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

Sekundärprävention des Überstimulationssyndroms: eine prospektive, multizentrische Beobachtungsstudie

Inauguraldissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck

– **Aus der Medizinischen Fakultät** –

vorgelegt von

Laura Schultz
aus Berlin

Lübeck 2011

1. Berichterstatter:	Prof. Dr. med.univ. MSc. Georg Griesinger
2. Berichterstatter:	Prof. Dr. med. Frank Gieseler

Tag der mündlichen Prüfung: 11.01.2012

zum Druck genehmigt. Lübeck, den 11.01.2012

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis **vi**

Tabellenverzeichnis **vii**

Abkürzungsverzeichnis **vii**

1 Einleitung **1**

1.1 Geschichte der Reproduktionsmedizin 1

1.2 Der weibliche Zyklus 1

1.3 Infertilitätsbehandlung 2

1.3.1 Ursachen der Infertilität 3

1.3.2 Clomifen 4

1.3.3 Insemination 4

1.3.4 IVF Behandlung 4

1.3.4.1 Gesetzliche Voraussetzungen 4

1.3.4.2 Ovarielle Stimulationsbehandlung und Follikelpunktion 5

1.3.4.3 Fertilisierungsmethoden, Embryonenübertragung und Spermiengewinnung 7

1.3.4.4 Lutealphasenunterstützung 8

1.3.4.5 Kryokonservierungsmethoden und Kryo-Zyklen 9

1.4 Überstimulationssyndrom 10

1.4.1 Pathophysiologie des OHSS 11

1.4.1.1 Interleukine 12

1.4.1.2 Vascular endothelial growth factor (VEGF) 14

1.4.1.3 Renin-Angiotensin-System 15

1.4.1.4 Humanes Choriongonadotropin 16

1.4.2 Präventionsmaßnahmen des OHSS 16
1.4.2.1 Primäre Prävention 16
1.4.2.2 Sekundäre Prävention 17
1.4.2.2.1 Coasting 17
1.4.2.2.2 Early unilateral follicular aspiration 18
1.4.2.2.3 GnRH Agonist zur Induktion der Eizellreifung zur IVF 18
1.4.2.2.4 GnRH-Agonist zur Induktion der Eizellreifung zur IVF und Kryokonservierung aller 2-PN-Oozyten 20
1.4.2.3 Tertiäre Prävention 21
1.4.2.3.1 Therapie des OHSS 21
1.5 Arbeitshypothese 22

2 Material und Methoden 23
2.1 Patientinnenkollektiv 23
2.2 Studienprotokoll 24
2.3 Daten 26
2.4 OHSS Inzidenz 28
2.5 Embryoscore 29
2.6 Statistische Auswertung 30

3 Ergebnisse 31
3.1 Patientinnenkollektiv 32
3.2 Stimulations-, IVF und Kryokonservierungsresultate 33
3.3 Unterscheidung nach Kryokonservierungsmethode 35
3.4 Behandlungsausgang und -dauer der einzelnen Patientinnen 36
3.5 OHSS Inzidenz 39

4 Diskussion 41
4.1 Patientinnenkollektiv 42
4.2 IVF Behandlung 43
4.3 Kryokonservierung und Embryoqualität 44
4.4 Behandlungsausgang der einzelnen Patientinnen 45

4.4.1 Schwangerschafts- und Lebendgeburtenrate 45
4.4.2 Kryo-Zyklus Versuchsrang 46
4.4.3 Kryokonservierungsverfahren 48
4.5 OHSS Inzidenz 49
4.6 Fazit 50

5 Zusammenfassung **51**

Literaturverzeichnis **52**

6 Danksagung **61**

Lebenslauf **62**

Abbildungsverzeichnis

2.1 Studienprotokoll 24

3.1 Kreisdiagramm IVF-Versuchrang 33
3.2 Kreisdiagramm IVF-Indikation 33
3.3 Verteilung der kryokonservierten 2-PN-Oozyten pro Patientin 34
3.4 Kaplan-Meier-Kurve der kumulativen Lebendgeburtenrate über die Zeit bis zum positiven Schwangerschaftstest 37
3.5 Kaplan-Meier-Kurve der kumulativen Lebendgeburtenrate pro FRET-Zyklus 38
3.6 Relation zwischen gewonnenen Oozyten nach FOPU und Anzahl der Lebendgeburten 38

Tabellenverzeichnis

3.1 Demografische Parameter 32
3.2 Stimulationsdaten 33
3.3 IVF und Kryokonservierungsresultate 34
3.4 ausgewählte Parameter unterschieden nach Kryokonservierungsverfahren 35
3.5 maximal erreichter Behandlungsausgang aller Patientinnen unterschieden nach Kryokonservierungsverfahren 36
3.6 Lebendgeburtenrate nach FRET-Versuchsrang 37

Abkürzungsverzeichnis

2-PN ..... Vorkernstadium

ACE ..... Anigotensin-Converting-Enzym

BMI ..... Bodymaßindex

bzw. ..... beziehungsweise

cm ..... Zentimeter

COC ..... Kumulus-Oozyten-Komplex

d ..... Tage

E2 ..... Östradiol

ESchG ..... Embryonenschutzgesetz

ET ..... Embryonenübertragung

EUFA ..... Early unilateral follicular aspiration

FOPU ..... Follikelpunktion

FRET ..... Kryo-Zyklus (frozen embryo transfer)

FSH ..... Follikel-stimulierendes Hormon

ggf. ..... gegebenenfalls

GnRH ..... Gonadotropin-Releasing-Hormon

h ..... Stunden

Hb ..... Hämoglobin

hCG ..... humanes Choriongonadotropin

Hkt ..... Hämatokrit

HLA ..... humanes Leukozyten Antigen

HMG ..... humanes Menopausengonadotropin

HWZ ..... Halbwertszeit

I.E. ..... internationale Einheit

i.v. ..... intravenös

ICSI ..... intrazytoplasmatische Spermieninjektion

IL-1 ..... Interleukin 1

IL-2 ..... Interleukin 2

IL-6 ..... Interleukin 6

IL-8 ..... Interleukin 8

IVF ..... In-vitro-Fertilisation

kDa ..... Kilodalton

kg ..... Kilogramm

KI ..... Konfidenzintervall

LH ..... luteinisierendes Hormon

m ..... Meter

M-II ..... Metaphase-II

max. ..... maximal

MESA ..... mikrochirurgische epididymale Spermienaspiration

min. ..... Minuten

mind. ..... mindestens

Mio. ..... Million

ml ..... Milliliter

mm ..... Millimeter

MPA ..... Medroxyprogesteronacetat

mRNA ..... messenger Ribonukleinsäure

NA ..... keine Werte vorhanden (not applicable)

ng ..... Nanogramm

OAT ..... Oligo-Astheno-Teratozoospermie

OHSS ..... Überstimulationssyndrom (ovarian hyperstimulation syndrome)

PCOS ..... Polyzystisches Ovar Syndrom

pg ..... Pikogramm

RCT ..... randomisiert kontrollierte Studie (randomized controlled trail)

rd. ..... rund

SD ..... Standardabweichung (standard deviation)

SGB V ..... fünftes Sozialgesetzbuch

SSW ..... Schwangerschaftswoche

TESE ..... testicular sperm extraction

TNFα ..... Tumornekrosefaktorα

UKSH ..... Universitätklinikum Schleswig-Holstein

VEGF ..... Vascular endothelial growth factor

WHO ..... World Health Organization

z.B. ..... zum Beispiel

ZT ..... Zyklustag

°C ..... Grad Celius

Kapitel 1

Einleitung

1.1 Geschichte der Reproduktionsmedizin

Am 25. Juli 1978 erblickte ein 2700 g schweres gesundes Mädchen das Licht der Welt [59]. Bei diesem Mädchen handelte es sich nicht um irgendein Neugeborenes, sondern um das erste Retortenbaby der Welt nach IVF-Behandlung. Im Jahre 1992 wurde erstmals über die Geburt eines gesunden Neugeborenen nach intrazytoplasmatischer Spermatozoeninjektion (ICSI) berichtet [44]. Seit Mitte der Neunziger ist es dank der Gewinnung von Spermien aus dem Nebenhoden oder Hodenbiopsat (TESE) möglich, auch Männern mit Azoospermie einer ICSI Behandlung zu zuführen [44].
Inzwischen werden in Deutschland jährlich ca. 10000 Kinder nach erfolgter IVF oder ICSI Behandlung geboren [52].

1.2 Der weibliche Zyklus

Die zyklische Funktion des Ovars ist eingebettet in einen Regelkreis von Hypothalamus, Hypophyse und Ovar. Normalerweise dauert ein Zyklus 28 Tage und gliedert sich in folgende Phasen: Follikelphase, Ovulation und Lutealphase [19].
Mit Beginn der Pubertät wird das im mediobasalen Anteil des Hypothalamus gebildete Gonadotropin-Releasinghormon (GnRH) pulsatil ausgeschüttet und gelangt über das hypophysäre Pfortadergefäßsystem in die Adenohypophyse. Dort bindet es an die GnRH-Rezeptoren der gonadotropen Zellen, welche das follikelstimulierende Hormon (FSH) und das luteinisierende Hormon (LH) synthetisieren und sezernieren [19].
Sobald die Konzentration von FSH einen bestimmten Schwellenwert übersteigt, kommt

es zur Rekrutierung einer Follikelkohorte in den Ovarien. Hierbei treten mehrere Follikel in den Prozess der Follikelreifung ein. Bis zum dritten Zyklustag ist dieser Prozess abgeschlossen. Gleichzeitig wird in den Granulosazellen der Follikel die Synthese und Sekretion von Östradiol (E2) angeregt. Der Anstieg des FSH verläuft biphasisch, beginnt in der vorangegangenen Lutealphase und setzt sich bis in die frühe Follikelphase fort [19].

Bis zum siebten Zyklustag wird ein Follikel, der sogenannte dominante Follikel, selektiert. Dieser reift früher und schneller als die anderen Follikel und durchläuft normalerweise als Einziger die Stadien des Sekundär-, Tertiär- und Graaf-Follikel. Diese Selektionsphase ist gekennzeichnet durch einen exponentiellen Anstieg der Serumöstrogene, was auf Grund der negativen Rückkopplung im Hypothalamus zum Absinken der LH- und FSH-Konzentration führt [19].

Wenn der E2-Spiegel im Serum sein Maximum (150-500 pg/ml) erreicht, kommt es um den 14. Zyklustag zu einer massiven LH-Freisetzung (»LH-Peak«), welche der ovulationsauslösende Faktor ist. Nach der Ovulation wandelt sich die Follikelhöhle unter dem Einfluss von LH ins Corpus luteum um, welches das Progesteron sezerniert. Unter dem Einfluss von E2 und Progesteron bereitet sich das Endometrium auf die Einnistung der möglicherweise befruchteten Eizelle vor. Kommt es nicht zur Konzeption, dann sinken die Konzentrationen von E2 und Progesteron und es kommt zur Menstruation [19].

1.3 Infertilitätsbehandlung

In der Reproduktionsmedizin wird im Bezug auf die Unfruchtbarkeit eines Paares zwischen subfertil und infertil unterschieden. Dabei bedeutet subfertil jede Form der reduzierten Fruchtbarkeit mit verlängerter Wartezeit auf das Eintreten einer Schwangerschaft bei regelmäßigen, ungeschützten Geschlechtsverkehr. Unter infertil hingegen wird ein nur sporadisches Auftreten einer spontanen Schwangerschaft verstanden [24].

Die meisten Schwangerschaften treten nach 6 Zyklen mit regelmäßigem Geschlechtsverkehr in der fruchtbaren Phase auf. Bei 50% der Paare die nach 6 Zyklen noch nicht schwanger geworden sind, tritt in den nächsten 6 Zyklen eine Schwangerschaft ein. Sollte auch nach 12 Zyklen noch keine Schwangerschaft eingetreten sein, dann besteht immer noch eine Chance von 50% in den nächsten 3 Jahren schwanger zu werden. Nach 4 Jahren ungewollter Kinderlosigkeit würde ein Paar als infertil gelten [24].

Der früher häufig verwendete Begriff der Sterilität wird heute nur noch für Frauen mit einer irreversiblen und therapierefraktären Infertilität benutzt, z.B. bei Zustand nach Eierstocks- oder Gebärmutterentfernung.
In Deutschland sind ca. 10-15% aller Paare zeitweilig ungewollt kinderlos [43].

1.3.1 Ursachen der Infertilität

Die Ursache für eine Infertilität liegt in circa 45% der Fälle bei der Frau, in circa 40% der Fälle beim Mann und in circa 35% der Fälle bei beiden Partnern, somit ist bei einem unerfüllten Kinderwunsch eine Abklärung beider Partner notwendig [55].
Beim Mann sollten neben einer andrologischen Untersuchung zwei nach den Kriterien der WHO ausgewertete Spermiogramme im Abstand von drei Monaten erfolgen [43]. Folgende Begriffe sind bei der Auswertung des Spermiogramms von Bedeutung [8]:

- Normozoospermie (normale Zahl, Motilität und Morphologie der Spermatozoen),
- Azoospermie (keine Spermatozoen im Ejakulat),
- Krypotzoospermie (Spermatozoen $< 0{,}05$ Mio./ml),
- Oligozoospermie (Spermatozoen < 15 Mio./ml),
- Asthenozoospermie (Vorwärtsbeweglichkeit $< 32\%$),
- Teratozoospermie ($\leq 4\%$ normale Morphologie),
- OAT (Oligo-Astheno-Teratozoospermie).

In 50% der Fälle lässt sich keine Ursache für ein verändertes Spermiogramm feststellen. Bekannte Risikofaktoren für ein verändertes Spermiogramm sind Maldeszensus testis, Orchitis nach Mumps, Schäden durch Trauma oder Torsion, Alkoholgenuss, Nikotinabusus oder Varikozelen [55].
Die Diagnostik der weiblichen Infertilität ist deutlich komplexer. So kann die Hypothalamus-Hypophyse-Ovar Achse gestört sein. Ein Beispiel hierfür ist das Polyzystische Ovarsyndrom (PCOS), welches definiert ist als eine Kombination von Oligo-/Amenorrhoe, Hyperandrogenisierung (laborchemisch oder klinisch) und polyzystisch, vergrößerten Ovarien. Des Weiteren kann die Tubendurchgängigkeit gestört sein, welche mit Hilfe der Chromopertubation abgeklärt werden kann. Das Endometrium kann durch Fehlbildung oder Myome die Embryoimplantation verhindern. Dieses kann durch einen

vaginalen Ultraschall und eine Hysteroskopie im Vorfeld abgeklärt werden. Kommt es bei einer Frau zu rezidivierenden Aborten, dann sollte eine Zervixinsuffizienz mittels vaginalen Ultraschall abgeklärt werden, welcher durch die Anlage einer Cerclage entgegengewirkt werden kann [55].

1.3.2 Clomifen

Nach einer ausführlichen Anamnese und Abklärung von Tubenfaktor und Spermiogramm besteht bei einer ovariellen Funktionsstörung die Möglichkeit, eine Therapie mit einem Antiöstrogen, z.B. Clomifen, durchzuführen. Clomifen wird hierbei in Tablettenform eingenommen. Die Wirkung beruht auf einer Blockade der negativen Rückkopplung des Östradiols im Hypothalamus [55]. Somit kommt es zu einer vermehrten Ausschüttung von GnRH, was wiederum zu einer vermehrten Ausschüttung von FSH und LH führt. Dadurch reifen mehrere konzeptionsfähige Oozyten, so dass die Schwangerschaftsrate bei dieser Methode bei 25-56% liegt [55].

1.3.3 Insemination

Ergibt die Diagnostik, dass die Ursache der Infertilität auf einer männlichen Subferitilität beruht, dann kann eine homologe Insemination erfolgen. Dabei wird zunächst eine Spermatozoenaufbereitung durchgeführt und danach das Sperma direkt in den Zervixkanal oder Uterus injiziert. Die Schwangerschafsrate ist abhängig von der Spermienqualität, der Follikelzahl und der Zahl der vorangegangen Inseminationsversuche. Nach vier bis sechs erfolglosen Versuchen sollte eine IVF-Behandlung erfolgen [55].

1.3.4 IVF Behandlung

1.3.4.1 Gesetzliche Voraussetzungen

Im Embryonenschutzgesetz (ESchG) vom 13.12.1990 ist der gesetzliche Rahmen für die IVF Behandlung geregelt. Seit dem 01.01.1991 verbietet das Gesetz den einzeitigen Transfer von mehr als drei Embryonen, die Leihmutterschaft, die Eizellspende, die Geschlechtswahl, außer wenn die Geschlechtswahl dazu dient, dass Kind vor einer Muskeldystrophie vom Typ Duchenne oder einer ähnlich schweren geschlechtsgebundenen Erkrankung zu bewahren, das Klonen, den Embryonenhandel und mehr Eizellen zu befruchten, als innerhalb eines Zyklus übertragen werden sollen. Allerdings dürfen be-

fruchtete Eizellen im Vorkernstadium konserviert werden, da ein Embryo definiert ist als eine befruchtete Eizelle nach Verschmelzung der Kerne [1].
Im fünften Sozialgesetzbuch (SGB V) regelt der §27a die Vorschriften der gesetzlichen Krankenkasse für eine künstliche Befruchtung. Darin ist festgelegt, dass nur bei verheirateten Paaren, Frauen zwischen 25 und 40 Jahren und Männer zwischen 25 und 50 Jahren die Kosten für drei Versuche zu 50% übernommen werden. Zuvor muss allerdings die Behandlung von der Kasse genehmigt werden.

1.3.4.2 Ovarielle Stimulationsbehandlung und Follikelpunktion

Im natürlichen menstruellen Zyklus spielt das follikelstimulierende Hormon (FSH) bei der Follikelreifung eine zentrale Rolle. Auf Grund des Abfalls des FSH-Spiegels in der ersten Zyklushälfte kann meist nur ein Follikel bis zum Tertiärfollikel heranreifen. An diesem Punkt setzt die kontrollierte ovarielle Überstimulation an, da davon ausgegangen werden kann, dass eine längere Gabe von FSH zu einem Heranreifen von mehreren Tertiärfollikeln führen würde [45].
Für die kontrollierte ovarielle Überstimulation stehen reines FSH, welches als rekombinantes FSH (Gonal-F® und Puregon®) sowie hochgereinigtes urinäres FSH (Bravelle®) erhältlich ist und humanes Menopausengonadotropin (HMG), welches aus dem Urin postmenopausaler Frauen gewonnen wird (Menogon®), zur Verfügung. Diese Präparate werden täglich in Form von Spritzen ab dem zweiten oder dritten Zyklustag (ZT) appliziert. Es wird im Verlauf die Follikelreifung mittels Ultraschall kontrolliert [55]. Aktuelle Metaanalysen weisen daraufhin, dass die Gonadotropine gleichwertig im Bezug auf die Erfolgsrate sind [43].
Ein Nachteil der Behandlung mit Gonadotropinen ist, dass es zu einem vorzeitigen LH-Anstieg kommen kann, welcher sich nachteilig auf die Follikelreifung auswirken würde. Um diesen Ansteig zu verhindern, muss versucht werden die Ausschüttung von LH in der Adenohypophyse zu verhindern. Hierfür haben sich GnRH-Analoga als Standardmedikation durchgesetzt [29]. Man unterscheidet zwischen GnRH-Agonisten und -Antagonisten.
GnRH-Agonisten sind eine synthetische Substanz, welche eine geringe Veränderung der nativen Aminosäurensequenz aufweist, wodurch sie eine höhere Bindungsaffinität zum GnRH-Rezeptor in der Adenohypophyse haben als das körpereigene GnRH. Durch eine Bindung an den GnRH-Rezeptor wird zunächst mehr FSH und LH ausgeschüttet,

was als »Flare-up-Effekt« bezeichnet wird. Dadurch können sich Ovarialzysten bilden. Nach einer Zeit erlischt die Ausschüttung der Gonadotropine, da das Rezeptorsystem unempfindlich wird [55]. Dieser Wirkmechanismus ist allerdings erst nach 10-14 Tagen zu beobachten, so dass es sich empfiehlt im Zusammenhang mit der ovariellen Stimulation, mit der Einnahme des GnRH-Agonisten bereits in der Lutealphase des Vorzyklus zu beginnen. Dieses Vorgehen wird dann als sogenanntes »langes Protokoll« bezeichnet. Nachteil dieser Methode ist eine Verzögerung des eigentlichen Therapiebeginns und eine verlängerte hormonelle Kastration. Diese Kastration kann zu postmenopausalen Beschwerden und Zwischenblutungen führen [29].

Der »Flare-up-Effekt« kann allerdings auch genutzt werden, um die endogenen Gonadotropinreserven auszuschöpfen. In diesem Fall spricht man vom sogenannten »kurzen Protokoll«, bei dem die Gabe von Gonadotropinen und GnRH-Agonisten gleichzeitig beginnt [29, 43]. Allerdings zeigt die Benutzung des »langen Protokolls« eine höhere Effizienz [29].

Eine neuere Methode einen vorzeitigen LH-Anstieg zu verhindern ist die Kombination von Gonadotropinen und GnRH-Antagonisten. Da ein direkter Antagonismus am GnRH-Rezeptor erfolgt, tritt die Wirkung innerhalb weniger Stunden auf. Typischerweise wird ab dem sechsten Zyklustag oder beim Vorhandensein eines dominanten Follikels mit der Gabe begonnen [18, 43].

Im Vergleich zu den Agonisten zeichnen sich die Antagonisten durch eine sehr flexible und vor allem kürzere Einnahme aus. Daraus ergibt sich ein deutlich geringerer Gonadotropinverbrauch und eine Verkürzung der Gesamtbehandlungsdauer um ca. 20 Tage bedeutet [29]. Durch diese Stimulation verringert sich die Zahl der gewonnenen Eizellen um nur eine Eizelle pro Patientin. Hingegen ist die Wahrscheinlichkeit einer Lebendgeburt nach IVF bei Benutzung von GnRH-Antagonisten ähnlich wie bei der Benutzung von GnRH-Agonisten [30, 39]. Hinzukommt, dass kein »Flare-up-Effekt« wie bei den Agonisten stattfindet, so dass sich keine Ovarialzysten bilden [20]. Des Weiteren wird die Hypophyse bei der Gabe von GnRH-Antagonisten nicht komplett supprimiert, so dass nach Absetzen der GnRH-Antagonisten die Hypophyse wieder Gonadotropine ausschütten kann. Diesen Vorteil kann man sich bei der Induktion der Eizellreifung zur IVF zu Nutze machen, indem mit einem GnRH-Agonisten ein endogener LH-Anstieg ausgelöst wird [30].

Sobald Leitfollikel und E2-Spiegel die gewünschten Größen erreichen, wird die Induk-

tion der Eizellreifung zur IVF normalerweise mit hCG durchgeführt. Wie bereits oben erwähnt ermöglicht das Antagonistenprotokoll außerdem die Induktion der Eizellreifung zur IVF mit einem GnRH-Agonisten. 36 Stunden nach Induktion der Eizellreifung erfolgt dann die Eizellgewinnung mittels Follikelpunktion (FOPU) [43].

1.3.4.3 Fertilisierungsmethoden, Embryonenübertragung und Spermiengewinnung

Nach der Follikelpunktion werden die gewonnenen Kumulus-Oozyten-Komplexe (COC) unterteilt in Metaphase-II (M-II), unreife und degenerierte Oozyten. Nur die M-II-Oozyten können fertilisiert werden.

Zur Fertilisierung der Eizelle stehen die In-Vitro-Fertilisation (IVF) und die intrazytoplasmatische Spermatozoeninjektion (ICSI) zur Verfügung. Bei einer ausgeprägten männlichen Infertilität ist eine ICSI indiziert, wobei eine einzelne Spermatozoe in die aktivierte reife Eizelle injiziert wird. Nach der Injektion bzw. Insemination werden die Oozyten für ca. 18 Stunden im Brutschrank inkubiert und befinden sich dann im Vorkernstadium (2-PN). Im Vorkernstadium können überzählige Eizellen (nur drei Eizellen dürfen maximal transferiert werden) kryokonserviert werden und stehen somit für spätere Zyklen zur Verfügung. Am zweiten oder dritten Tag findet normalerweise die Embryonenübertragung (ET) in den Uterus der Patientin statt. Zu diesem Zeitpunkt befinden sich die Präimplantationsembryonen im 4- bis 8-Zell-Stadium [43].

Sollte auf Grund einer Azoospermie eine Gewinnung von Spermatozoen aus dem Ejakulat nicht möglich sein, dann besteht die Möglichkeit mittels Nebenhodenaspiration (MESA) oder Hodenbiopsie (TESE) Spermatozoen zu gewinnen. Diese Spermatozoen können dann für eine ICSI benutzt werden. Ein weiterer Vorteil einer Hodenbiopsie ist, dass die Gewebeprobe kryokonserviert werden kann, so dass für spätere ICSI-Zyklen keine neue Biopsie entnommen werden muss [43].

In Deutschland werden pro Jahr circa 50.000 Behandlungszyklen durchgeführt. Die Schwangerschaftsrate pro Embryonenübertragung liegt bei einer ICSI-Behandlung bei 36,2%, bei einer IVF-Behandlung bei 37,5% [52].

1.3.4.4 Lutealphasenunterstützung

Der Ovulation schließt sich im natürlichen Zyklus die Lutealphase an, in der sich das Corpus luteum formiert, welches verschiedene Steroidhormone unter anderem auch E2 und Progesteron produziert. Nach der Konzeption und Implantation des Embryos produziert dieser hCG, welches die Funktion des Corpus luteum aufrechterhält. Während der fünften Schwangerschaftswoche (SSW) übernimmt die Plazenta in zunehmenden Maße die Funktion des Corpus luteum [16].
Bei IVF-Zyklen ist die Lutealphase gestört. Die genaue Ursache für diese Störung ist noch nicht vollkommen aufgeklärt.
Man vermutete, dass durch die Herunterregulation der Hypophyse bei der Einnahme von GnRH-Agonisten die LH-Produktion nach der Embryonenübertragung nicht ausreichend ist, um ein funktionsträchtiges Corpus luteum zu erhalten. Das würde allerdings bedeuten, dass bei der Gabe von GnRH-Antagonisten dieses Problem nicht besteht, da die Hypophyse in der Lutealphase nicht mehr herunterreguliert ist. Es wird aber auch bei der Benutzung von GnRH-Antagonisten ein Lutealphasendefekt beobachtet [16].
Der Hauptgrund für den Lutealphasendefekt scheint eher die unphysiologisch hohe Produktion der Steroide durch mehrere Corpura lutea zu sein, da diese durch eine negative Rückkopplung in der frühen Lutealphase die LH-Sekretion in der Hypophyse direkt hemmen [16].
Das wichtigste Steroid in der Lutealphase ist das Progesteron. Es ist für die Transformation des Endometriums und damit für eine erfolgreiche Einnistung des Embryos verantwortlich ist. Applikationsart der Wahl für die Lutealphasenunterstützung ist die vaginale Applikation. Dabei werden in Deutschland hauptsächlich zwei Produkte verwendet, zum einen Utrogest®, in Form von Vaginalkapseln, und Crinone 8%®, in Form eines Vaginalgels. Die empfohlenen Dosierungen sind 3 x 200 mg Utrogest® täglich oder 90 mg Crinone 8%® einmal täglich. Begonnen werden sollte mit der Einnahme spätestens fünf Tage nach Induktion der Eizellreifung zur IVF und dann für 14 Tage bis zum positiven Schwangerschaftstest [16]. Tritt eine Schwangerschaft ein, dann wird die Einnahme bis zur 12. SSW empfohlen [43].
Bezüglich einer Kombination des Progesterons mit E2 konnte bisher kein Nutzen gezeigt werden. Es wird aber vermutet, dass bei einigen Patientinnen während der Lutealphase der E2-Spiegel deutlich absinkt. Bei diesen Patientinnen könnte eine Substitution von Vorteil sein. Um diese Vermutung endgültig zu beweisen, müssen allerdings noch weitere

Studien durchgeführt werden [41].

1.3.4.5 Kryokonservierungsmethoden und Kryo-Zyklen

Seit dem Gesundheitsmodernisierungsgesetz vom 01.01.2004 übernehmen die gesetzlichen Krankenkassen nur noch 50% der Behandlungskosten einer IVF-Behandlung. Dies führte zu einer drastischen Abnahme der durchgeführten IVF-Zyklen von ca. 110.000 Zyklen auf ca. 60.000 Zyklen im Jahr 2004 [52]. Um diesen negativ Trend entgegen zu wirken, wird es immer wichtiger, patientenorientiert zu denken, das heißt, die Behandlung muss sicher, nebenwirkungsarm, effizient und kostengünstig sein [30].
Ein wichtiger Schritt in diese Richtung ist die Nutzung der Kryokonservierung von Ooyzten im Vorkernstadium und der Embryonenübertragung im Kryo-Zyklus (FRET), weil dadurch bei einem erfolglosen Transfer ohne eine erneute hormonelle Überstimulation weitere Oozyten für eine zweite Übertragung zur Verfügung stehen.
Lange Zeit galt das sogenannte »slow-cooling« Verfahren als einzige gängige Methode 2-PN-Oozyten zu kryokonservieren. 1999 wurde erstmals von einer Lebendgeburt nach Vitrifikation berichtet. Bei der Vitrifikation wird mit Kühlungsraten von 15.000 - 30.000°C innerhalb von Millisekunden ein Abkühlen der Oozyten auf -196°C erreicht. Vorteil der Vitrifikation ist somit, dass da das Risiko der Bildung intrazellulärer Eiskristalle auf Null reduziert wird und im Vergleich zur mindestens 90 Minuten dauernden »slow-cooling« Methode die Vitrifikation nur wenige Sekunden dauert [57]. Als wichtigster Nachteil ist die Benutzung deutlich höherer Konzentrationen an Kryoprotektiva bei der Vitrifikation zu erwähnen, welches als deutlich zytotoxischer angesehen wird. Dank der Einführung von neuen Kryoprotektiva mit höherer Membranpermeabilität und weniger Toxitivität, konnte dieser Nachteil in den letzten Jahren minimiert werden [2].
Al-Hasani et al. [2] zeigten in ihrer Analyse von 849 Vitrifikationszyklen, dass die Schwangerschaftsrate pro Embryonenübertragung mit 36,9% ähnlich ist wie bei normalen ICSI- bzw. IVF-Zyklen. Hingegen konnten bei der »slow-cooling« Methode nur Schwangerschaftsraten von 10,2% erreicht werden.
Zur Vorbereitung auf eine Kryo-Embyronenübertragung gibt es 3 Möglichkeiten. Die erste Möglichkeit ist die Durchführung der Übertragung im natürlichen Zyklus. Dabei wird der Zeitpunkt der Embryonenübertragung durch den endogenen LH-Anstieg festgelegt. Ein noch bestehender regelmäßiger Zyklus ist Voraussetzung für diese Methode.

Die nächste Methode ist die Durchführung im stimulierten Zyklus. Dafür gibt es verschiedene Möglichkeiten z.B. die Injektion von Clomifen, Gonadotropinen oder einer Kombination von Gonadotropinen und GnRH-Agonisten in milden Stimulationsprotokollen. Nachteil dieser Möglichkeiten sind die Injektionen, die aufwändige Überwachung und die hohen Kosten. Die Embryonenübertragung findet hierbei auch zum Zeitpunkt des LH-Anstiegs statt oder wird durch die Gabe von hCG getriggert [6].
Die inzwischen gängigste Methode ist der künstliche Zyklus. Dieser beinhaltet eine Kombination von E2 und Progesteron, wobei E2 normalerweise transdermal ab dem ersten Zyklustag und Progesteron als vaginales Gel oder Zäpfchen ab dem 15. Zyklustag verabreicht wird. Die Embryonenübertragung findet dann am 17. Zyklustag statt. Danach erfolgt die Lutealphasenunterstützung wie oben beschrieben. Der Vorteil dieser Methode ist das Vermeiden von Injektionen. Des Weiteren sind keine zusätzlichen Untersuchungen notwendig [6].

1.4 Überstimulationssyndrom

Wie jeder Eingriff in den menschlichen Körper birgt auch die hormonelle Überstimulation einige Risiken. Wenn man die enorme psychische Belastung für die Paare einmal ausklammert, dann ist das Überstimulationssyndrom (OHSS) sicherlich die schwerwiegendste Nebenwirkungen.
Erste Symptome eines OHSS sind meistens Abdominalschmerzen durch ein mäßig bis ausgeprägtes Aszites. Dabei ist es wichtig, wann die Symptome auftreten, da zwei Formen des OHSS unterschieden werden. Zum einem gibt es das sogenannte »early-onset« OHSS, welches innerhalb von neun Tagen nach der Follikelpunktion auftritt und zum anderen das sogenannte »late-onset« OHSS, welches nach zehn Tagen oder später auftritt [50].
Es gibt zahlreiche Klassifikationen z.B. die Einteilung nach Golan [25]:

- mild
  - I°: Abdominales Spannungsgefühl, Unwohlsein,
  - II°: zusätzlich Übelkeit, Erbrechen, Vergrößerung der Ovarien (Durchmesser 5-12 cm),
- mäßig

  - III°: zusätzlich Nachweis von Aszites,

- schwer
  - IV°: zusätzlich klinischer Hinweis auf Aszites und/oder Hydrothorax und Dyspnoe,
  - V°: zusätzlich Gerinnungsstörung, schwere Dehydration, Hämokonzentration (Hkt $> 45\%$) und Durchblutungsstörung der Niere.

Ein schweres OHSS stellt eine zwingende Indikation für eine stationäre Überwachung dar, weil auf Grund des Aszites die, durch die Stimulation stark vergrößerten, Ovarien torquieren können (16% der Fälle). Des Weiteren besteht die Gefahr eines prärenalen Nierenversagens (1,4% der Fälle), einer Lungenembolie(2% der Fälle) oder eines Herzinfarktes [11]. Mit Thrombosen muss in 4% aller OHSS-Fälle gerechnet werden, wobei durch eine eintretende Schwangerschaft dieses Risiko noch einmal erhöht wird. Betrachtet man alle IVF-Behandlungen, dann liegt das Thromboserisiko lediglich bei 0,04 - 0,2% [28]. Leichte bis mittelschwere Verläufe treten in ca. 30% der Stimulationszyklen auf, während schwere Verläufe in nur 0,7% der Zyklen zu beobachten sind [11, 22].
Folgende Faktoren konnten in verschiedenen Studien als Risikofaktoren identifiziert werden [10, 39, 50]:

- junges Alter (< 30 Jahre),
- PCOS,
- Anwendung eines »langen Agonistenprotokoll«,
- E2 am Tag der hCG-Gabe $> 2500\,\mathrm{pg/ml}$,
- Anzahl der Follikel nach Stimulation ≥ 13 mit einem Durchmesser $\geq 11\,\mathrm{mm}$,
- hCG zur Induktion der Eizellreifung zur IVF,
- Eintritt einer Schwangerschaft (vor allem Mehrlingsschwangerschaft).

1.4.1 Pathophysiologie des OHSS

Die Pathophysiologie des OHSS ist weitgehend ungeklärt. Es wird davon ausgegangen, dass ein Anstieg der Gefäßpermeabilität für die klinische Manifestation verantwortlich ist.

Die erhöhte Gefäßpermeabilität führt zu einem enormen Shift der Flüssigkeit vom Intravasalraum in den dritten Raum (präformierte Körperhöhlen wie Intraperitonealraum, Perikard, Pleuraraum), was wiederum zu einer Hypovolämie und Hämokonzentration führen kann [13, 22]. Die Hämokonzentration und eine ggf. hinzutretende Leberfunktionsstörung erhöhen das Risiko eines thrombembolischen Ereignisses. Außerdem wird durch den Proteinverlust ins Interstitium und den dritten Raum der intravasale Druck weiter gesenkt, so dass die Flüssigkeitsverschiebung und die darauffolgende Hämokonzentration verstärkt werden [22].
Es stellt sich nun die Frage, welche Mediatoren für die Erhöhung der Gefäßpermeabilität verantwortlich sind.

1.4.1.1 Interleukine

Interleukin 1

Interleukin 1 (IL-1) wird von aktivierten Makrophagen sezerniert und ist ein wichtiger Immunmediator. Eine Infusion von IL-1 im Tierexperiment kann einen Schock mit einem niedrigen Gefäßwiderstand induzieren. Außerdem hat IL-1 eine Bedeutung im Ovulationprozess. Des Weiteren korreliert die IL-1 Aktivität direkt mit dem Hämotokrit und dem Plasma-E2-Spiegel. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass eine Besserung der Symptome eines schweren OHSS bei OHSS Patientinnen mit einem Abfall des IL-1 verbunden ist. All diese Faktoren weisen darauf hin, dass IL-1 eine Rolle in der Pathogenese des OHSS spielt [13].

Interleukin 2

Interleukin 2 (IL-2) ist ein 15,4 kDa schweres Peptid, welches von aktivierten T-Zellen ausgeschüttet wird [54].
IL-2 wurde in einer Untersuchung von Oppenheim et al. [54] per intravenöser Infusion verabreicht um die Auswirkung auf das Immunsystem zu beobachten. Dabei zeigte sich, dass es zu multiplen Nebenwirkungen kam. Die wichtigste Entdeckung war das sogenannte »vascular leak syndrome« bei dem beobachtet werden konnte, dass es durch die Infusion zu einem enormen Anstieg von extraperitonealer Flüssigkeit, Aszites und Lungenödem kam. Grund für dieses Syndrom ist, dass IL-2 andere Zytokine aktiviert, welche Endothelzellen aktivieren, die wiederum zu einer Erhöhung der Gefäßpermeabilität führen.

Orvieto et al. [49] gelang 1995 zu zeigen, dass in der Follikelflüssigkeit von OHSS Patientinnen signifikant mehr IL-2 nachgewiesen werden konnte als bei Patientinnen, die kein OHSS entwickelten. Allerdings konnte kein Zusammenhang zwischen hohen E2-Spiegeln am Tag der Induktion der Eizellreifung zur IVF und der IL-2 Konzentration in der Follikelflüssigkeit gezeigt werden. An Hand dieser Entdeckung lässt sich eventuell erklären, warum nicht jede Patientin mit einem hohen E2-Wert am Tag der Induktion der Eizellreifung zur IVF ein OHSS entwickelt. Außerdem besteht der Verdacht, dass IL-2 von überstimulierten Ovarien ausgeschüttet wird und dann in den Systemkreislauf gelangt, wo es ein »vascular leak syndrome« auslöst [54]. Diese Vermutung konnten Revel et al. [53] 1996 widerlegen, da bei einer Untersuchung von Peritonealflüssigkeit bei OHSS Patientinnen kein IL-2 nachgewiesen werden konnte.
Die Rolle von IL-2 bei der Entstehung des OHSS ist somit wahrscheinlich nicht so zentral wie vermutet.

Interleukin 6

Interleukin 6 (IL-6) wird von Monozyten, Endothelzellen, T-Zellen und Fibroblasten gebildet und aktiviert die Akute-Phase-Reaktion [54].
IL-6 konnte in der Follikelflüssigkeit von Frauen nachgewiesen werden, welche eine ovarielle Überstimulation durchführten. Im normalen Zyklus ist IL-6 für die Angiogenese mitverantwortlich, welche während der Entwicklung der Ovarialfollikel benötigt wird. Bei der Überstimulationsbehandlung ist die Angiogenese noch wichtiger und muss viel stärker erfolgen, da gleichzeitig mehrere reife Follikel gebildet werden. Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass IL-6 gemeinsam mit IL-1β und TNFα die Gefäßpermeabiltät erhöht. Auf Grund dessen wird vermutet, dass diese drei Mediatoren eine Rolle bei der Pathogenese vom OHSS spielen. Ein weiterer Hinweis darauf ist, dass im Aszites von OHSS Patientinnen signifikant mehr IL-6 nachgewiesen werden konnte als in der Kontrollgruppe. Des Weiteren konnte Friedlander et al. 1993 [23] zeigen, dass Albumin bei OHSS Patientinnen niedriger war, was sich durch die inhibitorische Fähigkeit von IL-6 auf die Albuminproduktion in der Leber erklären lässt [54].
Es stellt sich jetzt nur noch die Frage, wo IL-6 bei OHSS Patientinnen vermehrt exprimiert wird. Eine Antwort auf diese Frage konnten immunhistologische Untersuchungen zeigen. Eine verstärkte Expression von IL-6 konnte im Corpus luteum und den lutenisierten Granulosazellen im Follikel nachgewiesen werden. Diese Entdeckung

lässt vermuten, dass die IL-6 Expression und die Produktion von LH bzw. hCG zusammenhängen [54].

Interleukin 8

Interleukin 8 (IL-8) wird von Monozyten, Endothelzellen, Fibroblasten, Mesothelzellen und endometrialen Stromazellen produziert und ist an der chemotaktischen Rekrutierung von neutrophilen Granulozyten beteiligt. IL-8 ist ein potenter Angiogenesefaktor. Die Expression von IL-8 wird von IL-1 und TNFα moduliert [54].
Auch IL-8 konnte in signifikant höheren Konzentrationen in der Peritonealflüssigkeit von OHSS Patientinnen nachgewiesen werden. Allerdings war kein Unterschied in den Serumkonzentrationen von OHSS Patientinnen und der Kontrollgruppe erkennbar, so dass vermutet werden kann, dass IL-8 aus den Ovarien direkt in die Peritonealflüssigkeit ausgeschüttet wird [53].

1.4.1.2 Vascular endothelial growth factor (VEGF)

Mitte der 1990er konnte VEGF als Hauptfaktor für die Erhöhung der Gefäßpermeabiltät bei OHSS Patientinnen identifiziert werden [13].
VEGF ist ein potentes vasoaktives Protein, welches die Gefäßpermeabilität 1000-mal stärker beeinflusst als Histamin und eine entscheidende Rolle in der Angiogenese spielt [13].
Während der späten Follikelphase und der Ovulation wird von Granulosa- und Thekazellen des Graafschen Follikel VEGF mRNA vermehrt exprimiert, so dass es zu einem Anstieg der Gefäßpermeabiltät in den thekalen Blutgefäßen kurz vor der Ovulation kommt. Nach der Induktion der Eizellreifung zur IVF ist zu beobachten, dass das Corpus luteum auf Grund der LH-Ausschüttung ebenfalls VEGF mRNA verstärkt exprimiert [54]. Die erhöhte Gefäßpermeabilität wird für die Entstehung von Ovarialzysten verantwortlich gemacht [26]. Die entscheidende Rolle von LH konnte bewiesen werden, da bei der Suppression der Hypophyse durch GnRH-Antagonisten kein Anstieg der VEGF mRNA Expression beobachtet werden konnte [54].
Dass VEGF der wichtigste Mediator bei der Pathogenese vom OHSS ist, zeigt sich daran, dass im Aszites und im Serum von OHSS Patientinnen vermehrt VEGF nachgewiesen werden konnte. Außerdem konnte bewiesen werden, dass bei der Gabe von VEGF Antikörpern die Gefäßpermeabiltät bei diesen Patientinnen um 70% neutralisiert werden

kann [13]. Da bei einer ovariellen Überstimulation mehrere Graafsche Follikel entstehen, wird wesentlich mehr VEGF freigesetzt, so dass die Gefäßpermeabilität wesentlich stärker zunimmt als in einem natürlichen Zyklus und VEGF auf alle Blutgefäße wirken kann. Das wiederum erklärt, warum in einem natürlichen Zyklus kein OHSS beobachtet werden kann, und warum bei Frauen mit einer großen Anzahl von Follikeln das Risiko ein OHSS zu entwickeln, erhöht ist [54].

1.4.1.3 Renin-Angiotensin-System

Beim Prorenin handelt es sich um die inaktive Form des Renins. Durch Proteolyse wird aus Prorenin Renin, was wiederum Angiotensinogen in Angiotensin I spaltet, welches dann vom Anigotensin-Converting-Enzym (ACE) in Angiotensin II umgewandelt wird. Angiotensin II ist ein starker Vasopressor, steigert die Gefäßpermeabiltät und initiiert die Angiogenese. Auf Grund dieser Wirkungen ist zu vermuten, dass Angiotensin II eine zentrale Rolle in der Akkumulation von Peritonealflüssigkeit im natürlichen Zyklus als auch beim enormen Flüssigkeitsshift bei Patientinnen mit einem OHSS spielt [54].
1987 gelang es Sealey et al. [56] einen direkten Zusammenhang zwischen dem Anstieg von Prorenin im Plasma und der Ausschüttung von LH zum Ende der Follikelphase im natürlichen Zyklus zu zeigen. In ihrer Untersuchung stieg 8-16 h nach dem »LH-Peak« der Plasmaspiegel von Prorenin auf das 2-4 fache an. Zwei Jahre zuvor zeigten Fernandez et al. [21], dass in der Follikelflüssigkeit von Patientinnen nach einer Stimulation mit Gonadotropinen deutlich erhöhte Prorenin Werte nachgewiesen werden konnten und der Anstieg nach hCG Gabe in direkter Korrelation zur Anzahl der Follikel steht. Außerdem wurde gezeigt, dass bei Schwangeren ohne Ovarfunktion dieser Anstieg nicht beobachtet werden konnte, so dass davon ausgegangen wird, dass das Ovar die Quelle der Proreninsekretion ist [54].
Morris et al. [47] konnten 1995 im Tierexperiment zeigen, dass die Gabe von ACE-Hemmern das Auftreten eines OHSS um 40% senken konnte. Allerdings kann nach einer neueren Patientenstudien das Auftreten vom OHSS durch die duale Blockade des Renin-Angiotensin-Systems nicht komplett verhindert werden [3]. An Hand dieser beiden Arbeiten wird noch ein weiteres Mal deutlich, dass auch das Renin-Angiotensin-System eine wichtige Rolle bei der Entstehung des OHSS spielt.

1.4.1.4 Humanes Choriongonadotropin

Humanes Choriongonadotropine (hCG) ist ein Peptidhormon, welches von der Plazenta gebildet wird und das Corpus luteum zur Produktion von Sexualsteroiden in der Schwangerschaft stimuliert.
Dass hCG für die Entwicklung des OHSS von zentraler Bedeutung ist, zeigt sich daran, dass durch Nicht-Verabreichung von hCG im überstimulierten Zyklus ein OHSS sicher verhindert werden kann. Der Grund für diese Beobachtung ist, dass bei der hormonellen Überstimulation multiple Follikel entstehen, welche durch hCG oder LH luteinisieren. Durch diesen Vorgang werden die oben erwähnten Mediatoren vermehrt ausgeschüttet. Es stellt sich nun die Frage, warum bei einer Gabe von hCG ein OHSS auftreten kann, während beim natürlichen »LH-Peak« kein OHSS auftreten kann [13, 50].
Im Gegensatz zu LH ist die Halbwertszeit (HWZ) von hCG mit mehr als 24 Stunden zu 60 Minuten deutlich länger, so dass hCG bis zu sechs Tagen wirkt. Es kommt hinzu, dass hCG eine höhere Rezeptoraffinität als LH hat. Somit kann hCG eine deutlich längere Expression der obengenannten Mediatoren bewirken und ein OHSS auslösen [10].

1.4.2 Präventionsmaßnahmen des OHSS

Bei der Prävention unterscheidet man drei Stufen. Zunächst gibt es die primäre Prävention. Sie versucht die Erkrankung noch vor ihrer Entstehung zu verhindern, z.B. durch Impfungen, vermeiden von Risikofaktoren. Die nächste Stufe ist die sekundäre Prävention. Hierbei wird versucht die Erkrankung möglichst früh zu erkennen, um durch eine frühzeitige Behandlung eine Chronifizierung zu verhindern. Beispiele sind die diverse Screeningprogramme. Die letzte Stufe ist schließlich die tertiäre Prävention. Ihr Ziel ist es Folgeschäden und Rückfälle zu vermeiden, z.B. durch Rehabilitationsmaßnahmen [51].
Da es sich bei der Kinderwunschbehandlung um einen elektiven Eingriff handelt und die Patientinnen in der Regel jung und gesund sind, sind schwere Komplikation inakzeptabel. Daher sind Präventionsmaßnahmen im Bezug auf das Eintreten eines OHSS von enormer Bedeutung [28].

1.4.2.1 Primäre Prävention

Da das OHSS durch eine eintretende Schwangerschaft aufrecht erhalten wird, kann in schwersten Fällen nur ein Schwangerschaftsabbruch zu einer Verbesserung des Zustandes

der Patientin führen. Dieses ist für die Patientin eine sehr große psychische Belastung. Eine Möglichkeit der Primärprävention ist die Reduzierung von präovulatorischen Follikeln. Dieses ist bei der Benutzung eines Antagonistenprotokolls der Fall [39]. In zwei durchgeführten Metaanalysen konnte gezeigt werden, dass bei Benutzung eines Antagonistenprotokolls die Wahrscheinlichkeit für ein schweres OHSS um die Hälfte reduziert werden konnte [28]. Trotz reduzierter Follikelzahl ist kein signifikanter Unterschied in der Lebendgeburtenrate zu erkennen, so dass eine Anwendung dieses Protokolls nur befürwortet werden kann [39].

1.4.2.2 Sekundäre Prävention

Bevor Maßnahmen der sekundären Prävention angewendet werden können, müssen Patientinnen mit einem Risiko für ein OHSS sicher identifiziert werden. Dafür sollten die obengenannten Risikofaktoren bei jeder Patientin vor Beginn der Stimulationsbehandlung abgeklärt werden.

1.4.2.2.1 Coasting

Das »Coasting« wurde erstmals 1993 in einem IVF-Zyklus angewendet. Beim »Coasting« wird bei zu hohen E2-Spiegeln die Verabreichung der Gonadotropine pausiert, damit es zu einer Follikelatresie kommt. Dadurch wird die Anzahl der FSH-Rezeptoren reduziert und es entstehen weniger Corpura lutea, so dass letztendlich die Expression der obengenannten Mediatoren reduziert wird. Diese Methode wird u.a. von $\frac{2}{3}$ der Ärzte, in einer Umfrage von Delvigne und Rozenberg [9] aus dem Jahr 2000, benutzt.
In einer systematischen Übersichtsarbeit haben Delvigne und Rozenberg 2002 [10] herausgefunden, dass meistens ein E2-Wert ab 3000 pg/ml als kritisch angesehen wird und dass die Schwangerschaftsrate nach Anwendung des »Coasting« bei 20-57% liegt. Allerdings hängt die Fertilisationsrate und somit auch die Schwangerschaftsrate sehr stark vom Abstand der letzten Gabe von Gonadotropinen und der Induktion der Eizellreifung zur IVF mit hCG ab. Wenn mehr als 24 Stunden vergehen, dann liegt die Fertilisationsrate nur noch bei 57%, während sie vorher bei 84% liegt [42]. Im Durchschnitt liegt die »Coastingdauer« in der Übersichtsarbeit von Delvigne und Rozenberg [10] bei zwei bis drei Tagen. Es wird daher empfohlen, die Gonadotropine zunächst einmal zu reduzieren, bevor sie komplett abgesetzt werden. Des Weiteren wurde in der Übersichtsarbeit

festgestellt, dass das OHSS nicht vollständig verhindert werden konnte, da hCG immer noch als auslösendes Agens für ein OHSS benutzt wird. Sehr wohl konnte hingegen die Inzidenz der schweren Verlaufsformen reduziert werden.

1.4.2.2.2 Early unilateral follicular aspiration

Die Aspiration von Follikeln führt zu einer intrafollikulären Hämorrhagie, welche einen negativen Einfluss auf die Corpus luteum Funktion hat. Dieser Ansatz wird bei der sog. »Early unilateral follicular aspiration« (EUFA) ausgenutzt [10].
Die EUFA wird zehn bis zwölf Stunden nach der Induktion der Eizellreifung zur IVF mit hCG durchgeführt, indem alle sichtbaren Follikel aus einem Ovar aspiriert werden. 36 Stunden später erfolgt dann die Follikelpunktion des anderen Ovars mit der damit verbundenen Oozytengewinnung. Eine prospektiv randomizierte Studie von Egbase et al. [12] aus dem Jahr 1999 mit 30 Risikopatientinnen konnte zeigen, dass bei dieser Methode mehr Oozyten gewonnen werden können, als wenn ein »Coasting« mit einer FOPU beider Ovarien durchgeführt wird. Keine der beiden durchgeführten Methoden konnte jedoch das Auftreten eines schweren OHSS komplett verhindern.
Da diese Methode eine weitaus invasivere Methode als das Coasting darstellt, ist sie im wesentlichen Verlassen worden.

1.4.2.2.3 GnRH Agonist zur Induktion der Eizellreifung zur IVF

Wie bereits oben beschrieben, ist die Benutzung von hCG zur Induktion der Eizellreifung zur IVF der Trigger für ein OHSS. Daher ist es wichtig, sich Gedanken zu machen, ob man die Induktion der Eizellreifung zur IVF nicht mit einem anderen Medikament auslösen kann. Dieses sollte kein OHSS auslösen, aber genauso so gute Schwangerschaftsraten erzeugen. Eine solche Alternative ist die Benutzung von GnRH-Agonisten, da diese eine vorzeitige Luteolyse auslösen und sich somit weniger Corpura lutea bilden, so dass weniger der oben genannten Mediatoren ausgeschüttet werden [5, 48]. Seit Anfang der 1990er wird dieses Verfahren erfolgreich angewendet. Allerdings kann dieses Verfahren nur genutzt werden, wenn die Patientin vorher mit einem Antagonistenprotokoll behandelt worden ist, da bei den anderen Protokollen die Hypophyse supprimiert wird und somit der Agonist keine Wirkung zeigen kann [18, 31].
Die Gabe eines Bolus eines GnRH-Agonisten bei Patientinnen, die mit einem Antago-

nistenprotokoll behandelt worden sind, zur Induktion der Eizellreifung zur IVF, führt in der Hypophyse zu einer vermehrten Ausschüttung von LH, welches dem natürlichen »LH-Peak« ähnelt. Normalerweise ist der »LH-Peak« in 3 Phasen eingeteilt: schneller Anstieg (14 h), Plateauphase (14 h) und Absinken (20 h), während bei der Gabe eines Agonisten nur ein kurzer Anstieg ($>$ 4 h) und ein langsames Absinken ($>$ 24 h) beobachtet werden kann [35]. Dieser unterschiedliche Verlauf hat allerdings keine Auswirkung auf die Ovarien, so dass der Effekt im Bezug auf die finale Eizellreifung der gleiche ist [61].

Drei große Studien haben die Gabe von einem GnRH-Agonisten in einem Antagonistenprotokoll mit der Gabe von hCG in einem Antagonistenprotokoll untersucht. Dabei fiel auf, dass bei der Gabe vom Agonisten signifikant mehr Oozyten das Metaphase-II-Stadium erreichten [18, 35, 40]. Die Fertilisationsraten unterschieden sich hingegen kaum. Allerdings konnte in zwei Studien eine signifikant schlechtere Implantationsrate und hohe Frühabortrate nach Agonistengabe beobachtet werden [35, 40]. Die Studie von Fauser et al.[18] kann zwar ähnliche Schwangerschaftsraten in den beiden Gruppen zeigen, allerdings ist die Gruppengröße mit 47 Patientinnen relativ klein und die Schwangerschaftsrate mit 20% bzw. 18% in der Agonistengruppe (Gabe von 2 verschiedenen Agonisten) und 13% in der hCG Gruppe sehr gering [31]. Humaidan et al. und Kolibianakis et al. [35, 40] haben in ihren Arbeiten ausführlich über mögliche Gründe für eine schlechtere Implantationsrate und hohe Frühabortrate diskutiert. Sie sind zu dem Ergebnis gekommen, dass vermutlich durch die Gabe von GnRH-Agonisten die Ausbildung des Corpus luteum gestört ist und die verabreichte Lutealphasenunterstützung nicht ausreichend ist, dieses Defizit auszugleichen. In den beiden Studien erfolgte die Gabe von Progesteron als Vaginalgel, während in anderen Studien mit sehr guten Schwangerschaftsraten die Progesteron Gabe i.m. erfolgte [38]. Außerdem wurde bei Humaidan et al. die Lutealphasenunterstützung nach einem positiven Schwangerschaftstest eingestellt. Normalerweise wird aber bei einem positiven Schwangerschaftstest die Gabe von Progesteron bis zur 12. SSW empfohlen. Dies könnte ein weiterer Grund sein, warum die Rate der Frühaborte so hoch lag [31, 43]. Ein anderer Grund könnte sein, dass die massive Luteolyse zur Freisetzung von Zytokinen führt, welche die Implantation negativ beeinflussen. Diese Vermutung wird durch die Beobachtung bestätigt, dass bei Kryo-Zyklen die normale Lutealphasenunterstützung ausreichend ist [31].

In einer randomisiert kontrollierten Studie (RCT) untersuchten Engmann et al. [14],

ob die Gabe von GnRH-Agonisten statt hCG bei Hochrisikopatientinnen (66 Probandinnen) ein OHSS verhindert werden kann. Die Lutealphasenunterstützung erfolgte mit Progesteron intramusklulär und E2 transdermal und wurde bei positiven Schwangerschaftstest bis zur 10. SSW fortgesetzt. Die Ergebnisse sahen wie folgt aus: kein OHSS in der Studiengruppe, fünf milde, vier mäßige und ein schweres OHSS in der Kontrollgruppe (insgesamt 31% der Patientinnen), Implantationsrate (Kontrollgruppe 36% vs. Agonistengruppe 31%) und Schwangerschaftsrate (Kontrollgruppe 53,3% vs. Agonistengruppe 48,3%) waren in beiden Gruppen ähnlich. Diese Studie zeigt, dass ein OHSS verhindert werden kann und trotzdem bei ausreichender Lutealphasenunterstützung sehr gute Schwangerschaftsraten erzeugt werden können. Eine zuvor durchgeführte retrospektive Studie von Engmann et al. zeigte ein ähnliches positives Ergebnis [15]. Allerdings sind die Ergebnisse dieser Arbeitsgruppe bisher nicht repliziert worden.

1.4.2.2.4 GnRH-Agonist zur Induktion der Eizellreifung zur IVF und Kryokonservierung aller 2-PN-Oozyten

Die gestörte Lutealphase nach Gabe eines GnRH-Agonisten und die zum Teil nicht ausreichende Lutealphasenunterstützung machen es notwendig, sich Gedanken zu machen, wie man dieses Problem umgehen kann. Eine Möglichkeit ist die zeitliche Trennung von Follikelpunktion und Embryonenübertragung im Rahmen eines Kryo-Zyklus.
Vorteil des Kryo-Zyklus wäre zum einen, dass die gestörte Lutealphase umgangen wird und zu einem späteren Zeitpunkt durch die oben beschrieben Lutealphasenunterstützung eine Embryonenübertragung erfolgen kann. Zum anderen neigen Risikopatientinnen dazu, durch die ovarielle Überstimulation eine Vielzahl von reifen Follikeln zu entwickeln, wodurch ihr Risiko ein OHSS zu bekommen, enorm steigt. Durch die Gabe eines GnRH-Agonisten wird bei diesen Frauen hCG als möglicher Auslöser für ein OHSS ersetzt. Hinzu kommt, dass durch die Kryokonservierung kein »late-onset OHSS« entstehen kann, da sich die Ovarien durch die Pausierung wieder normalisieren können und somit die hCG Produktion durch eine Schwangerschaft kein OHSS auslösen kann. Gerade bei Patientinnen mit vielen gewonnenen Eizellen ermöglicht die Kryokonservierung außerdem, dass überzählige 2-PN-Oozyten für weitere Embryonenübertragungen zu einem späteren Zeitpunkt zur Verfügung stehen ohne eine erneute Stimulationsbehandlung.

In den letzten Jahre wurde bereits in mehreren Studien untersucht, ob eine Kryokonservierung aller 2-PN-Oozyten nach Gabe eines GnRH-Agonisten zur Induktion der finalen Eizellreifung zur IVF das OHSS-Risiko senkt und gleichzeitig gute Schwangerschaftsraten erzielt werden können.
In einer Machbarkeitsstudie konnte erstmals gezeigt werden, dass durch die elektive Kryokonservierung aller 2-PN-Oozyten nach Induktion zur Eizellreifung zur IVF mit einem GnRH-Agonisten die OHSS-Inzidenz bei Risikopatientinnen weitgehend minimiert werden kann und trotzdem mit einer Schwangerschaftsrate von 36,8% sehr gute Ergebnisse erzielt werden können [33].
In einer multizentrischen kontrollierten Studie, in der die Kontrollgruppe zur Induktion der Eizellreifung zur IVF hCG erhielt, wurde die kumulative Lebendgeburtenrate untersucht. Man stellte fest, dass es einen leichten Vorteil für die Agonistengruppe gab, was darauf hinweist, dass die Gabe von Agonisten bei Risikopatientinnen keinen Nachteil mit sich bringt [32]. Zwei neuere Untersuchungen belegen dieses positive Ergebnis mit einer Schwangerschaftsrate von 33% bzw. einer kumulierten Lebendgeburtenrate von 35% [27, 46]. In keiner der oben genannten Studien konnte ein OHSS beobachtet werden [27, 32, 46].

1.4.2.3 Tertiäre Prävention

1.4.2.3.1 Therapie des OHSS

Beim leichten bis mittelgradigen OHSS ist normalerweise keine stationäre Therapie notwendig. Folgende Therapieempfehlungen gibt es:

- mild: keine Therapie notwendig, Patientinnen beruhigen, Wiedervorstellung bei Verschlechterung der Symptome,
- mäßig: Flüssigkeitsubstitution, körperliche Schonung, regelmäßige Vorstellung beim Arzt,
- schwer: wenn Hämatokrit $> 45\%$ stationäre Aufnahme, Flüssigkeitssubstitution i.v., Bettruhe, Aszitespunktion, Thromboseprophylaxe mit Heparin.

Zusätzlich muss bei einem schweren OHSS die Flüssigkeitein- und -ausfuhr strikt bilanziert werden und regelmäßige Blutbildkontrollen erfolgen [11].

1.5 Arbeitshypothese

Nachdem in der Machbarbeitsstudie von Griesinger et al. und in anschließenden Studien [27, 32, 33, 46] gezeigt werden konnte, dass die Induktion der Eizellreifung zur IVF mit einem GnRH-Agonisten und die anschließende Kryokonservierung aller 2-PN-Oozyten im Bezug auf Schwangerschafts- und Lebendgeburtenrate den bisherigen Maßnahmen bei Patientinnen mit einem hohen Risiko für ein OHSS nicht unterlegen ist, soll in dieser Arbeit untersucht werden, ob sich das Protokoll von Griesinger et al. [33] in der klinischen Anwendung bewährt.

Dafür sollen in fünf IVF-Zentren mit unterschiedlicher klinischer Routine Patientinnen mit einem hohen Risiko für ein OHSS nach ovarieller Überstimulation mit dem oben vorgestellten Protokoll behandelt werden. Auf folgende Ergebnissparameter wird dabei besonders geachtet:

- Inzidenz eines OHSS,
- kumulierte Schwangerschafts- und Lebendgeburtenrate,
- Unterschiede im Behandlungsausgang bei Anwendung von Vitrifikation bzw. »slow-cooling« zur Kryokonservierung.

Kapitel 2

Material und Methoden

Bei der vorliegenden Studie handelt es sich um eine prospektive Beobachtungsstudie. Die Rekrutierungsphase dauerte von Juni 2008 bis Juni 2009. Ihr folgte nach einem Jahr ein »Follow-up«, bei dem alle relevanten Daten erhoben worden sind. Die Daten der Patientinnen stammen aus dem IVF Zentrum Augsburg (Zentrum 1), dem Kinderwunschzentrum Düsseldorf (Zentrum 2), der Kinderwunschsprechstunde des UKSH Campus Lübeck (Zentrum 3), der Kinderwunschsprechstunde der Universitätsklinik Magdeburg (Zentrum 4) und der Kinderwunschsprechstunde der Universitätsklinik Würzburg (Zentrum 5). Alle Patientinnen wurden vor Beginn der Studie ausführlich aufgeklärt und haben ihr Einverständnis zur Datenerhebung schriftlich gegeben. Des Weiteren wurde die Studie von der Ethikkommission der Universität zu Lübeck geprüft und genehmigt (Aktenzeichen 08-067). Jede Patientin wurde nur für einen Behandlungszyklus in die Studie eingeschlossen. Zusätzlich erfolgte eine prospektive Registrierung bei der internetbasierten Studienregistrierung »Clinical Trials« (NCT 00835523).

2.1 Patientinnenkollektiv

Alle Patientinnen wurden mit einem Antagonistenprotokoll stimuliert und erhielten als Gonadotropin Menogon®, Gonal-F® oder Puregon® und als Antagonist Cetrotide® oder Orgalutran®. Die Stimulation wurde per Ultraschall überwacht. Die Stimulationsdauer und -dosis richtet sich nach dem Ansprechen der Ovarien auf die Überstimulation. Sobald drei Follikel einen Durchmesser von 17-19 mm erreicht hatten, erfolgte die Induktion der Eizellreifung zur IVF.

Die in die Studie eingeschlossenen Patientinnen mussten folgende Kriterien erfüllen:

- Indikation für IVF oder ICSI,
- Alter $\leq$ 39 Jahre,
- $\leq$ 3 vorherige fehlgeschlagene IVF Versuche,
- $\geq$ 20 Follikel mit einem Durchmesser $\geq$ 11 mm oder E2 $\geq$ 4500 pg/ml am Tag der Induktion der Eizellreifung zur IVF,
- keine vorherige Induktion der Eizellreifung zur IVF mit einem GnRH-Agonisten,
- unterschriebene Einverständniserklärung.

2.2 Studienprotokoll

Die Patientinnen wurden am Tag der Induktion der Eizellreifung zur IVF in die Studie eingeschlossen. An diesem Tag erfolgte ein transvaginaler Ultraschall um die Follikelzahl zu bestimmen. Zusätzlich wurden die Hormonwerte von LH, Progesteron und E2 bestimmt. Danach erfolgte die Induktion der Eizellreifung zur IVF mit einem GnRH-Agonisten (Triptorelin® 0,2 mg s.c.). Das Triptorelin® wurde den Studienteilnehmern, durch Drittmittel finanziert, zur Verfügung gestellt.

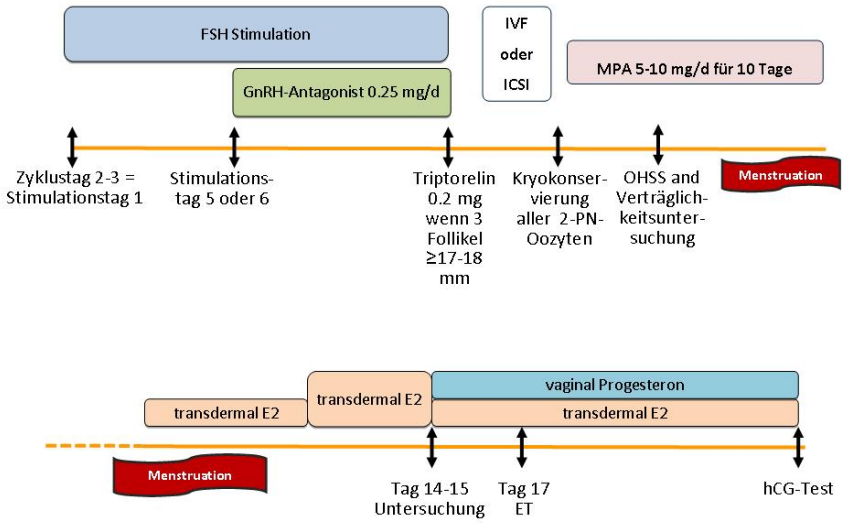

Abbildung 2.1: Studienprotokoll als Flussdiagramm

Die Registrierung der Patientinnen erfolgte über ein Telefonregistrierungssystem, welches sich in Lübeck befand und Montag bis Freitag von 8-16 Uhr besetzt war. Außerhalb der Telefonzeiten erfolgte die Registrierung mittels Fax oder Email.
32-36 Stunden nach Triptorelin-Gabe erfolgte die Follikelpunktion, welcher sich eine In-vitro-Fertilisation oder intrazytoplasmatische Spermieninjektion anschloss. Alle Oozyten im 2-PN-Stadium wurden anschließend nach dem Standard des jeweiligen Zentrums kryokonserviert. Dabei benutzte Zentrum 3 die Vitrifikation, während die übrigen Zentren das »slow-cooling« Verfahren anwendeten.
Orales Medroxyprogesteronacetat (MPA 5-10 mg/d) wurde für die darauffolgenden 10 Tage eingenommen, damit es nicht zu einer Durchbruchsblutung kommt.
3-5 Tage nach der Follikelpunktion stellten sich die Patientinnen zur Kontrolluntersuchung auf Symptome für ein OHSS im Zentrum vor. Dabei wurden folgende Untersuchungen durchgeführt:

- Befragung,
- körperliche Untersuchung,
- ggf. Hämatokritbestimmung,
- ggf. transvaginaler Ultraschall für Bestimmung der Ovariengröße und Aszitesmenge.

Nach dem Standard des jeweiligen Zentrums erfolgte dann im Intervall die Embryonenübertragung. Der Zeitpunkt für die Embryonenübertragung wurde individuell festgelegt. Die Vorbereitung der Patientin auf den Embryonentransfer unterschied sich in den einzelnen Zentren.
Im Zentrum 1 erfolgte die Vorbereitung mit Clomifen, wobei eine Patientin zusätzlich noch ein orales Östrogen (Merimono®) und vaginales Progesteron (Utrogest®) erhielt.
Im Zentrum 2 erhielten die Patientinnen ab dem ersten Zyklustag für 14 Tage orales Östrogen (Estrifam®), gefolgt von vaginalen Progesteron (Utrogest®) ab dem 15. Zyklustag. Die Embryonenübertragung erfolgte am dritten Tag der Progesterongabe.
In Zentrum 3 erhielten die Patientinnen ab dem ersten Zyklustag für 14 Tage transdermale Östrogenpflaster (Estraderm TTS 100®) oder orales Östrogen (Progynova®), gefolgt von vaginalen Progesteron (Crinone 8%® oder Utrogest®) ab dem 15. Zyklustag. Die Embryonenübertragung erfolgte am dritten Tag der Progesterongabe.

Zentrum 4 bereitete seine Patientinnen ähnlich vor wie Zentrum 2 mit oralen Östrogen (Estradiol 2 mg) ab dem ersten Zyklustag und vaginalen Progesteron (Utrogest®) ab dem 15. Zyklustag. Die Embryoübertragung erfolgte am dritten Tag der Progesterongabe. Danach wurde zusätzlich alle zwei Tage Progesteron Depot intramuskulär gespritzt. Zentrum 5 nahm ähnlich wie Zentrum 2 und 4 ein orales Östrogen (Progynova®) und ein vaginales Progesteron (Utrogest®). Auch hier erfolgte die Embryonenübertragung am dritten Tag der Progesterongabe.
Die Lutealphasenunterstützung wurde entsprechend des Standards der einzelnen Zentren bei Eintreten einer Schwangerschaft bis zur 10. bzw. 12. Schwangerschaftswoche fortgeführt.
Bei dem Studienprotokoll handelt es sich um ein bewährtes Protokoll [27, 32, 33, 46] und die durchgeführten Untersuchungen entsprechen den Routinemaßnahmen. Es sollte im Rahmen dieser Studie nur beobachtet werden, wie der Ausgang bei Benutzung des Protokolls ist. Es wurden keine zusätzlichen Interventionen durchgeführt.

2.3 Daten

Nach dem Einschluss in die Studie wurde jede Patientin mit einer Identifikationsnummer pseudonymisiert. Während des Follow-up wurden diverse Daten erfasst und in SPSS® (Version 16.0 German) eingegeben. Die Datengewinnung erfolgte aus der Patientenakte, den Laborwerten aus der Labordatenbank des jeweiligen Zentrums und RecDate Advanced® / Filemaker Pro®. Beim RecDate Advanced® handelt es sich eine relationale Datenbank auf der Basis von Filemaker Pro®, in der alle Daten der Inferitiltätstherapie gespeichert werden.
Als möglicher Behandlungsausgang wurden sechs verschiedene Ausgänge definiert:

- negativer Schwangerschaftstest,
- positiver Schwangerschaftstest, aber keine Fruchthöhle mit Herzaktion,
- Frühabort (vor 12. SSW, Fruchthöhle aber keine Weiterentwicklung),
- Abort 12. - 24. SSW,
- Todgeburt,
- Lebendgeburt.

Dabei wird bei jeder Patientin nur der maximal erreichte Behandlungsausgang registriert, d.h. wenn eine Patientin im FRET-Zyklus 1 einen negativen Schwangerschaftstest und in FRET-Zyklus 2 einen Frühabort hat, dann wird nur der Frühabort in der Auswertung berücksichtigt. Somit taucht jede Patientin in der Auswertung nur einmal auf, so dass eine Verzerrung durch mehrmaliges Auftauchen vermieden wird.
Als primäre Messgröße wurde außerdem noch die Inzidenz für ein schweres OHSS erhoben.
Außerdem wurden folgende sekundären Messgrößen bestimmt:

- Stimulationstage,
- kumulative Stimulationsdosis,
- Anzahl der Follikel mit einem Durchmesser $\geq 11\,\mathrm{mm}$ vor Induktion der Eizellreifung zur IVF,
- Anzahl der Kumulus-Oozyten Komplexe,
- Anzahl der M-II Oozyten,
- Anzahl der degenerierten Oozyten,
- Anzahl der inseminierten Oozyten,
- Anzahl der injizierten Oozyten,
- Fertilisationsrate,
- Anzahl der 2-PN-Oozyten vor Kryokonservierung,
- Überlebensrate aller kryokonservierten 2-PN-Oozyten,
- Anzahl der transferierten Embryonen pro ET,
- kumulierter Embryoscore,
- kumulative Lebendgeburten pro FRET-Zyklus,
- Zeit von Follikelpunktion bis zum positiven Schwangerschaftstest (»time to conception«).

Die Fertilisationsrate und die Überlebensrate sind wie folgt definiert:

- Fertilisationsrate = Anzahl der 2-PN-Oozyten/Anzahl der Kumulus-Oozyten Komplexe,
- Überlebensrate = Anzahl der vitalen Embryonen nach Auftauen/Anzahl der aufgetauten Eizellen im 2-PN-Stadium.

Die »time to conception« wird bestimmt um die zeitliche Verzögerung zwischen Follikelpunktion und Schwangerschaftsbeginn zu veranschaulichen.
Zusätzlich werden noch folgende Variablen erfasst:

- Alter,
- BMI,
- Zykluslänge und -dauer,
- vorherige Schwangerschaften und Geburten,
- Anzahl der vorherigen IVF-Zyklen,
- Grund für Infertilität,
- PCOS
- E2, LH, Progesteron vor Induktion der Eizellreifung zur IVF,
- Hämatokrit 3-5 d nach Induktion der Eizellreifung zur IVF,
- Ovargröße 3-5 d nach Induktion der Eizellreifung zur IVF,
- Anzahl der Mehrlingsschwangerschaften.

2.4 OHSS Inzidenz

Der Schweregrad eines aufgetretenen OHSS wird nach der Klassifikation von Golan [25] bestimmt. Dabei wird besonders auf das Auftreten von mäßigen bis schweren OHSS geachtet. Als Zeichen für eine Hämokonzentration wird ein Hämatokritwert von über 45% gewertet.

2.5 Embryoscore

Um die Qualität der zu transferierenden Embryonen zu bestimmen ist es relevant, dass ein einheitliches Scoresystem benutzt wird. Der seit vielen Jahren gebräuchliche kumulierte Embryoscore wurde auch in dieser Arbeit bestimmt [58].
Zunächst einmal muss zur Ermittlung des kumulierten Embryoscores jeder einzelne Embryo qualitativ beurteilt werden. Dafür wird zunächst die Anzahl der Blastomeren bestimmt (z.B. 4-Zeller). Danach erfolgt die Bestimmung der prozentualen Fragmentation um dann eine der folgenden Einteilungen zu machen:

- altes System
  - ideal 0% Fragementation,
  - schön bis 20% Fragmentation,
  - unregelmäßig > 20% Fragmentation.
- neues System
  - A 0% Fragmentation,
  - B bis 20% Fragmentation,
  - C bis 50% Fragmentation,
  - D > 50% Fragmentation.

Zur Berechnung des kumulierten Embryoscores werden folgende Zahlenwerte vergeben:

- ideal = 4,
- schön = 3,
- unregelmäßig = 1,5,
- A = 4,
- B = 3,
- C = 2,
- D = 1.

Die 1,5 für unregelmäßig wurde gewählt unter der Berücksichtigung, dass im neuen System unregelmäßig in C und D unterteilt ist.
Berechnet wird der kumulierte Embryoscore dann als Summe der Produkte aus Anzahl der Blastomeren und dem Zahlenwert für die Fragmentation (z.B. 4-Zeller A und 3-Zeller B = 4 x 4 + 3 x 3 = 25).

2.6 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe von SPSS®. Zunächst wurden die verschiedenen Messgrößen im Rahmen der deskriptiven Statistik zunächst als Kollektiv, dann aufgeschlüsselt nach Zentren und anschließend aufgeschlüsselt nach Kryokonservierungsverfahren analysiert. Dabei wurde als Lagemaß bei der Betrachtung aller Patientinnen und der Aufschlüsselung nach Kryokonservierungsmethode der Mittelwert und bei der Aufschlüsselung nach Zentren der Median benutzt, da einige Zentren nur sehr wenig Patientinnen eingeschlossen haben. Der Mittelwert könnte dann durch Ausreißer stark beeinflusst werden. Als Streuungsmaße dienten beim Mittelwert die Standardabweichung und beim Median der Quartilsabstand.
Als statistischer Test wurde bei der Unterscheidung nach Kryokonservierungsmethode der U-Test nach Mann-Whitney bzw. der exakte Test nach Fisher durchgeführt um das Signifikanzniveau α zu bestimmen. Die Werte unterscheiden sich signifikant wenn $\alpha \leq 0{,}05$ ist.
Für die einzelnen FRET-Versuchsränge wurde zum einen die Lebendgeburtenrate und zum anderen das 95% Konfidenzintervall bestimmt. Zusätzlich erfolgte auch hier eine Unterscheidung nach angewandter Kryokonservierungsmethode.
Zur Veranschaulichung der Zunahme der kumulativen Lebendgeburtenrate über die Zeit wurden Kaplan-Meier-Kurven erstellt. Des Weiteren wurden für die IVF-Indikation und den IVF-Versuchsrang Kreisdiagramme erstellt. Die Anzahl der kryokonservierten Oozyten und die Relation zwischen Anzahl der Lebendgeburten und Anzahl der kryokonservierten Oozyten wurde jeweils in einem Balkendiagramm grafisch veranschaulicht.

Kapitel 3

Ergebnisse

Insgesamt wurden über einen Zeitraum von einem Jahr 51 Patientinnen mit einem erhöhten Risiko, ein OHSS zu entwickeln, in die Studie eingeschlossen. Sie wurden alle mit einem Antagonistenprotokoll stimuliert und erhielten Triptorelin® zur Induktion der Eizellreifung zur IVF. Ursprünglich war es geplant, 100 Patientinnen in die Studie einzuschließen. Es war aber sehr schwierig, vor allem in den externen Zentren, geeignete Patientinnen zu finden. Daher entschieden wir uns, die Rekrutierung im Juni 2009 bei einem Rekrutierungsstand von 51 Patientinnen zu beenden.
Die Rekrutierung in den einzelnen Zentren war sehr unterschiedlich, so dass sich folgendes Muster ergab:

- Zentrum 1: 8 Patientinnen,
- Zentrum 2: 6 Patientinnen (bei einer Patientin konnten keine Oozyten gewonnen werden),
- Zentrum 3: 31 Patientinnen,
- Zentrum 4: 3 Patientinnen (bei einer Patientin überlebte keine Oozyte das Auftauen),
- Zentrum 5: 3 Patientinnen (bei einer Patientin erfolgte bisher kein ET).

Bei einer Patientin konnten trotz sonografischen Nachweises von 30 Follikeln keine Eizellen mittels Follikelpunktion gewonnen werden, so dass dieser Fall nur in der demografischen Auswertung und beim Behandlungsausgang berücksichtigt worden ist. Bei den verbleibenden 50 Patientinnen wurden alle 2-PN-Oozyten kryokonserviert. Bei einer

Patientin ist bisher keine Embryonenübertragung durchgeführt worden, da die Kryokonservierung zum Fertilitätserhalt bei geplanter Ovarektomie erfolgte und somit der Kinderwunsch des Paares zum Zeitpunkt der Kryokonservierung noch nicht bestand. Einer weiteren Patientin konnten nach dem Auftauen keine Eizellen transferiert werden, da keine der neun aufgetauten Oozyten das Auftauen überlebt hat. Diese beiden Patientinnen sind in der Auswertung nur dort nicht berücksichtigt worden, wo Einschränkungen vorlagen wie z.B. mindestens eine Embryonenübertragung.

3.1 Patientinnenkollektiv

In Tabelle 3.1 sind die demografischen Charakteristika aller 51 Patietinnen aufgeschlüsselt nach dem jeweiligen Zentren dargestellt.

Tabelle 3.1: Median und Quartilsabstand bzw. Raten der demografischen Parameter für jedes Zentrum

	Zentrum 1	Zentrum 2	Zentrum 3	Zentrum 4	Zentrum 5
Alter	35 ± 5.8	34 ± 9.3	31 ± 6	30 ± 6.0	36 ± 5.8
Gewicht (kg)	60.0 ± 8.3	72.0 ± 45.5	65.0 ± 15.0	63.0 ± 24.0	57.0 ± 8.3
BMI (kg/m^2)	22.1 ± 7.2	25.0 ± 13.4	22.2 ± 3.8	23.7 ± 4.8	20.3 ± 7.2
Zykluslänge (Tage)	30 ± 47	40 ± 51.5	31.8 ± 7.0	29 ± 0	49 ± 47
IVF Versuch	3 ± 0.8	1 ± 0.3	1 ± 1	1 ± 1	2 ± 0.8
vorangegangene Schwangerschaften[1](%)	62.5	33.3	29.0	33.3	33.3
vorangegangene Geburten[2](%)	25.0	16.7	22.6	33.3	0

[1] prozentualer Anteil der Patientinnen, die mind. einmal schwanger waren
[2] prozentualer Anteil der Patientinnen, die mind. eine Geburt hatten

Bei Zusammenfassung aller Patientinnen sind die Patientinnen im Durchschnitt 33 Jahre alt und haben einen durchschnittlichen BMI von 24 kg/m^2.

26, 13, 11 Patientinnen bzw. eine Patientin haben ihren ersten, zweiten, dritten bzw. vierten IVF Versuch (Abb. 3.1). Die IVF-Indikation (Abb. 3.2) lag bei 17 Paaren bei beiden Partnern, bei 6 Paaren bei der Frau und bei den übrigen 28 Paaren beim Mann. Bei 32 Patientinnen lag ein irregulärer Zyklus vor und 18 von ihnen hatten laut behandelnden Arzt ein PCOS.

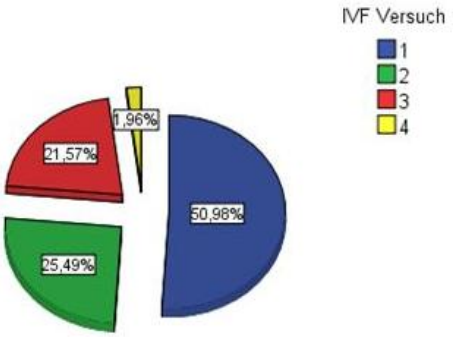

Abbildung 3.1: Kreisdiagramm zum IVF-Versuchsrang einschließlich aller vorangegangener Versuche in relativen Zahlen

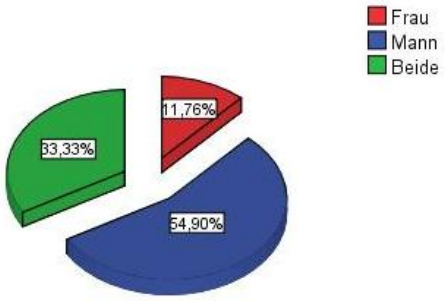

Abbildung 3.2: Kreisdiagramm zur IVF-Indikation aller teilnehmender Paare in relativen Zahlen

3.2 Stimulations-, IVF und Kryokonservierungsresultate

Im Durchschnitt wurden die Patientinnen 10 Tage mit FSH oder HMG stimuliert, wobei die mittlere Gesamtstimulationsdosis bei rd. 2100 I.E. lag. Am Tag der Induktion der Eizellreifung zur IVF konnten sonografisch im Durchschnitt 25 Follikel (Minimum 10, Maximum 40) mit einem Durchmesser größer 10 mm nachgewiesen werden. Der mittlere E2-Wert zu diesem Zeitpunkt war rd. 4700 pg/ml. Der nach 3-5 Tagen bestimmte Hämatokrit-Wert lag im Durchschnitt bei 37%. Im Zentrum 1 wurde dieser Wert nicht erhoben. Tabelle 3.2 stellt wichtige Stimulationsdaten unterteilt nach den einzelnen Zentren dar.

Tabelle 3.2: Median und Quartilsabstand der Stimulationsdaten für jedes Zentrum

	Zentrum 1	Zentrum 2	Zentrum 3	Zentrum 4	Zentrum 5
Stimulationstage	9.0 ± 1.8	8.5 ± 11.5	10.0 ± 2.0	12.0 ± 2.0	10.0 ± 2.0
gesamte Stimulationsdosis (I.E.)	2251.0 ± 681.4	1275.0 ± 2678.1	2025.0 ± 526.0	1800.0 ± 562.6	2025.0 ± 475.0
E2 (pg/ml)	2572.0 ± 1796.3	5985.5 ± 3115.8	4944.0 ± 1681.0	3310.0 ± 8468.0	5065.7 ± 7376.0
Progesteron (ng/ml)	0.8 ± 0.4	1.1 ± 1.3	1.5 ± 1.0	NA	1.2 ± 0.3
Hämatokrit (%)	NA	36.0 ± 4.3	37.0 ± 37.0	36.0 ± 5	38.0 ± 1.4

Durch die Follikelpunktion konnten durchschnittlich 20 Kumulus-Oozyten-Komplexe (Minimum 0, Maximum 54) gewonnen werden, von denen mit einer Fertilisationsrate von 60% im Durchschnitt 10 2-PN-Oozyten kryokonserviert werden konnten. Abb. 3.3 stellt die Verteilung der kryokonservierten 2-PN-Oozyten dar. Die meisten Patientinnen haben dabei 7-12 2-PN-Oozyten kryokonserviert. 76% der Patientinnen führten dabei eine ICSI-Behandlung durch.

Insgesamt wurden 117 FRET-Zykeln durchgeführt mit einem mittleren kumulierten Em-

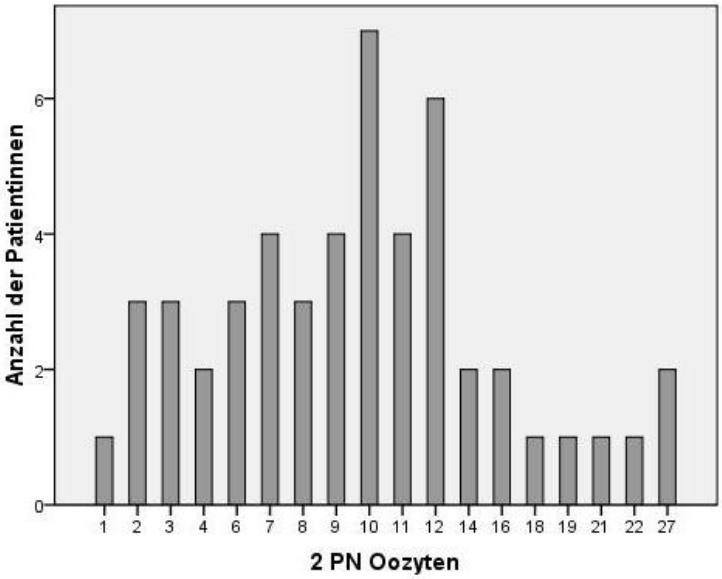

Abbildung 3.3: Balkendiagramm zur Häufigkeit der kryokonservierten 2-PN-Oozyten pro Patientin

bryoscore pro FRET von 23 und einer mittleren Überlebensrate aller kryokonservierten 2-PN-Oozyten von 96,6%. Im Mittel führte jede Patientin zwei Embryonenübertragungen durch. Eine detaillierte Aufschlüsselung der IVF- und Kryokonservierungsresultate nach den einzelnen Zentren ist in Tabelle 3.3 dargestellt.

Tabelle 3.3: Median und Quartilsabstand der IVF und Kryokonservierungsresultate für jedes Zentrum

	Zentrum 1	Zentrum 2	Zentrum 3	Zentrum 4	Zentrum 5
COC	18.0 ± 10.3	20.5 ± 26.0	20.0 ± 8.0	13.0 ± 10.0	17.0 ± 26.0
Degenerierte	0	1 ± 5	1 ± 2	0	0 ± 3
MII	15.5 ± 11.3	11.0 ± 20.5	17.0 ± 7.0	12.0 ± 1.0	14.0 ± 25.0
Inseminierte	14.0 ± 5.5	5.0 ± 3.0	0	12.0 ± 0	22.5 ± 25
Injizierte	10.5 ± 22.8	9.0 ± 25.5	17.0 ± 7.0	11.5 ± 1.0	14.0 ± 0
2 PN	10 ± 6	7 ± 14	10 ± 6	9 ± 5	8 ± 20
Fertilisationsrate (%)	63.3 ± 26.8	60.2 ± 50.1	63.6 ± 27.0	75.0 ± 38.6	62.8 ± 65.7
Überlebensrate (%)	100	100 ± 18.3	100	66.7 ± 100	100
transferierte Embryonen	3 ± 1	2	2	2	2 ± 1
kumulierter Embryoscore	19.5 ± 14.8	22.0 ± 16.0	24 ± 10	30.0 ± 16.5	46.0 ± 28.0

3.3 Unterscheidung nach Kryokonservierungsmethode

In Tabelle 3.4 ist das Patientenkollektiv nach der benutzten Kryokonservierungsmethode unterschieden worden. Dabei fällt auf, dass im Bezug auf Alter, BMI, Stimulationstage, -dosis, E2, Kumulus-Oozyten-Komplexe und kryokonservierten 2-PN-Oozyten kein signifikanter Unterschied zu beobachten ist. Allerdings unterscheidet sich die Überlebensrate signifikant bei den beiden Gruppen.

Tabelle 3.4: Mittelwert und Standardabweichung einiger ausgewählter Parameter aufgeschlüsselt nach Kryokonservierungsverfahren

	Slow cooling	Vitrifikation	Signifikanzniveau α
Alter	33.6 ± 4.6	32.2 ± 3.7	0.25
BMI	25.6 ± 6.3	23.3 ± 3.7	0.52
Stimulationstage	10.2 ± 3.0	9.9 ± 1.4	0.44
Stimulationsdosis	2226.1 ± 920.0	2107.2 ± 454.2	0.95
E2	4336.7 ± 2521.0	4744.7 ± 1897.7	0.42
COC	19.9 ± 10.3	20.7 ± 8.6	0.35
2 PN	9.8 ± 6.5	10.0 ± 5.3	0.74
Überlebensrate (%)	90.5 ± 24.5	100	0.01
kum. Embryoscore	22.9 ± 8.8	24.0 ± 10.9	0.84

Bei den »slow-cooling« Patientinnen lag bei 5 Paaren die IVF-Indikation bei der Frau, bei 4 Paaren beim Mann und bei 11 Paaren bei beiden Partnern. Bei den Vitrifikationspatientinnen lag die IVF-Indikation bei einem Paar bei der Frau, bei 24 Paaren beim Mann und bei 6 Paaren bei Beiden.

Von den 117 durchgeführten FRET-Zyklen wurde bei 83 FRET-Zyklen die Vitrifikation als Kryokonservierungsmethode und bei den übrigen 34 FRET-Zyklen die »slow-cooling« Methode benutzt. Die einzigen Verluste durch das Auftauen konnten beim »slow-cooling« Verfahren bei 4 verschiedenen Auftauversuchen festgestellt werden. In den jeweiligen Zentren sahen in jeweils einem Auftauversuch die Verluste wie folgt aus:

- Zentrum 2: 75% der Eizellen haben überlebt,
- Zentrum 2: 50% der Eizellen haben überlebt,
- Zentrum 4: 50% der Eizellen haben überlebt,
- Zentrum 4: keine Eizelle hat überlebt.

3.4 Behandlungsausgang und -dauer der einzelnen Patientinnen

Von den 51 in die Studie eingeschlossenen Patientinnen haben 48 mindestens einen FRET-Zyklus durchgeführt. Bei 15 Patientinnen wurde nur ein, bei 13 Patietinnen 2, bei 10 Patientinnen 3, bei 7 Patientinnen 4, bei einer Patientin 5, bei einer Patientin 6 und einer Weiteren sogar 7 FRET-Zyklen durchgeführt. Der Mittelwert der FRET-Zyklen pro Patientin liegt bei 2,4 (SD 1,4). Im Rahmen eines FRET-Zyklus wurden im Durchschnitt 2,2 (SD 0,5) Embryonen transferiert. Die Initierung der FRET-Zyklen erfolgte 2 bis 83 Wochen nach Agonistengabe.

Tabelle 3.5: maximal erreichter Behandlungsausgang aller Patientinnen aufgeschlüsselt nach Kryokonservierungsverfahren

	Slow cooling	Vitrifikation
Schwangerschaftstest negativ	15 / 20	9 / 31
Schwangerschaftstest positiv	1 / 20	6 / 31
Frühabort	1 / 20	0 / 31
Lebendgeburt	3 / 20	16 / 31

Hinsichtlich des maximal erreichten Behandlungsausgangs jeder einzelnen Patientin erfolgte auf Grund der sehr unterschiedlichen Rekrutierungserfolge eine Aufschlüsselung nach Kryokonservierungsverfahren und nicht nach Zentrum. Der maximal erreichte Behandlungsausgang aller Patientinnen ist in Tabelle 3.5 dargestellt. Dabei wurden auch die Patientinnen berücksichtigt, bei denen kein FRET-Zyklus erfolgt ist. Es fällt besonders auf, dass die Lebendgeburtenzahl in der Gruppe der vitrifizierten Oozyten höher ist als in der Gruppe der »slow-cooling« Oozyten. Die kumulative Schwangerschaftsrate liegt bei 52,9% (27/51 95 % KI: [38,5; 67;1]) und die kumulative Lebendgeburtenrate liegt bei 37,3%(19/51, 95% KI: [24,1; 51,9 %]).

Im Durchschnitt liegt die Zeit von Induktion der Eizellreifung zur IVF bis zum positiven Schwangerschaftstest der zu einer Lebendgeburt führt bei 25 Wochen (SD 22,0), wobei die geringste Zeit bei 4 Wochen und die höchste Zeit bei 85 Wochen liegt. Der Anstieg der kumulativen Lebendgeburtenrate im Verlauf der Zeit ist in einer Kaplan-Meier-Kurve (Abb. 3.4) grafisch dargestellt.

Eine Aufschlüsselung der Lebendgeburtenrate nach Kryokonservierungsmethode und

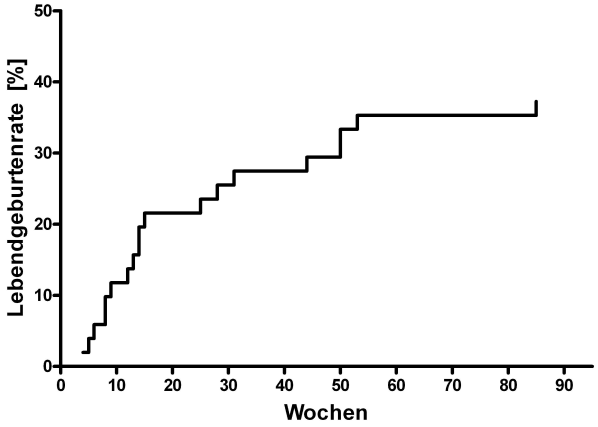

Abbildung 3.4: Kaplan-Meier-Kurve der kumulativen Lebendgeburtenrate betrachtet über die Zeit von Induktion der Eizellreifung zur IVF bis zum positiven Schwangerschaftstest der zu einer Lebendgeburt führt

FRET-Versuchsrang ist in Tabelle 3.6 dargestellt. Es fällt auf, dass die 95% Konfidenzintervalle sehr groß sind. Betrachtet man alle Patientinnen zusammen, dann sind die 95% Konfidenzintervalle bereits deutlich kleiner. Ermittelt man für die Lebendgeburtenrate pro ersten FRET-Zyklus unterschieden nach Kryokonservierungsmethode im Rahmen des exakten Tests nach Fisher das Signifikanzniveau α, dann erhält man einen Wert von 0,125. Es liegt somit kein signifikanter Unterschied vor.

Tabelle 3.6: Lebendgeburtenrate in Prozent mit absoluten Zahlen in Klammern und 95% Konfidenzintervall (KI) zu der Lebendgeburtrate aufgeschlüsselt nach FRET-Versuchsrang und Kryokonservierungsmethode bzw. für alle Patientinnen

FRET	slow cooling		Vitrifikation		Gesamt	
	Geburtenrate	95% KI	Geburtenrate	95% KI	Geburtenrate	95% KI
1	5.9 (1/17)	[0.1; 28.7]	19.4 (6/31)	[7.5; 37.5]	14.6 (7/48)	[6.1; 27.8]
2	8.3 (1/12)	[0.2; 38.5]	9.5 (2/21)	[1.2; 30.4]	9.1 (3/33)	[1.9; 24.3]
3	0 (0/3)	[0.0; 70.8]	29.4 (5/17)	[10.3; 56.0]	25.0 (5/20)	[8.7; 49.1]
4	50.0 (1/2)	[1.3; 98.7]	37.5 (3/8)	[8.5; 75.5]	40.0 (4/10)	[12.2; 73.8]
5	0	NA	0 (0/3)	[0.0; 70.8]	0 (0/3)	[0.0; 70.8]
6	0	NA	0 (0/2)	[0.0; 84.2]	0 (0/2)	[0.0; 84.2]
7	0	NA	0 (0/1)	[0.0; 97.5]	0 (0/1)	[0.0; 97.5]

Außerdem veranschaulicht Abbildung 3.5, dass nach dem 4. FRET-Zyklus bei keiner Patientin mehr eine Schwangerschaft oder Lebendgeburt aufgetreten ist.

Das Balkendiagramm in Abb. 3.6 stellt die Relation zwischen Anzahl der Lebendgebur-

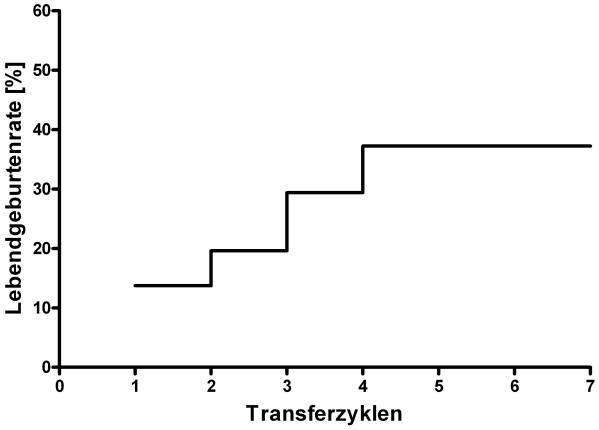

Abbildung 3.5: Kaplan-Meier-Kurve der kumulativen Lebendgeburtenrate betrachtet über die Anzahl der FRET-Zyklen

ten und gewonnenen Oozyten nach Follikelpunktion dar. Das Maximum an gewonnenen Oozyten liegt bei 54 Oozyten. Dies wurde von einer Patientin erreicht, welche im Verlauf der Studie auch einen gesunden Einling zur Welt brachte. Die restlichen Lebendgeburten verteilen sich über eine Breite von 10 bis 28 gewonnene Oozyten.

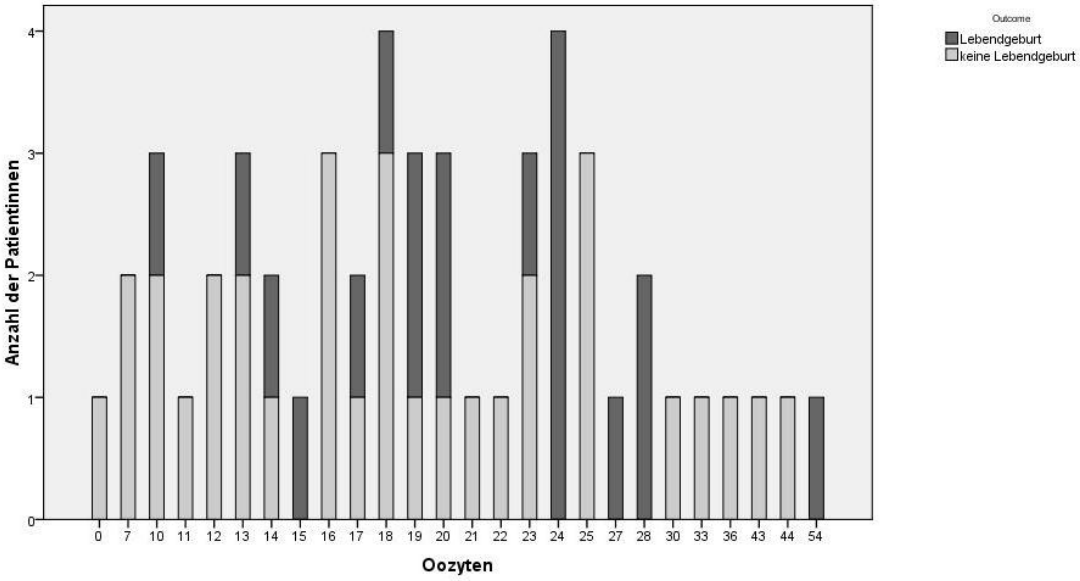

Abbildung 3.6: Balkendiagramm zur Relation zwischen gewonnenen Oozyten nach Follikelpunktion und Anzahl der Lebendgeburten bezogen auf alle Patientinnen mit der gleichen Anzahl gewonnener Oozyten betrachtet über alle FRET Versuche

Bei fünf Patientinnen kam es nach der Embryonenübertragung zu einer Zwillingsschwangerschaft. Drei Patientinnen haben im Verlauf der Studie Zwillinge entbunden. Bei den

beiden anderen Patientinnen konnte bei der Kontrolle nur noch eine Fruchthöhle nachgewiesen werden, so dass von einem »vanishing twin« auszugehen ist. Diese Patientinnen brachten im weiteren Verlauf Beide einen gesunden Einling zur Welt.
Nach Abschluss der »Follow-up« Periode hatten noch 30 Patientinnen durchschnittlich 7,7 2-PN-Oozyten (SD 5,9; Spannweite 1-22) kryokonserviert. Wobei bei einer Patientin bisher kein FRET-Zyklus durchgeführt worden ist. Von diesen 30 Patientinnen hatten 15 Frauen eine Lebendgeburt.

3.5 OHSS Inzidenz

Ein leichtes OHSS entwickelten sechs Patientinnen. Von diesen sechs Patientinnen musste eine für drei Tage stationär überwacht werden. Bei ihr wurden 36 Kumulus-Oozyten-Komplexe gewonnenen, so dass die Ovarien stark vergrößert waren und Bauchschmerzen auslösten. Eine Aszitesbildung konnte nicht nachgewiesen werden.
Im Verlauf der Studie kam es bei einer Patientin zur Entwicklung eines schweren OHSS. Dabei handelte es sich um eine 30 jährige Patientin (63 kg, BMI 23,7 kg/m^2) mit einer sekundären Amenorrhoe, PCOS und Endometriose I°. Im Rahmen der Studie erfolgte ihre erste ovarielle Stimulationsbehandlung mit 150 I.E. rekombinanten FSH über 12 Tage. Am Tag der Induktion der Eizellreifung zur IVF lag ihr E2-Spiegel bei 13041 pg/ml. Es konnten 13 Kumulus-Oozyten-Komplexe gewonnenen werden, von denen schließlich 4 2-PN-Oozyten kryokonserviert worden sind. Zwei Tage nach der Gabe von Triptorelin® stellte sich die Patientin mit starken Bauchschmerzen und -spannen stationär vor. Bei der sonografischen Kontrolle fielen massiv vergrößerte Ovarien (rechts 363 cm^2 und links 261 cm^2) sowie eine starke Aszitesbildung auf. Daraufhin erfolgte die stationäre Aufnahme. Sie erhielt dann niedermolekulares Heparin, Cabergolin (0,5 mg/Tag) und eine intravenöse Therapie einschließlich Albumin. Am dritten und vierten Tag nach Triptorelingabe erfolgte auf Grund von Aszites und einer subakuten intraperitonealer Blutung jeweils die Punktion von 2,9 bzw. 1,0 Liter blutiger Aszites. Bei einem kontinuierlichen Hb-Abfall auf 7,73 g/dl erfolgte zusätzlich die Gabe von zwei Erythrozytenkonzentraten. Der Hämatokritwert lag am Tag der Induktion der Eizellreifung zur IVF bei 41%, bei 37% am Tag der Follikelpunktion und unter 35% während der Infusionstherapie. Insgesamt wurde die Patientin sechs Tage stationär behandelt und überwacht. Acht Wochen nach der Follikelpunktion erfolgte dann die erste Embryonenübertragung, welche zu

einer biochemischen Schwangerschaft führte.

Kapitel 4

Diskussion

Das schwere Überstimulationssyndrom kommt zwar mit einer Inzidenz von 0,7% relativ selten vor [11]. Trotzdem ist es die häufigste schwerwiegende Nebenwirkung der Stimulationsbehandlung. Daher ist es von enormer Wichtigkeit, innovative Stimulationsmethoden zu entwickeln um das Risiko eines schweren OHSS zu minimieren.
Die Einführung des Antagonistenprotokolls ermöglichte, auf hCG als ovulationsauslösendes Medikament zu verzichten und stattdessen einen GnRH-Agonisten, der durch eine vorzeitige Luteolyse das Entstehen eines OHSS verhindert, zu verwenden. Dadurch fällt hCG als Auslöser für ein »early-onset« OHSS weg. In verschiedenen Studien konnte inzwischen gezeigt werden, dass die Induktion der Eizellreifung zur IVF mit einem GnRH-Agonisten genauso gute Resultate im Bezug auf Eizellzahl, Eizellreife und Embryonalentwicklung liefert wie die Benutzung von hCG. Zusätzlich kann, das Risiko ein OHSS zu entwickeln, signifikant gesenkt werden [14, 18, 35, 40, 61].
Ein weiterer Schritt in der Optimierung der IVF-Behandlung bei Risikopatientinnen für ein OHSS ist die Kombination des Antagonistenprotokolls, der Induktion der Eizellreifung zur IVF mit einem GnRH-Agonisten und die elektiven Kryokonservierung aller 2-PN-Oozyten. Die Rationale dahinter ist zum einen, dass sich die Ovarien nach der Stimulationstherapie für einige Wochen erholen können und somit ein hCG Anstieg im Falle einer eintretenden Schwangerschaft kein OHSS auslösen kann. Außerdem wird das Problem der unzureichenden Lutealphasenunterstützung nach der massiven Luteolyse umgangen.
Des Weiteren kommt es bei Risikopatientinnen häufig zu einer sehr großen Anzahl von gewonnenen Oozyten, die ohne Kryokonservierung auf Grund der Richtlinien des Embryonenschutzgesetztes zum größten Teil verworfen werden müssen. Tritt nun bei diesen

Patientinnen nach der Embryonenübertragung keine Schwangerschaft ein, dann müssten sie sich einer nochmaligen Stimulationstherapie unterziehen. Eine Kryokonservierung hingegen würde weitere Embryonenübertragungen ohne erneute Stimulation und Eizellentnahme ermöglichen.
Mehrere Studien haben in den letzten Jahren zeigen können, dass die Resultate, bei Kombination des Antagonistenprotokolls mit Benutzung eines GnRH-Agonisten zur Induktion der Eizellreifung zur IVF und die elektive Kryokonservierung aller 2-PN-Oozyten, ähnlich gut sind wie bei Verwendung der altbewährten Verfahren. Allerdings konnte bisher kein Fall eines schweren OHSS beobachtet werden [27, 32, 46, 61].
Im folgenden soll nun analysiert werden, ob die Kombination aus Antagonistenprotokoll, GnRH-Agonist und elektiver Kryokonservierung aller 2-PN-Oozyten in der klinischen Anwendung Erfolg hat.

4.1 Patientinnenkollektiv

Bei der Auswertung der Studie fällt zunächst auf, dass im Zentrum 3 mit 31 rekrutierten Patientinnen deutlich mehr Patientinnen rekrutiert worden sind als in den anderen externen Zentren. Ein Grund dafür könnte sein, dass es sich beim Zentrum 3 um die Kinderwunschsprechstunde des UKSH Campus Lübeck (= Studienzentrale) handelt. Das Behandlungsprotokoll wird dort schon seit längerem bei Risikopatientinnen für ein OHSS angewendet. Außerdem sind dort für dieses Protokoll bereits die Machbarkeitsstudie [33] und eine weitere Studie mit längerem Nachbeobachtungszeitraum bezüglich des neonatalen Ausgangs [27] bei Risikopatientinnen durchgeführt worden.
Bei den vier externen Kliniken handelt es sich jeweils um Zentren, die dieses Protokoll zum ersten Mal anwenden. Die niedrigere Rekrutierungszahl lässt sich unterschiedlich erklären. Zum einen sind in diesen Zentren wahrscheinlich weniger Risikopatientinnen gesehen worden. Zum anderen fehlt vermutlich das Vertrauen in die sichere Prävention eines OHSS durch Benutzung eines GnRH-Agonisten bei starkem Ansprechen der Ovarien auf die Stimulationstherapie.
Ansonsten ist das Patientenkollektiv zwischen den einzelnen Zentren hinsichtlich Alter und BMI sehr ausgeglichen. Der Altersdurchschnitt von 33 Jahren belegt, dass junges Alter einen Risikofaktor für ein übermäßiges Ansprechen der Ovarien auf die Gonadotropine darstellt [10].

4.2 IVF Behandlung

Die Dauer der einzelnen Stimulationsbehandlungen ist zwischen allen Zentren sehr ähnlich. Hingegen zeigen sich bei den E2-Spiegeln am Tag der Induktion der Eizellreifung zur IVF sehr unterschiedliche Ergebnisse zwischen den einzelnen Zentren. Während in Zentrum 1 der Wert im Mittel bei 2572 pg/ml lag, erreichten die Frauen in Zentrum 2 einen mittleren Wert von 5986 pg/ml, obwohl im Zentrum 1 die mittlere Gesamtstimulationsdosis mit 2250 I.E. deutlich höher ausfiel als mit 1275 I.E. im Zentrum 2. An Hand dieser Beobachtung lässt sich vermuten, dass die Patientinnen in Zentrum 2 vermutlich stärker auf die Gonadotropinstimulation reagiert haben. Was sich auch an einer leicht höheren Zahl an gewonnenen Kumulus-Oozyten-Komplexen (Zentrum 1: 18, Zentrum 2: 21) nachweisen lässt. Allerdings ist zu berücksichtigen, dass die E2- Werte zwischen Patientinnen mit identischer Eizellzahl stark schwanken können. Insofern ist die Zahl der gewonnenen Follikel ein besserer Indikator für das Ansprechen auf die Stimulationsbehandlung.

Insgesamt haben alle Frauen auf die Stimulationsbehandlung sehr stark reagiert. Dieses wird deutlich, da im Mittel vor Induktion der Eizellreifung zur IVF 25 Follikel mit einem Durchmesser von mehr als 10 mm nachgewiesen werden konnten und jede Frau mindestens 10 Follikel mit einem Durchmesser von mehr als 10 mm hatte. Nach der Induktion der Eizellreifung zur IVF und Follikelpunktion konnten dann im Durchschnitt 20 Kumulus-Oozyten-Komplexe gewonnen werde. Sieht man von einer Patientin ab, bei der keine Kumulus-Oozyten-Komplexe gewonnen werden konnten, dann wurden bei jeder Frauen mindestens 7 Kumulus-Oozyten-Komplexe gewonnen. Von den im Durchschnitt 20 gewonnenen Kumulus-Oozyten-Komplexen konnten pro Patientin im Mittel 10 2-PN-Oozyten kryokonserviert werden, wobei die meisten Patientinnen 7-12 2-PN-Oozyten kryokonserviert hatten. Hätte man sich bei den Patientinnen gegen eine Kryokonservierung entschieden, dann hätten auf Grund des deutschen Embryonenschutzgesetzes nur maximal 3 2-PN-Oozyten für die weitere Behandlung zur Verfügung gestanden. Die übrigen Oozyten hätten verworfen werden müssen. Durch die Kryokonservierung ist es nun möglich, die überzähligen Oozyten zu einem späteren Zeitpunkt für eine erneute Embryonenübertragung zu benutzen.

Auch die Fertilisationsrate ist mit 60% im Durchschnitt keineswegs schlechter als der Durchschnittswert aus dem deutschen IVF Register (bei IVF 52,47% und ICSI 64,25%)

[52]. Dies zeigt, dass die gewonnenen Kumulus-Oozyten-Komplexe eine ähnlich gute Qualität und Entwicklungspotential haben, um erfolgreich befruchtet zu werden wie Eizellen nach Benutzung von hCG zur Induktion der Eizellreifung zur IVF.

4.3 Kryokonservierung und Embryoqualität

Als Kryokonservierungsmethode wurden sowohl das »slow-cooling« Verfahren als auch die Vitrifikation angewendet, so dass die Patientinnen nach der gewählten Kryokonservierungsmethode gruppiert worden sind. Dabei fällt auf, dass sich die beiden Gruppen hinsichtlich der demografischen Parameter wie Alter und BMI kaum unterscheiden. Auch die Stimulationsdauer und Gesamtdosis an Gonadotropinen zeigte keinen signifikanten Unterschied. Allerdings unterscheiden sich die beiden Gruppen im Bezug auf die Überlebensrate nach dem Auftauen signifikant. Während in der Vitrifikationsgruppe keine Verluste durch das Auftauen entstanden, musste in der »slow-cooling« Gruppe in drei FRET-Zyklen ein Verlust von Eizellen hingenommen werden und beim einem FRET-Zyklus sogar der Verlust aller neun Eizellen. Ein möglicher Grund für diese Beobachtung könnte sein, dass die ausgewählten Oozyten schon vor dem Einfrieren eine schlechtere Qualität als die anderen eingeforenen Eizellen hatten. Es ist aber auch möglich, dass durch das langsamere Einfrieren sich Eiskristalle gebildet haben, welche beim Auftauen zur Zerstörung der Eizellen geführt haben. Die Bildung von Eiskristallen ist bei der Benutzung der Vitrifikation so gut wie nicht möglich [2]. Der mögliche Verlust von Eizellen durch die Kryokonservierung bei Benutzung des »slow-cooling« Verfahren muss somit beim Aufklärungsgespräch mit berücksichtigt werden.

Der kumulierte Embryoscore lag im Durchschnitt bei 23, in Zentrum 5 lag er sogar im Mittel bei 46. Dieser doch deutlich höhere Score, hat aber nicht zu einer größeren Schwangerschaftsrate geführt. In besagtem Zentrum konnte nämlich keine Schwangerschaft nachgewiesen werden. So bestätigt sich die Beobachtung aus der Arbeit von Steer et al. [58], dass ein Score von mehr als 42 keinen Anstieg in der Schwangerschaftsrate bewirkt.

Ansonsten ist der mittlere Embryoscore mit 23 ein vergleichsweise guter Score. Außerdem verdeutlicht er, dass nach der Benutzung von des Antagonistenprotokolls und des GnRH-Agonisten zur Induktion der Eizellreifung zur IVF die Embryonen ein gutes Entwicklungspotential haben, so dass eine gute Schwangerschaftschance besteht.

4.4 Behandlungsausgang der einzelnen Patientinnen

4.4.1 Schwangerschafts- und Lebendgeburtenrate

Um bewerten zu können, ob ein Stimulationsprotokoll ein gutes Protokoll ist, spielt neben den aufgetretenen Nebenwirkungen die Schwangerschafts- bzw. Lebendgeburtenrate eine entscheidende Rolle. Im Durchschnitt werden bei ungestörter Ovarfunktion, das heißt die Ovarien sprechen gut auf die Stimulation an, circa 37% der Patientinnen schwanger und 24% der Patientinnen bringen schließlich ein gesundes Kind zur Welt [52].

Im Rahmen dieser Studie sind die kumulative Schwangerschafts- und Geburtenrate bestimmt worden, so dass ein direkter Vergleich mit den oben genannten Werten nicht zulässig ist. Um aber dennoch eine Aussage über die Qualität der Daten zu machen, wurde die Lebendgeburtenrate nach dem ersten FRET-Zyklus ermittelt. Diese lag bei 14,6% und liegt somit etwas unter dem obengenannten Wert von 24%. Die kumulative Schwangerschaftsrate von 53% und die kumulative Lebendgeburtenrate von 37% zeigen im weiteren Verlauf, dass durch die Möglichkeit mehrerer FRET-Behandlungszyklen nach lediglich einer Stimulationsbehandlung sehr gute Chancen für eine Schwangerschaft bzw. Geburt bestehen.

Eine weitere Beobachtung ist, dass auf Grund der Kryokonservierung sich das Eintreten einer Schwangerschaft, die zu einer Lebendgeburt führt, im Mittel um 26 Wochen nach Induktion der Eizellreifung zur IVF verschiebt. Diese Beobachtung verdeutlicht, dass das Paar dennoch im Durchschnitt ein halbes Jahr auf einen Erfolg warten musste. Dies sollte bei der Patientenaufklärung auf jeden Fall berücksichtigt werden.

Abb. 3.6 verdeutlicht, dass ab einer gewissen Anzahl von gewonnenen Oozyten die Lebendgeburtenrate keineswegs stetig ansteigt. Viel mehr wird deutlich, dass die meisten Geburten bei einer Oozytenzahl von 19-28 erzielt werden. Der Grund hierfür könnte sein, dass durch ein starkes Ansprechen auf die Stimulationstherapie viele unreife Eizellen entstehen. Diese Eizellen lassen sich dadurch möglicherweise schlechter fertilisieren. Eine mögliche Erklärung für diese Beobachtung ist, dass die Expression der LH-Rezeptoren auf den Follikeln bei einem starken Ansprechen der Ovarien auf die Stimulationsbehandlung gestört ist [37]. Bereits 2003 konnten Hohmann et al. [34] zeigen, dass bei einer milden Stimulation mit einem Antagonistenprotokoll im Vergleich zu einer Stimulation mit einem »langen Protokoll« zwar weniger Oozyten gewonnen werden

konnten, die Fertilisationsraten aber gleich waren. Man vermutete damals, dass durch die mildere Stimulation eine Selektion zu Gunsten der Follikel mit einer höheren Qualität stattgefunden hat [34]. Eine von Baart et al. [4] durchgeführte randomisierte Studie konnte diese Vermutung mit Hilfe der Präimplantationsdiagnostik unterstützen. Da wir keinerlei Präimplantationsdiagnostik durchgeführt haben, können wir nur Vermutungen äußern, da in den oben genannten Studien immer hCG zur Induktion der Eizellreifung zur IVF benutzt worden ist [4, 34, 37].
Dies verdeutlicht, dass es nicht das Ziel der Stimulationsbehandlung seien sollte, möglichst viele Oozyten heranzureifen, sondern lieber auf eine hohe Qualität zu achten. Außerdem können mit niedrigeren Stimulationsdosen die Nebenwirkungen für diese Frauen minimiert werden.

4.4.2 Kryo-Zyklus Versuchsrang

Der Vorteil der Kryokonservierung liegt im Rahmen dieser Studie darin, dass die Patientinnen alle sehr gut auf die ovarielle Stimulationstherapie reagiert haben und somit deutlich mehr als drei Oozyten, mit einer Ausnahme, durch die Follikelpunktion gewonnen werden konnten. Dies führte bei einer Mehrzahl der Patientinnen dazu, dass sie mehr als eine Embryonenübertragung durchführen konnten. Bis zum vierten FRET-Zyklus ist die Chance einer Lebendgeburt pro Embryonenübertragung relativ ausgeglichen, so dass man eine Durchführung mehrerer Embryonenübertragungen nur befürwortet kann, um die Wahrscheinlichkeit einer Schwangerschaft zu erhöhen. Außerdem ergibt sich durch die Kryokonservierung die Möglichkeit, nach einer erfolgreichen Behandlung zu einem späteren Zeitpunkt eine erneute Embryonenübertragung durchzuführen, um ein weiteres Kind zu bekommen.
Die Anzahl der durchgeführten FRET-Zyklen je Patientin fällt nach dem vierten Versuch jedoch deutlich ab. Trotz allem konnten bei einer Patientin sieben FRET-Zyklen durchgeführt werden. Diese Patientin hatte insgesamt 19 2-PN-Oozyten kryokonserviert, welche alle im Rahmen der sieben FRET-Zyklen transferiert worden sind. Dennoch ist die Patientin nicht schwanger geworden, obwohl der kumulierte Embryoscore immer über 23 lag und in einem Zyklus sogar bei 48. Die Qualität der transferierten Embryonen ist somit sehr gut gewesen, so dass eine mangelnde Embryonenqualität für das Ausbleiben einer Schwangerschaft eher unwahrscheinlich ist. Eine mögliche Erklärung für die ausgebliebene Schwangerschaft könnte eine Störung der Einnistung des Embryos

in die Uterusschleimhaut sein. Eine solche Einnistungsstörung kann viele Ursachen haben.

Zum einen können Uterusfehlbildungen oder -septen bzw. häufige Abrasiones eine mögliche Ursache sein. Dies konnte allerdings bei der Patientin vor Beginn der IVF-Behandlung mittels Hysteroskopie ausgeschlossen werden.

Eine andere mögliche Ursache lässt sich immunologisch erklären. Es wird seit den Achtzigern vermutet, dass für eine erfolgreiche Schwangerschaft der Embryo von dem mütterlichen Immunsystem als fremd erkannt werden muss. Das Immunsystem der Mutter produziert dann schützende Antikörper, die eine Abstoßung des Embryos verhindern [17]. Sind sich nun die Partner im Bezug auf mehrere HLA Merkmale kompatibel, dann wird vermutet, dass der Embryo vom mütterlichen Immunsystem nicht als fremd erkannt werden kann, so dass die schützenden Antikörper nicht gebildet werden können. Der Ansatz der Lymphozyten-Immuntherapie ist, dass bei der Patientin durch Injektion von Fremdlymphozyten der Körper die schützenden Antikörper bildet [60]. Dadurch konnte gezeigt werden, dass nach der Behandlung die Wahrscheinlichkeit des Eintretens einer Schwangerschaft deutlich gesteigert werden kann [36]. Es ist somit zu überlegen, ob eine Lymphozyten-Immuntherapie dem Paar helfen könnte.

Der zeitliche Abstand zwischen Agonistengabe und FRET-Zyklus, der zu einem positiven Schwangerschaftstest führt, liegt im Maximum bei 83 Wochen. Bei einer Patientin erfolgte aus privaten Gründen allerdings eine Pause von einem Jahr, was den großen Abstand zwischen GnRH-Agonisten-Gabe und Embryonenübertragung erklärt.

Betrachtet man nun noch die Lebendgeburtenrate je ersten FRET gruppiert nach Kryokonservierungsverfahren, dann fällt auf, dass deutlich mehr Frauen aus der Vitrifikationsgruppe beim ersten FRET-Zyklus schwanger geworden sind. Allerdings ist dieser Unterschied nicht signifikant, was vermutlich an der zu kleinen Fallzahl liegt. Des Weiteren fällt auf, dass das 95% Konfidenzintervall bei der Unterteilung nach Kryokonservierungsmethode recht groß ist, was schlussfolgern lässt, dass die Ergebnisse durch die Studie nicht genau ermittelbar sind. Ein Grund dafür ist auch hier die recht kleine Fallzahl in den einzelnen FRET-Zyklen und Zentren. Betrachtet man nun aber die Gesamtlebendgeburtenrate, dann wird das Konfidenzintervall in den einzelnen FRET-Zyklen deutlich kleiner.

Außerdem muss berückichtigt werden, dass es sich bei der vorliegenden Studie nicht um eine randomisierte Studie zum Vergleich von »slow-cooling« und Vitrifikation han-

delt. Daher können Unterschiede zwischen den Zentren, den behandelnden Ärzten und Patientinnen nicht ausgeschloßen werden.

4.4.3 Kryokonservierungsverfahren

Da eine Aufteilung nach Zentren für die Auswertung nur sehr kleine Fallzahlen ergab, entschieden wir uns die Patientinnen, nach der Kryokonservierungsmethode zu unterscheiden. Im Vergleich bezüglich Alter, BMI, Stimulationsdosis und -tagen zeigen beide Gruppen keinen signifikanten Unterschied, so dass die beiden Gruppen sich recht ähnlich sind. Auch die Anzahlen der gewonnenen Kumulus-Oozyten-Komplexe und der kryokonservierten 2-PN-Oozyten zeigen beim Vergleich der beiden Gruppen keinen signifikanten Unterschied. Beim Auftauergebnis der kryokonservierten Oozyten kommt es dann allerdings zu einem signifikanten Unterschied, zu dem weiter oben bereits eine mögliche Erklärung gegeben worden ist. Nun stellt sich die Frage, ob auch beim Behandlungsausgang Unterschiede beobachtet werden konnten. Da die einzelnen Patientinnen unterschiedlich viele FRET-Zyklen durchgeführt haben, ist die Bestimmung eines Signifikantniveaus nur nach dem ersten FRET-Zyklus möglich.
Betrachtet man zunächst die absoluten Zahlen nach Durchführung von 117 FRET-Zyklen, dann fällt auf, dass in der »slow-cooling« Gruppe $\frac{3}{4}$ der eingeschlossenen Patientinnen nur negative Schwangerschaftstests hatten, während in der Vitrifikationsgruppe dies nur bei $\frac{1}{3}$ der Patientinnen der Fall war. Lebendgeburten konnten bei $\frac{1}{7}$ der »slow-cooling« Patientinnen und der Hälfte der Vitrifikationspatientinnen erzielt werden.
Ein signifikanter Unterschied konnte nach dem 1. FRET-Zyklus allerdings im Bezug auf die Geburtenrate nicht gezeigt werden. Dies liegt eventuell an der zu geringen Fallzahl. Man könnte nun vermuten, dass die Qualität der transferierten Embryonen in der »slow-cooling« Gruppe deutlich schlechter ist. Dies ist allerdings nicht der Fall, viel mehr sind sich die Mittelwerte mit 22 und 24 sehr ähnlich. Die Kryokonservierungsmethode scheint somit keinen Einfluss auf die Embryonenqualität zu haben. Trotzdem stellt sich die Frage, warum die Geburtenrate schlechter in der Gruppe der »slow-cooling« Patientinnen ist. Eine Erklärung könnte die Beobachtung hinsichtlich der IVF-Indikation geben. In der »slow-cooling« Gruppe ist bei 16 Paaren die Frau alleine bzw. beide Partner der Grund für eine IVF-Behandlung, während in der Vitrifikationsgruppe dies nur bei sieben Paaren der Fall ist. Daher könnten mögliche Einnistungsprobleme der Grund für die oben beschriebenen Unterschiede sein.

4.5 OHSS Inzidenz

In der Studie von Papanikolaou et al. [50] wurde festgestellt, dass ein E2-Wert über 5000 pg/ml und mehr als 18 Follikel mit einem Durchmesser von mindestens 11 mm am Tag der Induktion der Eizellreifung zur IVF mit einer Sensitivität von 83% und einer Spezifität von 84% zu einem schweren OHSS führen. In der vorliegenden Arbeit haben 83% der Patientinnen mehr als 20 Follikel mit einem Durchmesser von mehr als 11 mm am Tag der Induktion der Eizellreifung zur IVF, so dass die vorliegende Kohorte als Hochrisikogruppe für ein OHSS einzustufen ist. Bisher ist bei der Anwendung von GnRH-Agonisten zur Induktion der Eizellreifung zur IVF nur ein Fall eines schweren OHSS beschrieben worden. Dabei handelt es sich um ein »late-onset« OHSS, welches sehr wahrscheinlich durch die hCG-Produktion nach Einnistung des Embryos ausgelöst worden ist [7].

Im Rahmen dieser Studie kam es nun zum ersten Fall eines schweren »early-onset« OHSS. Der Fall wird trotz des Fehlens einer Hämokonzentration als schwer eingestuft, da auf Grund der kontinuierlichen intraperitonealen Blutung eine Hämokonzentration unterblieb. Außerdem zeigte die Patientin alle Symptome eines mittelschweren OHSS sowie zusätzlich eine massive Aszitesausbildung. Ein interessanter Aspekt bei diesem Fall ist, dass die Patientin mit nur 13 entnommenen Kumulus-Oozyten-Komplexen verhältnismäßig wenig reife Follikel ausgebildet hat. Es wird sogar davon ausgegangenen, dass für Patientinnen mit weniger als 13 Follikeln die Entwicklung eines »early-onset« OHSS nahezu unmöglich ist [50]. Somit lässt sich vermuten, dass die Anzahl der reifen Follikel nicht als alleiniger Marker für die Entstehung eines »early-onset« OHSS anzusehen ist. Viel mehr stellt sich die Frage, ob es Patientinnen gibt, die eine anderweitige Prädisposition (z.B. genetische) für die Entwicklung eines OHSS haben.

Sieht man von diesem einen negativen Fall ab, dann zeigt diese Studie, dass zum einen auf Grund der Kryokonservierung aller 2-PN-Oozyten ein »late-onset« OHSS nicht auftreten kann und zum andern, dass die Inzidenz mit 1,96% im Vergleich zu bis zu 25%, in Studien mit Hochrisikopatientinnen bei Benutzung von hCG zur Induktion der Eizellreifung zur IVF [38], wesentlich niedriger ist. Dennoch sollte man weiter darauf achten, ob bei der weiteren Anwendung es erneut zu schweren Verlaufsformen des OHSS kommt. Daher ist ein Monitoring der Patientinnen in den ersten Tagen nach Induktion der Eizellreifung zur IVF und Follikelpunktion sehr wichtig.

4.6 Fazit

Die vorliegende prospektive Beobachtungsstudie an 51 Patientinnen konnte zeigen, dass der Ausgang im Bezug auf Schwangerschafts- und Geburtenrate bei Hochrisikopatientinnen für ein OHSS durch die Benutzung von eines GnRH-Agonisten für die Induktion der Eizellreifung zur IVF und das anschließende Kryokonservieren aller 2-PN-Oozyten ähnlich gut ist wie bei Benutzung der altbewährten Protokolle. Allerdings ist es bei diesem Protokoll möglich, mehr als eine Embryonenübertragung nach einer ovariellen Stimulationstherapie durchzuführen.

Außerdem fiel in der Studie auf, dass die Auftauüberlebensrate bei Benutzung der Vitrifikation signifikant höher war als beim »slow-cooling« Verfahren. Da es sich aber nicht um eine randomisierte Studie handelt, darf man dieser Beobachtung nicht zu hohe Bedeutung zumessen. Gleiches gilt für die relativ höhere Geburtenrate in der Vitrifikationsgruppe.

Erstmalig trat im Rahmen der Studie ein Fall eines schweren OHSS auf, was verdeutlicht, dass ein Monitoring der Patientinnen nach Induktion der Eizellreifung zur IVF auch bei Verwendung eines GnRH-Agonisten notwendig ist. Dennoch treten schwere OHSS deutlich seltener auf als bei den altbewährten Protokollen.

Kapitel 5

Zusammenfassung

Beim Überstimulationssyndrom (OHSS) handelt es sich um eine seltene, aber dennoch äußerst gefährliche iatrogene Nebenwirkung der Kinderwunschbehandlung. Estradiolspiegel (E2) von über 4000 pg/ml und das Vorhandenensein von mehr als 20 Follikeln mit einem Durchmesser > 10 mm am Tag der Induktion de Eizellreifung zur IVF sind wichtige Risikofaktoren. Als Hauptauslöser für ein OHSS gilt das humane Choriongonadotropin (hCG). Dieses wird normalerweise zur Induktion der Eizellreifung zur IVF benutzt und kann ein »early-onset« OHSS triggern.

In der vorliegenden Arbeit wurde hCG zur Induktion der Eizellreifung zur IVF durch einen GnRH-Agonisten ersetzt. Eine Benutzung eines GnRH-Agonisten ist nur bei Anwendung eines Antagonistenprotokolls möglich, daher wurden alle Patientinnen mit diesem behandelt. Da beim Antagonistenprotokoll die Lutealphase gestört ist, erfolgte nach der Befruchtung der Oozyten die Kryokonservierung aller Eizellen im Vorkernstadium, um Problemen mit unzureichender Lutealphasenunterstützung zu umgehen. Nach individueller Absprache fand zu einem späteren Zeitpunkt die Embryonenübertragung statt.

Bei der Arbeit handelt es sich um eine prospektive, multizentrische Beobachtungsstudie (fünf Zentren), die bei OHSS-Hochrisikopatientinnen (E2 > 4000 pg/ml oder > 20 Follikel > 10 mm) durchgeführt worden ist. Hauptbeobachtungspunkte waren die kumulative Lebendgeburtenrate und die OHSS Inzidenz. Außerdem erfolgte eine Unterscheidung nach Kryokonservierungsmethode, in deren Rahmen die Überlebensrate nach dem Auftauen und die Lebendgeburtenrate pro Embryonenübertragung die Hauptbeobachtungspunkte waren.

Insgesamt konnten 51 Frauen in die Studie eingeschlossen werden. Die kumulative Le-

bendgeburtenrate war 37,3% innerhalb der zweijährigen Studienphase. Die Lebendgeburtenrate je erster Embryonenübertragung war 5,9% in der »slow-cooling« Gruppe und 19,4% in der Vitrifikationsgruppe. Die Überlebensrate nach dem Auftauen war in der »slow-cooling« Gruppe signifikant kleiner (90,5% zu 100%, $p = 0{,}01$). Im Durchschnitt hat jede Patientin 2,4 (0-7) Embryonenübertragungen durchgeführt. Im Rahmen der Studie trat erstmalig ein Fall eines schweren »early-onset« OHSS auf. Dennoch ist die OHSS Inzidenz deutlich geringer als die erwartete Inzidenz bei Verwendung von hCG zur Induktion der Eizellreifung zur IVF. Die Lebendgeburtenrate ist bei der Benutzung von GnRH-Agonisten ähnlich gut wie bei der Benutzung von hCG, sodass es sich um ein sehr effektives Protokoll handelt. Außerdem ermöglicht die elektive Kryokonservierung das Durchführen mehrerer Embryonenübertragungen ohne erneute hormonelle Stimulation.

Literaturverzeichnis

[1] Bundesgesetzblatt 1 Gesetz zum Schutz von Embryoen (Embryonenschutzgesetz (ESchG), Dez 1990.

[2] S. Al-Hasani, B. Ozmen, N. Koutlaki, B. Schoepper, K. Diedrich, and A. Schultze-Mosgau. Three years of routine vitrification of human zygotes: is it still fair to advocate slow-rate freezing? *Reprod. Biomed. Online*, 14:288–293, Mar 2007.

[3] B. Ata, K. Yakin, C. Alatas, and B. Urman. Dual renin-angiotensin blockage and total embryo cryopreservation is not a risk-free strategy in patients at high risk for ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil. Steril.*, 90:531–536, Sep 2008.

[4] E. B. Baart, E. Martini, M. J. Eijkemans, D. Van Opstal, N. G. Beckers, A. Verhoeff, N. S. Macklon, and B. C. Fauser. Milder ovarian stimulation for in-vitro fertilization reduces aneuploidy in the human preimplantation embryo: a randomized controlled trial. *Hum. Reprod.*, 22:980–988, Apr 2007.

[5] R. Babayof, E. J. Margalioth, M. Huleihel, A. Amash, E. Zylber-Haran, M. Gal, B. Brooks, T. Mimoni, and T. Eldar-Geva. Serum inhibin A, VEGF and TNFalpha levels after triggering oocyte maturation with GnRH agonist compared with HCG in women with polycystic ovaries undergoing IVF treatment: a prospective randomized trial. *Hum. Reprod.*, 21:1260–1265, May 2006.

[6] C. Banz, A. Katalinic, S. Al-Hasani, A. S. Seelig, J. M. Weiss, K. Diedrich, and M. Ludwig. Preparation of cycles for cryopreservation transfers using estradiol patches and Crinone 8% vaginal gel is effective and does not need any monitoring. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, 103:43–47, Jun 2002.

[7] E. Chun. Severe OHSS can be prevented in GnRH antagonist protocol using GnRH Agonist to trigger ovulation. *Fertil Steril*, 84:301, Sept. 2005.

[8] T. G. Cooper, E. Noonan, S. von Eckardstein, J. Auger, H. W. Baker, H. M. Behre, T. B. Haugen, T. Kruger, C. Wang, M. T. Mbizvo, and K. M. Vogelsong. World Health Organization reference values for human semen characteristics. *Hum. Reprod. Update*, 16:231–245, 2010.

[9] A. Delvigne and S. Rozenberg. A qualitative systematic review of coasting, a procedure to avoid ovarian hyperstimulation syndrome in IVF patients. *Hum. Reprod. Update*, 8:291–296, 2002.

[10] A. Delvigne and S. Rozenberg. Epidemiology and prevention of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS): a review. *Hum. Reprod. Update*, 8:559–577, 2002.

[11] A. Delvigne and S. Rozenberg. Review of clinical course and treatment of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS). *Hum. Reprod. Update*, 9:77–96, 2003.

[12] P. E. Egbase, M. A. Sharhan, and J. G. Grudzinskas. Early unilateral follicular aspiration compared with coasting for the prevention of severe ovarian hyperstimulation syndrome: a prospective randomized study. *Hum. Reprod.*, 14:1421–1425, Jun 1999.

[13] U. Elchalal and J. G. Schenker. The pathophysiology of ovarian hyperstimulation syndrome–views and ideas. *Hum. Reprod.*, 12:1129–1137, Jun 1997.

[14] L. Engmann, A. DiLuigi, D. Schmidt, J. Nulsen, D. Maier, and C. Benadiva. The use of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) agonist to induce oocyte maturation after cotreatment with GnRH antagonist in high-risk patients undergoing in vitro fertilization prevents the risk of ovarian hyperstimulation syndrome: a prospective randomized controlled study. *Fertil. Steril.*, 89:84–91, Jan 2008.

[15] L. Engmann, L. Siano, D. Schmidt, J. Nulsen, D. Maier, and C. Benadiva. GnRH agonist to induce oocyte maturation during IVF in patients at high risk of OHSS. *Reprod. Biomed. Online*, 13:639–644, Nov 2006.

[16] H. M. Fatemi, B. Popovic-Todorovic, E. Papanikolaou, P. Donoso, and P. Devroey. An update of luteal phase support in stimulated IVF cycles. *Hum. Reprod. Update*, 13:581–590, 2007.

[17] W. P. Faulk. Human extra-embryonic membranes: role of trophoblast in normal and abnormal pregnancies. *Int J Tissue React*, 3:139–146, Dec 1981.

[18] B. C. Fauser, D. de Jong, F. Olivennes, H. Wramsby, C. Tay, J. Itskovitz-Eldor, and H. G. van Hooren. Endocrine profiles after triggering of final oocyte maturation with GnRH agonist after cotreatment with the GnRH antagonist ganirelix during ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 87:709–715, Feb 2002.

[19] R. Felberbaum, J. M. Weiss, and A. Lopens. Hormonelle Regulation. In J. M Weiss, K. Diedrich, W. Holzgreve, W. Jonat, A. Schultze-Mosgau, and K-T M. Schneider, editors, *Gynäkologie und Geburtshilfe*, pages 60–77. Springer, Heidelberg, 2 edition, 2006.

[20] R. E. Felberbaum and K. Diedrich. Gonadotrophin-releasing hormone antagonists: will they replace the agonists? *Reprod. Biomed. Online*, 6:43–53, 2003.

[21] L. A. Fernandez, B. C. Tarlatzis, P. J. Rzasa, V. J. Caride, N. Laufer, A. F. Negro-Vilar, A. H. DeCherney, and F. Naftolin. Renin-like activity in ovarian follicular fluid. *Fertil. Steril.*, 44:219–223, Aug 1985.

[22] D. Finas and Ch. Altgassen. Notfälle. In J. M Weiss, K. Diedrich, W. Holzgreve, W. Jonat, A. Schultze-Mosgau, and K-T M. Schneider, editors, *Gynäkologie und Geburtshilfe*, pages 598–602. Springer, Heidelberg, 2 edition, 2006.

[23] M. A. Friedlander, J. R. Loret de Mola, and J. M. Goldfarb. Elevated levels of interleukin-6 in ascites and serum from women with ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil. Steril.*, 60:826–833, Nov 1993.

[24] C. Gnoth, E. Godehardt, P. Frank-Herrmann, K. Friol, J. Tigges, and G. Freundl. Definition and prevalence of subfertility and infertility. *Hum. Reprod.*, 20:1144–1147, May 2005.

[25] A. Golan, R. Ron-el, A. Herman, Y. Soffer, Z. Weinraub, and E. Caspi. Ovarian hyperstimulation syndrome: an update review. *Obstet Gynecol Surv*, 44:430–440, Jun 1989.

[26] J. D. Gordon, S. Mesiano, C. J. Zaloudek, and R. B. Jaffe. Vascular endothelial growth factor localization in human ovary and fallopian tubes: possible role in reproductive function and ovarian cyst formation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 81:353–359, Jan 1996.

[27] G. Griesinger, H. Berndt, L. Schultz, M. Depenbusch, and A. Schultze-Mosgau. Cumulative live birth rates after GnRH-agonist triggering of final oocyte maturation in patients at risk of OHSS: A prospective, clinical cohort study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 149:190–194, Apr 2010.

[28] G. Griesinger, H. Binder, and K. Diedrich. Neue Ansätze bei der Prävention des ovariellen Überstimulatonsyndroms. *Gynäkologische Endokrinologie*, 6(3):55–61, 2008.

[29] G. Griesinger and K. Diedrich. GnRH-Agonist versus GnRH-Antagonist. *Der Frauenarzt*, 48(9):2–6, 2007.

[30] G. Griesinger and K. Diedrich. Neue Entwicklungen bei der hormonellen Stimulation. *Gynäkologisch-geburtshilfliche Rundschau*, 49(9):55–61, 2009.

[31] G. Griesinger, K. Diedrich, P. Devroey, and E. M. Kolibianakis. GnRH agonist for triggering final oocyte maturation in the GnRH antagonist ovarian hyperstimulation protocol: a systematic review and meta-analysis. *Hum. Reprod. Update*, 12:159–168, 2006.

[32] G. Griesinger, E. M. Kolibianakis, E. G. Papanikolaou, K. Diedrich, A. Van Steirteghem, P. Devroey, H. Ejdrup Bredkjaer, and P. Humaidan. Triggering of final oocyte maturation with gonadotropin-releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin. Live birth after frozen-thawed embryo replacement cycles. *Fertil. Steril.*, 88:616–621, Sep 2007.

[33] G. Griesinger, S. von Otte, A. Schroer, A. K. Ludwig, K. Diedrich, S. Al-Hasani, and A. Schultze-Mosgau. Elective cryopreservation of all pronuclear oocytes after GnRH agonist triggering of final oocyte maturation in patients at risk of developing OHSS: a prospective, observational proof-of-concept study. *Hum. Reprod.*, 22:1348–1352, May 2007.

[34] F. P. Hohmann, N. S. Macklon, and B. C. Fauser. A randomized comparison of two ovarian stimulation protocols with gonadotropin-releasing hormone (GnRH) antagonist cotreatment for in vitro fertilization commencing recombinant follicle-stimulating hormone on cycle day 2 or 5 with the standard long GnRH agonist protocol. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 88:166–173, Jan 2003.

[35] P. Humaidan, H. E. Bredkjaer, L. Bungum, M. Bungum, M. L. Grøndahl, L. Westergaard, and C. Y. Andersen. GnRH agonist (buserelin) or hCG for ovulation induction in GnRH antagonist IVF/ICSI cycles: a prospective randomized study. *Hum. Reprod.*, 20:1213–1220, May 2005.

[36] C. Kling, A. Schmutzler, G. Wilke, J. Hedderich, and D. Kabelitz. Two-year outcome after recurrent implantation failure: prognostic factors and additional interventions. *Arch. Gynecol. Obstet.*, 278:135–142, Aug 2008.

[37] J. D. Kok, C. W. Looman, S. M. Weima, and E. R. te Velde. A high number of oocytes obtained after ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection is not associated with decreased pregnancy outcome. *Fertil. Steril.*, 85:918–924, Apr 2006.

[38] S. Kol and I. Solt. GnRH agonist for triggering final oocyte maturation in patients at risk of ovarian hyperstimulation syndrome: still a controversy? *J. Assist. Reprod. Genet.*, 25:63–66, 2008.

[39] E. M. Kolibianakis, J. Collins, B. C. Tarlatzis, P. Devroey, K. Diedrich, and G. Griesinger. Among patients treated for IVF with gonadotrophins and GnRH analogues, is the probability of live birth dependent on the type of analogue used? A systematic review and meta-analysis. *Hum. Reprod. Update*, 12:651–671, 2006.

[40] E. M. Kolibianakis, A. Schultze-Mosgau, A. Schroer, A. van Steirteghem, P. Devroey, K. Diedrich, and G. Griesinger. A lower ongoing pregnancy rate can be expected when GnRH agonist is used for triggering final oocyte maturation instead of HCG in patients undergoing IVF with GnRH antagonists. *Hum. Reprod.*, 20:2887–2892, Oct 2005.

[41] E. M. Kolibianakis, C. A. Venetis, E. G. Papanikolaou, K. Diedrich, B. C. Tarlatzis, and G. Griesinger. Estrogen addition to progesterone for luteal phase support in cycles stimulated with GnRH analogues and gonadotrophins for IVF: a systematic review and meta-analysis. *Hum. Reprod.*, 23:1346–1354, Jun 2008.

[42] N. Laufer, A. H. DeCherney, B. C. Tarlatzis, A. L. Zuckerman, M. L. Polan, A. M. Dlugi, R. Graebe, E. R. Barnea, and F. Naftolin. Delaying human chorionic gonadotropin administration in human menopausal gonadotropin-induced cycles decreases

successful in vitro fertilization of human oocytes. *Fertil. Steril.*, 42:198–203, Aug 1984.

[43] P. Licht. Behandlung bei Sterilität. In J. Wacker, M. Sillem, G. Bastert, and M.W. Beckmann, editors, *Therapiehandbuch Gynäkologie und Geburtshilfe*, pages 216–228. Springer, Heidelberg, 1 edition, 2007.

[44] M. Ludwig and K. Diedrich. In-vitro-Fertilisation und intrazytoplasmatische Spermieninjektion. *Deutsches Ärzteblatt*, 45:2892 – 2901, Nov. 1999.

[45] N. S. Macklon and B. C. Fauser. Gonadotropin therapy for the treatment of anovulation and for ovarian hyperstimulation for IVF. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 186:159–161, Jan 2002.

[46] M. A. Manzanares, J. L. Gomez-Palomares, E. Ricciarelli, and E. R. Hernandez. Triggering ovulation with gonadotropin-releasing hormone agonist in in vitro fertilization patients with polycystic ovaries does not cause ovarian hyperstimulation syndrome despite very high estradiol levels. *Fertil Steril*, 93:1215–1219, Mar 2010.

[47] R. S. Morris, I. L. Wong, E. Kirkman, E. Gentschein, and R. J. Paulson. Inhibition of ovarian-derived prorenin to angiotensin cascade in the treatment of ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum. Reprod.*, 10:1355–1358, Jun 1995.

[48] O. Nevo, T. Eldar-Geva, S. Kol, and J. Itskovitz-Eldor. Lower levels of inhibin A and pro-alphaC during the luteal phase after triggering oocyte maturation with a gonadotropin-releasing hormone agonist versus human chorionic gonadotropin. *Fertil. Steril.*, 79:1123–1128, May 2003.

[49] R. Orvieto, I. Voliovitch, P. Fishman, and Z. Ben-Rafael. Interleukin-2 and ovarian hyperstimulation syndrome: a pilot study. *Hum. Reprod.*, 10:24–27, Jan 1995.

[50] E. G. Papanikolaou, C. Pozzobon, E. M. Kolibianakis, M. Camus, H. Tournaye, H. M. Fatemi, A. Van Steirteghem, and P. Devroey. Incidence and prediction of ovarian hyperstimulation syndrome in women undergoing gonadotropin-releasing hormone antagonist in vitro fertilization cycles. *Fertil. Steril.*, 85:112–120, Jan 2006.

[51] W. Pschyrembel. *Pschyrembel Klinisches Wörterbuch*, volume 259. Walter de Gruyter, Berlin, 2002.

[52] Deutsches IVF Register. *Deutsches IVF Register Jahrbuch 2009.* Deutsche Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe, Bundesverband Reproduktionsmedizinischer Zentren Deutschlands, Deutsche Gesellschaft für Gynäkologische Endrokinologie und Fortpflanzungsmedizin, Deutsche Gesellschaft für Reproduktionsmedizin, 2009.

[53] A. Revel, V. Barak, Y. Lavy, E. Anteby, Y. Abramov, J. J. Schenker, A. Amit, Z. Finci-Yeheskel, M. Mayer, A. Simon, N. Laufer, and A. Hurwitz. Characterization of intraperitoneal cytokines and nitrites in women with severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil. Steril.*, 66:66–71, Jul 1996.

[54] B. Rizk, M. Aboulghar, J. Smitz, and R. Ron-El. The role of vascular endothelial growth factor and interleukins in the pathogenesis of severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum. Reprod. Update*, 3:255–266, 1997.

[55] A. Schultze-Mosgau, T. Schill, D. Stirk, and U. Germer. Sterilität und Infertilität. In J. M Weiss, K. Diedrich, W. Holzgreve, W. Jonat, A. Schultze-Mosgau, and K-T M. Schneider, editors, *Gynäkologie und Geburtshilfe*, pages 98–122. Springer, Heidelberg, 2 edition, May 2006.

[56] J. E. Sealey, I. Cholst, N. Glorioso, C. Troffa, I. D. Weintraub, G. James, and J. H. Laragh. Sequential changes in plasma luteinizing hormone and plasma prorenin during the menstrual cycle. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 65:1–5, Jul 1987.

[57] W. Y. Son and S. L. Tan. Comparison between slow freezing and vitrification for human embryos. *Expert Rev Med Devices*, 6:1–7, Jan 2009.

[58] C. V. Steer, C. L. Mills, S. L. Tan, S. Campbell, and R. G. Edwards. The cumulative embryo score: a predictive embryo scoring technique to select the optimal number of embryos to transfer in an in-vitro fertilization and embryo transfer programme. *Hum. Reprod.*, 7:117–119, Jan 1992.

[59] P. C. Steptoe and R. G. Edwards. Birth after the reimplantation of a human embryo. *Lancet*, 2:366, Aug 1978.

[60] C. G. Taylor, W. P. Faulk, and J. A. McIntyre. Prevention of recurrent spontaneous abortions by leukocyte transfusions. *J R Soc Med*, 78:623–627, Aug 1985.

[61] M. A. Youssef, F. Van der Veen, H. G. Al-Inany, G. Griesinger, M. H. Mochtar, and M. van Wely. Gonadotropin-releasing hormone agonist versus HCG for oocyte triggering in antagonist assisted reproductive technology cycles. *Cochrane Database Syst Rev*, 11:CD008046, 2010.

Kapitel 6

Danksagung

Mein Dank geht an Prof. Dr. med. Klaus Diedrich, dem Direktor der Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Lübeck, der mir die Erstellung der Arbeit ermöglicht hat.
Ganz besonders möchte ich mich bei meinem Betreuer und Doktorvater Prof. Dr. med. Georg Griesinger bedanken, der das Thema formuliert, das Studiendesign entworfen und mich zum wissenschaftlichen Arbeiten angeleitet hat. Durch Überlassung entsprechender Literatur habe ich mich sehr gut in die Materie einarbeiten können. Außerdem stand er mir jeder Zeit für Rückfragen zur Verfügung.
Ein weiterer Dank geht an alle Mitarbeiter des IVF-Zentrums Augsburg, des Kinderwunschzentrums Düsseldorf sowie der Kinderwunschsprechstunden der Universitätskliniken Lübeck, Magdeburg und Würzburg. Durch ihre rege Mitarbeit ist diese Studie überhaupt erst möglich geworden.
Des Weiteren möchte ich allen Paaren danken, die der Auswertung ihrer Behandlungsdaten zugestimmt haben. Sie haben die wichtigste Grundlage für die Entstehung der vorliegenden Arbeit geliefert.
Danken möchte ich auch Delia Eckerlein aus dem Sekretariat der Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Lübeck, welche die telefonische Registrierung entgegen genommen hat.
Danken möchte ich an dieser Stelle auch meinem Bruder der mir beim Formatieren der Arbeit und kleineren Computerprobleme jeder Zeit zur Seite stand. Zu guter letzt danke ich meinen Eltern ohne deren Unterstützung mein Studium und die Promotion nicht möglich gewesen wären. Sie hatten immer ein offenes Ohr für meine Probleme und haben mir durchs Korrekturlesen sehr geholfen. Vielen lieben Dank dafür!

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name	Laura Schultz
Geburtstdatum	30. Januar 1986
Geburtsort	Berlin

Schulbildung

1992-1998	Besuch der Sonnenhof Grundschule (Berlin)
1998-1999	Besuch des Pascal Gymnasiums (Berlin)
1999-2005	Besuch des Friedrich-Spee-Gymnasiums (Geldern)
2002-2003	Besuch der Fort Wayne Christian High (Fort Wayne Indiana / USA)

Studium

2005-2007	vorklinischer Abschnitt (Universität zu Lübeck)
09/2007	Physikum
2007-2010	klinischer Abschnitt (Úniversität zu Lübeck)
03/2008	Beginn der Promotion bei Prof. Dr. Georg Griesinger in der Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe des UKSH Campus Lübeck
02-07/2010	Erhebung und Auswertung der Daten für die Promotion
08/2010-06/2011	Praktisches Jahr

08-12/2010	UKSH Campus Lübeck (Innere Medizin)
12/2010-03/2011	Klinikum Itzehoe (Wahlfach: Gynäkologie und Geburtshilfe)
03-06/2011	DRK Krankenhaus Mölln-Ratzeburg (Chirurgie)

11/2011	2. Staatsexamen

Publikationen

06/2009	Geographical distribution of publication productivity in IVF in Europe since 1990 L. Schultz, K. Diedrich, G. Griesinger 25th Annual Meeting of ESHRE, Amsterdam (Poster)
09/2009	Bibliometrische Untersuchung der Publikationsaktivität seit 1990 in der Reproduktionsmedizin in einzelnen europäischen Staaten G. Griesinger, L. Schultz, K. Diedrich XXI. Akademische Tagung deutschsprechender Hochschullehrer in der Gynäkologie und Geburtshilfe, Innsbruck (Poster)
10/2009	Publication productivity in IVF in Europe, 1990-2006. G. Griesinger, L. Schultz, K. Diedrich Reprod Biomed Online., 19:452-5, 2009 Oct
04/2010	Cumulative live birth rates after GnRH-agonist triggering of final oocyte maturation in patients at risk of OHSS: a prospective, clinical cohort study. G. Griesinger, H. Berndt, L. Schultz, M. Depenbusch, A. Schultze-Mosgau Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol., 149:190-4, 2010 Apr
02/2011	Intensified ovarian stimulation in a GnRH antagonist protocol with agonist triggering: a prospective, clinical feasibility study. G. Griesinger, H. Berndt, L. Schultz, A. Schultze-Mosgau, K. Diedrich, S. von Otte Reprod Biomed Online., 22:133-9, 2011 Feb
05/2011	OHSS prevention by GnRH-agonist triggering of final oocyte maturation in a GnRH-antagonist protocol in combination with a 'freeze-all' strategy: a prospective multi-centric study G. Griesinger, L. Schultz, T. Bauer, A. Broessner, T. Frambach, S. Kissler Fertil Steril. 2011 May;95(6):2029-33