Rate aller gewonnenen Eizellen	3.3% (108/3260)	73	5.3% (39/733)	28	0.009	Chi ²
Kryokonservierung im 2PN Stadium möglich	22.2% (56/252)	56	17.3% (13/75)	13	n.s.	Chi ²
mittlere Anzahl kryokonservierter Eizellen (n)	5.04 \pm 2.33	56	4.69 \pm 2.59	13	n.s.	T
ET Rate	93.7% (236/252)	236	94.7% (71/75)	71	n.s.	Chi ²
mittlere Zahl transferierter Embryonen (n)	2.62 \pm 0.64	236	2.48 \pm 0.71	71	n.s.	T
mittlerer kumulativer Embryoscore (n)	24.21 \pm 12.22	234	24.63 \pm 12.25	71	n.s.	T
Implantationsrate	8.9% (55/619)	55	9.1% (16/176)	16	n.s.	Chi ²
Schwangerschaftsrate pro Zyklus	19.1% (48/252)	48	17.3% (13/75)	13	n.s.	Chi ²
Schwangerschaftsrate pro Embryotransfer	20.3% (48/236)	–	18.3% (13/71)	–	n.s.	Chi ²
Abortrate (gesamt)	27.1% (13/48)	13	23.1% (3/13)	3	n.s.	Chi ²
–Abortrate (ohne EUG)	27.1% (13/48)	13	15.4% (2/13)	2	n.s.	Chi ²
–Extrauterin gravidität	–	0	7.7% (1/13)	1	–	–
Fortlaufende Schwangerschaftsrate pro ET	14.8% (35/236)	–	15.5% (11/71)	–	n.s.	Chi ²
Mehrlingsrate	14.6% (7/48)	7	23.1% (3/13)	3	n.s.	Chi ²

Chi²: Chi–Quadrat–Test, d: Tage, ET: Embryotransfer, EUG: Extrauterin gravidität, hCG: humanes Choriongonadotropin, ICSI: intrazytoplasmatische Spermieninjektion, IU: international unit, MW: Mittelwert, n.s.: nicht signifikant, pg: pikogramm, PN: Pronuclei, SD: Standardabweichung, TESE: testikuläre Spermienextraktion, T: T–Test, – : keine Angabe

Das Alter der Patientinnen bei Follikelpunktion, die mittlere Dauer der Gonadotropingabe, Gesamtdosis der verabreichten Gonadotropine pro Patientin, Östradiolwerte im Serum zum Zeitpunkt der hCG Gabe und die Anzahl gewonnener Eizellen bei Follikelpunktion sind in Tabelle 2 dargestellt.

Bei den TESE Zyklen fand in 236 Fällen (93.7%, 236/252) ein Embryotransfer statt. In 9 Fällen (3.6%, 9/252) kam es nach Mikroinjektion des Spermiums zu keiner Ausbildung des Vorkernstadiums 2PN und somit zu keiner erfolgreichen Fertilisation. In 6 Fällen (2.4%, 6/252) waren zum Zeitpunkt der ICSI keine ICSI tauglichen Spermien im TESE Material auffindbar, so dass aus diesem Grund keine Mikroinjektion stattfand. In einem Fall (0.4%, 1/252) konnten bei der Follikelpunktion keine Eizellen gewonnen werden. Im Mittel wurden 2.62 ± 0.64 Embryonen mit einem modifizierten kumulativen Embryoscore von 24.21 ± 12.22 transferiert. Es ergab sich eine Implantationsrate von 8.9%. Die resultierende Schwangerschaftsrate pro Zyklus betrug 19.1%. 27.1% der Schwangerschaften endeten mit einem Abort.

Bei den Zyklen mit Verwendung von ejakulierten Spermien bei ICSI fand in 71 Fällen (94.7%, 71/75) ein Embryotransfer statt. In 4 Fällen (5.3%, 4/75) trat nach Mikroinjektion kein 2PN Stadium ein. Im Mittel wurden 2.45 ± 0.71 Embryonen mit einem modifizierten kumulativen Embryoscore von 24.63 ± 12.25 transferiert. Es ergab sich eine Implantationsrate von 9.1%. Die resultierende Schwangerschaftsrate pro Zyklus betrug 17.3%. Die Abortrate lag bei 23.1%. Dabei trat eine Extrauterin gravidität auf.

Beim Vergleich der Zyklen mit Verwendung testikulärer gegenüber ejakulierter Spermien bei ICSI zeigten sich folgende Ergebnisse:

Für das Alter der Frau zum Zeitpunkt der Follikelpunktion, dem Alter des Mannes zum Zeitpunkt der TESE Operation sowie der Dauer der Gonadotropingaben fanden sich keine signifikanten Unterschiede (T-Test). Die Gruppen waren also anamnestisch gut vergleichbar.

Es zeigte sich, dass bei den Zyklen mit Verwendung ejakulierter Spermien bei ICSI im Mittel signifikant höheren Gonadotropindosen (3651 ± 3146 vs. $2676 \pm$

1454, $p < 0.001$, T-Test) stimuliert wurde. Die nachfolgend gemessenen Östradiolwerte im Serum bei hCG Gabe waren jedoch signifikant niedriger als bei den TESE Zyklen (2149 ± 1621 vs. 2672 ± 1768 , $p = 0.03$, T-Test). Bei der Follikelpunktion kam es ebenfalls zu einer signifikant niedrigeren mittleren Anzahl an gewonnenen Eizellen (9.77 ± 5.44 vs. 12.94 ± 6.69 , $p < 0.001$, T-Test) gegenüber den TESE Zyklen.

In 9 Fällen (3.6%, 9/252) konnte nach Mikroinjektion testikulärer Spermien durch Ausbleiben des 2PN Stadiums keine regelrechte Fertilisierung der Eizellen erzielt werden. Dies trat bei Verwendung ejakulierter Spermien in 4 Fällen (5.3%, 4/75) auf. In 6 TESE Zyklen (2.4%, 6/252) konnten zum Zeitpunkt der ICSI keine ICSI tauglichen Spermien in TESE Material aufgefunden werden. Bei Verwendung ejakulierter Spermien standen erwartungsgemäß in allen Zyklen ICSI taugliche Spermien zur Verfügung. Es fand sich kein signifikanter Unterschied hinsichtlich der mittleren Anzahl an Eizellen im Vorkernstadium 2PN nach Spermieninjektion (T-Test). Bei Betrachtung der regelrechten Fertilisationsrate (Summe aller Eizellen mit 2 Vorkernen pro Summe aller gewonnenen Eizellen) zeigte sich jedoch eine signifikant höhere Rate an Eizellen im 2PN Stadium bei der Verwendung ejakulierter Spermien. Dies fand sich sowohl hinsichtlich der Summe aller gewonnenen Eizellen (27.7% vs. 33.7%, $p = 0.001$, Chi-Quadrat-Test), als auch der Summe aller injizierten Eizellen (28.3% vs. 33.7%, $p = 0.004$, Chi-Quadrat-Test). Gleichzeitig fand sich allerdings auch eine signifikant höhere Rate an Eizellen im 3PN Stadium nach Injektion ejakulierter Spermien (3.3% vs. 5.3%, $p = 0.009$, Chi-Quadrat-Test).

Für die Möglichkeit der Kryokonservierung überzähliger Eizellen im 2PN Stadium (Chi-Quadrat-Test) und die im Mittel kryokonservierte Anzahl der Eizellen (T-Test) zeigte sich kein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Methode zur Spermengewinnung.

Für die Embryotransferrate (Chi-Quadrat-Test), die mittlere Zahl der transferierten Embryonen (T-Test), den beim Embryotransfer berechneten modifizierten kumulativen Embryoscores (T-Test) und die Implantationsrate (Chi-Quadrat-Test) ergaben sich keine signifikanten Unterschiede. Weder die Schwangerschaftsrate pro Zyklus noch die Schwangerschaftsrate pro

Embryotransfer waren signifikant unterschiedlich (Chi-Quadrat-Test). Dies galt auch für die Abortrate, die Rate der fortlaufenden Schwangerschaften pro Embryotransfer und die Mehrlingsrate (Chi-Quadrat-Test).

3.3. Prognosefaktoren für eine positive TESE

Zur Klärung der Frage, ob prognostische Faktoren hinsichtlich einer positiven TESE vorliegen, wurden die klinischen Daten der operierten Patienten bezüglich eines Zusammenhanges mit dem histologisch gesicherten Nachweis von ICSI tauglichen Spermien im Hodenbiopsat untersucht. Eine positive TESE wurde definiert als mindestens ein histologisch nachweisbares Spermium in der Gesamtzahl der entnommenen Proben pro TESE Operation oder in Ermangelung einer quantitativen Aussage als histologisch befundete ICSI Tauglichkeit.

3.3.1. Prognosefaktoren des Mannes

Es zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Ursache der Azoospermie und dem Auffinden von ICSI tauglichen Spermien im Hodenbiopsat ($p < 0.001$, Chi-Quadrat-Test). Die Kreuztabelle (siehe Tabelle 3) zeigt folgende Verteilung der Ursachen.

Tabelle 3: Kreuztabelle Ursache der Azoospermie und positive TESE

Ursache der Azoospermie	positive TESE		gesamt
	nein	ja	
Sterilisation	0 (0.0%)	26 (100.0%)	26
Kongenitale urogenitale Fehlbildung	0 (0.0%)	3 (100.0%)	3
Verschlussazoospermie	1 (10.0%)	9 (90.0%)	10
Chromosomenanomalie	1 (11.1%)	8 (88.9%)	9
Idiopathisch	37 (29.1%)	90 (70.9%)	127
Malignom	7 (46.7%)	8 (53.3%)	15
Z.n. Maldescensus testis	19 (51.4%)	18 (48.6%)	37
Z.n. Mumps	2 (100.0%)	0 (0.0%)	2
Systemischer Lupus erythematodes	1 (100.0%)	0 (0.0%)	1
Z.n. Polytrauma	1 (100.0%)	0 (0.0%)	1
gesamt	69 (29.9%)	162 (70.1%)	231

TESE: testikuläre Spermienextraktion, Z.n.: Zustand nach

Bei Unterteilung der Ursachen der Azoospermie in die Subgruppen obstruktive und nicht obstruktive Azoospermie zeigte sich eine signifikant höhere Rate an erfolgreichen TESE Operationen (97.4% vs. 64.6%, $p < 0.001$, Chi-Quadrat-Test) in der Gruppe der obstruktiven Azoospermie. Eine genaue Auflistung zeigt Tabelle 4. Die Gruppe der obstruktiven Azoospermie umfasste die Ursachen Sterilisation, Verschlussazoospermie und kongenitale urogenitale Fehlbildungen. Die Ursachen Malignom, Chromosomenanomalie, idiopathische Azoospermie, Z.n. Maleszensus testis, Z.n. Mumps, systemischer Lupus erythematodes und Z.n. Polytrauma wurden der Gruppe der nicht obstruktiven Azoospermie zugeordnet.

Tabelle 4: Kreuztabelle Ursache der Azoospermie, Subgruppen obstruktive und nicht obstruktive Azoospermie und positive TESE

Ursache der Azoospermie	positive TESE		gesamt
	nein	ja	
obstruktiv	1 (2.6%)	38 (97.4%)	39
nicht obstruktiv	68 (35.4%)	124 (64.6%)	192
gesamt	69 (29.9%)	162 (70.1%)	231

TESE: testikuläre Spermienextraktion

Der FSH Wert im Serum, das gemittelte Hodenvolumen und das Alter des Mannes zum Zeitpunkt der TESE Operation zeigten keine signifikanten Ergebnisse (Chi-Quadrat-Test).

3.3.2. Bioptische Prognosefaktoren

Quantitative Prognosefaktoren:

Zahl der entnommenen und eingefrorenen Hodenbiopsien:

Es zeigte sich ein Zusammenhang zwischen der Gesamtzahl der entnommenen und eingefrorenen Proben pro TESE Operation und dem Auffinden ICSI tauglicher Spermien ($p < 0.001$, Chi-Quadrat-Test, siehe Tabelle 5).

Tabelle 5: Kreuztabelle Gesamtzahl eingefrorener Proben pro TESE Operation (n) und positive TESE

Gesamtzahl eingefrorener Proben pro TESE Operation (n)	positive TESE		gesamt
	nein	ja	
0–2	13 (68.4%)	6 (31.6%)	19
3–5	59 (31.7%)	127 (68.3%)	186
≥6	10 (11.9%)	74 (88.1%)	84
gesamt	82 (28.4%)	207 (71.6%)	289

TESE: testikuläre Spermienextraktion

Gezählte Spermienzahl in der wet Präparation:

Desweiteren fand sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen einer positiven TESE und der Summe der in der wet Präparation gezählten Spermienzahl aller entnommenen Proben pro TESE Operation. ($p < 0.001$, Chi-Quadrat-Test, siehe Tabelle 6).

In 101 Fällen (33.1%, 101/305) konnte in der wet Präparation in keiner der entnommenen Biopsien Spermien nachgewiesen werden. Trotzdem fanden sich in 23.8% der Fälle (24/101) in der nachfolgenden histologischen Begutachtung ICSI taugliche Spermien. Ab einer Summe von >6 Millionen Spermien nach wet Präparation (24.6%, 75/305) ergab sich in 100% der Fälle (75/75) eine positive TESE.

Tabelle 6: Kreuztabelle Summe der in der wet Präparation gezählten Spermienzahl (Mio) aller Proben pro TESE und positive TESE

Summierte Spermienzahl (Mio) wet Präparation pro TESE	positive TESE		gesamt
	nein	ja	
0.0	77 (76.2%)	24 (23.8%)	101
0.1–2.0	9 (14.3%)	54 (85.7%)	63
2.1–4.0	3 (8.3%)	33 (91.7%)	36
4.1–6.0	1 (3.3%)	29 (96.7%)	30
>6.0	0 (0.0%)	75 (100.0%)	75
gesamt	90 (29.5%)	215 (70.5%)	305

Mio: Millionen, TESE: testikuläre Spermienextraktion

Da eine positive TESE als mindestens ein histologisch nachweisbares Spermium in der Gesamtzahl der entnommenen Proben oder in Ermangelung einer quantitativen Aussage als histologisch befundete ICSI Tauglichkeit definiert wurde, wurde auf eine Untersuchung des Zusammenhanges zwischen der gefundenen Spermienzahl in der histologischen Begutachtung und einer positiven TESE verzichtet.

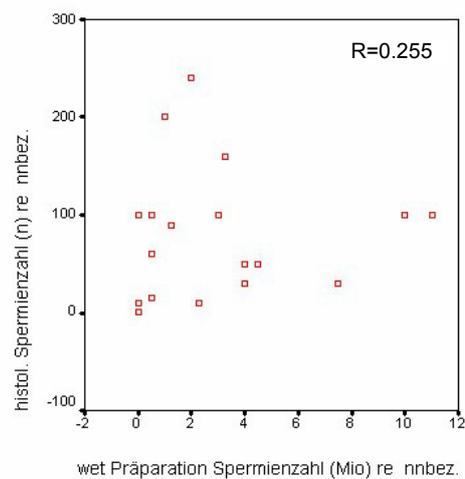
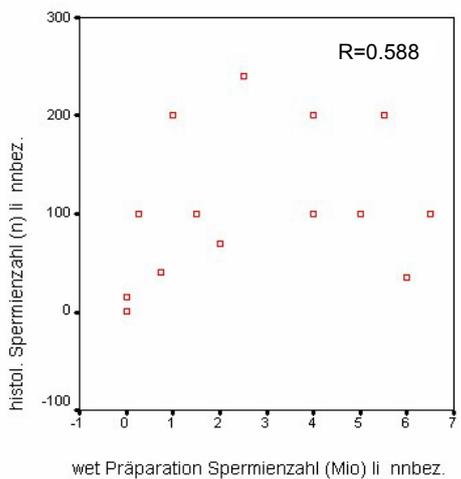
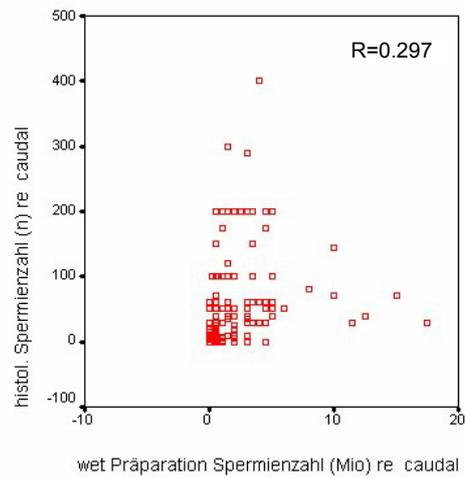
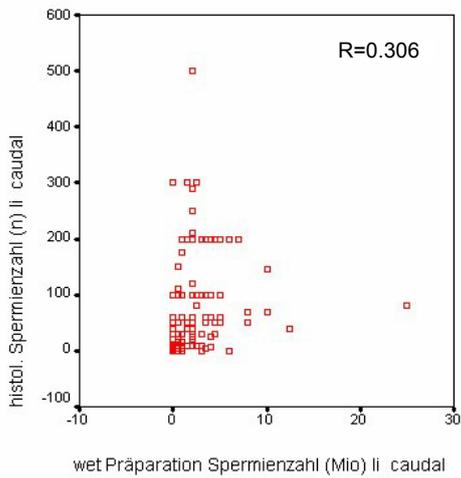
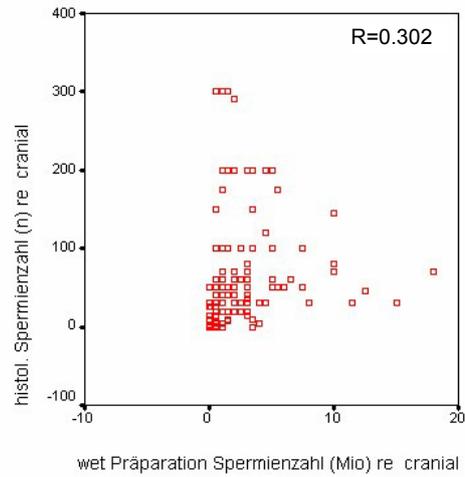
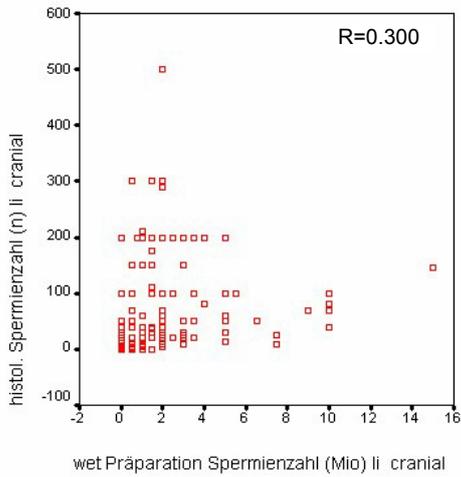
In 82 Fällen (26.4%, 82/311) waren bei histologischer Untersuchung des TESE Materials keine Spermien auffindbar.

In 7 Fällen (2,3%, 7/311) fielen in der histologischen Begutachtung primär maligne Veränderungen auf.

3.3.3. Korrelation der Spermienzahl in der wet Präparation mit der histologisch gefundenen Spermienzahl

Da bei dem entnommenen Hodenmaterial routinemäßig nach der Entnahme mittels wet Präparation die enthaltene Spermienzahl bestimmt wurde und im Anschluss der histologische Spermiennachweis erfolgte, untersuchten wir die Korrelation zwischen den Ergebnissen beider Methoden an den jeweiligen Biopsielokalisationen. Es konnte für alle Lokalisationen eine schwach positive Korrelation (Korrelation nach Pearson) nachgewiesen werden (siehe Abbildung 6). Der Korrelationskoeffizient R befand sich im Bereich von 0.30 bis 0.31 für die Lokalisationen links cranial ($R=0.300$, $p<0.001$, $n=225$), links caudal ($R=0.306$, $p<0.001$, $n=219$), rechts cranial ($R=0.302$, $p<0.001$, $n=229$) und rechts caudal ($R=0.297$, $p<0.001$, $n=220$). Größere Abweichung fand sich an den Lokalisationen links nicht näher bezeichnet ($R=0.588$, $p=0.002$, $n=25$) und rechts nicht näher bezeichnet ($R=0.255$, $p=0.229$, $n=24$). Mit Ausnahme der Lokalisation rechts nicht näher bezeichnet, war die Korrelation auf dem Niveau von 0.01 zweiseitig signifikant.

Abbildung 6: Korrelation der Spermienzahl in der wet Präparation mit der histologisch gefundenen Spermienzahl (Korrelation nach Pearson)



histol: histologisch, li: links, n: gesamt, nnbez: nicht näher bezeichnet, Mio: Millionen, re: rechts

3.4. Prognosefaktoren für eine erfolgreiche ICSI

Es wurde geprüft, inwieweit eine erfolgreiche ICSI vorhersagbar war – getrennt für TESE Zyklen und Zyklen mit Verwendung ejakulierter Spermien bei ICSI. Erfolgsparameter war eine sonographisch nachweisbare Schwangerschaft. Die vorhandenen Daten ergaben sich aus den klinischen Daten des Mannes, den Daten der Hodenbiopsie, den Zyklusdaten der Frau und den IVF Parametern.

3.4.1. TESE Zyklen

3.4.1.1. Prognosefaktoren des Mannes

Bei einer Untersuchung der klinischen Daten des Mannes – Alter des Mannes bei Biopsie, Ursache der Azoospermie, FSH Wert im Serum und mittleres Hodenvolumen – bezüglich eines Zusammenhanges mit einer sonographisch nachweisbaren Schwangerschaft zeigten sich keine signifikanten Ergebnisse (Chi-Quadrat-Test).

3.4.1.2. Biopsische Prognosefaktoren

Für die Parameter der erfolgten Hodenbiopsie – eingefrorene Probenzahl, Spermienzahl in der wet Präparation und histologische Spermienzahl – fand sich ebenfalls kein Zusammenhang mit einer sonographisch nachweisbaren Schwangerschaft (Chi-Quadrat-Test).

3.4.1.3. Prognosefaktoren der Frau

Das gruppierte Alter der Patientin zum Zeitpunkt der Follikelpunktion zeigte keinen Zusammenhang mit einer sonographisch nachweisbaren Schwangerschaft (Chi-Quadrat-Test, siehe Tabelle 7). Den Daten bezüglich der Stimulation der Patientin – Stimulationsart, verwendeter Gonadotropintyp und Östradiolwert bei hCG Gabe – konnte ebenfalls kein Zusammenhang mit einer Schwangerschaft nachgewiesen werden (Chi-Quadrat-Test).

Tabelle 7: Cutoff Analyse bezüglich Alter der Frau und erzielter Schwangerschaft (Frauen einfach gezählt)

Alter der Frau bei Follikelpunktion (Jahre)	Anzahl der Frauen (n)	positive Herzaktion im US (n)	Anzahl der Zyklen MW ± SD
<27	16	4 (25.0%)	1.9 ± 1.09
27–33	78	23 (29.5%)	2.0 ± 1.00
34–39	34	13 (38.2%)	1.9 ± 1.06
>39	3	0 (0.0%)	1.3 ± 0.58
gesamt	131	40 (30.5%)	1.9 ± 1.01

MW: Mittelwert, n: gesamt, SD: Standardabweichung, SS: Schwangerschaft, US: Ultraschall

Frauen wurden einfach gezählt, d.h. in 8 Fällen wurde eine zweite Schwangerschaft derselben Frau in einer nachfolgenden Stimulation nicht berücksichtigt. Mehrlingsschwangerschaften kamen nicht vor.

Bei Berücksichtigung einer zweiten Schwangerschaft derselben Frau in einem konsekutivem Zyklus (n=8) zeigte sich ebenfalls kein signifikanter Zusammenhang hinsichtlich einer sonographisch nachweisbaren Schwangerschaft (Chi-Quadrat-Test, siehe Tabelle 8).

Tabelle 8: Cutoff Analyse bezüglich Alter der Frau und erzielter Schwangerschaft (Frauen mehrfach gezählt)

Alter der Frau bei Follikelpunktion (Jahre)	Anzahl der Frauen (n)	positive Herzaktion im US (n)	klinische SS (n)	Anzahl der Zyklen MW ± SD
<27	16	5 (31.3%)	5 (31.3%)	1.9 ± 1.09
27–33	78	34 (43.6%)	30 (38.5%)	2.0 ± 1.00
34–39	34	16 (47.1%)	13 (38.2%)	1.9 ± 1.06
>39	3	0 (0.0%)	0 (0.0%)	1.3 ± 0.58
gesamt	131	55 (42.0%)	48 (36.6%)	1.9 ± 1.01

MW: Mittelwert, n: gesamt, SD: Standardabweichung, SS: Schwangerschaft, US: Ultraschall

Es traten 7 Geminigraviditäten auf.

3.4.1.4. Prognostischer Wert der IVF Parameter

Bei Untersuchung der IVF Parameter zeigte sich ein Zusammenhang zwischen der Anzahl der fertilisierten Eizellen im Vorkernstadium mit 2PN nach erfolgter

ICSI und dem Eintreten einer sonographisch nachweisbaren Schwangerschaft ($p=0.018$, Chi-Quadrat-Test, siehe Tabelle 9). Für die weiteren IVF Parameter – Anzahl der gewonnenen Eizellen bei der Follikelpunktion, Eizellen mit 3PN nach ICSI, Zahl eingefrorener Eizellen im 2PN Stadium, Zahl der transferierten Embryonen und modifizierter kumulativer Embryoscore – fanden sich keine signifikanten Ergebnisse diesbezüglich (Chi-Quadrat-Test).

Bei Unterteilung der Anzahl der fertilisierten Eizellen im Vorkernstadium 2PN in die Subgruppen <4 Eizellen 2PN vorhanden, 4–6 Eizellen 2PN vorhanden und >6 Eizellen 2PN vorhanden, zeigte sich ein signifikanter Trend bezüglich des Eintretens einer klinischen Schwangerschaft ($p=0.100$, einfache Varianzanalyse ANOVA) für Zyklen mit >6 vorhandenen Eizellen im Vorkernstadium 2PN gegenüber Zyklen mit <4, jedoch nicht für 4–6 vorhandenen Eizellen im 2PN Stadium. Eine genaue Auflistung zeigt Tabelle 9.

Tabelle 9: Kreuztabelle 2PN Zahl, Subgruppen <4, 4–6, >6 vorhandene Eizellen 2PN, und klinisch nachgewiesene Schwangerschaft

2PN Zahl (n)	Anzahl der Embryotransfers (n)	Positive Herzaktion im US (n)	Klinische SS (n)
<4	179	35 (19.6%)	33 (18.4%)
4–6	21	4 (19.1%)	4 (19.1%)
>6	36	16 (44.4%)	11 (30.5%)
gesamt	236	55 (23.3%)	48 (20.3%)

ET: Embryotransfer, n: gesamt, PN: Pronuclei, SS: Schwangerschaft, US: Ultraschall

Es traten 7 Geminigraviditäten auf.

3.4.2. Zyklen mit Verwendung ejakulierter Spermien bei ICSI

Bei den Zyklen mit Verwendung ejakulierter Spermien bei ICSI lagen nur sehr geringe Fallzahlen und nur 13 sonographisch nachgewiesene Schwangerschaften vor. Signifikante Zusammenhänge wurden im Wesentlichen nicht beobachtet.

Nur für den Zusammenhang zwischen der Zahl der transferierten Embryonen mit einer sonographisch nachweisbaren Schwangerschaft zeigte sich ein möglicher

signifikanter Trend ($p=0.07$, Chi-Quadrat-Test/exakter Test nach Fischer). Eine Auflistung der Kreuztabellen findet sich im Anhang (siehe Anhang 7.2. Seite 68).

4. Diskussion

In dieser retrospektiven Analyse konnten wir zeigen, dass eine ICSI–Behandlung nach TESE gute Erfolge liefert.

Der Erfolg einer TESE, also die Gewinnung von fertilisierungsfähigen Spermien, ließ sich dabei durch die zugrundeliegende Ursache der Azoospermie vorhersagen. Andere laboranalytische Parameter oder klinische Untersuchungsergebnisse waren nicht hilfreich.

Es konnten keine relevanten prognostischen Faktoren herausgearbeitet werden, die eine Voraussage hinsichtlich des Eintretens einer Schwangerschaft liefern.

Die wesentlichen Ergebnisse sollen hier in ihrer Relevanz diskutiert werden.

4.1. Prognosefaktoren für eine positive TESE

4.1.1. Prognosefaktoren des Mannes

Ätiologische Prognosefaktoren

Der einzige Parameter, der prognostischen Wert zeigte, war die Ursache der Azoospermie ($p < 0.001$, Chi–Quadrat–Test, siehe Abschnitt 3.3.1., Seite 35). Friedler et al. (2002) zeigte in seiner Untersuchung zweier Kollektive – mit obstruktiver und nicht obstruktiver Azoospermie – einen signifikanten Unterschied im Hinblick auf eine erfolgreiche TESE. Bei Patienten mit obstruktiver Azoospermie ließen sich signifikant häufiger Spermien im TESE Material auffinden. Bei Betrachtung unseres Kollektives zeigt sich nach Unterteilung in obstruktive und nicht obstruktive Azoospermie ein ähnliches Resultat (97.4% vs. 64.6%, $p < 0.001$, Chi–Quadrat–Test, siehe Abschnitt 3.3.1., Seite 35). Eine normale Spermiogenese bei obstruktiv bedingter Azoospermie, wie im Falle von Sterilisation, Verschlussazoospermie und kongenitalen urogenitalen Fehlbildungen zeigen eine gute Prognose für eine erfolgreiche TESE (97.4% vs. 64.6%, siehe Tabelle 4, Seite 36). Azoospermie bedingt durch verminderte oder pathologische Spermiogenese, wie im Falle von Malignomen, Chromosomenanomalien, Z.n. Maldezensus testis, Z.n. Mumps, systemischem Lupus erythematodes oder einer

idiopathischen Azoospermie zeigen eine deutlich weniger gute Prognose für eine erfolgreiche TESE (64.6% vs. 97.4%, siehe Tabelle 4, Seite 36). Dies lässt sich ebenfalls mit dem in der Literatur beschriebenen Zusammenhang zwischen histopathologischem Befund nach erfolgter TESE und dem Auffinden von ICSI tauglichen Spermien im Biopsiematerial vereinbaren (Tournaye et al. 1996 und 1997, Silber et al. 1997b, Seo und Ko 2001).

Biochemische/anatomische Prognosefaktoren

Den Parametern FSH im Serum und Hodenvolumen konnte kein prognostischer Wert nachgewiesen werden. Dies entspricht den Angaben in der Literatur (Schlegel et al. 1997, Seo und Ko 2001, Hauser et al. 2002, Bailly et al. 2003).

Somit konnten wir der anhaltenden Diskussion zu der Frage, ob ein einfacher biochemischer Marker möglich wäre, nichts hinzufügen. Neben Analyse der Ursache der Azoospermie scheint tatsächlich die durchgeführte TESE und deren histopathologischer Befund das verlässlichste Ergebnis hinsichtlich des Auffindens von ICSI tauglichen Spermien zu liefern.

4.1.2. Biopsische Prognosefaktoren

Die Zahl der entnommenen und eingefrorenen Proben zeigte einen Zusammenhang mit einer erfolgreichen TESE ($p < 0.001$, Chi-Quadrat-Test, siehe Tabelle 5, Seite 37). Dies erklärt sich aus der steigenden Wahrscheinlichkeit Spermien aufzufinden, je mehr Hodenmaterial asserviert wurde. Entsprechend kann bei grossem Hodenvolumen eine grössere Anzahl an Biopsien gewonnen werden. Ferner mag der Operateur zur höheren Probenentnahme neigen, wenn das freigelegte Hodengewebe makroskopisch vielversprechend aussieht.

Die gezählte Spermienzahl in der wet Präparation zeigte ebenfalls einen Zusammenhang mit einer positiven TESE ($p < 0.001$, Chi-Quadrat-Test, siehe Tabelle 6, Seite 37). Ließen sich in dem entnommenen Hodengewebe Spermien in der wet Präparation nachweisen, war die Prognose für eine positive TESE gut

(85.7–100%, siehe Tabelle 6, Seite 37). Selbst wenn in der wet Präparation keine Spermien sichtbar waren, fanden sich in 23.8% der Fälle (24/101, siehe Tabelle 6, Seite 37) doch noch ICSI taugliche Spermien in der histologischen Begutachtung. Demnach lässt sich die gefundene Spermienzahl in der wet Präparation als grob orientierender prognostischer Marker für eine positive TESE verwenden.

In nur 6 Fällen (2.4%, 6/252, siehe Tabelle 2, Seite 32) konnten nach dem histologischen Nachweis ICSI tauglicher Spermien zum Zeitpunkt der ICSI keine Spermien im TESE Biopsat aufgefunden werden.

Die schwach positive Korrelation der gefundenen Spermienzahlen in der wet Präparation im Vergleich mit der histologisch gefundenen Spermienzahl an den jeweiligen Biopsielokalisationen (links cranial: $R=0.300$, $p<0.001$; links caudal: $R=0.306$, $p<0.001$; rechts cranial: $R=0.302$, $p<0.001$; rechts caudal: $R=0.297$, $p<0.001$; links nicht näher bezeichnet: $R=0.588$, $p=0.002$; rechts nicht näher bezeichnet: $R=0.255$, $p=0.229$; Korrelation nach Pearson, siehe Abschnitt 3.3.3., Seite 38) ist ein Hinweis auf die schwierige Vergleichbarkeit zweier sehr unterschiedlicher Methoden und die häufig äußerst geringe Zahl der nachzuweisenden Spermien. Dies sollte man auch bei der Interpretation von Literaturergebnissen bzw. dem Vergleich verschiedener Literaturangaben berücksichtigen. Es liegt nahe, dass eine Kombination beider Methoden die verlässlichsten Aussagen liefert.

In 7 von 311 (2.3%) Fällen konnte bei der histologischen Begutachtung des Hodenbiopsats primär eine maligne Veränderung festgestellt werden (siehe Abschnitt 3.3.3., Seite 38). In der Normalbevölkerung liegt die Inzidenz für maligne Veränderungen des Hodens bei 7 von 100 000 (0.00007%) (Jacobeit et al. 2004). Bei einer Einschränkung der Fertilität wird die Inzidenz maligner Hodenerkrankungen auf 4 von 1000 (0.004%) geschätzt (Adler 2003). Aufgrund der hochgradigen Infertilität des vorliegenden Kollektivs kann von einer entsprechend erhöhten Inzidenz für maligne Veränderungen ausgegangen werden.

4.2. Prognosefaktoren für eine erfolgreiche ICSI

4.2.1. Prognosefaktoren des Mannes/ Biopsische Prognosefaktoren

Keine der untersuchten klinischen Parameter des Mannes oder der Daten der durchgeführten Hodenbiopsie zeigten prognostischen Wert hinsichtlich des Eintretens einer Schwangerschaft. In der Literatur konnten dazu ebenfalls keine Angaben gefunden werden.

4.2.2. Prognosefaktoren der Frau

Interessanterweise fand sich im Gegensatz zur Literatur (Silber et al. 1997a, Altay et al. 2002) kein Zusammenhang zwischen dem Alter der Frau und dem Eintreten einer sonographisch nachweisbaren Schwangerschaft. Die Cutoff Analyse gestaffelt nach dem Alter der Frau, <27 Jahre, 27–33 Jahre, 34–39 Jahre, >40 Jahre lieferte ebenfalls keine signifikanten Ergebnisse. Die mittlere Zahl der Behandlungszyklen der verschiedenen Altersgruppen zeigte auch keinen signifikanten Unterschied. Dieses Ergebnis lässt sich nur in der relativ geringen Fallzahl des Kollektives begründen (n=131).

Alle weiteren klinischen Daten der Frau und ihrer Behandlung zeigten keinen prognostischen Wert. Dies entspricht der oben beschriebenen Literatur (Silber et al. 1997a, Altay et al. 2002).

4.2.3. Prognostischer Wert der IVF Parameter

Die Anzahl der Eizellen im 2PN Stadium nach erfolgter Mikroinjektion zeigte einen Zusammenhang mit einer sonographisch nachweisbaren Schwangerschaft ($p=0.018$, Chi-Quadrat-Test, siehe Abschnitt 3.4.1.4. Seite 41). Für die Anzahl der gewonnenen Eizellen bei der Follikelpunktion fand sich kein Zusammenhang diesbezüglich. Trotzdem liegt nahe, dass Frauen mit vielen fertilen Eizellen, also vielen Eizellen im 2PN Stadium nach ICSI, auch viele Eizellen hatten, und dem entsprechend gut auf die Stimulation reagiert hatten.

Ebenso könnte ein Zusammenhang mit der geringen Fertilisationsrate bzw. 2PN Rate nach Mikroinjektion der Eizellen mit durch TESE gewonnenen Spermien

vermutet werden (27.7% bzw. 28.3% vs. 33.7%, $p=0.001$ bzw. $p=0.004$, Chi-Quadrat-Test, siehe Tabelle 2, Seite 32). In der Literatur werden jedoch sehr gute Fertilisationsraten für ICSI mit Verwendung testikulärer Spermien beschrieben (Tournaye et al. 1997).

Es muss auch bedacht werden, dass es in Ermangelung von Spermien im TESE Biopsat in einigen Zyklen gar nicht erst zur Mikroinjektion kam – eine Komplikation, welche bei den Zyklen mit Verwendung ejakulierter Spermien nicht beobachtet werden konnte.

Bei Untersuchung der Cutoff-Werte der 2PN Rate fand sich ein signifikanter Trend ($p=0.100$, einfache Varianzanalyse ANOVA, siehe Tabelle 9, Seite 42) bezüglich einer höheren Schwangerschaftsrate pro Embryotransfer bei >6 gegenüber <4 vorhandenen Eizellen im 2PN Stadium. Es liegt die Vermutung nahe, dass die Möglichkeit der Auswahl der besten 2PN Stadien für das weitere Heranreifen zum Embryo einen positiven Effekt auf Implantationsrate und Schwangerschaftsrate hat (Ludwig et al. 2000a und 2000b, Ludwig und Diedrich 2003). Für die Selektion von Embryonen ist dies in der Literatur bereits mehrfach beschrieben (Templeton und Morris 1998, Van Royen et al. 1999, De Neubourg et al. 2002, Gerris et al. 2002, Ozturk und Templeton 2002). Für die Selektion von 2PN Stadien im Rahmen des Embryonenschutzgesetzes liegen ebenfalls Untersuchungen vor (Ludwig et al. 2000a und 2000b, Montag und van der Ven 2001).

Der modifizierte kumulative Embryoscore zeigte keinen prognostischen Wert für das Eintreten einer Schwangerschaft. Dies steht im Gegensatz zur Literatur (Steer et al. 1992) – hier wurde der kumulative Embryoscore schließlich mit dem Zweck der Prognose erarbeitet. Allerdings mag auch dies – wie der Altersfaktor – mit der relativ niedrigen Fallzahl zusammenhängen. Zum anderen konnte in Untersuchungen gezeigt werden, dass morphologische Kriterien wie der Embryoscore keine direkte Aussage über den genetischen Zustand des Embryos zulassen, da ein großer Teil der morphologisch suspekten Embryonen sich zu chromosomal normalen Blastozysten entwickeln (Hardarson et al. 2003).

Die Zahl der implantierten Embryonen zeigte keinen Zusammenhang mit einer sonographisch nachweisbaren Schwangerschaft. Dies steht im Einklang mit der Literatur – hier werden nur steigende Mehrlingsraten in Korrelation mit der Zahl der implantierten Embryonen beschrieben (Coetsier und Dhont 1998, Cohen 1998, Ludwig et al. 2000a und 2000b). Höhere Schwangerschaftsraten fanden sich erst bei der Selektion von Embryonen. Dies ist in Deutschland wegen des Embryonenschutzgesetzes nicht möglich. Daher steht nur die Selektion der 2PN Stadien wie bereits oben beschrieben zur Verfügung.

4.3. Untersuchung der vorliegenden Kollektive – TESE Zyklen und Zyklen mit Verwendung ejakulierter Spermien bei ICSI

In den Zyklen mit Verwendung ejakulierter Spermien bei ICSI wurde mit signifikant höheren Gonadotropindosen gegenüber den TESE Zyklen stimuliert (3651 ± 3146 vs. 2676 ± 1454 , $p < 0.001$, T-Test, siehe Tabelle 2, Seite 32). Interessanterweise fand sich nachfolgend ein signifikant niedriger Östradiolwert im Serum zum Zeitpunkt der hCG Gabe (9.77 ± 5.44 vs. 12.94 ± 6.69 , $p < 0.001$, T-Test, siehe Tabelle 2, Seite 32) sowie einer signifikant niedrigeren Zahl an gewonnenen Eizellen in der Follikelpunktion (12.94 ± 6.69 vs. 9.77 ± 5.44 , $p < 0.001$, T-Test, siehe Tabelle 2, Seite 32) als bei den TESE Zyklen. Die Kollektive unterschieden sich weder hinsichtlich des Alters der Frau noch hinsichtlich der Dauer der Gonadotropingabe. Möglicherweise zeigt sich hier, dass bei höhergradigem männlichen Infertilitätsfaktor bei der Frau weniger Faktoren für den unerfüllten Kinderwunsch zu erwarten sind und sie dementsprechend besser auf die Stimulation anspricht – auch wenn klassische Faktoren wie z.B. das Alter der Frau vergleichbar sind. Bei einem Mehr an Sterilitätsfaktoren auf Seiten der Frau wäre im Umkehrschluss mit einem entsprechenden Weniger auf Seiten des Mannes zu rechnen. Dies wurde für ICSI mit Verwendung ejakulierter Spermien nach Beurteilung der Spermienqualität in der Literatur bereits beschrieben (Aytoz et al. 1998). Es liegt nahe, dass bei einem Patientgut, welches sich aufgrund der klinischen Azoospermie einer TESE unterzieht, dieses Phänomen dem hochgradigen männlichen Infertilitätsfaktor entsprechend ausgeprägt ist. Dabei muss bedacht werden, dass das hier untersuchte Kollektiv nur Patienten erfasst,

bei denen eine TESE durchgeführt wurde. Das Kollektiv der Zyklen mit Verwendung ejakulierter Spermien bei ICSI erfasst demnach nur Patienten, bei denen aufgrund der ausgeprägten Azoospermie ursprünglich eine TESE indiziert war und nach vollzogener TESE dann doch ejakulierte Spermien zu Verfügung standen. Diese Konstellation findet sich z.B. bei Patienten mit obstruktiv bedingter Azoospermie, bei denen im Rahmen einer Rekonstruktion gleichzeitig Hodenmaterial asserviert wurde.

Es zeigte sich eine signifikant geringere Fertilisationsrate, bzw. 2PN Rate, nach Injektion testikulärer Spermien gegenüber der Verwendung ejakulierter Spermien (27.7% vs. 33.7%, $p=0.001$, Chi-Quadrat-Test, siehe Tabelle 2, Seite 32). Der Vergleich der 2PN Rate der TESE Zyklen bezogen auf die Gesamtzahl aller in der Follikelpunktion gewonnenen Eizellen gegenüber der 2PN Rate der TESE Zyklen bezogen auf die Gesamtzahl aller mit Spermien injizierten Eizellen (27.7% (903/3260) vs. 28.3% (903/3189), siehe Tabelle 2, Seite 32) zeigte, dass die Zyklen, in denen es durch mangelndes Auffinden von Spermien im Hodenbiopsat zu keiner Injektion und damit auch zu keiner Fertilisierung kam, nur einen sehr geringen Prozentsatz ausmachten. Dies macht eine verringerte Fertilisationsrate nach Injektion testikulärer Spermien aufgrund eines verminderten Spermienangebotes unwahrscheinlich. Gleichzeitig fand sich aber neben der höheren 2PN Rate auch eine höhere 3PN Rate bei der Verwendung ejakulierter Spermien. Dies macht eine verminderte Fertilisationsrate nach Injektion testikulärer Spermien aufgrund eines qualitativ minderwertigen Spermienangebots ebenfalls unwahrscheinlich. Die höhere 3PN Rate bei der Verwendung ejakulierter Spermien bei hochgradig eingeschränktem männlichen Sterilitätsfaktor mag die bekanntermaßen erhöhte Rate an chromosomalen Anomalien bei solchen Spermien reflektieren (Levron et al. 2001, Rubio et al. 2001). Dies führt manche Autoren dazu, bei entsprechend eingeschränktem Spermioogramm eher auf testikuläre als auf ejakulierte Spermien zurückzugreifen. Darüber wird jedoch auch kontrovers diskutiert (Palermo et al. 2002).

Grundsätzlich muss bei der Verwendung ejakulierter Spermien die erhöhte 2PN Rate gegenüber der erhöhten 3PN Rate abgewogen werden. Entsprechendes gilt

für die geringere 3PN Rate gegenüber der geringeren 2PN Rate bei Verwendung testikulärer Spermien.

Ein weiterer Entscheidungsfaktor ist die Verfügbarkeit testikulärer gegenüber ejakulierten Spermien. Im Rahmen konsekutiver IVF Zyklen ist die Anzahl der im TESE Material befindlichen Spermien ein limitierender Faktor. Sollen weitere bioptische Eingriffe vermieden werden, wird ejakulierten Spermien der Vorzug gegeben, falls solche vorhanden sind.

Beide Kollektive zeigen vergleichbare modifizierte kumulative Embryoscores, Implantations- und Schwangerschaftsraten. Für die TESE Zyklen fand sich ein Zusammenhang zwischen der Zahl der vorhandenen Eizellen im 2PN Stadium und einer sonographisch nachweisbaren Schwangerschaft ($p=0.018$, Chi-Quadrat-Test, siehe Abschnitt 3.4.1.4., Seite 41) mit einer höheren Schwangerschaftsrate pro Embryotransfer bei >6 gegenüber <4 vorhandenen Eizellen im 2PN Stadium ($p=0.100$, einfache Varianzanalyse ANOVA, siehe Tabelle 9, Seite 42). Die Kreuztabelle der Zyklen unter Verwendung ejakulierter Spermien zeigte keine Hinweise auf diesen Zusammenhang. Dies mag durch die geringe Fallzahl ($n=75$) bzw. geringe Anzahl erzielter Schwangerschaften ($n=13$) dieser Gruppe erklärt werden.

Verglichen mit der Literatur fand sich im untersuchten Kollektiv eine deutlich niedrigere Fertilisationsrate sowohl bei den TESE Zyklen als auch bei den Zyklen mit Verwendung ejakulierter Spermien bei ICSI (28.3% bzw. 33.7%, siehe Tabelle 2, Seite 32). In der Literatur werden Fertilisationsraten im Bereich von 45–65% angegeben (Silber et al. 1995a und 1995b, Pasqualotto et al. 2002, Windt et al. 2002). Hierfür findet sich keine Erklärung, es sei denn die Zahl der injizierten Eizellen ist nicht identisch mit der Zahl der gewonnenen Eizellen, ohne dass dies ausdrücklich in der Dokumentation der publizierten Studien vermerkt wurde.

Weiterhin fanden sich in der Literatur Implantationsraten und Schwangerschaftsraten im Bereich von 10–20% bzw. 20–30% (Silber et al. 1995a

und 1995b, Tournaye et al. 1996, Friedler et al. 1997, Gil-Salom et al. 2000, Pasqualotto et al. 2002, Windt et al. 2002). Bei dem untersuchten Kollektiv dieser Arbeit lag die Implantationsrate bei 8.9% bzw. 9.1% und die Schwangerschaftsrate pro Embryotransfer bei 20.3% bzw. 18.3% für TESE Zyklen bzw. Zyklen mit Verwendung ejakulierter Spermien bei ICSI (siehe Tabelle 2, Seite 32). Diese Werte finden sich im unteren Anteil der beschriebenen Bereiche. Da die hier untersuchten Daten jedoch im Gegensatz zur internationalen Literatur den Richtlinien des deutschen Embryonenschutzgesetzes unterlagen, liegt nahe dies als ursächlich für die geringeren Implantations- und Schwangerschaftsraten anzusehen (Ludwig et al. 2000a und 2000b, Ludwig und Diedrich 2003).

Bei den TESE Zyklen wurde im Mittel eine höhere Zahl an Embryonen transferiert (2.62 ± 0.64 vs. 2.48 ± 0.71 , $p=n.s.$, T-Test, siehe Tabelle 2, Seite 32). Trotzdem war die Mehrlingsrate deutlich niedriger (14.6% vs. 23.1%, $p=n.s.$, Chi-Quadrat-Test, siehe Tabelle 2, Seite 32) als nach ICSI mit Verwendung ejakulierter Spermien, obwohl sich kein signifikanter Unterschied nachweisen ließ. Implantations- (8.9% vs. 9.1%, $p=n.s.$, Chi-Quadrat-Test, siehe Tabelle 2, Seite 32) und Schwangerschaftsrate (Schwangerschaftsrate pro Zyklus: 19.1% vs. 17.3%, Schwangerschaftsrate pro Embryotransfer: 20.3% vs. 18.3%, fortlaufende Schwangerschaftsrate pro Embryotransfer: 14.8% vs. 15.5%, $p=n.s.$, Chi-Quadrat-Test, siehe Tabelle 2, Seite 32) in beiden Kollektiven zeigten keinen signifikanten Unterschied. Dies steht im Gegensatz zu der in der Literatur beschriebenen Erhöhung der Mehrlingsrate abhängig von der Zahl der transferierten Embryonen (Coetsier und Dhont 1998, Cohen 1998, Ludwig et al. 2000a). Hier mag sich der höhergradige männliche Infertilitätsfaktor der Patienten des TESE Kollektivs widerspiegeln: er führt zu genetisch auffälligeren Embryonen und damit zu einer niedrigeren Mehrlingsrate.

Diese Tatsache führte einige Autoren dazu, bei der Verwendung testikulärer Spermien zwischen testikulären Spermien bei obstruktiver und nicht obstruktiver Azoospermie zu differenzieren. Dabei fand sich eine niedrigere Fertilisations- und Schwangerschaftsrate nach ICSI mit testikulären Spermien von Patienten mit nicht obstruktiver Azoospermie (Vernaeva et al. 2003b). Weitere Untersuchungen zu

der Verwendung testikulärer Spermien obstruktiver und nicht obstruktiver Genese hinsichtlich chromosomaler Auffälligkeiten des Spermienmaterials und damit des Schwangerschaftsoutcomes zeigten folgende Ergebnisse: In der Gruppe der nicht obstruktiven Azoospermie fand sich ein signifikant niedrigeres Gestationsalter der Einlinge und ein signifikant höherer Prozentsatz an frühgeborenen Zwillingen (Vernaeye et al. 2003a). Der Schwangerschaftsverlauf konnte an dem uns vorliegenden Kollektiv aufgrund der unvollständigen Datenlage diesbezüglich nicht untersucht werden.

5. Zusammenfassung

Durch die Entwicklung der intrazytoplasmatischen Spermieninjektion (ICSI) und testikulären Spermienextraktion (TESE) konnten im Rahmen der in vitro Fertilisation (IVF) zunehmend auch Paare mit schwerer und schwerster männlicher Subfertilität behandelt werden. Zur Erarbeitung prognostischer Parameter für eine erfolgreiche TESE sowie einer erfolgreichen ICSI Behandlung in diesen Fällen führten wir eine retrospektive Analyse an einem Patientenkollektiv mit 311 Hodenbiopsien und 372 Behandlungszyklen durch.

Bezüglich des Auffindens ICSI tauglicher Spermien im TESE Material zeigte die Ursache der Azoospermie einen prognostischen Wert mit einem deutlichen Vorteil der obstruktiven gegenüber der nicht obstruktiven Azoospermie. Hinsichtlich des Erfolges einer ICSI Behandlung konnte für die Anzahl der Eizellen mit 2 Pronuclei (2PN) nach erfolgter Mikroinjektion mit testikulären Spermien prognostischer Wert nachgewiesen werden ($p=0.018$). Dabei zeigte sich ein signifikanter Trend ($p=0.100$) bei der Möglichkeit der Selektion der 2PN Stadien bei >6 vorhandenen Eizellen im 2PN Stadium gegenüber <4 vorhandenen Eizellen im 2PN Stadium. Dieser Sachverhalt müsste jedoch in weiterführenden Untersuchungen bestätigt werden. Des Weiteren fand sich, dass bei Zyklen mit Verwendung testikulärer Spermien bei ICSI, trotz Stimulation der Frauen mit signifikant geringeren Gonadotropindosen signifikant mehr Eizellen gewonnen werden konnten, als bei Zyklen mit Verwendung ejakulierter Spermien. Dies lässt vermuten, dass bei höhergradigem männlichen Infertilitätsfaktor der weibliche Faktor weniger stark ausgeprägt ist und die Frau dementsprechend besser auf die Stimulation anspricht. Gleichzeitig zeigte sich im TESE Kollektiv eine signifikant geringere Fertilisationrate.

Zusammengefasst bleibt die Prognose einer TESE schwierig. Interessanterweise scheint selbst bei derartig schweren Fällen der männlichen Subfertilität eine Relation zu den weiblichen Sterilitätsfaktoren zu bestehen: solange noch ejakulierte Spermien vorhanden waren, war die Einschränkung der weiblichen Fertilität stärker ausgeprägt als in den Fällen der Azoospermie.

6. Literaturverzeichnis

1. Aboulghar M.A., Mansour R.T., Serour G.I., Fahmy I., Kamal A., Tawab N.A., Amin Y.M. (1997) Fertilization and pregnancy rates after intracytoplasmic sperm injection using ejaculate semen and surgically retrieved sperm. *Fertil Steril*, 68, 108–111.
2. Adler S. (2003) Spermienqualität – Haben Neoplasien einen Einfluss? *Aktuelle Urol*, 34, 417–418.
3. Altay B., Kefi A., Tavmergen E., Cikili N., Semerci B., Tavmergen Goker E. (2002) The effects of female age on the outcome of testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection in infertile patients with azoospermia. *Int Urol Nephrol*, 33, 95–99.
4. Amer M., Abd Elnasser T., El Haggag S., Mostafa T., Abdel–Malak G., Zohdy W. (2001) May–Grunwald–Giemsa stain for detection of spermatogenic cells in the ejaculate: a simple predictive parameter for successful testicular sperm retrieval. *Hum Reprod*, 16, 1427–1432.
5. Aytoz A., Tournaye H., Camus M., Ubaldi F., Verheyen G., Van Steirteghem A., Devroey P. (1998) Is there any need for diagnostic laparoscopy in couples undergoing intracytoplasmic sperm injection for severe male–factor infertility. *J Assist Reprod Genet*, 15, 79–83.
6. Bailly M., Guthauser B., Bergere M., Wainer R., Lombroso R., Ville Y., Selva J. (2003) Effects of low concentrations of inhibin B on the outcomes of testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril*, 79, 905–908.

7. Balaban B., Urman B., Isiklar A., Alatas C., Mercan R., Aksoy S., Nuhoglu A. (2001) Blastocyst transfer following intracytoplasmic injection of ejaculated, epididymal or testicular spermatozoa. *Hum Reprod*, 16, 125–129.
8. Ballesca J.L., Balasch J., Calafell J.M., Alvarez R., Fabregues F., de Osaba M.J., Ascaso C., Vanrell J.A. (2000) Serum inhibin B determination is predictive of successful testicular sperm extraction in men with non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod*, 15, 1734–1738.
9. Bohring C., Schroeder-Printzen I., Weidner W., Krause W. (2002) Serum levels of inhibin B and follicle-stimulating hormone may predict successful sperm retrieval in men with azoospermia who are undergoing testicular sperm extraction. *Fertil Steril*, 78, 1195–1198.
10. Brandell R.A., Mielnik A., Liotta D., Ye Z., Veeck L.L., Palermo G.D., Schlegel P.N. (1998) AZFb deletions predict the absence of spermatozoa with testicular sperm extraction: preliminary report of a prognostic genetic test. *Hum Reprod*, 13, 2812–2815.
11. Bukulmez O., Yucel A., Yarali H., Bildirici I., Gurgan T. (2001) The origin of spermatozoa does not affect intracytoplasmic sperm injection outcome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 94, 250–255.
12. Coetsier T., Dhont M. (1998) Avoiding multiple pregnancies in in-vitro fertilization: who's afraid of single embryo transfer? *Hum Reprod*, 13, 2663–2664
13. Cohen J. (1998) How to avoid multiple pregnancies in assisted reproduction. *Hum Reprod*, 13 (Suppl.3), 197–214
14. De Neubourg D., Mangelschots K., Van Royen E., Vercruyssen M., Ryckaert G., Valkenburg M., Barudy-Vasquez J., Gerris J. (2002) Impact of patients'

choice for single embryo transfer of a top quality embryo versus double embryo transfer in the first IVF/ICSI cycle. *Hum Reprod*, 17, 2621–2625

15. Devroey P., Liu J., Nagy Z., Tournaye H., Silber S.J., Van Steirteghem A.C. (1994) Normal fertilization of human oocytes after testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril*, 62, 639–641.
16. Ezeh U.I., Martin M., Cooke I.D., Moore H.D. (1998) Correlation of testicular pathology and sperm extraction in azoospermic men with ejaculated spermatids detected by immunofluorescent localization. *Hum Reprod*, 13, 3061–3065.
17. Friedler S., Raziel A., Soffer Y., Strassburger D., Komarovsky D., Ron-el R. (1997) Intracytoplasmic injection of fresh and cryopreserved testicular spermatozoa in patients with nonobstructive azoospermia – a comparative study. *Fertil Steril*, 68, 892–897.
18. Friedler S., Raziel A., Strassburger D., Schachter M., Soffer Y., Ron-El R. (2002) Factors influencing the outcome of ICSI in patients with obstructive and non-obstructive azoospermia: a comparative study. *Hum Reprod*, 17, 3114–3121.
19. Gerris J., De Neubourg D., Mangelschots K., Van Royen E., Vercruyssen M., Barudy-Vasquez J., Valkenburg M., Ryckaerts G. (2002) Elective single day 3 embryo transfer halves the twinning rate without decrease in the ongoing pregnancy rate of an IVF/ICSI programme. *Hum Reprod*, 17, 2626–2631
20. Gil-Salom M., Romero J., Rubio C., Ruiz A., Remohi J., Pellicer A. (2000) Intracytoplasmic sperm injection with cryopreserved testicular spermatozoa. *Mol Cell Endocrinol*, 169, 15–19.
21. Goker E.N., Sendag F., Levi R., Sendag H., Tavmergen E. (2002) Comparison of the ICSI outcome of ejaculated sperm with normal, abnormal

parameters and testicular sperm. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 104, 129–136.

22. Hammadeh M.E., al-Hasani S., Doerr S., Stieber M., Rosenbaum P., Schmidt W., Diedrich K. (1999) Comparison between chromatin condensation and morphology from testis biopsy extracted and ejaculated spermatozoa and their relationship to ICSI outcome. *Hum Reprod*, 14, 363–367.
23. Hardarson T., Caisander G., Sjogren A., Hanson C., Hamberger L., Lund K. A. (2003) Morphological and chromosomal study of blastocysts developing from morphologically suboptimal human pre-embryos compared with control blastocysts. *Hum Reprod*, 18, 399–407.
24. Hauser R., Botchan A., Amit A., Ben Yosef D., Gamzu R., Paz G., Lessing J.B., Yogev L., Yavetz H. (1998) Multiple testicular sampling in non-obstructive azoospermia – is it necessary? *Hum Reprod*, 13, 3081–3085.
25. Hauser R., Botchan A., Yogev L., Gamzu R., Ben Yosef D., Lessing J.B., Amit A., Yavetz H. (2002) Probability of sperm detection in nonobstructive azoospermic men undergoing testicular sperm extraction procedures unrelated to clinical parameters. *Arch Androl*, 48, 301–305.
26. Jacobeit J.W., Schulte H.M., Ludwig M. (2004) Andrologische Abklärung in der Kinderwunschsprechstunde. Mehr als nur ein Spermogramm! *Gynäkologische Endokrinologie*, 2, 159–162.
27. Kitamura M., Nishimura K., Miura H., Komori K., Koga M., Fujioka H., Takeyama M., Matsumiya K., Okuyama A. (2000a) Predictive factor for TESE (testicular sperm extraction) – ICSI (intracytoplasmic sperm injection) for non-obstructive azoospermia. *Nippon Hinyokika Gakkai Zasshi*, 91, 589–594.

28. Kitamura M., Nishimura K., Miura H., Matsumiya K., Okuyama A., Komori K., Fujioka H., Koga M., Tekeyama M. (2000b) Retrieval and cryopreservation of testicular sperm. *Hinyokika Kyo*, 46, 587–590.
29. Krausz C., Quintana–Murci L., McElreavey K. (2000) Prognostic value of Y deletion analysis: what is the clinical prognostic value of Y chromosome microdeletion analysis? *Hum Reprod*, 15, 1431–1434.
30. Krause W., Bohring C. (2002) Inhibin B as a marker of spermatogenesis. A new dimension in andrology. *Hautarzt*, 53, 5–10.
31. K pker W., Schlegel P., Al–Hasani S., Fornara P., Johannisson R., Sandmann J., Schill T., Bals–Pratsch M., Ludwig M, Diedrich K. (2000) Use of frozen–thawed testicular sperm for intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril*, 73, 453–458.
32. Levron J., Aviram–Goldring A., Madgar I., Raviv G., Barkai G., Dor J. (2001) Studies on sperm chromosomes in patients with severe male factor infertility undergoing assisted reproductive technology treatment. *Mol Cell Endocrinol*, 183 (Suppl 1), 23–28.
33. Ludwig M., Diedrich K. (1998) 20 Jahre IVF – R ckblick und Zukunftsperspektiven. *Frauenarzt*, 39, 689–693.
34. Ludwig M., Sch pper B., Katalinic A., Sturm R., Al–Hasani S., Diedrich K. (2000a) Experience with the elective transfer of two embryos under the conditions of the German embryo protection law: results of a retrospective data analysis of 2573 transfer cycles. *Hum Reprod*, 15, 319–324.
35. Ludwig M., Sch pper B., Al–Hasani S., Diedrich K. (2000b) Clinical use of a pronuclear stage score following intracytoplasmic sperm injection: impact on pregnancy rates under the conditions of the German embryo protection law. *Hum Reprod*, 15, 325–329.

36. Ludwig M., Finas A., Katalinic A., Strik D., Kowalcek I., Schwartz P., Felberbaum R., K pker W., Sch pper B., Al-Hasani S., Diedrich K. (2001) Prospektive randomisierte Studie zur Ermittlung der Erfolgsraten von HCG, vaginal angewandtem Progesteron und einer Kombination beider Therapien bei der Lutealphasenunterst tzung. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 80, 574–582.
37. Ludwig M., Diedrich K. (2001) Evaluation of an optimal luteal phase support protocol. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 80, 452–466.
38. Ludwig M., Diedrich K. (2003) Is women’s health endangered by the German Embryo Protection Law? *Current Women’s Health Reports*, 3, 349–350.
39. Ludwig M., Katalinic A. (2003) Pregnancy course and health of children born after ICSI depending on parameters of male factor infertility. *Hum Reprod*, 18, 351–357.
40. Montag M., van der Ven H. (2001) Evaluation of pronuclear morphology as the only selection criterion for further embryo culture and transfer: result of a prospective multicentre study. *Hum Reprod*, 16, 2384–2389.
41. Ou J.P., Zhuang G.L., Zhou C.Q., Wang C.X., Fang C., Shu Y.M., Zhan Q.S., Peng W.L., Zhang M.F. (2002) Sperm retrieval methods and pregnancy outcome of 100 azoospermia patients. *Zhonghua Nan Ke Xue*, 8, 258–260.
42. Ozturk O., Templeton A. (2002) In-vitro fertilization and risk of multiple pregnancy. *Lancet*, 359, 232.
43. Palermo G., Joris H., Devroey P., Van Steirteghem A.C. (1992) Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet*, 340, 17–18.

44. Palermo G.D., Colombero L.T., Hariprashad J.J., Schlegel P.N., Rosenwaks Z. (2002) Chromosome analysis of epididymal and testicular sperm in azoospermic patients undergoing ICSI. *Hum Reprod*, 17, 570–575.
45. Pasqualotto F.F., Rossi–Ferragut L.M., Rocha C.C., Iaconelli A. Jr, Borges E. Jr. (2002) Outcome of in vitro fertilization and intracytoplasmic injection of epididymal and testicular sperm obtained from patients with obstructive and nonobstructive azoospermia. *J Urol*, 167, 1753–1756.
46. Rubio C., Gil–Salom M., Simon C., Vidal F., Rodrigo L., Minguez Y., Remohi J., Pellicer A. (2001) Incidence of sperm chromosomal abnormalities in a risk population: relationship with sperm quality and ICSI outcome. *Hum Reprod*, 16, 2084–2092.
47. Schlegel P.N., Palermo G.D., Goldstein M., Menendez S., Zaninovic N., Veeck L.L., Rosenwaks Z. (1997) Testicular sperm extraction with intracytoplasmic sperm injection for nonobstructive azoospermia. *Urology*, 49, 435–440.
48. Schulze W., Thoms F., Knuth U.A. (1999) Testicular sperm extraction: comprehensive analysis with simultaneously performed histology in 1418 biopsies from 766 subfertile men. *Hum Reprod*, 14 (Suppl 1), 82–96. Comment in: *Hum Reprod* (2000), 15, 2057–2059.
49. Schwarzer J.U., Fiedler K., v Hertwig I., Krusmann G., Wurfel W., Schleyer M., Muhlen B., Pickl U., Lochner–Ernst D. (2003) Sperm retrieval procedures and intracytoplasmatic spermatozoa injection with epididymal and testicular sperms. *Urol Int*, 70, 119–123.
50. Seo J.T., Ko W.J. (2001) Predictive factors of successful testicular sperm recovery in non–obstructive azoospermia patients. *Int J Androl*, 24, 306–310.

51. Shulman A., Feldman B., Madgar I., Levron J., Mashiach S., Dor J. (1999) In-vitro fertilization treatment for severe male factor: the fertilization potential of immotile spermatozoa obtained by testicular extraction. *Hum Reprod*, 14, 749–752.
52. Silber S.J., Van Steirteghem A.C., Liu J., Nagy Z., Tournaye H., Devroey P. (1995a) High fertilization and pregnancy rate after intracytoplasmic sperm injection with spermatozoa obtained from testicle biopsy. *Hum Reprod*, 10, 148–152.
53. Silber S.J., Nagy Z., Liu J., Tournaye H., Lissens W., Ferec C., Liebaers I., Devroey P., Van Steirteghem A.C. (1995b) The use of epididymal and testicular spermatozoa for intracytoplasmic sperm injection: the genetic implications for male infertility. *Hum Reprod*, 10, 2031–2043.
54. Silber S.J., Nagy Z., Devroey P., Camus M., Van Steirteghem A.C. (1997a) The effect of female age and ovarian reserve on pregnancy rate in male infertility: treatment of azoospermia with sperm retrieval and intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod*, 12, 2693–2700.
55. Silber S.J., Nagy Z., Devroey P., Tournaye H., Van Steirteghem A.C. (1997b) Distribution of spermatogenesis in the testicles of azoospermic men: the presence or absence of spermatids in the testes of men with germinal failure. *Hum Reprod*, 12, 2422–2428. Erratum in: *Hum Reprod* (1998), 13, 780. Comment in: *Hum Reprod* (1998), 13, 2034–2035.
56. Silber S.J., Johnson L. (1998) Are spermatid injections of any clinical value? ROSNI and ROSI revisited. Round spermatid nucleus injection and round spermatid injection. *Hum Reprod*, 13, 509–515.
57. Steer C.V., Mills C.L., Tan S.L. (1992) The cumulative embryo score: a predictive embryo scoring technique to select the optimal number of embryos

to transfer in an in-vitro fertilization and embryo transfer program. *Hum Reprod*, 7, 117–119.

58. Steptoe P.C., Edwards R.G. (1978) Birth after the reimplantation of a human embryo. *Lancet*, 2, 366.
59. Sukcharoen N., Sithipravej T., Promviengchai S., Chinpilas V., Boonkasemsanti W. (1998) Comparison of the fertilization rate after intracytoplasmic sperm injection (ICSI) using ejaculated sperms, epididymal sperms and testicular sperms. *J Med Assoc Thai*, 81, 565–571.
60. Tandler-Schneider A., Haeske-Seeberg H., Seeberg B., Schmiady H., Kentenich H. (1996) Male subfertility and conventional in vitro fertilization in Germany 1990 to 1993. *Geburtshilfe Frauenheilkd*, 56, 139–145.
61. Templeton A., Morris J.K. (1998) Reducing the risk of multiple births by transfer of two embryos after in vitro fertilization. *N Engl J Med*, 339, 573–577.
62. Tesarik J., Mendoza C. (1996a) Spermatid injection into human oocytes. I. Laboratory techniques and special features of zygote development. *Hum Reprod*, 11, 772–779.
63. Tesarik J., Rolet F., Brami C., Sedbon E., Thorel J., Tibi C., Thebault A. (1996b) Spermatid injection into human oocytes. II. Clinical application in the treatment of infertility due to non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod*, 11, 780–783.
64. Tesarik J., Greco E., Mendoza C. (1998) ROSI, instructions for use: 1997 update. Round spermatid injection. *Hum Reprod*, 13, 519–523.
65. Tournaye H., Liu J., Nagy P.Z., Camus M., Goossens A., Silber S., Van Steirteghem A.C., Devroey P. (1996) Correlation between testicular histology

and outcome after intracytoplasmic sperm injection using testicular spermatozoa. *Hum Reprod*, 11, 127–132. Comment in: *Hum Reprod* (1996), 11, 2567.

66. Tournaye H., Camus M., Vandervorst M., Nagy Z., Joris H., Van Steirteghem A., Devroey P. (1997) Surgical sperm retrieval for intracytoplasmic sperm injection. *Int J Androl*, 20 (Suppl 3), 69–73.
67. Tournaye H. (2000) Management of male infertility by assisted reproductive technologies. *Baillieres Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 14, 423–435.
68. Van Royen E., Mangelschots K., De Neubourg D., Valkenburg M., Van de Meersche M., Ryckaerts G., Eestermans W., Gerris J. (1999) Characterization of a top quality embryo, a step forward towards single-embryo transfer. *Hum Reprod*, 14, 2345–2349.
69. Van Steirteghem A.C., Nagy Z., Joris H., Liu J., Staessen C., Smits J., Wisanto A., Devroey P. (1993) High fertilization and implantation rates after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod*, 8, 1061–1066.
70. Van Steirteghem A., Tournaye H., Van der Elst J., Verheyen G., Liebaers I., Devroey P. (1995) Intracytoplasmic sperm injection three years after the birth of the first ICSI child. *Hum Reprod*, 10, 2527–2528.
71. Vernaëve V., Bonduelle M., Tournaye H., Camus M., Van Steirteghem A., Devroey P. (2003a) Pregnancy outcome and neonatal data of children born after ICSI using testicular sperm in obstructive and non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod*, 18, 2093–2097.
72. Vernaëve V., Tournaye H., Osmanagaoglu K., Verheyen G., Van Steirteghem A., Devroey P. (2003b) Intracytoplasmic sperm injection with testicular spermatozoa is less successful in men with nonobstructive azoospermia than in men with obstructive azoospermia. *Fertil Steril*, 79, 529–533.

73. Windt M.L., Coetzee K., Kruger T.F., Menkveld R., van der Merwe J.P. (2002) Intracytoplasmic sperm injection with testicular spermatozoa in men with azoospermia. *J Assist Reprod Genet*, 19, 53–59.

7. Anhang

7.1. Tabelle zur Erfassung der Daten

7.1.1. Daten des Mannes

Name des Mannes	
Vorname des Mannes	
Geburtsdatum des Mannes	
Ursache der Azoospermie	1–Sterilisation
	2–Malignom
	3–Chromosomenanomalie
	4–Verschlußazoospermie
	5–idiopathisch
	6–Maldeszensus testis
	7–Z.n. Mumps
	8–systemischer Lupus erythematodes
	9–Polytrauma
	10–sonstige kongenitale urogenitale Fehlbildung
FSH (IU/l)	
Hodenvolumen links (ml)	
Hodenvolumen rechts (ml)	
TESE OP Datum	
eingefrorene Proben (n) links cranial	
eingefrorene Proben (n) links caudal	
eingefrorene Proben (n) links nicht näher bezeichnet	
eingefrorene Proben (n) rechts cranial	
eingefrorene Proben (n) rechts caudal	
eingefrorene Proben (n) rechts nicht näher bezeichnet	
histologische Spermienzahl (n) links cranial	
histologische Spermienzahl (n) links caudal	
histologische Spermienzahl (n) links nicht näher bezeichnet	
histologische Spermienzahl (n) rechts cranial	
histologische Spermienzahl (n) rechts caudal	
histologische Spermienzahl (n) rechts nicht näher bezeichnet	
Spermienzahl in der wet Präparation (Mio) links cranial	
Spermienzahl in der wet Präparation (Mio) links caudal	
Spermienzahl in der wet Präparation (Mio) links nicht näher bezeichnet	
Spermienzahl in der wet Präparation (Mio) rechts cranial	
Spermienzahl in der wet Präparation (Mio) rechts caudal	
Spermienzahl in der wet Präparation (Mio) rechts nicht näher bezeichnet	
maligne Histologie	1–ja / 0–nein
besondere Histologie	
Eignung für ICSI (hier nur Angaben, wenn histologisch keine genaueren Angaben)	1–ja / 0–nein
verwendete Probe für ICSI: – links cranial	1–ja / 0–nein

– links caudal	1–ja / 0–nein
– links nicht näher bezeichnet	1–ja / 0–nein
– rechts cranial	1–ja / 0–nein
– rechts caudal	1–ja / 0–nein
– rechts nicht näher bezeichnet	1–ja / 0–nein

7.1.2. Daten der Frau

Name der Frau	
Geburtsdatum der Frau	
Art der Stimulation	1–langes Protokoll
	2–Antagonisten Protokoll
	3–sonstiges
Gonadotropintyp	1–HMG
	2–u–FSH
	3–r–hFSH
	4–Mischung
Dauer Gonadotropingabe (Tage)	
Gesamtdosis Gonadotropin (IU)	
Östradiol bei hCG–Gabe (pg/ml)	
Datum der Follikelpunktion	
Eizellzahl (n)	
Spermienzahl im Ejakulat (Mio/ml)	
Eizellzahl 2PN (n)	
Eizellzahl 3PN (n)	
eingefrorene Eizellzahl 2PN (n)	
Zahl der transferierten Embryonen (n)	
Modifizierter kumulativer Embryoscore	
klinische Schwangerschaft	1–ja / 0–nein
positive Herzaktion im Ultraschall (n)	
Abort vor 12.SSW	1–ja / 0–nein
Verlauf bis Geburt	1–ja / 0–nein
Zahl geborener Kinder	1–Einling
	2–Zwilling
	3–Drilling
Bemerkung	

7.2. Kreuztabellen der Daten der Zyklen mit Verwendung ejakulierter Spermien bei ICSI und einer sonographisch nachweisbaren Schwangerschaft

Kreuztabellen der klinischen Daten des Mannes und einer sonographisch nachweisbaren Schwangerschaft:

Ursache der Azoospermie	Zahl der Herzaktionen im US (n)		gesamt
	1	2	
Sterilisation	1	0	1
Malignom	1	0	1
Verschlul�azoospermie	1	0	1
idiopathisch	6	1	7
gesamt	9	1	10

FSH Wert (IU/l)	Zahl der Herzaktionen im US (n)		gesamt
	1	2	
3,6	1	0	1
7,5	1	0	1
7,7	1	0	1
9,6	1	0	1
12,0	1	0	1
13,0	1	0	1
15,0	0	1	1
31,0	1	0	1
32,0	1	0	1
34,0	1	0	1
gesamt	9	1	10

Hodenvolumen (ml)	Zahl der Herzaktionen im US (n)		gesamt
	1	2	
3,70	1	0	1
3,95	0	1	1
6,10	1	0	1
7,10	1	0	1
7,80	1	0	1
7,90	1	0	1
10,20	1	0	1
11,80	1	0	1
gesamt	7	1	8

Alter des Mannes bei Biopsie (Jahre)	Zahl der Herzaktionen im US (n)		gesamt
	1	2	
28	1	0	1
29	1	0	1
30	1	0	1
31	1	0	1

32	1	0	1
36	1	0	1
37	2	0	2
38	0	1	1
39	1	0	1
42	0	1	1
44	0	1	1
50	1	0	1
gesamt	10	3	13

Kreuztabellen der Daten der Hodenbiopsie und einer sonographisch nachweisbaren Schwangerschaft:

Gesamtzahl der eingefrorenen Proben (n)	Zahl der Herzaktionen im US (n)		gesamt
	1	2	
2	2	0	2
4	4	1	5
6	2	0	2
7	1	2	3
14	1	0	1
gesamt	10	3	13

Histologische Spermienzahl (n) Summe aller entnommenen Proben	Zahl der Herzaktionen im US (n)		gesamt
	1	2	
0	1	0	1
5	1	0	1
7	1	0	1
20	1	0	1
24	1	0	1
50	1	0	1
170	1	0	1
180	1	0	1
190	0	1	1
200	0	1	1
230	1	0	1
600	1	0	1
800	0	1	1
gesamt	10	3	13

Spermienzahl in der wet Präparation (Mio) Summe aller entnommenen Proben	Zahl der Herzaktionen im US (n)		gesamt
	1	2	
0.0	3	0	3
0.5	1	0	1
1.5	1	0	1
2.0	1	0	1
3.5	1	0	1
4.0	2	0	2
4.5	1	0	1

5.5	0	1	1
6.3	0	1	1
8.0	0	1	1
gesamt	10	3	13

Kreuztabellen der klinischen Daten der Frau und einer sonographisch nachweisbaren Schwangerschaft:

Stimulation	Zahl der Herzaktionen im US (n)		gesamt
	1	2	
long	7	2	9
Antagonist	3	1	4
gesamt	10	3	13

Gonadotropintyp	Zahl der Herzaktionen im US (n)		gesamt
	1	2	
HMG	3	2	5
r-hFSH	6	1	7
Kombination	1	0	1
gesamt	10	3	13

Östradiolwert bei hCG Gabe (pg/ml)	Zahl der Herzaktionen im US (n)		gesamt
	1	2	
514	1	0	1
1095	1	0	1
1295	0	1	1
1400	0	1	1
1410	1	0	1
1690	1	0	1
1728	1	0	1
1824	1	0	1
3000	1	0	1
gesamt	7	2	9

Kreuztabellen der IVF Parametern und einer sonographisch nachweisbaren Schwangerschaft:

Eizellzahl (n)	Zahl der Herzaktionen im US (n)		gesamt
	1	2	
2	1	0	1
5	2	0	2
6	2	0	2
7	0	1	1
10	1	2	3
13	1	0	1
15	2	0	2
16	1	0	1
gesamt	10	3	13

Eizellzahl 2PN (n)	Zahl der Herzaktionen im US (n)		gesamt
	1	2	
1	1	0	1
2	3	0	3
3	3	2	5
5	1	0	1
6	1	1	2
8	1	0	1
gesamt	10	3	13

Eizellzahl 3PN (n)	Zahl der Herzaktionen im US (n)		gesamt
	1	2	
1	4	2	6
gesamt	4	2	6

Zahl der transferierten Embryonen (n)	Zahl der Herzaktionen im US (n)		gesamt
	1	2	
2,0	7	0	7
3,0	3	3	6
gesamt	10	3	13

Modifizierter kumulativer Embryoscore	Zahl der Herzaktionen im US (n)		gesamt
	1	2	
8	1	0	1
14	1	0	1
16	2	0	2
22	1	0	1
24	1	0	1
31	0	1	1
32	2	0	2
36	1	1	2
42	1	0	1
48	0	1	1
gesamt	10	3	13

8. Danksagung

Ich danke Herrn Prof. Dr. med. K. Diedrich, Direktor der Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Universität zu Lübeck, für die Möglichkeit in seiner Klinik diese Arbeit zu erstellen.

Ebenfalls danke ich Herrn Prof. Dr. med. M. Ludwig, dem Doktorvater und Betreuer dieser Arbeit, für seine Unterstützung und Hilfe bei der Erstellung der Dissertation. Er war in allen Phasen der Arbeit jederzeit ansprechbar und hat mit seinen Ratschlägen und Kommentaren stets positiv zur Ausarbeitung und zum Fortschritt der Dissertation beigetragen.

Des Weiteren gilt mein Dank den Ärzten, Ärztinnen und Schwestern der Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe für ihre Hilfe und Unterstützung bei der Sammlung und Erhebung der Daten, sowie Herrn Prof. Dr. med. vet. S. Al-Hasani, Frau Dr. rer. nat. Dipl.-Biol. B. Schöpfer, Frau Sturm und den weiteren Mitarbeitern des IVF Labors für die Einsicht in die dort vorliegenden Daten und für die Unterstützung bei deren Zusammenstellung.

Prof. Dr. rer. nat. R. Johannisson, Institut für Pathologie, danke ich für seine Hilfe bei der Vervollständigung der zusammengestellten histopathologischen Befunde.

Ebenso danke ich Herrn Priv. Doz. Dr. med. A. Katalinic und Frau Greulich, Institut für Sozialmedizin, für die statistische Beratung und tatkräftige Unterstützung in der Auswertung der zusammengetragenen Daten.

9. Lebenslauf

Name: Bettina Schulze

Geboren am: 20. April 1978 in Duisburg

Schulbildung:

1984–1988: Grundschule an der Kopfbuche, 50259 Pulheim

1988–1990: Deutsche Schule Johannesburg, Johannesburg, Südafrika

1990–1993: Australian International Independent School, Sydney, Australien

Abschluss: School Certificate

1993–1997: Geschwister Scholl Gymnasium, 50259 Pulheim

Abschluss: Abitur

1997: viermonatiges Praktikum bei der Bayer AG im Labor, Abteilung

Verfahrenstechnik

Medizinstudium:

1998–2001: Ruprecht–Karls–Universität Heidelberg

2002–2005: Universität zu Lübeck

05/2002–01/2003: Erhebung der relevanten Daten der Dissertation

03/2003–02/2006: statistische Auswertung der Daten und Erstellung der
Dissertation

Berufliche Laufbahn:

08/2005–09/2005: Locum Senior House Officer Obstetrics and Gynaecology
Luton and Dunstable Hospital, Luton LU4 0DZ, Großbritannien

Seit 02/2006: House Medical Officer Emergency Department
The Northern Hospital, Epping VIC 3076, Australien

10. Publikationen

1. Ludwig A.K., Schulze B., Katalinic A., Johannisson R., Al-Hasani S., Diedrich K., Ludwig M. (2005) Evaluation von Prognosefaktoren für den Erfolg einer testikulären Spermienextraktion (TESE) und das Ergebnis einer ICSI nach TESE: retrospektive Auswertung von 311 Hodenbiopsien und 327 ICSI Zyklen. *Geburtshilfe und Frauenheilkunde*, im Druck.
2. Schultze-Mosgau A., Ludwig M., Schulze B., Griesinger G., Al-Hasani S., Küpker W., Felberbaum R., Finas D., Jocham D., Diedrich K. (2003) Incidence of neoplasia in male patients undergoing testicular sperm extraction. *Human Reproduction*, 18, Suppl. 1, 198–199: Abstracts Book for the 19th ESHRE Annual Meeting, Madrid, 29 June – 2 July 2003.