

Aus der Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe
der Universität zu Lübeck

Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h.c. mult. K. Diedrich

**Stimulationsintensivierung und Sekundärprävention
eines ovariellen Überstimulationssyndroms
im GnRH-Antagonisten-Protokoll**

Inauguraldissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der Universität zu Lübeck

- Aus der Sektion Medizin -

vorgelegt von

Henriette Margareta Berndt

aus Pegnitz

Lübeck 2012

Mit Genehmigung der Promotionskommission der Sektion Medizin
der Universität zu Lübeck

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. univ. MSc. Georg Griesinger

2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Stefan Peters

Tag der mündlichen Prüfung: Lübeck, den 29.10.2012

Zum Druck genehmigt: Lübeck, den 29.10.2012

Widmung

Meinen lieben Eltern

Elisabeth und Dr. Wolfgang Berndt

Inhaltsverzeichnis

Tabellenverzeichnis.....	VI
Abbildungsverzeichnis.....	VII
Abkürzungsverzeichnis.....	VIII
1. Einleitung	1
1.1 Einführung in die Reproduktionsmedizin.....	1
1.2 Die ovarielle Stimulation	2
1.2.1 Entwicklung und Möglichkeiten in der ovariellen Stimulation	2
1.2.2 GnRH-Analoga.....	3
1.2.2.1 GnRH-Agonisten-Protokolle	4
1.2.2.2 GnRH-Antagonisten-Protokolle	6
1.2.3 Finale Eizellreifung mit hCG	8
1.3 Ovarielles Überstimulationssyndrom (OHSS).....	8
1.3.1 Einteilung	9
1.3.2 Pathophysiologie	10
1.3.3 Risikofaktoren	11
1.3.4 Prävention.....	12
1.4 Aufgabenstellung der vorliegenden Arbeit.....	14
1.5 Zielsetzung.....	15
2. Material und Methoden.....	17
2.1 Die Patientinnenkollektive.....	17
2.2 Ein- und Ausschlusskriterien	17
2.3 Geräte zur Hormonwertbestimmung.....	18
2.4 Datenerhebung und erfasste Parameter.....	19
2.5 Ergebnisparameter	21
2.6 Studienbeschreibung und Stimulationsprotokoll	21

2.7 Fallzahlberechnung	26
2.8 Methoden	26
2.8.1 Kryokonservierung	26
2.8.2 Vitrifikationsprotokoll von 2PN-Eizellen	27
2.9 Datenanalyse und Statistik	29
3. Ergebnisse	30
3.1 Gruppe A	30
3.1.1 Demografische Parameter	30
3.1.2 Merkmale der Stimulation und Embryologiedaten	31
3.1.3 Ovariellies Überstimulationssyndrom	33
3.1.4 Kumulative Lebendgeburtenrate und Inzidenz der Lebendgeburten entsprechend dem FRET-Behandlungsrang	33
3.1.5 Neonatale Ergebnisse	36
3.2 Gruppe B	37
3.2.1 Demografische Parameter	37
3.2.2 Merkmale der Stimulation und Embryologiedaten	38
3.2.3 Ovariellies Überstimulationssyndrom und Verträglichkeits-Abschätzung ...	40
3.2.4 Kumulative Lebendgeburtenrate und Inzidenz der Lebendgeburten entsprechend dem FRET-Behandlungsrang	41
3.2.5 Neonatale Ergebnisse	44
4. Diskussion	46
4.1 Methodenkritik	46
4.2 Merkmale der Stimulation und Embryologiedaten	48
4.3 Ovariellies Überstimulationssyndrom	49
4.4 Kumulative Lebendgeburtenwahrscheinlichkeit und Inzidenz der Lebendgeburten entsprechend der FRET-Behandlungsränge	50
4.5 Neonatale Ergebnisse	51
4.6 Fazit	51

5. Zusammenfassung	52
6. Literaturverzeichnis.....	54
7. Danksagung.....	61
8. Publikationen.....	62
9. Lebenslauf	63

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: OHSS Klassifikation nach WHO	9
Tab. 2: Demografische Parameter der Studienpopulation der Gruppe A (n = 40).....	31
Tab. 3: Embryologie und Merkmale der Stimulation (n= 40).....	32
Tab. 4: Inzidenz der Lebendgeburten entsprechend der Anzahl der FRET- Behandlungsränge	34
Tab. 5: Demografische Parameter der Studienpopulation der Gruppe B (n = 30).....	38
Tab. 6: Embryologie und Merkmale der Stimulation (n = 30).....	39
Tab. 7: Inzidenz der Lebendgeburten entsprechend der Anzahl der FRET- Behandlungsränge	42

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: GnRH-Agonist, langes Protokoll.....	5
Abb. 2: GnRH-Agonist, kurzes Protokoll.....	5
Abb. 3: GnRH-Agonist, ultrakurzes Protokoll	6
Abb. 4: GnRH-Antagonisten-Protokoll, Einfachdosis-Protokoll	7
Abb. 5: GnRH-Antagonisten-Protokoll, Mehrfachdosis-Protokoll	7
Abb. 6: Studien-Stimulationsprotokoll	22
Abb. 7: Kryoprotokoll: Endometriumvorbereitung für den Embryonentransfer (transdermales E2 und vaginales Progesteron).....	24
Abb. 8: Endometriumvorbereitung mit Embryonentransfer (orales E2 und vaginales Progesteron).....	25
Abb. 9: Vitrifikations-Protokoll.....	27
Abb. 10: Auftau-Protokoll	28

Gruppe A:

Abb. 11: Regressionsanalyse: Anzahl der Oozyten und Anzahl der zur Kryokonservierung zur Verfügung stehenden 2PN-Oozyten	33
Abb. 12: Kumulative Inzidenz eines positiven hCG-Tests, der zu einer Lebendgeburt führte	35
Abb. 13: Kumulative Inzidenz der Lebendgeburtenrate pro FRET-Behandlungsrang	35
Abb. 14: Verhältnis der Anzahl der Oozyten und der kumulativen Lebendgeburtenrate in FRET-Behandlungsrängen.....	36

Gruppe B:

Abb. 15: Regressionsanalyse: Anzahl der Oozyten und Anzahl der zur Kryokonservierung zur Verfügung stehenden 2PN-Oozyten	40
Abb. 16: Boxplots der Verträglichkeits-Bewertung von 26 Patientinnen zur physischen Verfassung am 3. oder 4. Tag nach der Follikelpunktion.....	41
Abb. 17: Kumulative Inzidenz eines positiven hCG-Tests, der zu einer Lebendgeburt führte	43
Abb. 18: Kumulative Lebendgeburtenrate per FRET-Behandlungsrang.	43
Abb. 19: Verhältnis der Anzahl der Oozyten und der kumulativen Lebendgeburtenrate in FRET-Behandlungsrängen.....	44

Abkürzungsverzeichnis

ART	<i>assisted reproductive techniques</i> : Assistierte Reproduktions-Techniken
BMI	Body-Maß-Index
ß-hCG	Beta-Untereinheit des humanen Choriongonadotropins
COH	<i>controlled ovarian hyperstimulation</i> : kontrollierte ovarielle Überstimulation
DIR	Deutsches IVF-Register
E2	Östradiol
ESchG	Embryonen-Schutzgesetz
ET	<i>embryo transfer</i> : Embryonen-Übertragung
FRET	<i>frozen-thawed embryo transfer</i> : Embryonenübertragung nach Auftau-Prozess
FSH	follikelstimulierendes Hormon
FSH-CTP	follikelstimulierendes Hormon mit carboxy-terminalem Peptid
GnRH	<i>Gonadotropin-Releasing Hormone</i> : Gonadorelin
hCG	humanes Choriongonadotropin
hMG	humanes Menopausengonadotropin
hPG	humanes pituitäres Gonadotropin
ICSI	Intrazytoplasmatische Spermieninjektion
IVF	in-vitro-Fertilisation
KI	Konfidenzintervall
Kryo-ET	Kryo-Embryonen-Übertragung
LH	Luteinisierendes Hormon
OHSS	<i>ovarian hyperstimulation syndrome</i> : Ovariellies Überstimulationssyndrom
OPU	<i>oocyte pick-up</i> : transvaginale Follikelpunktion
OR	Odds Ratio
rFSH	rekombinantes follikelstimulierendes Hormon
SSW	Schwangerschaftswoche
UK-SH	Universitätsklinikum Schleswig-Holstein
URL	<i>Uniform Resource Locator</i> : einheitlicher Quellenanzeiger
vCJD	Variation der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit
VEGF	<i>vascular endothelial growth factor</i>
2PN	Eizelle im Zweikernstadium

1. Einleitung

1.1 Einführung in die Reproduktionsmedizin

Etwa 12 bis 15 % aller Paare bleiben ungewollt kinderlos (Fischl, 2000). Die Anzahl der Kinderwunschbehandlungen ist mit den immer besseren Erfolgsaussichten auf eine dadurch erzielbare Schwangerschaft und der in der Bevölkerung wachsenden Akzeptanz gegenüber der Reproduktionsmedizin gestiegen. Dies ist auch aus den steigenden Zahlen der Kinderwunschzentren in Deutschland ersichtlich: Waren es 1996 noch um die 70 Zentren, stieg ihre Zahl auf über 120 im Jahre 2009 an, (Felberbaum et al., 2005; URL: www.deutsches-ivf-register.de, Stand 20.02.2011)

Robert Edwards, der in der Presse 2010 als „Vater“ von vier Millionen Kindern gefeiert wurde, erhielt im Alter von 85 Jahren den Medizin-Nobelpreis für die Entwicklung der Reagenzglas-Befruchtung. Er gilt zusammen mit Patrick Steptoe als der Wegbereiter der heutigen Reproduktionsmedizin.

Seit der Geburt des ersten Kindes Louise Brown, welches nach einer extrakorporalen Reagenzglasbefruchtung (in-vitro-Fertilisation, IVF) und anschließendem Embryonentransfer (ET) im Jahre 1978 in England durch Edwards und Steptoes Hilfe geboren wurde, und seit im Jahre 1982 die ersten deutschen Berichte über erfolgreiche IVF/ET-Behandlungen aus Erlangen, Lübeck und Kiel folgten, gab es bis heute weitere enorme Entwicklungsschritte in der Reproduktionsmedizin (Steptoe and Edwards, 1978). Durch die im Jahre 1993 eingeführte Therapiemethode der intrazytoplasmatischen Spermieninjektion (ICSI), bei der unter mikroskopischer Sicht ein einzelnes Spermium direkt in die Eizelle injiziert wird, konnte z. B. die Indikation zu einer künstlichen Befruchtung erweitert werden, wenn die Kinderlosigkeit auf der männlichen Subfertilität beruhte (Palermo et al., 1992). Dies ist insbesondere deshalb von Bedeutung, weil die männliche Subfertilität mittlerweile in 40 bis 50 % der Fälle als Ursache einer ungewollten Kinderlosigkeit in Betracht gezogen wird (Küpker et al., 2000). Der Anteil der ICSI-Behandlungen stieg von knapp 27 % 1994 auf mehr als 74 % 2010 an (URL: www.deutsches-ivf-register.de, Stand 20.02.2011).

Seit der Einführung der extrakorporalen Reagenzglasbefruchtungen gab es viele Verbesserungen und methodische Anpassungen, auch in der ovariellen Stimulation. In der Anfangszeit der IVF war die Gewinnung einer einzelnen Eizelle in einem spontanen menstrualen Zyklus das Ziel. Mit Einführung der “controlled ovarian hyperstimulation”

(COH) – „kontrollierte ovarielle Überstimulation“ – konnten die Wahrscheinlichkeiten für eine erfolgreiche Befruchtung und eine Schwangerschaft erheblich verbessert werden. Wegbereiter dieser Entwicklung ist die Arbeitsgruppe um Alan Trounson, die erstmals aus der Tiermedizin gewonnene Erkenntnisse der COH in die Humanmedizin übertragen konnte (Trounson et al., 1981).

1.2 Die ovarielle Stimulation

Grundsätzlich besteht ein Behandlungszyklus in der Reproduktionsmedizin aus der kontrollierten ovariellen Stimulation mit oder ohne Verwendung von GnRH-Analoga (Gonadotropin Releasing Hormone), der Gewinnung von Eizellen für die extrakorporale Befruchtung und der Embryonenübertragung. Die ovarielle Stimulation dient dem Zweck, möglichst mehrere Eizellen für eine künstliche Befruchtung zur Verfügung zu stellen. Nach der Eizellreifung und anschließender Oozytengewinnung folgt eine der assistierten Reproduktions-Techniken (ART), ICSI oder IVF. Anschließend wird der Embryonentransfer im gleichen oder in einem späteren Zyklus durchgeführt. Üblicherweise wird dabei eine Lutealphasenunterstützung notwendig. Bei einer späteren Embryonenübertragung ist eine Zwischenlagerung der Eizelle durch Kryokonservierung möglich. Dann erfolgen der Auftauprozess der Eizellen und eine Übertragung der aus diesen Eizellen generierten Embryonen in die Gebärmutter.

1.2.1 Entwicklung und Möglichkeiten in der ovariellen Stimulation

Zur ovariellen Stimulation werden entweder Clomifen, urinäres FSH/hMG (follikelstimulierendes Hormon/humanes Menopausengonadotropin), rekombinantes FSH oder die langwirksamen, rekombinanten FSH-CTP-Präparate (FSH mit carboxyterminalem Peptid) eingesetzt.

Die Stimulation wird überwiegend mit Gonadotropinen durchgeführt. Clomifen spielt eher eine untergeordnete Rolle. In Europa und den USA wurden bis in die frühen 60er Jahre Gonadotropinextrakte aus Tierhypophysen eingesetzt (Buehler and Lunenfeld, 2006). Abgelöst wurde diese Methode durch extrahiertes Gonadotropin aus menschlichen Hypophysen durch Gemzell et al. (Gemzell et al., 1958). Auch dieses humane pituitäre Gonadotropin (hPG) wurde vom Markt genommen, nachdem in Australien und Frankreich Fälle von einer Variation der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (vCJD) mit dem hPG in Zusammenhang gebracht wurden (Cochius et al., 1990; Dumble and Klein, 1992). Aus

Sorge vor einer Kontamination mit Prionen wurde nun aus Rohextrakten großer Urinpools humanes Menopausengonadotropin (hMG) isoliert und gereinigt. Der Reinheitsgrad lag initial lediglich bei 5 %. Durch intensive technische Weiterentwicklungen der Reinigungsmethoden können heute „hochreine“ urinaire Präparate hergestellt werden. Eine Alternative sind die seit 1988 auf dem Markt befindlichen rekombinanten (biotechnologisch hergestellten) Gonadotropinpräparate namens Follitropin alfa (Gonal-F[®]) und das im Jahre 1996 eingeführte Follitropin beta (Puregon[®]). Es konnte gezeigt werden, dass die rekombinant hergestellten Gonadotropine ebenso effektiv sind wie die urinären (Daya et al., 2001). Die Anwendung erfolgt bei diesen Präparaten einmal täglich, um eine effektive Ovarstimulation zu erzielen. Mit der Einführung von FSH-CTP-Präparaten mit einer längeren Halbwertszeit konnte die Injektionsfrequenz verringert werden (Fares et al., 1992). Somit sinkt die Anzahl der Selbstinjektionen, und die Behandlungsbelastung für die Patientinnen wird reduziert.

Ein weiterer großer Entwicklungsschritt war die Einführung der GnRH-Analoga im Rahmen der kontrollierten ovariellen Überstimulation im Jahre 1984 (Porter et al., 1984). Diese verhindern den frühzeitigen LH-Anstieg (luteinisierendes Hormon) weitgehend. Dagegen tritt bei Stimulationsschemata ohne GnRH-Analoga ein frühzeitiger LH-Anstieg mit 15 bis 20 prozentiger Wahrscheinlichkeit auf. Damit verbundenen ist eine unkontrollierte Ovulation unter supraphysiologischen Östradiolwerten, die über einen zentralnervösen Rückkopplungsmechanismus aktiviert wird (Schmutzler and Diedrich, 1990). Ein vorzeitiger LH-Anstieg führt zu einer negativen Beeinflussung der Oozyten- und Embryonenqualität und folglich zu einer niedrigeren Schwangerschaftswahrscheinlichkeit (Loumaye, 1990).

1.2.2 GnRH-Analoga

Ziel des Einsatzes von GnRH-Analoga ist es, eine vorzeitige LH-Freisetzung aus der Hypophyse und somit einen unkontrollierten Eisprung zu verhindern. Am GnRH-Rezeptor der Hypophyse werden die GnRH-Analoga nach ihrer Wirkung in Agonisten und Antagonisten unterschieden.

Die GnRH-Agonisten bewirken bei kontinuierlicher Besetzung der GnRH-Rezeptoren durch einen kompetitiven Verdrängungsmechanismus eine Desensibilisierung der gonadotropen Zellen des Hypophysenvorderlappens mit einer Herunterregulierung der GnRH-Rezeptoren. Dies wird auch als sog. „Down-Regulation“ bezeichnet. Eine initiale

LH/FSH-Sekretion mit Entleerung der hypophysären Gonadotropinspeicher wird als „Flare-up-Effekt“ bezeichnet und kann durch die intrinsische Wirkung des GnRH-Agonisten erklärt werden. Nach ca. 10 bis 14 Tagen tritt der so erzielte Effekt der Suppression der Hypophysenfunktion ein und verhindert einen vorzeitigen LH-Anstieg und somit einen unkontrollierten Eisprung. Nebenwirkungen der GnRH-Agonisten durch die initiale LH/FSH-Sekretion treten in Form von Hitzewallungen, Übelkeit, Kopfschmerz und Schwindel, Abnahme der Libido und psychischen Verstimmungen auf (Matta et al., 1988). Ebenso wird von Zwischenblutungen und Zystenbildung an den Eierstöcken berichtet (Ron-El et al., 1989).

Die GnRH-Analoga-Gabe kann täglich oder in Form eines einmaligen Depot-Präparates und – je nach angewendetem Protokoll – zu unterschiedlichen Zeitpunkten während des menstrualen Zyklus initiiert werden. Die Applikation erfolgt subkutan oder nasal. Man unterscheidet bei den GnRH-Agonisten zwischen dem sog. langen Protokoll, das immer noch als „Goldstandard“ am häufigsten angewendet wird, dem sog. kurzen und dem sog. ultrakurzen Protokoll. Das lange Protokoll wird unter den Agonisten-Protokollen favorisiert, da es dem kurzen und ultrakurzen Protokoll bezüglich Follikelreifung und Follikelqualität sowie Anzahl der gewonnenen Eizellen und den Schwangerschaftsraten überlegen ist (Tarlitzis et al., 1993).

Im Gegensatz zu den GnRH-Agonisten führen die GnRH-Antagonisten direkt, also ohne eine anfängliche gesteigerte Sekretion von FSH und LH, zu einer reversiblen Rezeptor-Blockade nach dem Massen-Wirkungs-Gesetz. Abgesehen von den zeitlichen und finanziellen Ersparnissen können so auch die Nebenwirkungen der unter den GnRH-Agonisten auftretenden funktionellen Kastration vermieden werden (Griesinger and Diedrich, 2009).

1.2.2.1 GnRH-Agonisten-Protokolle

Langes GnRH-Agonisten-Protokoll

Das lange GnRH-Agonisten-Protokoll beginnt in der Mittlutealphase des vorangegangenen Zyklus (22. Zyklustag) oder in der frühen Follikelphase (1. Zyklustag). Die Gabe des GnRH-Agonisten erfolgt entweder einmalig in Depotform oder täglich. Etwa 10 bis 14 Tage nach Verabreichung ist eine Hypophysen-Suppression erreicht, und es wird die Gonadotropin-Stimulation in individueller Dosierung gestartet. Es folgt die Eizellreifung mit 5000 bis 10.000 I.E. hCG (humanes Choriongonadotropin), wenn sich in der

Follikulometrie mehrere Follikel mit einem Durchmesser von 18 bis 20 mm darstellen. 36 Stunden später erfolgt die Follikelpunktion (siehe **Abb. 1**). Um den Effekt der vorzeitigen Luteolyse zu kompensieren, die durch die Stimulation mittels hMG und vorheriger hypophysärer „Down-Regulation“ durch GnRH-Agonisten zu erklären ist, wird eine Lutealphasenunterstützung typischerweise mit Progesteron durchgeführt.

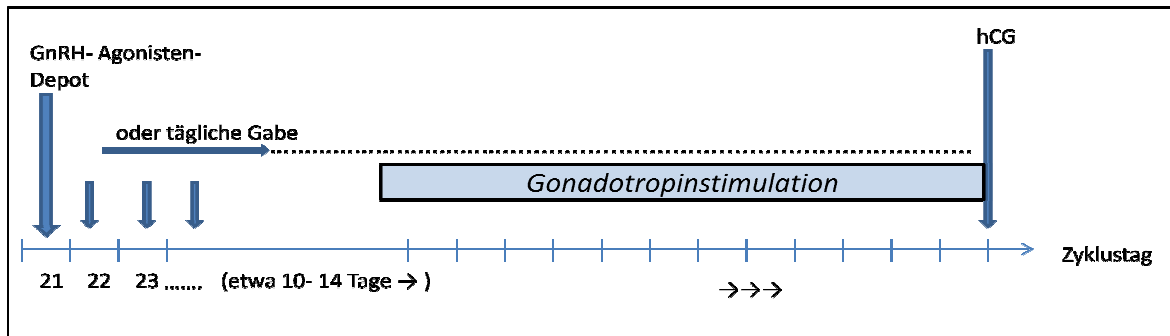


Abb. 1: GnRH-Agonist, langes luteales Protokoll

(Quelle: UK-SH Universitäres Kinderwunschzentrum Prof. Dr. Griesinger)

Kurzes GnRH-Agonisten-Protokoll

Bei diesem Stimulationsprotokoll wird der GnRH-Agonist ab dem 1. Zyklustag bis zur Eizellreifung mittels hCG verabreicht. Die Darreichung der Gonadotropine beginnt zwei bis drei Tage nach dem ersten Zyklustag (siehe **Abb. 2**).

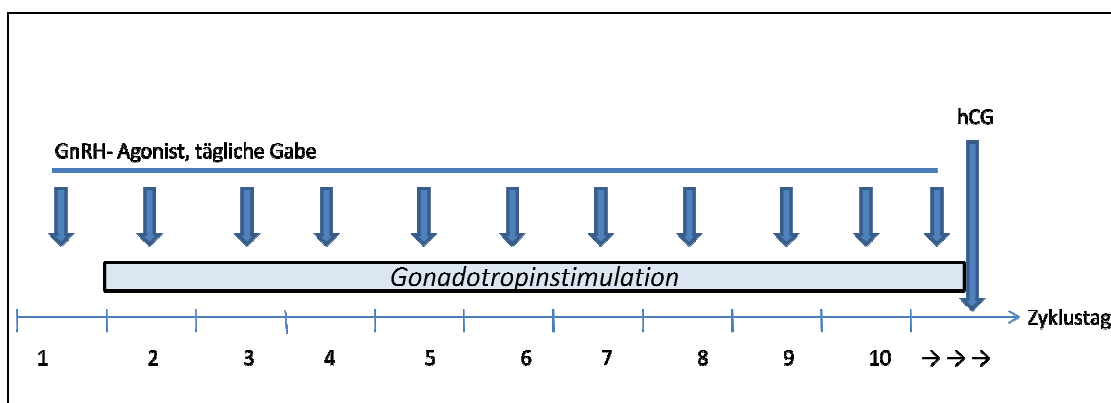


Abb. 2: GnRH-Agonist, kurzes Protokoll

(Quelle: UK-SH Universitäres Kinderwunschzentrum Prof. Dr. Griesinger)

Ultrakurzes GnRH-Agonisten-Protokoll

Hierbei wird der GnRH-Agonist lediglich an den ersten vier, maximal fünf Zyklustagen verabreicht. Die Gonadotropin-Stimulation beginnt ab dem zweiten Zyklustag. Eine Eizell-

reifung und Lutealphasenunterstützung erfolgt wie beim langen Protokoll (siehe **Abb. 3**). Sowohl beim kurzen als auch beim ultrakurzen GnRH-Agonisten-Protokoll wird der sog. „Flare-up-Effekt“ für die Stimulation ausgenutzt. Sie sind deshalb auch als sog. „Flare-Protokolle“ bekannt.

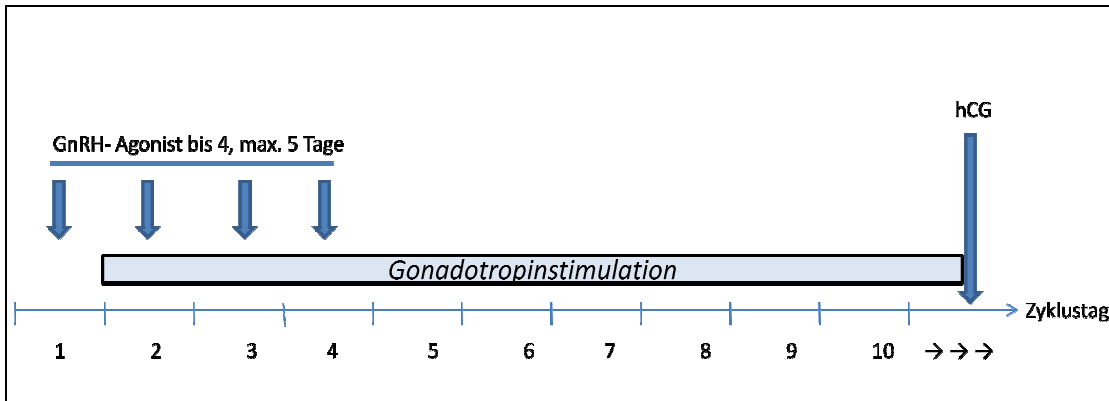


Abb. 3: GnRH-Agonist, ultrakurzes Protokoll

(Quelle: UK-SH Universitäres Kinderwunschzentrum Prof. Dr. Griesinger)

1.2.2.2 GnRH-Antagonisten-Protokolle

Als Vorteile der GnRH-Antagonisten-Protokolle gegenüber den GnRH-Agonisten-Protokollen sind die Verkürzung der Gesamtbehandlungsdauer durch die fehlende intrinsische Rezeptoraktivierung am hypophysären GnRH-Rezeptor, die geringeren Kosten durch die Einsparung von Gonadotropinen, das seltenere Auftreten von Ovarialzysten, die Vermeidung des Flare-up-Effekts mit seinen unangenehmen Nebenwirkungen und die geringere Wahrscheinlichkeit für die Entwicklung eines schweren Überstimulationssyndroms zu nennen. Trotz der vielen Vorteile der GnRH-Antagonisten-Protokolle in der ovariellen Stimulation konnten sie sich anfangs in der klinischen Routine gegenüber den GnRH-Agonisten-Protokollen nicht durchsetzen.

Die Unterlegenheit der GnRH-Antagonisten-Protokolle liegt unter anderem darin begründet, dass die erste und zweite Generation der GnRH-Antagonisten aufgrund eines histaminfreisetzenden Effekts mit schweren allergischen Reaktionen assoziiert waren (Hahn et al., 1985; Morgan et al., 1986). Erst Substanzen der dritten Generation konnten für den klinischen Alltag zugelassen werden. Gegen die Anwendung der GnRH-Antagonisten sprach auch die Beobachtung, dass die Wahrscheinlichkeit einer klinischen Schwangerschaft in den initialen Zulassungsstudien bei GnRH-Antagonisten im Vergleich zu GnRH-Agonisten um rund 5 % geringer war (Al Inany and Aboulghar, 2002). In einer systematischen Übersichtsarbeit und einer Meta-Analyse von Kolibianakis et al. konnte bei

Patientinnen unter IVF-Behandlung hinsichtlich der Lebendgeburtenrate jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen den GnRH-Analoga gezeigt werden (Kolibianakis et al., 2006). Anfänglich wurden die GnRH-Antagonisten nur als Mittel der zweiten Wahl bzw. bei speziellen Indikationen (bei älteren Patientinnen) verwendet (Griesinger et al., 2005). Inzwischen rückt die Anwendung der GnRH-Antagonisten aufgrund ihrer vielen Vorteile bei der ovariellen Stimulation stärker in den Mittelpunkt des Interesses.

Es gibt zwei Möglichkeiten für den Einsatz von GnRH-Antagonisten: das Einzeldosis- und das Mehrfachdosis-Protokoll (siehe **Abb. 4** und 5). Im Gegensatz zu den GnRH-Agonisten, die bereits zum Beginn des Zyklus gegeben werden, müssen die GnRH-Antagonisten erst dann eingesetzt werden, wenn ein vorzeitiger LH-Anstieg tatsächlich droht. Die Gabe erfolgt entweder an einem fest geplanten Tag oder aber ab einer Größe des Leitfollikels von 13 bis 14 mm.

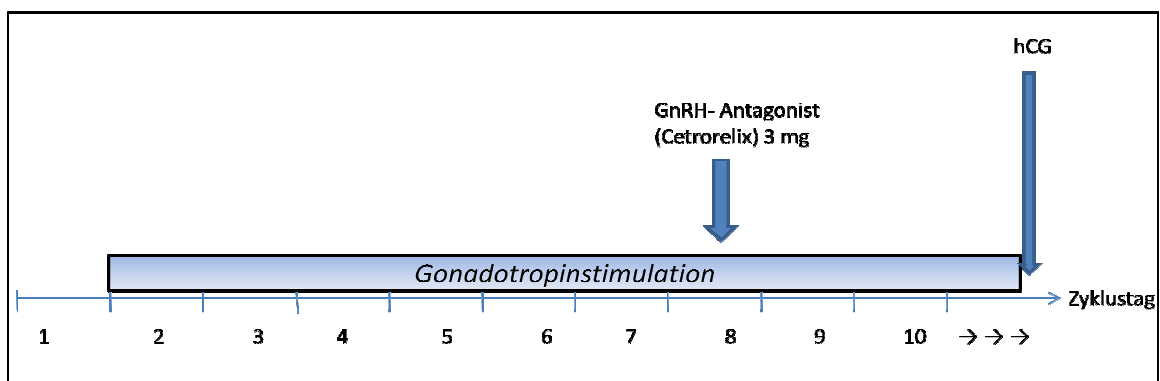


Abb. 4: GnRH-Antagonisten-Protokoll, Einfachdosis-Protokoll
(Quelle: UK-SH Universitäres Kinderwunschzentrum Prof. Dr. Griesinger)

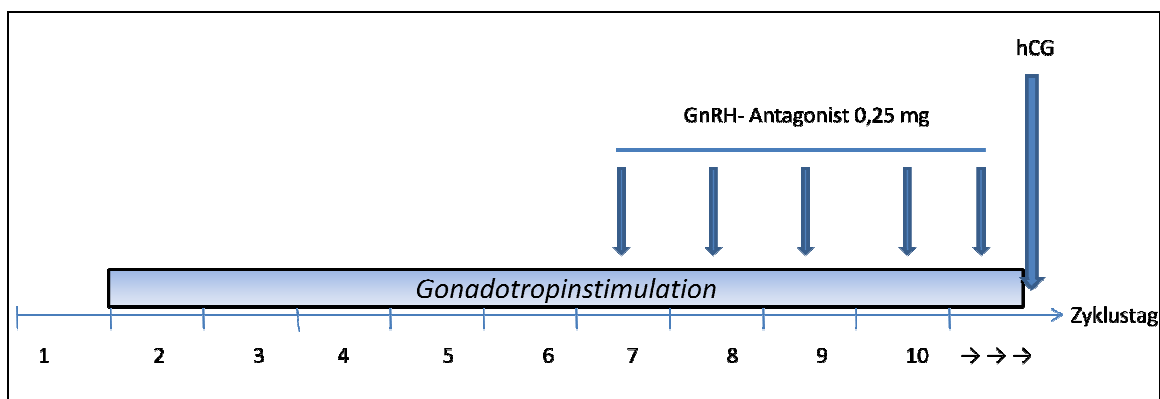


Abb. 5: GnRH-Antagonisten-Protokoll, Mehrfachdosis-Protokoll
(Quelle: UK-SH Universitäres Kinderwunschzentrum Prof. Dr. Griesinger)

1.2.3 Finale Eizellreifung mit hCG

Physiologisch tritt die Ovulation ca. 10 bis 12 Stunden nach der LH-Freisetzung (LH-Peak) aus der Hypophyse ein, die durch einen positiven „Feedback-Mechanismus“ nach einer maximalen Östradiolkonzentration zwischen 150 und 500 pg/ml getriggert wird (Leichtweiß et al., 2005). Die Steuerung des zuvor negativen Feedbacks zu einem positiven Feedback-Mechanismus mit einer vermehrten Gonadotropinsekretion erfolgt über das sog. Kisspeptin und das entsprechende Rezeptorsystem (GPR54) (Reynolds et al., 2009). Die finale Eizellreifung wird bei der COH jedoch üblicherweise mittels hCG-Verabreichung (humanes Choriongonadotropin) durchgeführt. Es werden entweder 5000 bis 10000 IE urinäres oder 250 µg rekombinantes hCG zur Eizellreifung verwendet. Die hCG-Gabe richtet sich nach der Östrogenkonzentration und einer bestimmten Follikelzielgröße. Die Follikelzielgröße sollte einen mittleren Durchmesser von 17 bis 18 mm betragen. HCG kann aufgrund seiner molekularen Ähnlichkeit zu LH einen LH-Peak imitieren, wirkt aber durch eine deutlich längere Halbwertszeit länger als LH und hat keine Wirkung in Bezug auf den mittzyklischen physiologischen FSH-Anstieg (Dufau et al., 1971; Hoff et al., 1983). Auch weist hCG im Vergleich zu LH eine höhere Rezeptoraffinität und einen längeren intrazellulären Effekt auf. Bedeutsam ist hCG als Trigger bei der Pathogenese des ovariellen Überstimulationssyndroms („ovarian hyperstimulation syndrome“ OHSS).

1.3 Ovarielles Überstimulationssyndrom (OHSS)

Das ovarielle Überstimulationssyndrom ist ein ernst zu nehmendes, iatrogenes Krankheitsbild mit potenziell lebensbedrohlichen Komplikationen, das prinzipiell bei jeder Stimulation mit Gonadotropinen auftreten kann. Es ist Folge einer übersteigerten ovariellen Reaktion auf die Stimulation. Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) gibt die weltweite Inzidenz des OHSS mit 0,2 bis 1 % aller Zyklen in der assistierten Reproduktion an. In der Literatur finden sich Angaben über die Inzidenz des moderaten OHSS von 10 % und des schweren OHSS von 1 bis 3 % (Kolibianakis et al., 2006).

Neben der iatrogenen Form gibt es die weitaus seltenere Form des spontanen OHSS als Folge von Punktmutationen im FSH-Rezeptor, das familiäre OHSS, bei dem eine erbliche Komponente diskutiert wird, sowie dem unter Mehrlingsschwangerschaften und bei Blasenmole auftretenden OHSS (Abramov et al., 1998; Montanelli et al., 2004). Auch bei schwangeren Patientinnen mit einer seltenen Mutation des FSH-Rezeptors und hohen

TSH-Werten aufgrund einer nicht erkannten Hypothyreose sind Fälle eines OHSS beschrieben (Guvenal et al., 2006).

1.3.1 Einteilung

Das OHSS wurde erstmals durch Rabau et al. im Jahre 1967 klassifiziert. Dabei wurden unterschiedlich ausgeprägte klinische Beschwerdebilder und Laborparameter berücksichtigt und das Krankheitsbild in fünf Schweregrade eingeteilt (Rabau et al., 1967):

Grad 1: Östrogen > 1500 pg/ml und Progesteron > 10 mg/24 h

Grad 2: Grad 1 + vergrößerte Ovarien und Zystenbildung

Grad 3: Grad 2 + palpabel vergrößerte Zysten und aufgeblähtes Abdomen

Grad 4: Grad 3 + Übelkeit/Erbrechen und Diarrhoe

Grad 5: Grad 4 + Aszites und möglicher Hydrothorax

Grad 6: Grad 5 + Veränderungen des Blutvolumens, der Viskosität und damit Gefahr für thrombembolische Ereignisse

Die Klassifikation durch Rabau et al. wurde immer wieder modifiziert. Von Schenker und Weinstein (1978) wurden die klinischen Beschwerdebilder und die Laborparameter in drei Hauptgruppen (mild, moderat und schwer) bzw. fünf Schweregrade unterteilt (Schenker and Weinstein, 1978). Neuere Klassifikationen beinhalten zusätzlich die Früherkennung schon von kleinsten Mengen an Aszites durch transvaginalen Ultraschall (Golan and Weissman, 2009). Die schwere Form des OHSS wurde von Navot et al. 1992 in zwei Untergruppen eingeteilt (Navot et al., 1992). Im Jahre 1999 wurde eine modifizierte Klassifikation durch Rizk und Aboulghar vorgestellt. Auch von der WHO wurde eine Einteilung vorgenommen, siehe **Tab. 1**.

Tab. 1.: OHSS Klassifikation nach Richtlinien der WHO (modifiziert nach Golan et al. 1989),

I (mild)	Grad 1	Erhöhte Steroidspiegel Vergrößerte Ovarien und Zystenbildung
	Grad 2	Grad 1 + Ovarienvergrößerung 6 - 12 cm Abdominale Beschwerden, Übelkeit/Erbrechen
II (moderat)	Grad 3	Grad 2 + Nachweis von Aszites durch Ultraschall
III (schwer)	Grad 4	Grad 3 + Ovarienvergrößerung > 12 cm oder Hydrothorax
	Grad 5	Grad 4 + Pleuraerguss, Hydrothorax, Perikarderguss Hämokonzentration, Oligurie thrombembolische Ereignisse

Die Symptome umfassen: mäßige bis starke abdominale Beschwerden, Meteorismus, Übelkeit, Völlegefühl, Erbrechen und Durchfall, die durch Veränderungen des Elektrolythaushaltes zu erklären sind, Perikard- und Pleuraergüsse, Bauchumfangs- und Gewichtszunahme durch Aszites mit den Folgen der eingeschränkten Zwerchfellbeweglichkeit und damit verbundener Dyspnoe, Hydrothorax, zunehmende Ovargröße mit der Gefahr einer Torsion bis hin zu thrombembolischen Ereignissen, Niereninsuffizienz bei Minderperfusion durch Volumenverlust in den „dritten Raum“, Neigung zu Ödemen, hämodynamische Instabilität mit Hypotonie und Tachykardie und Veränderungen der Laborwerte von Hämatokrit, Leukozyten und Östradiol (Binder et al., 2007). Die Mortalitätsrate wird mit 1:45000 bis 1:50000 angegeben (Brinsden et al., 1995).

Nach dem zeitlichen Auftreten wird ein „early-onset“ OHSS von einem „late-onset“ OHSS unterschieden. Das „early-onset“ OHSS manifestiert sich von Tag drei bis neun nach der hCG-Gabe zur Eizellreifung, während das „late-onset“ OHSS sich erst nach dem 9. Tag manifestiert. Beim „early-onset“ OHSS wird das exogen zugeführte hCG zur Eizellreifung bei Frauen mit hohen Östradiolspiegeln und vielen Follikeln als Trigger angesehen. Beim „late-onset“ OHSS wird der Pathomechanismus durch das während der Schwangerschaft ansteigende, endogene hCG in Gang gesetzt (Lyons et al., 1994; Mathur et al., 2000).

1.3.2 Pathophysiologie

Die Pathophysiologie dieses Syndroms ist noch nicht vollständig geklärt. Leitsymptom ist eine ausgeprägte Flüssigkeitsverschiebung in den sog. „dritten Raum“. Verschiedene Substanzen und Mediatoren werden für die erhöhte Gefäßpermeabilität sowie für die Gefäßdilatation in peripheren Arteriolen verantwortlich gemacht. Bedeutsam ist vor allem der „vascular endothelial growth factor“ (VEGF). Er wird von den luteinisierenden Granulosazellen und Thekazellen des Corpus luteum sezerniert. VEGF wirkt auf die endothelialen Gap-junctions und verändert diese mit der Folge einer erhöhten Kapillarpermeabilität (Thuringer, 2004). Die VEGF-mRNA-Expression korreliert eng mit den Serumspiegeln für hCG (Neulen et al., 1995). HCG, welches bei der Eizellreifung oder auch zur Unterstützung der Lutealphase Anwendung findet, und FSH sind gleichermaßen in der Lage, VEGF freizusetzen. Die Höhe des VEGF korreliert mit der Schwere des OHSS (Geva and Jaffe, 2000). So lassen sich erhöhte Konzentrationen von VEGF bei Patientinnen mit OHSS im Serum, der Follikelflüssigkeit, dem Pleuraexsudat, dem Urin und im Aszites finden (McClure et al., 1994). VEGF spielt darüber hinaus eine Rolle bei der Neoangiogenese. Er ist für die Gefäßversorgung des Corpus luteum graviditatis und für

die Vaskularisation des sekretorischen Endometriums mit verantwortlich (Binder et al., 2004).

HCG und Gonadotropine sind auch an der Aktivierung des ovariellen Renin-Angiotensin-Systems beteiligt (Delbaere et al., 1994). Angiotensin II wird über die Kaskade aus Prorenin gebildet, welches aus luteinisierten Thekazellen stammt. Angiotensin II führt zur Kontraktion endothelialer Zellen, was wiederum eine erhöhte Kapillarpermeabilität und somit den Verlust von Flüssigkeit aus dem Intravasalraum in den „dritten Raum“ zur Folge hat (Goldsman et al., 1995; Tollan et al., 1990). Durch den intravasalen Flüssigkeitsverlust kommt es zu Elektrolytstörungen, zur Hämokonzentration mit Aktivierung des Gerinnungssystems und unter Umständen zum prärenalen Nierenversagen. Hyperkoagulabilität, hohe Östradiolspiegel und Immobilität erhöhen das Risiko für ein thrombembolisches Ereignis.

Die Adhäsionsmoleküle ICAM-1 und E-Selektin korrelieren ebenfalls mit der Schwere des OHSS (Abramov et al., 2001). Sie verstärken den Effekt des VEGF auf die Gap-junctions (Kovachev et al., 2005). Östrogen ist ein wenig geeigneter Prädiktor des OHSS, um Patientinnen als gefährdet einzustufen. Die Östrogen-Konzentration ist zwar kein direkter Auslöser; es wird ihm jedoch eine supportive Funktion zugeschrieben (Aboulghar, 2003). IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α (Chen et al., 2000), leukozytäre Zytokine, Prostaglandine, Histamine, NO, Prolaktin, Kinin-Kallikrein-System, Anti-Müller-Hormon und andere Mediatoren korrelieren ebenfalls mit der Ausprägung des OHSS in unterschiedlicher Form oder sind Prädiktoren für die Entwicklung eines OHSS (Delvigne and Rozenberg, 2002; Lee et al., 2008).

1.3.3 Risikofaktoren

Zur OHSS-Risikogruppe gehören junge, asthenische Patientinnen mit hypothalamisch-hypophysärer Ovarialinsuffizienz, die mit einer erhöhten Empfindlichkeit auf exogene Gonadotropine reagieren. Weiterhin zählen dazu Patientinnen mit einer Allergieanamnese, einer hyperandrogenämischen Ovarialinsuffizienz, einem Polyzystischen Ovar (PCO)-Syndrom, Patientinnen mit hohen Östradiolwerten vor der Ovulationsinduktion (>4500 pg/ml) und schnell ansteigenden Östradiolwerten unter der Stimulation. Weiterhin gehören zur OHSS-Risikogruppe Patientinnen mit einer hohen Follikelzahl (>15), Patientinnen mit Stimulation nach Downregulation mit GnRH-Agonisten und Auslösung der finalen Eizellreifung mit hCG, Patientinnen mit Lutealphasenunterstützung mit hCG

und Patientinnen, bei denen bereits ein OHSS in einer vorangegangenen Behandlung aufgetreten ist. Ebenso sind Patientinnen mit einer nicht behandelten Hypothyreose und Patientinnen mit mehr als drei dominanten Follikeln in unstimulierten Zyklen als Risikopatientinnen einzustufen (Binder et al., 2004). Das Risiko steigt im Besonderen mit der Anzahl der heranwachsenden Follikel (Blankstein et al., 1987) bzw. der Anzahl der gewonnenen Eizellen (Enskog et al., 1999). Ebenso lässt eine eintretende Schwangerschaft nach Embryonentransfer die Wahrscheinlichkeit des Auftretens eines OHSS, insbesondere dessen Schwere und Fortdauer ansteigen. Damit hängt auch unmittelbar zusammen, dass sich die Symptome eines „early-onset“ OHSS beim Ausbleiben einer Schwangerschaft, spätestens mit der nachfolgenden Menstruation, schnell zurückbilden. Bei leichteren Verläufen eines „late-onset“ OHSS bessern sich die Symptome in der Regel mit Abnahme der Aktivität des Corpus luteum spontan bis zur 12. SSW, ohne dass eine ärztliche Intervention nötig ist (Binder et al., 2007). Es ist ersichtlich, dass das OHSS eng mit der Lebensdauer des Corpus luteum verbunden ist.

1.3.4 Prävention

Bei der Vorbeugung von Erkrankungen oder Gesundheitsstörungen wird zwischen primärer, sekundärer und tertiärer Prävention unterschieden.

Unter die Primärprävention fallen die individuell angepassten Stimulationsprotokolle unter Verwendung von GnRH-Antagonisten. Das GnRH-Antagonisten-Mehrfach-Dosis-Protokoll ist im Gegensatz zum GnRH-Agonisten-Protokoll mit einer erheblichen Risikoreduktion eines schweren OHSS verbunden. In einem Cochrane-Review wurde im GnRH-Antagonisten-Protokoll eine relative Risikoreduktion von 56 % im Vergleich zum Agonisten-Protokoll angegeben (Al-Inany et al., 2011). Trotz zusätzlicher Reduktion der FSH-Dosis („milde Stimulation“) im GnRH-Antagonisten-Protokoll wurde in einer klinischen Studie dennoch ein relevantes OHSS bei 1,4 % der Fälle beobachtet (Heijnen et al., 2007).

Zur Sekundär- und Tertiärprävention werden folgende Maßnahmen gezählt:

Eine Möglichkeit dieser Prävention ist das sog. „Coasting“, bei dem durch Pausieren der Gonadotropine von maximal drei Tagen eine Senkung der Östradiolwerte erzielt wird, da ein Teil der Follikel atretisch wird. Die im Anschluss daran durchgeführte hCG-Gabe erfolgt in niedrigeren Dosen. Durch dieses Vorgehen kann ein drohendes OHSS abgewendet oder im Schweregrad abgemildert werden (Al Shawaf et al., 2001;

Grochowski et al., 2001). Zusätzlich ist auch der Einsatz von GnRH-Antagonisten während der „Coasting-Periode“ beschrieben, der die Dauer bis zur hCG-Gabe verkürzen kann (Gustofson et al., 2006).

Um die Anzahl der Follikel nach hormoneller Stimulation zu reduzieren, werden auch mechanische Ansätze verfolgt. Es gibt sowohl die Möglichkeit einer frühen unilateralen Follikelaspiration („early unilateral follicle aspiration“ (EUFA)) als auch einer frühen beidseitigen Aspiration von kleinen Follikeln („early timed follicular aspiration“ (ETFA)) mittels Ultraschallsonde zur Prävention des OHSS (Aboulghar et al., 1992; Schroder et al., 2003; Tomazevic and Meden-Vrtovec, 1996).

Ein weiterer präventiver Ansatz besteht darin, die Dosis von hCG zur Eizellreifung von 10000 auf 5000 IE oder auf noch niedrigere Werte zu senken. Dieser Ansatz beruht auf der Annahme, dass die Auslösung des OHSS durch hCG erst ab einem gewissen Schwellenwert erreicht wird. Ein schweres OHSS konnte bei der Applikation von 2500 IE zur Ovulation bisher nicht beobachtet werden (Nargund et al., 2007).

Alternativ zu hCG kann ein GnRH-Agonist zur Eizellreifung eingesetzt werden. Dies ist aber nur im GnRH-Antagonisten-Mehrfach-Dosis-Protokoll möglich. Aufgrund der direkten Blockade des GnRH-Antagonisten an der Hypophyse bleibt im Gegensatz zum Einsatz von GnRH-Agonisten eine Gonadotropinreserve erhalten. Wenn nun eine Bolusgabe des GnRH-Agonisten erfolgt, reicht diese aus, um den GnRH-Antagonisten vom Rezeptor zu verdrängen und eine endogene LH-Ausschüttung zu bewirken. Nachteilig ist jedoch die geringere Schwangerschaftsrate bei Patientinnen mit einem niedrigen Risiko für ein OHSS nach Einsatz mit GnRH-Agonisten und direkter Embryonenübertragung (Griesinger et al., 2006; Humaidan et al., 2005). Als Ursache dafür wird die massiv einsetzenden Luteolyse nach GnRH-Agonisten-Bolusgabe angenommen (Acevedo et al., 2006). Durch eine aggressive Lutealphasenunterstützung mit E2 und Progesteron konnte eine Verbesserung des klinischen Resultats erzielt werden (Engmann et al., 2008). Ein optimales Lutealphasenprotokoll ist bisher aber nicht ermittelt worden.

Bisher konnte einmalig gezeigt werden, dass die GnRH-Antagonisten-Gabe in der Lutealphase zum raschen Rückgang des Schweregrades des OHSS führte (Lainas et al., 2007).

Der Einsatz von Cabergolin, einem Dopamin-D2-Rezeptor-Agonisten, kann den VEGF-Rezeptor blockieren und damit die VEGF-vermittelte Permeabilitätssteigerung im Rahmen

des OHSS vermindern. Allerdings ist Cabergolin zur Totalprävention ungeeignet, da von schwerem OHSS unter Cabergolin berichtet wurde (Alvarez et al., 2007; Busso et al., 2009).

Die in-vitro-Maturation wird ebenfalls als Methode zur Primärprävention eines OHSS beschrieben. Hierbei werden unreife Eizellen gewonnen, um die weitere Reifung in-vitro durchzuführen (Kodama et al., 1996; Son et al., 2006).

Auch die intravenöse Gabe von Albumin als osmotisch stark wirksame Substanz wird bei Patientinnen mit hohem Risiko für ein OHSS zur Prävention vorgeschlagen (Aboulghar et al., 2002).

1.4 Aufgabenstellung der vorliegenden Arbeit

Von der Kinderwunschabteilung des UKSH, Campus Lübeck wurde 2004 ein neues Konzept zur Sekundärprävention eines OHSS entworfen. Dies beinhaltet die finale Eizellreifung mit GnRH-Agonist im GnRH-Antagonisten-Protokoll in Kombination mit einer elektiven Kryokonservierung aller 2PN-Oozyten (Eizellen im Zweikernstadium) und anschließendem Embryonentransfer in einem späteren Zyklus.

Dieses Vorgehen lässt sich wie folgt begründen:

Das Syndrom der ovariellen Überstimulation entsteht exklusiv nach hCG-Verabreichung. Seit mehr als 20 Jahren ist bekannt, dass eine Bolusgabe von GnRH-Agonisten die hCG-Verabreichung ersetzen kann. Die GnRH-Agonisten-Gabe führt zu einer endogenen LH-Ausschüttung, welche die Eizellreifung (Wiederaufnahme der Meiose in das Metaphase-II-Stadium) induzieren kann. Ein Ersatz von hCG durch GnRH-Agonisten ist in einem GnRH-Antagonisten-Stimulationsprotokoll möglich, und es wurde in der Literatur gezeigt, dass dies das Risiko für ein OHSS drastisch reduziert (Griesinger et al., 2006; Humaidan et al., 2005).

Die Luteolyse nach GnRH-Agonisten-Bolusgabe (Acevedo et al., 2006) und die damit verbundene geringere Schwangerschaftsrate begründen die Notwendigkeit der Trennung von Stimulation und Embryonenübertragung im selben Zyklus. Diese zeitliche Trennung wird durch die Kryokonservierung ermöglicht.

Auch das Wissen darüber, dass ein OHSS besonders bei Eintritt einer Schwangerschaft im selben Zyklus, auch nach Stimulation im GnRH-Antagonisten-Protokoll, schwerwiegende Verlaufsformen annehmen kann, begründet dieses Vorgehen (Heijnen et al., 2007).

Das oben genannte Konzept soll hinsichtlich der Effizienz und Sicherheit durch prospektive Studien überprüft und somit kontrolliert in die klinische Praxis eingeführt werden. Die vorliegende Doktorarbeit sammelt zu diesem Zweck nach a-priori definierten Kriterien Daten und Behandlungsergebnisse, um einen systematischen Überblick und eine fundierte Bewertung zu ermöglichen.

1.5 Zielsetzung

Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Auswertung der seit Dezember 2004 prospektiv erhobenen Daten des unter 1.4 näher beschriebenen Therapieverfahrens.

Es wurden zwei Patientinnen-Kollektive prospektiv erfasst:

1. Patientinnen, die bei normal dosierter FSH-Stimulation eine ovarielle Überstimulation entwickelt haben (Gruppe A) = OHSS-Risikopatientinnen (= Beobachtungsstudie)
2. Patientinnen ohne ein Risiko für ein OHSS, die – interventionell – hoch dosiert stimuliert wurden, um die Eizellzahl zu maximieren (Gruppe B) = Normalkollektiv (= Interventionsstudie)

Patientinnen der Gruppe A gehören zur OHSS-Risikogruppe. Es soll in der hier vorgelegten Arbeit gezeigt werden, ob und inwieweit durch die Anwendung dieses Verfahrens die Entwicklung eines ovariellen Stimulationssyndroms tatsächlich verhindert wird. Ebenso sollen die Schwangerschaftswahrscheinlichkeit und die Ergebnisse der Stimulation über einen längeren Nachbeobachtungszeitraum dargestellt und ausgewertet werden.

Darüber hinaus wird bei Patientinnen der Gruppe B (= Normalkollektiv) untersucht, ob auch bei erhöhten Stimulationsdosen mit dem Ziel der maximalen Eizellengewinnung das Verfahren als sicher und tolerabel einzustufen ist.

Hohe Lebendgeburtenraten bei gleichzeitig niedrigem Risiko für ein OHSS sind Ziele jeder Kinderwunschbehandlung. Im Folgenden wird dargestellt, ob dieses Ziel mit dem in

dieser Arbeit diskutierten Therapieverfahren, sowohl bei OHSS-Risikopatientinnen, als auch bei Patientinnen ohne ein solches Risiko, erreicht werden kann. Auch soll durch die Ergebnisse der Weg für nachfolgende klinische Studien gebahnt werden.

Ziel ist somit, die Effizienz und Sicherheit des oben genannten klinischen Verfahrens darzulegen und zu diskutieren.

2. Material und Methoden

2.1 Die Patientinnenkollektive

Von Dezember 2004 bis April 2007, gefolgt von einer dreijährigen Nachuntersuchung von Mai 2007 bis Mai 2010, wurden insgesamt 70 Patientinnen nach bestimmten Ein- und Ausschlusskriterien für die Gruppe A und B rekrutiert, die sich im universitären Kinderwunschzentrum Lübeck vorstellten, welches an das Universitätsklinikum Schleswig-Holstein (UK-SH), Campus Lübeck angeschlossen ist.

Die Auswertung der Studiendaten im Rahmen der vorliegenden Doktorarbeit wurde von der Ethikkommission der Universität zu Lübeck geprüft und genehmigt (Aktenzeichen 09-146).

2.2 Ein- und Ausschlusskriterien

Ein- und Ausschlusskriterien für Gruppe A (= OHSS-Risikopatientinnen), bestehend aus 40 Patientinnen:

1. Indikation für IVF/ICSI
2. Risiko für ein ovarielles Überstimulationssyndrom (definiert durch ≥ 20 Follikel, ≥ 10 mm oder $E2 \geq 4000$ pg/ml zum Zeitpunkt der Induktion der finalen Eizellreifung) **oder** OHSS-Risiko in einem vorangegangenen Zyklus mit Zyklusabbruch **oder** Entwicklung eines schweren OHSS in der Anamnese
3. Einwilligung in die Teilnahme an der Studie nach erfolgter vorheriger Beratung und Information über alternative Behandlungsoptionen der OHSS-Prävention

Für die Gruppe B (= Normalkollektiv), bestehend aus 30 Patientinnen, gilt Folgendes:

1. Ausschluss von Patientinnen mit > 36 Jahren
2. Ausschluss von sogenannten erwarteten „Low-Respondern“ (Patientinnen mit einer geringeren oder unzureichenden Reaktion auf die ovarielle Stimulation mit Gonadotropinen)
3. Beide Ovarien vorhanden
4. Keine Endometriose
5. Indikation für ICSI oder IVF
6. Einwilligung in die Teilnahme an der Studie

Beiden Gruppen gemein ist die Induktion der finalen Eizellreifung mit GnRH-Agonisten im GnRH-Antagonisten-Protokoll und elektiver Kryokonservierung aller 2PN-Eizellen mit späterem Embryonentransfer in einem artifiziellen Zyklus.

Der Unterschied zwischen beiden Gruppen, zusätzlich zu den unterschiedlichen Ein- und Ausschlusskriterien, lag in der Dosierung der ovariellen Stimulation mit Gonadotropinen. Bei Gruppe A erfolgte am 5. Zyklustag, abhängig vom individuellen Ansprechen, eine Dosisanpassung von recFSH oder hMG. Die verwendete Dosierung lag zwischen 150 bis 400 IE rFSH/hMG pro Tag. Bei der Gruppe B wurde eine dahin gehend einheitliche Stimulation durchgeführt, als dass minimal 300 IE FSH/Tag verabreicht wurde.

Weiterhin lag der Unterschied zwischen beiden Gruppen darin, dass für die Gruppe B kein Risiko für ein OHSS aus der Anamnese abgeleitet werden konnte. Somit kann die Gruppe B als Normalkollektiv betrachtet werden.

Alle Patientinnen konnten nur einmal in die Beobachtungsstudie aufgenommen werden. Die Aufnahme erfolgte am Tag der Induktion der finalen Oozytenreifung, an dem eine transvaginale Ultraschalluntersuchung und eine Messung von Hormonwerten durchgeführt wurden. Die Datenerfassung endete mit der Erzielung einer Lebendgeburt.

2.3 Geräte zur Hormonwertbestimmung

Mit dem Elektrochemilumineszenz-Immunoassay (ECLIA) (Roche Diagnostics Inc., Germany) an dem Roche Immunoassay-Analysenautomaten „Elecsys 2010“ wurden die Serumspiegel von Östradiol (E2), luteinisierendem Hormon (LH), Progesteron, follikelstimulierendem Hormon (FSH) und Humane Choriongonadotropin (β -hCG) im Labor der Klinik für Frauenheilkunde, UK-SH, Campus Lübeck bestimmt. C-reaktives Protein (CRP) wurde mit dem Gerät „the architect-16000 C“ der Firma Abbott bestimmt. Hämatokrit (Hkt) und Leukozyten wurden mit dem Gerät „LH 750“ der Firma Beckman Coulter ermittelt.

Die Intraassay- und Interassay-Variationskoeffizienten betrugen 1,20 % und 2,19 % für E2, 1,60 % und 1,88 % für LH, 1,43 % und 0,25 % für Progesteron, 1,31 % und 0,18 % für FSH. Der Variationskoeffizient für β -hCG betrug 4,76 %, für Hkt 1,56 %, für Leukozyten 1,38 % und für CRP 3,48 %.

2.4 Datenerhebung und erfasste Parameter

Der Datensatz der vorliegenden Arbeit stammt aus den seit Dezember 2004 bis April 2007 prospektiv in RecDate[®], der Computerdatenbank und den entsprechenden Akten des Kinderwunschzentrums der Universität zu Lübeck gespeicherten Behandlungsdaten der ovariellen Stimulation und Eizellentnahme, gefolgt von einem dreijährigen Nachbeobachtungszeitraum der Kryo-ETs und Schwangerschafts-Ergebnisse von Mai 2007 bis Mai 2010.

RecDate[®] ist eine relationale Datenbank auf der Basis von Filemaker Pro[®] zur Erfassung, Dokumentation und Auswertung aller für die Behandlung ungewollt kinderloser Paare relevanten Daten in elektronischer Form. RecDate[®] ermöglicht, durch Öffnen der verschiedenen Layoutmasken nach bestimmten Kriterien bei den jeweiligen Patientinnen gezielt Daten aufzurufen (Pak et al., 2001).

Da die eigentliche medizinische Behandlung der in-vitro-Fertilisation und Kryokonservierung von Eizellen aus rechtlicher Sicht unter Arztvorbehalt steht, und diese nur von eigens qualifizierten und geschulten Personen durchgeführt werden darf, wurden im Rahmen dieser Arbeit lediglich die eine Behandlung begleitenden Daten systematisch erfasst und ausgewertet. Dazu musste ein Studienprotokoll erstellt und eine Genehmigung der Ethikkommission eingeholt werden. Durch regelmäßige Audits wurde sichergestellt, dass über die Routine hinausgehenden Messungen veranlasst, und sorgfältig dokumentiert wurden. Eine prospektive Erfassung und ein „follow-up“ über einen Zeitraum von insgesamt 5 Jahren wurden gewährleistet. Ein Einverständnis zur Datenerhebung über das Ende der Behandlung hinausgehend, ggfs. auch auf telefonischem Weg, wurde eingeholt. Schließlich mussten die Daten für eine statistische Auswertung aufbereitet und analysiert werden.

Es wurden folgende Parameter für die Gruppe A erfasst:

Patienten ID, Gewicht, Größe, BMI, Zigarettenkonsum, Zyklus ID, Vermerk über das Bestehen eines PCOS (Polyzystisches Ovarsyndrom) in der Anamnese, Dauer des ungeschützten Verkehrs, frühere Schwangerschaften (Gravida), frühere Geburten (Para), Indikation der Behandlung im Kinderwunschzentrum, Anzahl der vorangegangenen Stimulationszyklen, Anzahl der abgebrochenen Zyklen, Art der künstlichen Befruchtungsversuche (IVF, ICSI), Art des verwendeten Gonadotropins (rFSH/hMG), Anzahl der

Stimulationstage und der Dosis des verwendeten Gonadotropins, Hormonparameter: E2, LH, Progesteron; Anzahl und Größe der unter Stimulation gereiften Follikeln, Datum der Eizellentnahme, Anzahl der entnommenen Eizellen, Anzahl der degenerierten oder in Meiose-I befindlichen Eizellen, Anzahl der Eizellen in Meiose-II, Anzahl der Eizellen, die mit Spermien injiziert wurden, Anzahl befruchteter Eizellen, die sich nach Befruchtung im Zweikernstadium befanden, Fertilisationsrate (Anzahl von 2PN-Oozyten/Anzahl an MII-Oozyten pro Patientin), Anzahl der kryokonservierten 2PN-Oozyten, Auftreten eines OHSS, Hämatokrit nach Eizellentnahme, Hospitalisation, Anzahl der Embryonentransfers, Anzahl der aufgetauten befruchteten Eizellen, Anzahl der überlebenden Eizellen, Alter der Patientin zum Zeitpunkt des Transfers, Datum des Transfers, Wochenangabe nach der ovariellen Punktion (OPU), Anzahl der transferierten Embryonen, Embryonenscore (dient der Beurteilung der Qualität von Embryonen) definiert durch Steer et al. (Steer et al., 1992) und modifiziert von Ludwig et al. (Ludwig et al., 2000), hCG-Wert zwei Wochen nach Embryonenübertragung, biochemische Schwangerschaft (hCG > 10 IE/l), klinische Schwangerschaft (4 bis 5 Wochen nach ET, Chorionhöhle im Ultraschall sichtbar), sonografische Herzaktivität, Schwangerschaftsverlauf, Schwangerschaftswoche (SSW) bei Geburt, Geburtsdatum, Geburtsgewicht/Größe, Geschlecht, Entbindungsart, Abort, SSW bei Abort, Anzahl der 2PN nach 12 Monaten und am Ende der Studie.

Für Gruppe B wurden folgende zusätzlichen Parameter erfasst:

Zusätzlich zu Hämatokrit wurden CRP, Leukozyten, FSH, LH, E2 und Progesteron drei bis vier Tage nach Eizellentnahme bestimmt. Sonografische Bestimmung des Ovarvolumens links und rechts, Aszites, Endometriumdurchmesser.

Durch einen Fragebogen (Verträglichkeits-Abschätzung), der eine Skala von Null bis Fünf enthielt, wurden folgende Parameter für Gruppe B erhoben: Bauchschmerzen, Spannung im Bauchraum, Übelkeit/Erbrechen, Kopfschmerzen. Die Verträglichkeits-Abschätzung diente dazu, möglichst früh auf typische Symptome eines eventuell auftretenden OHSS zu reagieren. Auch konnte so eine Korrelationsanalyse zwischen Verträglichkeit und Anzahl der gewonnenen Oozyten durchgeführt werden.

Die Patientinnen mussten am 3. oder 4. Tag nach Eizellentnahme ihr Befinden mit einer Markierung auf einer Skala von null bis fünf beurteilen. Null wurde zusätzlich mit einem lachenden „Smiley“ und fünf mit einem weinenden „Smiley“ gekennzeichnet („visual analog scale“).

Übertragen wurden die Daten nach kompletter Anonymisierung in SPSS Version 10.0[®] für Windows[®], eine Statistik- und Analyse-Software zur Auswertung und Bearbeitung der Datensätze. Diagramme und Tabellen wurden mit Microsoft Word 2007[®], Abbildungen mit Microsoft Office PowerPoint 2007[®] angefertigt.

2.5 Ergebnisparameter

Hauptzielparameter: Inzidenz von schwerem OHSS pro Stimulationszyklus.

Sekundäre Zielparame-ter: Kumulative Lebendgeburtenrate pro Patientin; Lebendgeburtenrate pro ET; Zeit bis zur Konzeption (Dauer in Wochen von Agonisten-Gabe bis zum positiven hCG-Nachweis, welcher in einer Lebendgeburt endet); biochemische Schwangerschaftsrate (hCG > 10 IE/l); klinische Schwangerschaftsrate (Chorionhöhle im Ultraschall sichtbar); Fertilisationsrate (Anzahl von 2PN-Oozyten/Anzahl von MII-Oozyten pro Patientin); Verhältnis von 2PN-kryokonservierten Oozyten zu aufgetauten Cumulus-Oozyten-Komplexen (funktionelle Einheit aus Oocyte, Corona radiata und Follikelepithelzellen, den Granulosazellen des Cumulus); Verhältnis von 2PN-kryokonservierten Oozyten zu aufgetauten MII-Oozyten (ICSI Fälle); Überlebensrate nach Kryoauftau (Anzahl von vitalen Embryonen zur Anzahl von aufgetauten 2PN-Oozyten); neonatales Geburtsgewicht und Gestationsalter bei Geburt.

2.6 Studienbeschreibung und Stimulationsprotokoll

Bei der vorliegenden Studie handelt es sich um eine prospektive, klinische Beobachtungsstudie.

Im Mehrfachdosis-GnRH-Antagonisten-Protokoll startete die Stimulation mit der Gabe der Gonadotropine rFSH (Gonal F[®]; Serono, Unterschleißheim, Deutschland; Puregon[®]; Organon, Oberschleißheim, Deutschland) oder hMG (Menogon[®]; Ferring, Kiel, Deutschland) am zweiten oder dritten Tag des Menstruationszyklus (Ludwig Michael, 2005), siehe **Abb.:6**.

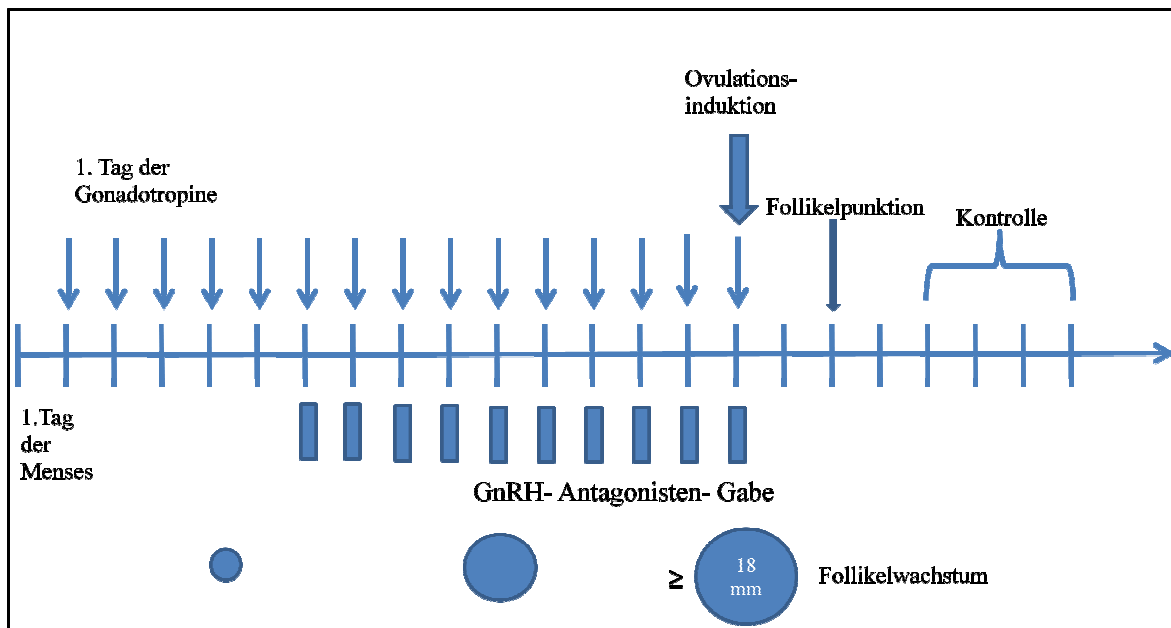


Abb. 6: Studien-Stimulationsprotokoll

GnRH-Antagonisten Mehrfach-Dosis-Protokoll

Die Gonadotropinstimulation (rFSH/hMG) startete am zweiten Tag des Menstruationszyklus. GnRH-Antagonisten-Gabe erfolgte mit Cetorelix® am sechsten Tag der Gonadotropingabe. Die Eizellreifung wurde mit einer subkutanen Gabe eines GnRH-Agonisten (Triptorelin® 0,2 mg) bei einer durchschnittlichen Größe von ≥ 18 mm des führenden Follikels ausgelöst. Die Follikelpunktion erfolgte 36 Stunden nach der Induktion der Eizellreifung. Am vierten bis siebten Tag nach der Eizellentnahme erfolgten eine klinische Untersuchung und eine Blutabnahme zur Kontrolle auf Anzeichen eines OHSS.

(Quelle: UK-SH Universitäres Kinderwunschzentrum Prof. Dr. Griesinger)

Mittels transvaginaler Ultraschalluntersuchungen und Hormonbestimmungen im Serum (E2, LH, Progesteron) wurde die Follikelreifung an Tag zwei oder drei, Tag acht oder neun, am Tag der Induktion der Eizellreifung wie in üblicher klinischer Routine überwacht. Am sechsten Tag der Gonadotropingabe erhielten die Patientinnen den GnRH-Antagonisten Cetorelix (Cetrotide® 0,25 mg, Serono GmbH, Unterschleißheim, Deutschland).

Die Antagonisten-Gabe erfolgte dann täglich, um die Ovulation so lange zu unterdrücken, bis sie bei einer Größe des führenden Follikels von einem mittleren Durchmesser von ≥ 18 mm durch die subkutane Gabe des GnRH-Agonisten Triptorelin 0,2 mg (Decapeptyl®, Ferring Arzneimittel GmbH, Kiel, Deutschland) ausgelöst wurde. Der GnRH-Agonist wurde vom Kinderwunschzentrum bereitgestellt und von den Patientinnen selbst injiziert. Die Bolusgabe des GnRH-Agonisten führte durch das Dosis-Wirkungsprinzip zu einer Verdrängung des GnRH-Antagonisten an den hypophysären Rezeptoren. Aufgrund

der erhaltenen Gonadotropinreserve konnte so eine endogene LH-Ausschüttung bewirkt werden, welche die finale Eizellreifung induzierte (Felberbaum et al., 1995).

36 Stunden später erfolgte die sonografisch geleitete, transvaginale Follikelpunktion mit dem Gerät „LOGIQ 200 Pro Series“ der Firma „GE Ultrasound Europe“. Anästhesie und Analgesie wurden, je nach Wunsch der Patientin mit Lokalanästhesie des Scheidengewölbes in Kombination mit einem Sedativum oder kurzer Vollnarkose durchgeführt. Aus den gewonnenen Follikelpunktaten wurden die Cumulus-Oozyten-Komplexe isoliert. Zur Durchführung der intrazytoplasmatischen Spermieninjektion (ICSI) mussten zunächst mechanisch und enzymatisch die Granulosazellen, welche die Eizelle in dem Cumulus-Oozyten-Komplex umgaben, entfernt werden. Bei der ICSI wurde dann unter mikroskopischer Sicht mithilfe eines Mikromanipulators ein einzelnes Spermatozoon ausgewählt und mit einer Glaskapillare in eine denudierte Metaphase-II-Eizelle injiziert, um eine Fertilisierung herbeizuführen.

Zur Transformation des Endometriums wurden an dem Tag nach der GnRH-Agonisten-Gabe täglich für einen Zeitraum von 10 bis 14 Tagen folgendes verabreicht: entweder 90 mg mikronisiertes Progesteron vaginal (Crinone 8 %[®]; Wyeth Münster, Deutschland) oder 10 mg Medroxyprogesteronacetat oral (MPA Gyn 5[®], Hexal, Holzkirchen, Deutschland).

Niedermolekulares Heparin wurde nach Ermessen des Untersuchers für 10 bis 14 Tage ab der Follikelpunktion verordnet. Eine Untersuchung auf Symptome eines OHSS in der Lutealphase wurde von Tag vier bis sieben nach der Oozytenentnahme durchgeführt. Sie beinhaltete eine körperliche Untersuchung durch einen Arzt und eine Blutanalyse mit Bestimmung des Hämatokritwertes.

Bei abdominalen Schmerz oder Spannungsgefühl wurde ein transvaginaler Ultraschall durchgeführt. Die Patientinnen wurden angehalten, sich während der weiteren Lutealphase im Falle von Symptomen wie abdominaler Spannung/Schmerz, Übelkeit, Erbrechen, Durchfall oder Kopfschmerz in der Klinik vorzustellen.

Die Kryokonservierung der Oozyten im Vorkernstadium wurde im Reproduktionslabor der Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe des UK-SH, Campus Lübeck, mit dem Verfahren der Vitrifikation durchgeführt, dessen Durchführung erstmals von Rall und Fahy im Jahre 1985 publiziert wurde (Rall and Fahy, 1985).

Alle FRET-Zyklen („frozen-thawed embryo transfer“) wurden nach spontaner oder induzierter Menstruation in einem artifiziellen Zyklus durchgeführt.

Dazu wurde das Endometrium entweder mit Östradiolpflastern (Estraderm TTS 100[®], Novartis Pharma, Nürnberg, Deutschland) (siehe **Abb. 7**) oder oralem Östradiol (Progynova[®], Schering, Berlin, Deutschland) (siehe **Abb. 8**) vorbereitet.

Die Östradiolpflaster wurden an jedem zweiten Abend erneuert. Am siebten Tag wurde die Dosis von einem auf zwei Pflaster verdoppelt. Ebenfalls alle zwei Tage wurden zwei neue Pflaster verwendet. Am 11. und 13. Tag wurden vier Pflaster aufgebracht. Am 15. Tag wurden drei und ab dem 17. Tag wieder zwei Pflaster verwendet. Ab dem 15. Tag wurde zusätzlich täglich am Morgen das vaginale Progesterongel (Crinone[®] 8 %) appliziert.

Die Embryonenübertragung wurde am dritten Tag der Progesterongabe durchgeführt. Um einen eventuellen Schwangerschaftseintritt zu detektieren, wurde am 29. Tag der Serum-hCG-Wert bestimmt. Im Falle einer Schwangerschaft ($\text{hCG} > 10 \text{ IE/l}$) wurde die Behandlung mit Estraderm TTS 100[®] und zusätzlich mit intramuskulärem Progesteron (Proluton[®] Depot, Schering, Berlin, Deutschland) bis zum Erreichen der achten bis zehnten Schwangerschaftswoche fortgeführt.

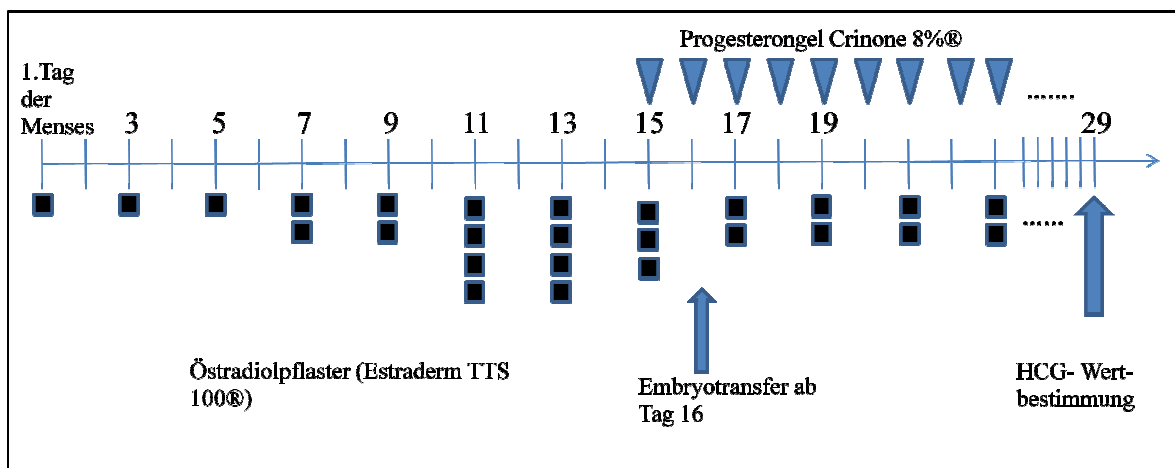


Abb. 7: Kryo-Protokoll: Endometriumvorbereitung für den Embryonentransfer (transdermales E2 und vaginales Progesteron) (Bals-Pratsch et al., 1999).

Am ersten Tag der Menses wurde die Behandlung mit transdermalen E2-Pflastern begonnen, die alle zwei Tage abends gewechselt werden mussten. Ab dem 15. Tag wurde zusätzlich vaginal appliziertes Progesteron-Gel Crinone 8 %[®] täglich verordnet. Am 29. Tag erfolgte zum Nachweis einer Schwangerschaft eine hCG-Wertbestimmung.

(Quelle: UK-SH Universitäres Kinderwunschzentrum Prof. Griesinger)

Bei oraler Verabreichung des Östradiols für die Vorbereitung des Endometriums wurde ab dem ersten Tag der Menses mit einer Tablette Progynova® täglich begonnen (siehe **Abb. 8**). Ab Tag sechs wurde die Dosis auf 2x1, ab Tag zehn auf 3x1 täglich erhöht. Am Tag 14 oder 15 fanden eine Ultraschallkontrolle und eine Blutentnahme statt. Nach der Ultraschallkontrolle wurden zusätzlich zur oralen Gabe von Progynova® 3x2 Progesteron-Kapseln intra-vaginal (Utrogest®, Kade/Besins, Berlin, Deutschland) appliziert. Der Embryotransfer fand am 3. oder 4. Tag der Progesteron-Verabreichung statt. Bis zur hCG-Kontrolle, zwölf bis 14 Tage nach dem Embryotransfer, wurden die Gaben von 3x1 Progynova® Tabletten und 3x2 Utrogest® täglich fortgeführt.

Fiel der Schwangerschaftstest positiv aus, wurde die Medikation über 8 bis 10 Wochen fortgesetzt, um das Risiko für eine Fehlgeburt zu reduzieren. Trat keine Schwangerschaft ein, wurden die Medikamente abgesetzt, und es folgte in den nächsten Tagen eine Menstruationsblutung.

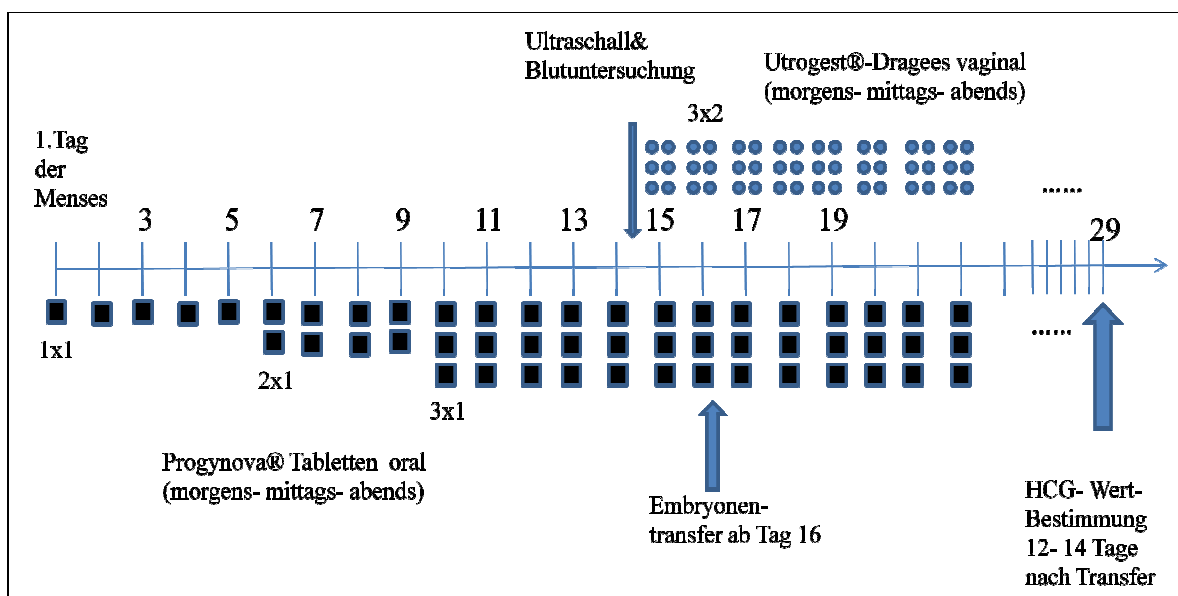


Abb. 8: Endometriumvorbereitung mit Embryonttransfer (orales E2 und vaginales Progesteron)

Am ersten Tag der Menses wurde mit der oralen Gabe einer Tablette Progynova® gestartet, die wie im Schema dargestellt in ihrer Dosis gesteigert wurde. Ab dem 15. Tag wurde zusätzlich mit der vaginalen Applikation von Utrogest®-Dragees begonnen.

(Quelle: UK-SH Universitäres Kinderwunschzentrum Prof. Griesinger)

2.7 Fallzahlberechnung

Die erwartete Inzidenz eines schweren OHSS in Gruppe A (Risikopopulation) wurde auf mindestens 10 % (4/40) geschätzt, wenn hCG zur Auslösung der finalen Eizellreifung verwendet werden würde.

Eine Fallzahl von 40 Patientinnen erreicht 100 % Power mit einem Alphafehler von 0,05 zur Aufdeckung eines Unterschiedes zwischen erwarteter OHSS-Inzidenz (bei hCG-Auslösung) und beobachtetem OHSS (nach GnRH-Agonisten-Auslösung) von 10 %.

Die Fallzahl in der Gruppe B wurde willkürlich auf 30 festgelegt, um einen ersten Eindruck von der Machbarkeit einer intensivierten Stimulation mit Induktion der finalen Eizellreifung mit GnRH-Agonist und anschließendem FRET zu erhalten.

2.8 Methoden

2.8.1 Kryokonservierung

Die Kryokonservierung der gewonnenen Eizellen wurde mittels Vitrifikation durchgeführt. Darunter wird ein Verfahren verstanden, bei dem unter der Vermeidung der Bildung von Eiskristallen Proben direkt aus dem flüssigen in einen amorphen, glasförmigen, festen Zustand versetzt werden, ohne auf die Anwendung programmierbarer Einfriergeräte zurückzugreifen. Das Verfahren ist charakterisiert durch extrem schnelle Abkühlraten unter Verwendung von flüssigem Stickstoff und hoher Erwärmungsraten sowie dem Zusammenspiel von Zusätzen mit höher konzentrierten, sog. Kryoprotektiva und geringeren Volumina des Gefrieguts. Die Vitrifikation kann als Alternative zu den konventionellen langsamen Einfrierprotokollen gesehen werden. Im Gegensatz zu der konventionellen, langen Kryokonservierung ermöglicht die Vitrifikation bei hoher Effizienz einen geringeren zeitlichen, personellen und apparativen Laboraufwand und eine damit verbundene Kostenreduktion. Die relativ hohen Überlebensraten und die guten klinischen Ergebnisse beim Wiederauftauen der Eizellen rücken das Verfahren der Vitrifikation noch weiter in den Mittelpunkt des Interesses der Reproduktionsmedizin (Al Hasani et al., 2007; Liebermann and Tucker, 2004; Nawroth et al., 2005; Youssry et al., 2008).

2.8.2 Vitrifikationsprotokoll von 2PN-Eizellen

Im Weiteren soll das genaue Vorgehen der Vitrifikation beschrieben werden, wie es im Reproduktionslabor der Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe des UK-SH, Campus Lübeck durchgeführt wurde:

Der erste Teil bestand in einer schrittweisen Äquilibration mit unterschiedlich konzentrierten Lösungen (siehe **Abb. 9**).

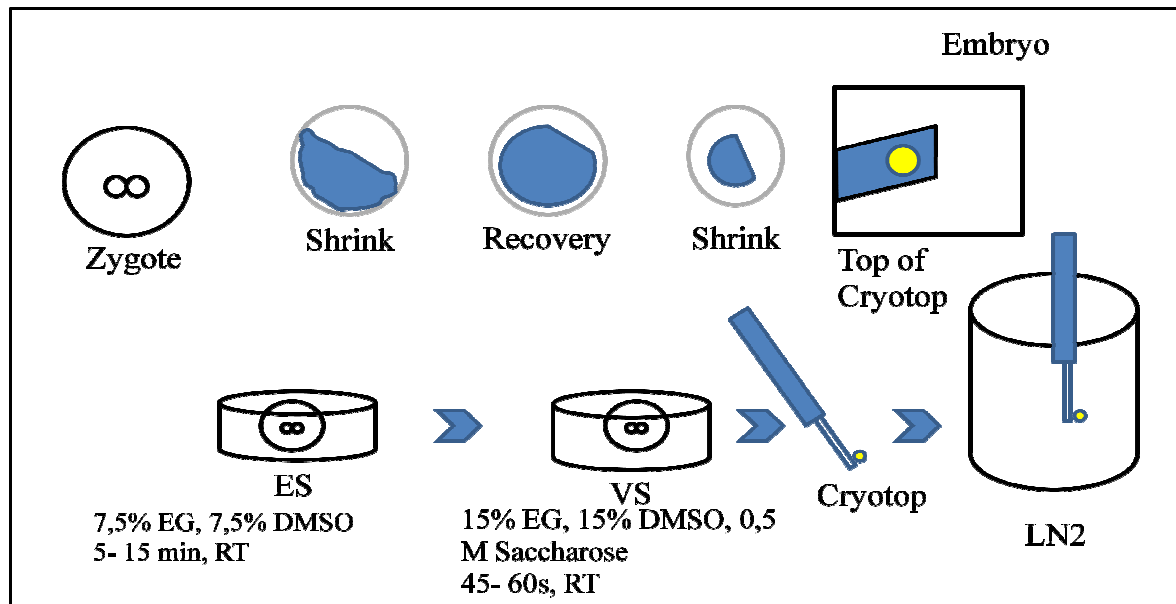


Abb. 9: Vitrifikations-Protokoll

ES = „Equilibration Solution“, VS = „Vitrification Solution“, LN2 = flüssiger Stickstoff
(Quelle: UK-SH Universitäres Kinderwunschzentrum Lübeck, Prof. Dr. Griesinger)

Zunächst erfolgte eine achtminütige Äquilibration bei Raumtemperatur im Vorkernstadium in 0,6 ml „Equilibration Solution“ (ES). Die ES, welche sich aus 7,5 %-igem Dimethylsulfoxid (DMSO) und 7,5 %-igem Ethylenglycol zusammensetzt, penetrierte bei diesem Schritt bereits teilweise die Zelle. Die Zellen schrumpften, bevor sie wieder nach individueller Äquilibrationszeit an Volumen zunahm. Ein weiterer Äquilibrationsschritt in 2er-Portionen von Eizellen für 45 bis 60 Sekunden erfolgte mit einem doppelt so hoch konzentriertem Kryoprotektivum (Vitrifikationslösung „Vitrification Solution“, VS), bestehend aus 15 %-igem Ethylenglycol, 15 %-igem DMSO und 0,5 M Saccharose, nachdem die Zellen wieder 80 % ihres ursprünglichen Volumens erreicht hatten. Saccharose wirkte somit als osmotischer Puffer. Sie trug zur Reduktion der Toxizität bei und unterstützte den Dehydrierungsprozess. Es folgte anschließend der

eigentliche Einfrierprozess, bei dem mit englumigen Pasteurpipetten maximal zwei Eizellen auf ein sog. „Kryotop“ gegeben und in flüssigen Stickstoff (LN2) eingetaucht wurden. Das überschüssige Nährmedium wurde vorher mit einer Pipette abgesaugt. Die Lagerung erfolgte auf Spezialhängern in Stickstofftanks, nachdem die Eizellen auf dem Kryotop mit einer Kunststoff-Schutzhülle versehen worden waren.

Zum Auftauen wurde das Kryotop nach Entfernung der Schutzhülle mit den Eizellen dem LN2 entnommen und unmittelbar in die Auftaulösung TS (Thawing Solution) mit 1 M Saccharose bei 37° Celsius getaucht und so 60 Sekunden inkubiert (siehe **Abb. 10**). Die Volumenabnahme wurde dabei mit einem Stereomikroskop überwacht. Eine weitere Inkubation für 3 Minuten erfolgte mit Diluent Solution (DS) 0,5 M Saccharose, wobei die Zellen erst an Volumen zu- und dann wieder abnahmen.

Des Weiteren wurden die Proben zur Verdünnung und Entfernung des Kryoprotektivums jeweils für fünf Minuten in zwei verschiedenen Kulturmedien gespült.

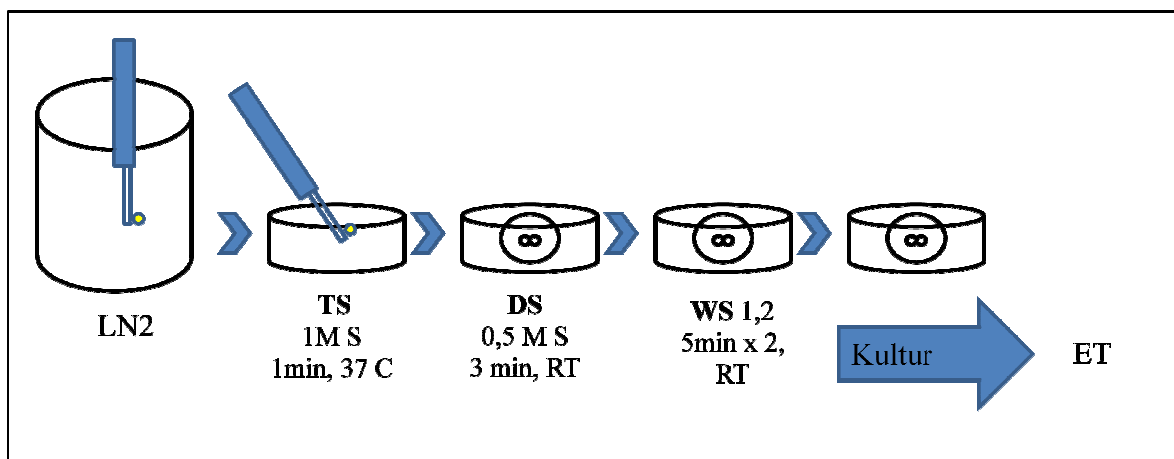


Abb. 10: Auftau-Protokoll

LN2 = flüssiger Stickstoff, TS = Thawing Solution, DS = Diluent Solution, WS = Washing Solution 1/2, ET = Embryonentransfer, S = Saccharose, RT = Raumtemperatur

(Quelle: UK-SH Universitäres Kinderwunschzentrum Lübeck, Prof. Dr. Griesinger)

Abschließend wurden die Eizellen in 5 bis 6 Mediumtropfen gespült und in eine Kulturschale mit frischem Medium gegeben.

2.9 Datenanalyse und Statistik

Alle Daten wurden deskriptiv dargestellt, entweder in Form eines Mittelwertes (inklusive Standardabweichung und Spannweite zwischen Minimal- und Maximal-Wert) oder als Verhältniszahl unter Angabe des 95 %-Konfidenzintervalls.

Um die Relation zwischen der Anzahl der gewonnenen Oozyten durch Follikelpunktion und der Anzahl der zur Kryokonservierung zur Verfügung stehenden 2PN-Oozyten zu ermitteln, wurde eine lineare Regressionsanalyse durchgeführt.

Der Korrelationskoeffizient nach Pearson wurde berechnet, um festzustellen, wie stark der statistische Zusammenhang zwischen zwei Variablen ist.

3. Ergebnisse

3.1 Gruppe A

Insgesamt wurden 41 Patientinnen mit einem Risiko für ein OHSS, wie in Abschnitt 2.1 charakterisiert, prospektiv erfasst. Sie erhielten anstelle von hCG einen GnRH-Agonisten als Trigger zur finalen Eizellreifung in einem GnRH-Antagonisten-Mehrfachdosis-Protokoll mit anschließender Kryopräservierung aller 2PN-Oozyten und Embryonen-Transfer in einem artifiziellen Zyklus. Bei einer Patientin wurden sieben 2PN-Oozyten nach finaler Eizellreifung kryokonserviert; diese Patientin brach jedoch weitere Behandlungsschritte ab und verwarf aus nicht-medizinischen, persönlichen Gründen alle 2PN-Oozyten und wurde deshalb von der Auswertung ausgeschlossen.

3.1.1 Demografische Parameter

Tab. 2 fasst die wichtigsten demografischen Parameter der Patientinnen der Gruppe A (n = 40) zusammen. Das Durchschnittsalter zum Zeitpunkt des Erstgesprächs beträgt 30 Jahre, zum Zeitpunkt des ersten Embryonentransfers 31 Jahre.

Der durchschnittliche BMI der Patientinnen lag zum Zeitpunkt des Studienbeginns bei 23 kg/m². Die durchschnittliche Dauer der Infertilität des Paares beträgt 34 Monate. 13 Patientinnen hatten einen unregelmäßigen Zyklus, zehn von ihnen hatten ein Polyzystisches Ovarsyndrom (PCOS) entsprechend den Rotterdam-Kriterien (2004). Fünf Patientinnen hatten einen oder mehrere vorangehende Stimulationszyklen, die aufgrund eines OHSS imminens abgebrochen werden mussten. 13 Patientinnen hatten eine vorangegangene Schwangerschaft, davon führten vier zu einer Lebendgeburt. Die Indikation zur Behandlung lag überwiegend auf der männlichen Seite mit 47,5 %, gefolgt von 35 % männlicher und weiblicher Indikation, 10 % reiner weiblicher Indikation und 7,5 % waren idiopathische Fälle. Es wurde ausschließlich die intrazytoplasmatische Spermieninjektion (ICSI) als Fertilisierungsverfahren angewandt.

Tab. 2: Demografische Parameter der Studienpopulation (n = 40).

	MW± SD oder Anzahl/gesamt	Spannweite (Min.- Max.)
Alter (Jahre)	30,4 ± 3,9	23 – 39
Gewicht (kg)	65,0 ± 11,1	44 – 110
BMI (kg/m²)	23,3 ± 3,4	17,8 – 35,1
Dauer der Infertilität (Monate)	34,3 ± 19,4	6 – 77
Zykluslänge (Tage)	35,3 ± 15,1	26 – 92
Anzahl der Behandlungsränge	2,3 ± 1,5	1 – 6
vorangegangene Schwangerschaften	13/40 (32,5 %)	n.a.
vorangegangene Lebendgeburten	4/40 (10,0 %)	n.a.

n.a.= nicht anwendbar

3.1.2 Merkmale der Stimulation und Embryologiedaten

Die Stimulation wurde mit den Gonadotropinen rFSH oder hMG durchgeführt, wobei die durchschnittliche kumulative Stimulationsdosis bei 2046 IE und die durchschnittliche Stimulationsdauer bei zehn Tagen lagen. Jeweils vierzehn, zwölf und sieben Patientinnen, unterzogen sich einem ersten, zweiten bzw. dritten IVF-Stimulationszyklus. Sieben Patientinnen waren im vierten Behandlungsrang oder in höheren Behandlungsrängen. Der mittlere Serumöstradiol-Spiegel betrug zum Zeitpunkt der GnRH-Agonistengabe 4105 pg/ml bei einer im Ultraschall sichtbaren mittleren Follikelanzahl von 19 (Durchmesser > 10 mm). Im Durchschnitt wurden 18 Kumulus-Oozyten-Komplexe bei der Follikelpunktion gewonnen. Vierzehn Oozyten im Meiose-II-Stadium standen zur Fertilisation zur Verfügung, wobei die Fertilisationsrate im Durchschnitt bei 61 % lag. Das Verhältnis von 2PN-kryokonservierten Oozyten zu Cumulus-Oozyten-Komplexen bzw. zu MII-Oozyten lag bei 50 % bzw. 62 %. Im Durchschnitt konnten acht 2PN-Oozyten pro Patientin kryokonserviert werden. Die durchschnittliche Überlebensrate der 2PN-Oozyten betrug beim durchgeführten Auftauprozess 87 % (siehe **Tab. 3**).

Tab. 3: Embryologie und Merkmale der Stimulation (n= 40)

	MW $\pm$ SD oder Anzahl/gesamt	Spannweite (Min.- Max.)
Stimulation (Tage)	10,4 $\pm$ 2,8	7 - 22
Total FSH (IU)	2046,1 $\pm$ 808,7	1200 – 5025
FSH/ Tag (IU)	196,4 $\pm$ 56,8	100 – 375
E₂ (pg/ml)	4105,6 $\pm$ 1715	838 – 7531
P₄ (ng/ml)	1,4 $\pm$ 0,6	0,4 – 3,1
Follikel (> 10 mm)	19,0 $\pm$ 6,2	6 – 35
COCs (n)	17,7 $\pm$ 9,0	1 – 38
MII-Oozyten	13,8 $\pm$ 7,5	1 – 36
Fertilisationsrate (%)	61,4 $\pm$ 26,8	0 – 100
2PN-Oozyten gefroren ^a	8,2 $\pm$ 4,5	1 – 18
gefrorene 2 PN-Oozyten pro COC (%)^a	50,4 $\pm$ 24,5	5,5 – 100
gefrorene 2 PN-Oozyten pro MII-Oocyte (%)^a	62,3 $\pm$ 24,4	12,5 – 100
Überlebensrate (%)^b	87,1 $\pm$ 19,9	0 – 100
Zahl an transferierten Embryonen (n) ^c	2,2 $\pm$ 0,5	1 – 3
Modifizierter kumulativer Embryonenscore ^c	22,4 $\pm$ 10,6	2,0 – 56
Lutealphasen-Hkt (%)^d	37,3 $\pm$ 3,0	28 – 42

^a Nenner waren 39 Patientinnen, die zumindest eine Oocyte im Zweikernstadium kryokonserviert hatten;

^b Nenner waren 87 Versuche 2PN-Oozyten aufzutauen; ^c Nenner waren hier 87 Embryonenübertragung;

^d Evaluiert an Tag vier bis sieben nach der Follikelpunktion

E₂, P₄ = Serumöstradiol, Progesteron und Follikel > 10 mm im Durchschnitt, am Tag der finalen Eizellreifung; COCs = Cumulus-Oocyte-Complexes; MII = Metaphase-II-Oozyten (39 ICSIs); 2PN = Oozyten im Zweikernstadium; Hkt = Hämatokrit.

In einer bi-variaten Regressionsanalyse mit quadratischer Näherung [unabhängige Variable: Anzahl der Oozyten, die durch die Follikelpunktion erhalten wurden; abhängige Variable: Anzahl der gefrorenen 2PN-Oozyten] konnte trotz großer Streuung der Daten Folgendes gezeigt werden: Eine höhere Anzahl von gewonnenen Oozyten nach Punktion führte tendenziell in nicht-linearer Weise zu einer höheren Anzahl von Oozyten, die zur Kryokonservierung zur Verfügung standen (siehe **Abb. 11**).

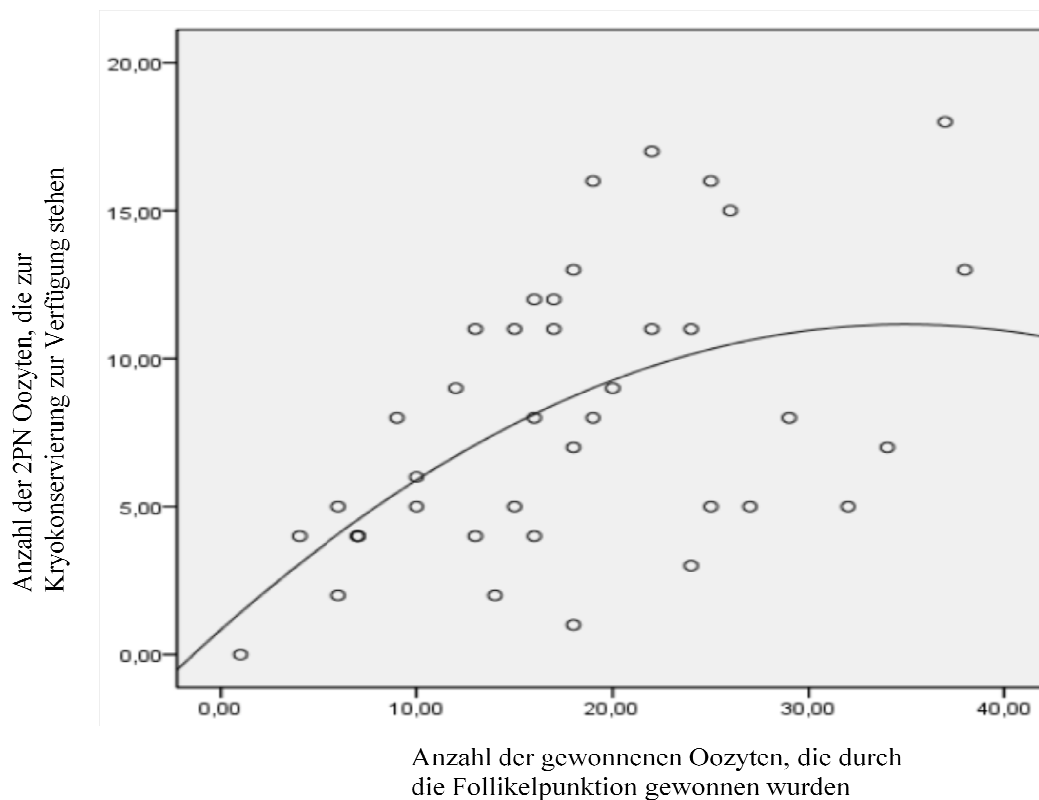


Abb. 11: Regressionsanalyse: Anzahl der Oozyten und Anzahl der zur Kryokonservierung zur Verfügung stehenden 2PN-Oozyten

3.1.3 Ovarielles Überstimulationssyndrom

Es wurde kein schweres OHSS bei den Patientinnen von Gruppe A beobachtet (Inzidenz 0 %, 95 % Konfidenzintervall: 0,0 bis 6,4 %). Es trat kein Fall von Aszitesbildung oder Hämokonzentration ein. Der am Tag vier bis sieben nach der Follikelpunktion gemessene Hämatokritwert betrug im Durchschnitt 37 %.

3.1.4 Kumulative Lebendgeburtenrate und Inzidenz der Lebendgeburten entsprechend dem FRET-Behandlungsrang

Von 40 Patientinnen hatte eine Patientin ein Fertilisationsversagen. Somit konnten bei 39 Patientinnen 2PN-Oozyten gewonnen bzw. gefroren werden, und bei 39 Patientinnen konnte mindestens ein FRET durchgeführt werden. Insgesamt wurden 87 FRETs durchgeführt: 16 Patientinnen durchliefen nur eine FRET, zwölf Patientinnen durchliefen zwei FRETs, fünf Patientinnen drei, zwei Patientinnen durchliefen vier FRETs, eine Patientin durchlief fünf, zwei Patientinnen durchliefen sechs und eine Patientin durchlief sieben FRETs. Die durchschnittliche Anzahl an FRET-Behandlungen pro Patientin lag bei 2,2 ($\pm 1,6$; Spannweite: 1 – 7) mit einer durchschnittlichen Anzahl von 2,2 ($\pm 0,5$; Spannweite 1 – 3) Embryonen pro ET (siehe **Tab. 4**).

Zwischen sechs und 142 Wochen nach GnRH-Agonistengabe fanden die Übertragungen statt. Von 87 FRETs führten acht zu einer biochemischen Schwangerschaft (9,2 %, 95 % KI: 5,2–15,6), drei zu Erst-Trimester Aborten (3,4 %, 95 % KI: 1,4–8,3), drei zu Aborten nach der zwölften Schwangerschaftswoche (3,4 %, 95 % KI: 1,4–8,3) und zu 14 Lebendgeburten (16,1 %, 95 % KI: 10,6–23,6).

Die kumulative Lebendgeburtenrate pro Patientin lag bei 35,0 % (14/40; 95 % KI: 23,9–48,0) (siehe auch **Abb. 12** und **13**). Die Lebendgeburtenrate nach dem ersten Embryonentransfer lag bei 17,9 % (7/39; 95 % KI: 10,0–39,1) (siehe **Tab. 4**). Die kumulative Lebendgeburtenrate pro Patientin, die zumindest einen FRET durchgeführt hat, lag bei 35,9 % (14/39, 95 % KI: 23–52).

Tab. 4: Inzidenz der Lebendgeburten entsprechend der Anzahl der FRET-Behandlungsränge

FRET-Behandlungsrang	Lebendgeburtenrate (n)	95% Konfidenz-Intervall
1	17,9 (7/39)	10,0 – 39,1
2	17,4 (4/23)	8,0 – 33,6
3	18,2 (2/11)	6,2 – 42,8
4	16,7 (1/6)	3,8 – 50,3
5	0,0 (0/4)	0,0 – 40,5 ^a
6	0,0 (0/3)	0,0 – 47,6 ^a
7	0,0 (0/1)	0,0 – 73,1 ^a
Lebendgeburt pro allen FRET	16,1 (14/87)	10,6 – 23,6

^a 97,5% Konfidenz-Intervall

Die durchschnittliche Zeit bis zur Konzeption (Dauer in Wochen von Agonisten-Gabe bis zum positiven hCG-Nachweis, welcher in einer Lebendgeburt endete) lag bei 24,2 Wochen ($\pm 17,1$; Spannweite: 9–67), siehe **Abb. 12**.

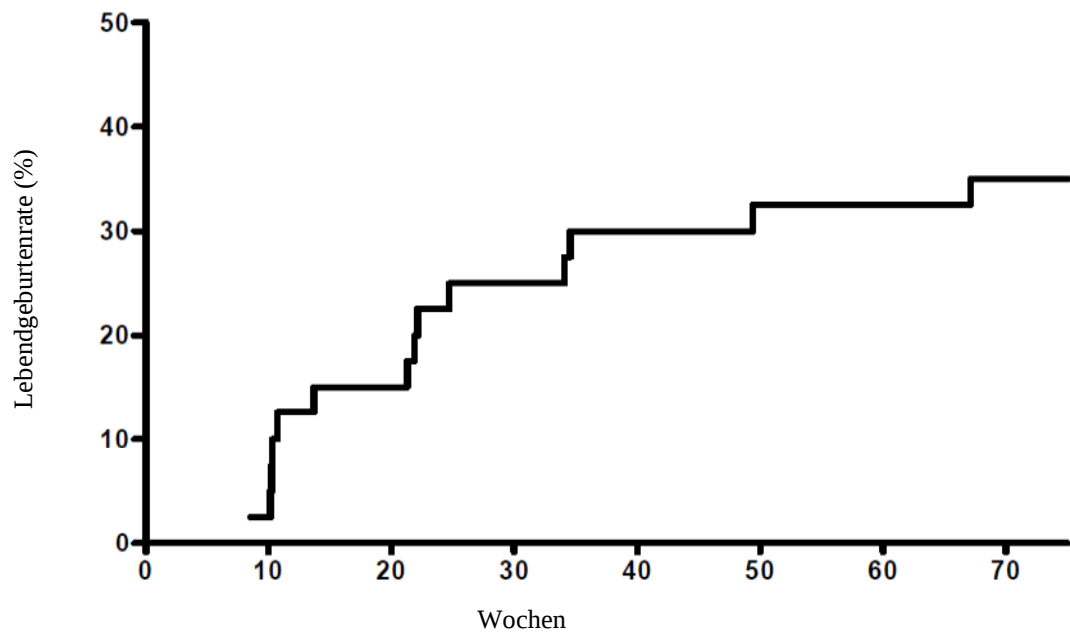


Abb. 12: Kumulative Inzidenz eines positiven hCG-Tests, der zu einer Lebendgeburt führte (gemessen in Wochen vom Zeitpunkt ab der GnRH-Agonisten-Gabe)

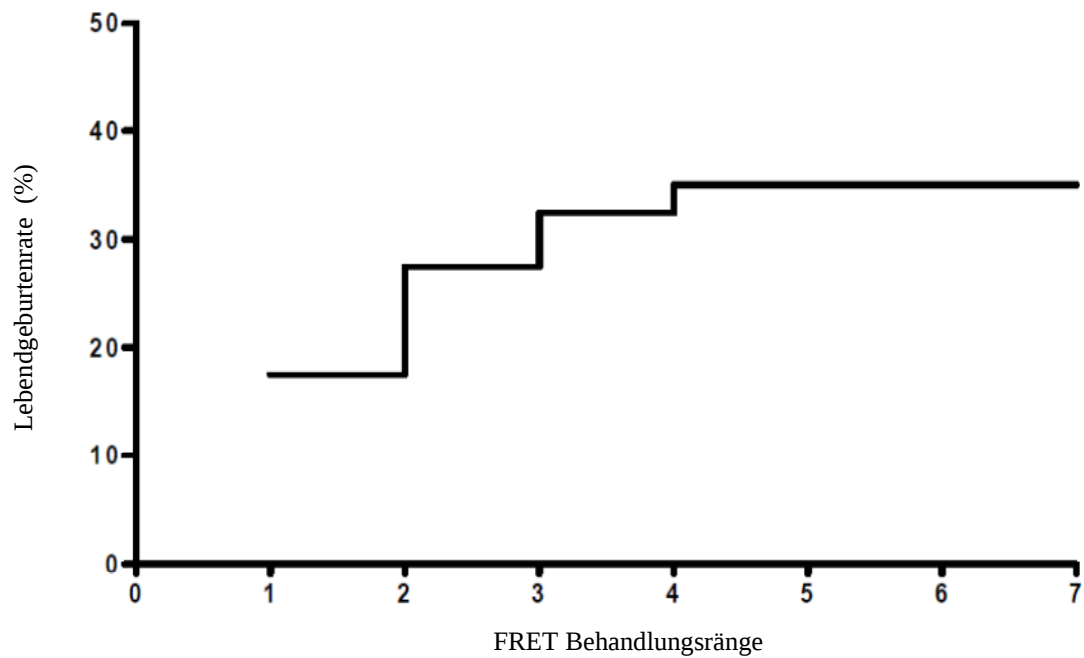


Abb. 13: Kumulative Inzidenz der Lebendgeburtenrate pro FRET-Behandlungsrang

Es konnte gezeigt werden, dass alle Konzeptionen die zu einer Lebendgeburt führten, innerhalb einer maximalen Zeitperiode von 67 Wochen stattfanden bzw. mit einer maximalen Anzahl von vier Embryonenübertragungen erreicht wurden.

Ebenfalls konnte gezeigt werden, dass die Lebendgeburtenwahrscheinlichkeit pro ET stabil für die ersten vier FRET-Behandlungsränge blieb. Hingegen konnte keine Lebendgeburt bei einem höheren Behandlungsrang erreicht werden (siehe **Abb. 13**).

Eine Relation zwischen der Anzahl der gewonnenen Oozyten und der kumulativen Chance auf eine Lebendgeburt ist nicht erkennbar, wie in **Abbildung 14** dargestellt.

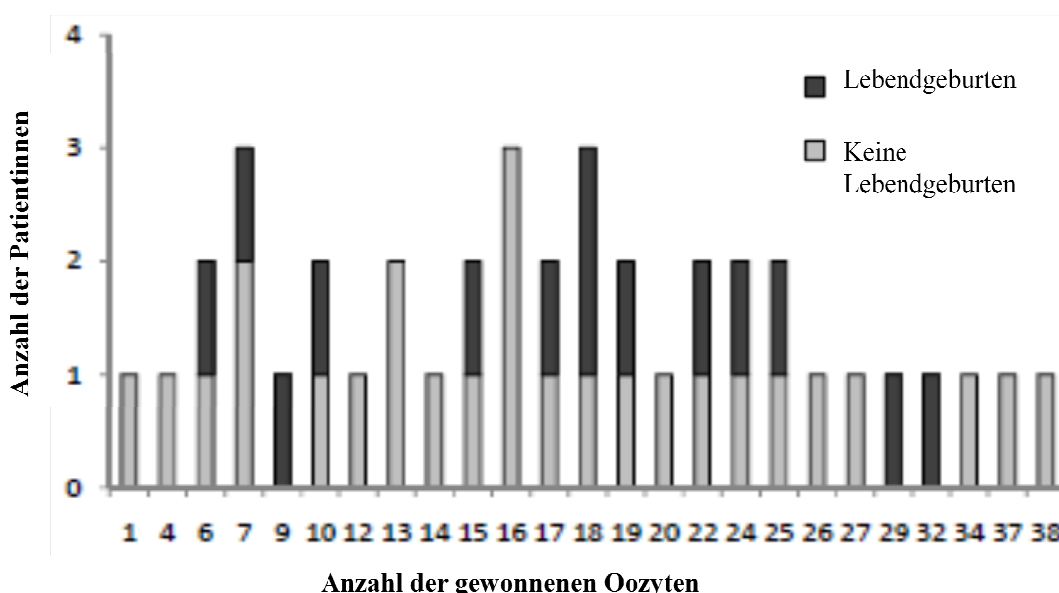


Abb. 14: Verhältnis der Anzahl der Oozyten und der kumulativen Lebendgeburtenrate in FRET Behandlungsrängen.

Am Ende des Beobachtungszeitraums hatten 16 Patientinnen im Durchschnitt noch 5,8 ($\pm 3,0$; Spannweite 2–10) 2PN-Oozyten kryokonserviert. Sechs dieser Patientinnen hatten eine Lebendgeburt innerhalb dieser Studie.

3.1.5 Neonatale Ergebnisse

Es wurden fünf Zwillinge und neun Einlinge (36 % Zwillingsrate) geboren. Eine Zwillingschwangerschaft wurde während der Schwangerschaft zu einer Einlingschwangerschaft („vanishing twin“). Eine Drillingschwangerschaft wurde nicht fest-

gestellt. Sechs männliche Einlinge und drei weibliche Einlinge wurden geboren. Geburtsgewicht und -länge dieser Neugeborenen lagen im Durchschnitt bei 3384 g (± 768 ; Spannweite: 1495 – 4160) und 51 cm (± 6 ; Spannweite: 38 – 58). Das durchschnittliche Schwangerschaftsalter betrug 40 Wochen (Spannweite: 32 – 42). Sechs weibliche und vier männliche Neugeborene bildeten die Zwillingspopulation. Geburtsgewicht und -länge lagen hier im Durchschnitt bei 2327 g (± 704 ; Spannweite: 960 – 2850) und 45 cm (± 7 ; Spannweite: 35 – 51). Sieben Schwangerschaften endeten mit einem Kaiserschnitt und weitere sieben mit einer spontanen Entbindung. Außer einer schweren Frühgeburt in einer Zwillingschwangerschaft (geboren in der 28. SSW) und einem Amnioninfektionssyndrom (Geburt in der 32. SSW, Einlingsgeburt), wurden alle Kinder gesund geboren. Es wurden keine relevanten Fehlbildungen beobachtet.

3.2 Gruppe B

Insgesamt wurden 30 Patientinnen, wie in Abschnitt 2.1 charakterisiert, prospektiv erfasst. Sie erhielten wie Gruppe A einen GnRH-Agonisten anstatt hCG als Trigger der finalen Eizellreifung in einem GnRH-Antagonisten-Mehrfachdosis-Protokoll mit anschließender Kryopräservierung aller 2PN und Embryonen-Transfer in einem artifiziellen Zyklus. Die Stimulation mit Gonadotropinen wurde nicht mit einer individuellen, sondern oberhalb einer Minimaldosis von 300 IE (siehe Abschnitt 2.6.1) für alle Patientinnen festgelegt. Bei der Gruppe B fand somit eine intensivierete ovarielle Stimulation in genannter Weise statt.

Bei einer Patientin konnten keine 2PN-Oozyten kryokonserviert werden, da ein Fertilisationsversagen vorlag.

3.2.1 Demografische Parameter

Tab. 5 fasst die wichtigsten demografischen Parameter der Patientinnen der Gruppe B ($n = 30$) zusammen. Das Durchschnittsalter zum Zeitpunkt der Stimulationsbehandlung betrug 30 Jahre.

Der durchschnittliche BMI lag bei den Patientinnen zum Zeitpunkt des Studienbeginns bei 23 kg/m², die durchschnittliche Dauer der Infertilität der Paare bei 40 Monaten. Elf Patientinnen hatten einen unregelmäßigen Zyklus, vier von ihnen ein polyzystisches

Ovarsyndrom (PCOS) entsprechend den Rotterdam-Kriterien (2004). Bei zwei Patientinnen mussten vorangehende Stimulationszyklen abgebrochen werden. Drei Patientinnen hatten eine vorangegangene Schwangerschaft, davon führten zwei zu einer Lebendgeburt. Die Indikation zur Behandlung lag überwiegend auf der männlichen Seite mit 58,5 %, gefolgt von 23,4 % männlicher und weiblicher Indikation, 15,4 % reine weibliche Indikation, und 3,9 % waren idiopathische Fälle (siehe **Tab. 5**).

Tab. 5: Demografische Parameter der Studienpopulation (n = 30)

	MW $\pm$ SD oder Anzahl/gesamt	Spannweite (Min.- Max.)
Alter (Jahre)	30,0 $\pm$ 3,0	25 – 37
Gewicht (kg)	64,6 $\pm$ 12,0	52 – 110
BMI (kg/m²)	22,9 $\pm$ 4,3	17,4 – 39,0
Dauer der Infertilität (Monate)	39,5 $\pm$ 22,6	12 – 96
Zykluslänge (Tage)	33,7 $\pm$ 12,8	25 – 90
Anzahl der Behandlungsränge	2,0 $\pm$ 1,3	1 – 6
vorangegangene Schwangerschaften	3/30 (10 %)	n.a.
vorangegangene Lebendgeburten	2/30 (6,7 %)	n.a.

n.a. = nicht anwendbar

3.2.2 Merkmale der Stimulation und Embryologiedaten

Die Stimulation wurde mit den Gonadotropinen rFSH oder hMG durchgeführt, wobei die durchschnittliche Stimulationsdosis bei 273 IE/Tag lag und die Stimulationsdauer im Mittel zehn Tage betrug. Bei drei Patientinnen wurde die tägliche Dosis um 150 IE reduziert aufgrund eines erhöhten Ansprechens auf die Stimulation. Dies erklärt den Mittelwert für die Stimulationsdosis von 273 IE/Tag. Dennoch konnten bei diesen drei Patientinnen 7, 18 und 23 Oozyten gewonnen werden. Jeweils dreizehn Patientinnen befanden sich im ersten, elf Patientinnen im zweiten und drei Patientinnen im dritten IVF-Stimulationszyklus. Drei Patientinnen befanden sich im vierten oder in höheren Behandlungszyklen. Der mittlere Serumöstradiol-Spiegel betrug zum Zeitpunkt der GnRH-Agonistengabe 3620 pg/ml bei einer im Ultraschall sichtbaren mittleren Follikelanzahl von 18 (Durchmesser > 10 mm). Im Durchschnitt wurden 17 Cumulus-Oozyten-Komplexe bei

der Follikelpunktion gewonnen. 13 Oozyten im Meiose-II-Stadium standen im Mittel zur Fertilisation zur Verfügung, wobei die Fertilisationsrate im Durchschnitt bei 65 % lag. Das Verhältnis von 2PN-kryokonservierten Oozyten zu Cumulus-Oozyten-Komplexen bzw. zu MII-Oozyten lag bei 51 % bzw. 65 %. Acht 2PN-Oozyten konnten durchschnittlich pro Patientin kryokonserviert werden. Die durchschnittliche Überlebensrate der 2PN-Oozyten beim durchgeführten Auftauprozess lag bei 96 %. Bei vier Patientinnen fanden keine Embryonenübertragungen statt (siehe **Tab. 6**).

Tab. 6: Embryologie und Merkmale der Stimulation (n = 30)

	MW $\pm$ SD oder Anzahl/gesamt	Spannweite (Min.- Max.)
Stimulation (Tage)	9,9 $\pm$ 2,0	6 – 17
Total FSH (IU)	2564,9 $\pm$ 722,4	750 – 3750
FSH/ Tag (IU)	263,0 $\pm$ 72,3	75 – 375
E₂ (pg/ml)	3620 $\pm$ 2123	478 – 9799
P₄ (ng/ml)	1,7 $\pm$ 0,9	0,6 – 4,6
Follikel (> 10 mm)	18,3 $\pm$ 8,2	9 – 40
COCs (n)	17,0 $\pm$ 8,5	4 – 42
MIIOozyten	13,4 $\pm$ 6,6	3 – 26
Fertilisationsrate (%)	65,4 $\pm$ 20,5	19 – 100
2PN-Oozyten gefroren^a	8,4 $\pm$ 4,5	3 – 22
gefrorene 2 PN-Oozyten pro COC (%)^a	50,9 $\pm$ 15,2	15,8 – 81,5
gefrorene 2 PN-Oozyten pro MIIOozyten (%)^a	65,0 $\pm$ 20,0	18,8 – 100
Überlebensrate (%)^b	96,3 $\pm$ 10,8	50 – 100
Zahl an transferierten Embryonen (n)^c	2,1 $\pm$ 0,3	2 – 3
Modifizierter kumulativer Embryonenscore^c	24,3 $\pm$ 8,3	6,0 – 42
Lutealphasen-Hkt (%)^d	37,4 $\pm$ 3,8	28 – 43

^a Nenner waren 29 Patientinnen, die zumindest eine Oocyte im Zweikernstadium kryokonserviert hatten;

^b Nenner waren 72 Versuche, 2PN-Oozyten aufzutauen; ^c Nenner waren hier 72 Embryonenübertragung,

^d Evaluiert an Tag vier bis sieben nach der Follikelpunktion

E₂, P₄, = Serumöstradiol, Progesterone und Follikel >10mm im Durchschnitt, am Tag der finalen Eizellreifung; COCs = Cumulus-Oocyte-Complexes; MII = Metaphase-II-Oozyten (29 ICSIs); 2PN = Oozyten im Zweikernstadium; Hkt = Hämatokrit;

In einer bi-varianten Regressionsanalyse mit quadratischer Näherung (unabhängige Variable: Anzahl der Oozyten, die durch die Follikelpunktion erhalten wurden, abhängiger Variablen: Anzahl der gefrorenen 2PN-Oozyten) konnte Folgendes gezeigt werden: Eine höhere Anzahl von gewonnenen Oozyten nach Punktion führte in nicht-linearer Weise zu einer höheren Anzahl von Oozyten, die zur Kryokonservierung zur Verfügung standen, siehe **Abb. 15**.

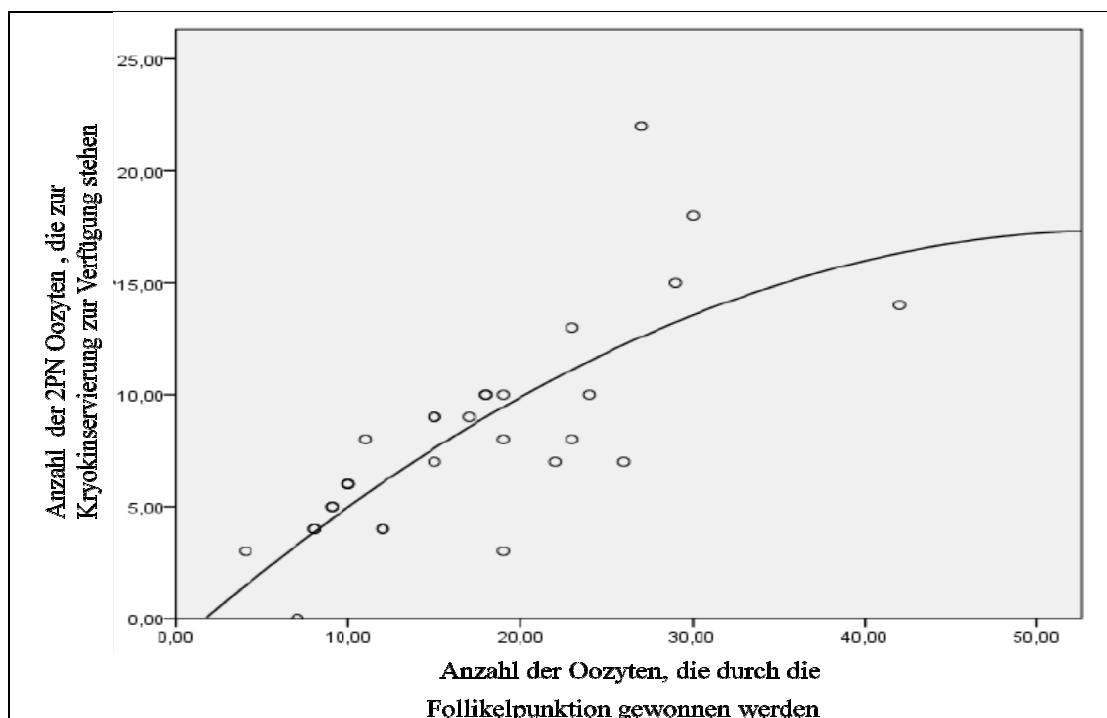


Abb. 15: Regressionsanalyse: Anzahl der Oozyten und Anzahl der zur Kryokonservierung zur Verfügung stehenden 2PN-Oozyten

3.2.3 Ovarielles Überstimulationssyndrom und Verträglichkeits-Abschätzung

Auch bei den Patientinnen der Gruppe B wurde trotz intensivierter Stimulation kein schweres OHSS beobachtet (Inzidenz 0 %, 95 % Konfidenzintervall: 0,0 – 11,4 %). Es trat kein schwerer Fall von Aszitesbildung oder Hämokonzentration ein.

Der am Tag 4 bis 7 nach der Follikelpunktion gemessene Hämatokritwert betrug im Durchschnitt 37,4 %. Der Durchschnitt der Leukozytenzahl lag bei 9,098/ μ l, der von Progesteron bei 12,9 ng/ml, von E2 bei 620 pg/ml, von LH bei 13,3 IE/l und von CRP bei 5,0 mg/l.

Eine Verträglichkeits-Abschätzung wurde in Form eines Fragebogens, der eine Skala von Null bis Fünf enthielt, am 3. oder 4. Tag nach Eizellentnahme erhoben.

Die Verträglichkeit hinsichtlich Bauchschmerzen, Spannung im Bauchraum, Übelkeit/Erbrechen und Kopfschmerz war gut mit Medianwerten von 1,6 ($\pm 2,5$), 1,6 ($\pm 2,1$), 1,0 ($\pm 0,5$), 1,0 ($\pm 0,5$), siehe **Abb. 16**.

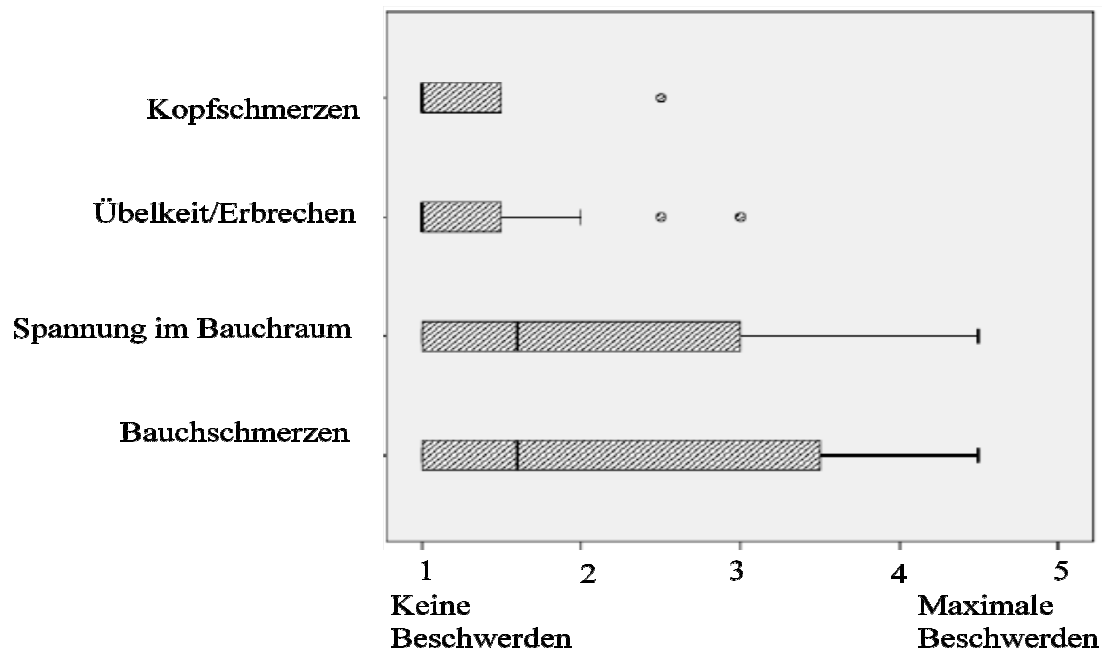


Abb. 16: Boxplots der Verträglichkeits-Bewertung von 26 Patientinnen zur physischen Verfassung am 3. oder 4. Tag nach der Follikelpunktion, dargestellt in einer visuellen Analogskala.

Korreliert man die Verträglichkeit mit der Anzahl der gewonnenen Oozyten, so lässt sich jeweils keine signifikante Korrelation zwischen Spannung im Bauchraum (Pearson's $r=0,19$, $p=0,36$), Bauchschmerzen (Pearson's $r=0,78$, $p=0,71$), Übelkeit/Erbrechen (Pearson's $r=0,18$, $p=0,37$) und Kopfschmerzen (Pearson's $r=0,21$, $p=0,31$) mit der Anzahl der gewonnenen Oozyten finden.

3.2.4 Kumulative Lebendgeburtenrate und Inzidenz der Lebendgeburten entsprechend dem FRET-Behandlungsrang

Bei einer von 30 Patientinnen standen keine 2PN-Oozyten zur Vitrifikation und somit auch nicht zum FRET zur Verfügung. Bei weiteren drei Patientinnen wurden zwar Eizellen befruchtet und kryokonserviert, bisher fanden aber keine ETs aus persönlichen, nicht-

medizinischen Gründen statt. Somit hatten zwar 29 Patientinnen 2PN-Oozyten gefroren, aber nur 26 Patientinnen konnten mindestens einen FRET durchlaufen. Insgesamt wurden 72 FRETs durchgeführt: Vier Patientinnen durchliefen nur einen FRET-Behandlungsrang, elf Patientinnen durchliefen zwei FRETs, vier Patientinnen durchliefen drei FRETs, vier weitere Patientinnen durchliefen vier FRETs. Jeweils eine Patientin durchlief fünf, sechs bzw. sieben FRETs (siehe **Abb. 18**). Die durchschnittliche Anzahl an FRET pro Patientin lag bei 2,4 ($\pm 1,7$; Spannweite 0 – 7) mit einer durchschnittlichen Anzahl von 2,2 ($\pm 0,5$; Spannweite 0 – 3) Embryonenübertragungen pro ET.

Zwischen sechs und 85 Wochen nach GnRH-Agonistengabe fanden Übertragungen statt. Von 72 FRETs führten fünf zu einer biochemischen Schwangerschaft (7,0 %, 95 % KI: 0,3 – 15), zwei zu Erst-Trimester-Aborten (2,8 %, 95 % KI: 0,1 – 12) und sieben zu Lebendgeburten (9,7 % 95 % KI: 0,5 – 19).

Die kumulative Lebendgeburtenrate pro Patientin, eingeschlossen der spontanen Schwangerschaften, lag bei 30 % (9/30, 95 % KI: 16,7 – 47,9). Die Lebendgeburtenrate nach dem ersten Embryotransfer lag bei 7,7 % (2/26; 95 % KI: 2,1 – 24,1) (siehe **Tab.7**).

Die kumulative Lebendgeburtenrate pro Patientin, die zumindest einen FRET durchgeführt hatten, lag bei 26,9 % (7/26, 95 % KI: 13,7 – 46,1).

Tab. 7: Inzidenz der Lebendgeburten entsprechend der Anzahl der FRET-Behandlungsränge

FRET Behandlungsrang	Lebendgeburtenrate (n)	95% Konfidenzintervall
1	7,7 (2/26)	2,1-24,1
2	13,6 (3/22)	4,7-33,3
3	9,1 (1/11)	1,6-37,7
4	0,0 (0/7)	0-35,4
5	0,0 (0/3)	0-56,2
6	50,0 (1/2)	9,5-90,5
7	0,0 (0/1)	0-79,3
Lebendgeburt pro allen FRET	9,7 (7/72)	4,8-18,7

Die durchschnittliche Zeit bis zur Konzeption (Dauer in Wochen von der Agonisten-Gabe bis zum positiven hCG-Nachweis, welcher in einer Lebendgeburt endete) lag bei 13 Wochen, siehe **Abb.: 17**.

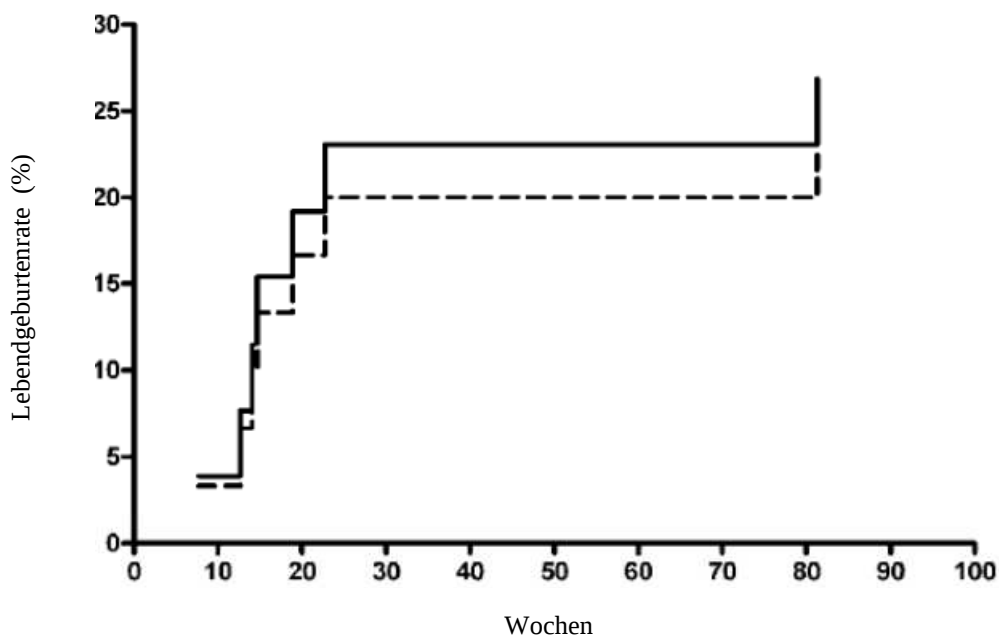


Abb. 17: Kumulative Inzidenz eines positiven hCG-Tests, der zu einer Lebendgeburt führte (gemessen in Wochen vom Zeitpunkt ab der GnRH-Agonisten-Gabe).

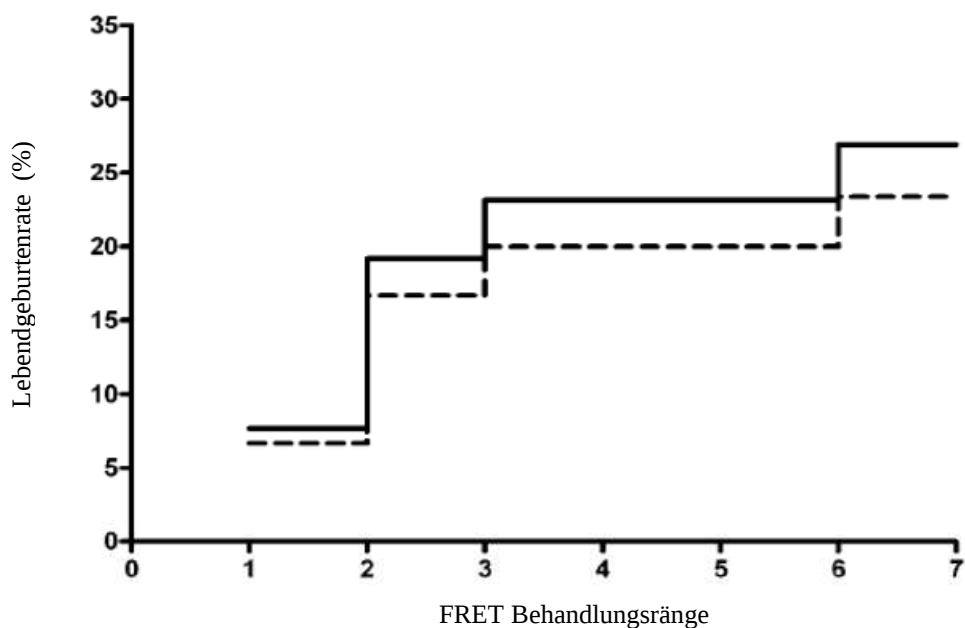


Abb. 18: Kumulative Lebendgeburtenrate per FRET-Behandlungsrang.

gestrichelte Linie = „intention-to-treat“-Analyse; ausgenommen sind spontan konzipierte Schwangerschaften.
 n = 30;
 durchgezogene Linie = Patientinnen, bei denen zumindest ein FRET-Behandlungsrang durchgeführt wurde.
 n = 26

Wie in **Abb. 18** dargestellt, trat die Mehrzahl der Schwangerschaften nach den ersten zwei Embryonenübertragungen auf. Nur bei einer Patientin konnte durch eine sechste Embryonenübertragung eine Schwangerschaft erzielt werden. An dieser Stelle soll erwähnt werden, dass am Ende der Studie noch eine große Zahl an kryokonservierten Oozyten zur Verfügung stand.

Es konnte, wie in **Abbildung 19** zu erkennen, keine Relation zwischen der Anzahl der gewonnenen Oozyten und der kumulativen Chance auf eine Lebendgeburt gezeigt werden.

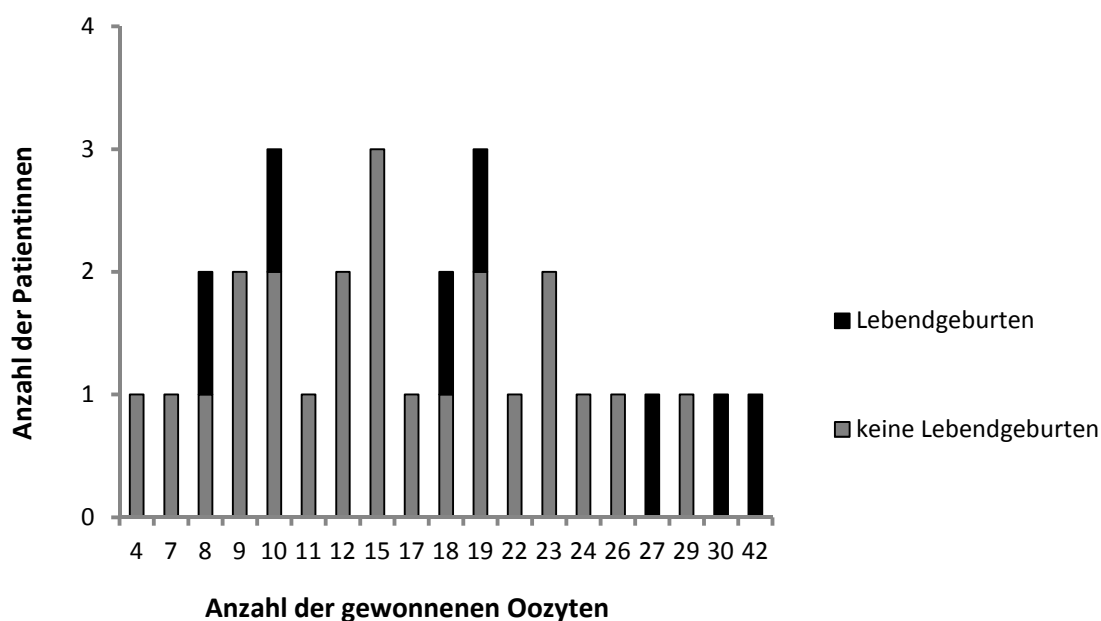


Abb. 19: Verhältnis der Anzahl der Oozyten und der kumulativen Lebendgeburtenrate in FRET-Behandlungsrängen

3.2.5 Neonatale Ergebnisse

Zwei Zwillingen und fünf Einlinge (28 % Zwillingsrate) wurden geboren. Bei den Einlingsgeburten kamen zwei männliche und drei weibliche Neugeborene zur Welt. Ihr durchschnittliches Geburtsgewicht und ihre Länge betrugen 3457 g (± 371 ; Spannweite 2850 – 3820) und 50,6 cm ($\pm 2,2$; Spannweite 47 – 53). Das durchschnittliche Schwangerschaftsalter lag bei 37,8 Wochen (Spannweite: 36 – 39). Zwei weibliche und zwei männliche Neugeborene bildeten die Zwillingspopulation. Geburtsgewicht und -länge lagen hier im Durchschnitt bei 2558 g ($\pm 312,2$; Spannweite 2120 – 2860) und 47 cm ($\pm 1,3$;

Spannweite: 45 – 48). Vier Schwangerschaften endeten mit einem Kaiserschnitt und drei mit einer spontanen Entbindung. Alle Kinder wurden gesund geboren. Es wurden keine relevanten Fehlbildungen beobachtet.

4. Diskussion

In einer umfangreichen Studie zur Stimulation im GnRH-Antagonisten-Protokoll von Papanikolaou et al. wird die Inzidenz für ein schweres OHSS mit 2,1 % angegeben (Papanikolaou et al., 2006). In einer Studie von Ludwig et al. wird die Inzidenz für ein schweres OHSS mit 5,4 % angegeben (Ludwig et al., 2006). Diesen Studien zufolge stellt das ovarielle Überstimulationssyndrom die häufigste iatrogene Komplikation bei der ovariellen Stimulation im Rahmen der IVF-Behandlung dar.

In der vorliegenden Arbeit wurden zwei Kollektive an infertilen Patientinnen prospektiv erfasst, und über einen längeren Zeitraum die Behandlungsergebnisse dokumentiert. Es handelt sich somit um eine prospektive, longitudinale Kohorten-Studie. Die Studie verfolgte das Ziel, die Sicherheit und Effizienz der Auslösung der finalen Eizellreifung mit GnRH-Agonist zu dokumentieren. Darüber hinaus sollte die Sicherheit und Verträglichkeit einer intensivierten Stimulation untersucht werden.

4.1 Methodenkritik

Bezüglich der primären Ergebnisparameter (OHSS Inzidenz, Lebendgeburtenrate) ist kritisch anzumerken, dass in der Studie keine Kontrollgruppe zur Verfügung stand, um die erhobenen Daten in Perspektive zu setzen. Allerdings ist zu beachten, dass eine randomisierte Interventionsstudie bei OHSS-Risikopatientinnen aus ethischen Gründen nicht durchführbar ist. Da das OHSS ein schweres Krankheitsbild darstellt, ggf. mit Langzeitmorbidity und – in seltenen Fällen – sogar mit Letalität, steht als stringente Präventionsmaßnahme nur ein Behandlungsabbruch zur Verfügung. Eine konventionelle Stimulation mit Induktion der finalen Eizellreifung durch HCG ist aus Sicherheitsgründen bei OHSS-Risikopatientinnen mit ovarieller Überreaktion nicht vertretbar. Dementsprechend findet sich in der Literatur nur eine einzige randomisierte Vergleichsstudie (GnRH-Agonist vs. HCG zur finalen Eizellreifung) bei OHSS-Risikopatientinnen (Engmann et al, 2008).

Daten zur OHSS-Inzidenz in einem Kollektiv an Patientinnen mit durchschnittlicher ovarieller Reaktion wurden allerdings in weiteren randomisierten Vergleichsstudien erhoben (siehe Zusammenfassung in Youssef et al., 2011). Aus diesen geht hervor, dass die OHSS-Inzidenz nach GnRH-Agonist-Induktion der finalen Eizellreifung deutlich reduziert ist.

Die Mehrzahl der verfügbaren Literaturdaten zur OHSS-Prävention mit einem GnRH-Agonisten geht jedoch auf Beobachtungsstudien zurück (Griesinger et al., 2006). Da in einer Reihe an qualitativ hochwertigen Studien das OHSS-Risiko nach HCG-Induktion der finalen Eizellreifung in Abhängigkeit vom Ausmaß der ovariellen Reaktion untersucht wurde, können die im Rahmen der vorliegenden Arbeit erhobenen Daten jedoch gut in Perspektive gesetzt und somit ein Vergleich zwischen beobachteter und erwarteter OHSS-Inzidenz durchgeführt werden.

Methodisch positiv zu werten ist die prospektive Erfassung und systematische Erhebung von Symptomen in der Lutealphase, die auf ein OHSS hindeuten können. Da das OHSS bei Gesamtbetrachtung eine geringe Inzidenz hat, werden häufig Registerberichte und große retrospektive Datenanalysen zur Inzidenzschätzung herangezogen. Allerdings ist hier von einer systematischen Unterrepräsentation auszugehen, da in der klinischen Routine keine vollständige Nachuntersuchung aller Patienten nach Eizellentnahme und Embryoübertragung gegeben ist.

Methodisch positiv zu werten ist auch die Tatsache, dass in der vorliegenden Arbeit erstmalig Daten über die Verträglichkeit des Behandlungskonzeptes bei OHSS-Risikopatientinnen erhoben wurden. Wenn auch der Prävention des OHSS aus klinischer Sicht das größte Augenmerk gewidmet werden muss, so ist doch aus Patientensicht die Verträglichkeit der Behandlung von zentraler Bedeutung.

Zur Verträglichkeit einer ovariellen Stimulation und Eizellentnahme bei übermäßiger ovarieller Reaktion finden sich in der Literatur praktisch keine Daten, da solche Behandlungen aufgrund des OHSS-Risikos bisher typischerweise abgebrochen wurden. Eine gute Verträglichkeit ist Voraussetzung für eine Fortführung der Behandlung bei initial frustrierten Behandlungsversuchen. Dies wiederum findet einen Niederschlag in der absoluten Behandlungseffizienz im Sinne einer maximalen erzielbaren kumulativen Lebendgeburtenrate.

Zum Zweck der Verträglichkeitsprüfung wurde in der vorliegenden Arbeit eine sog. „*visual analog scale*“ verwendet. Zu kritisieren ist hierbei, dass es sich um ein nicht validiertes Messinstrument handelt, sodass eine Relation zur Behandlungsverträglichkeit bei „normo-response“-Patientinnen bzw. nach hCG-Induktion der finalen Eizellreifung nicht abgeschätzt werden kann. Es ist jedoch zu beachten, dass in der vorliegenden Arbeit erstmalig überhaupt eine Verträglichkeitsabschätzung in dieser Form durchgeführt wurde

und die Daten lediglich einen ersten Schätzwert darstellen, um umfangreichere Studien mit ggf. validierten Messinstrumenten durchführen zu können.

Eine weitere Stärke dieser Arbeit besteht darin, dass als primärer Effizienzzielparameter die kumulative Lebendgeburtswahrscheinlichkeit ausgewertet wurde. Häufig finden sich in IVF-Studien nur Surrogatparameter des eigentlichen Behandlungsziels (Lebendgeburt), wie z. B. klinische Schwangerschaftsrate oder Schwangerschaftsrate zwischen der 10. und 12. Schwangerschaftswoche, als Ergebnisparameter. Allerdings bedingt die Auswertung der Lebendgeburtenrate einen langen Nachbeobachtungszeitraum, was bei Planung der Studie zu berücksichtigen ist. Es ist dennoch zu beachten, dass die kumulativ erzielte Lebendgeburtswahrscheinlichkeit, wie in den Gruppen A und B berichtet, trotzdem nur einen vorläufigen Wert darstellt, da möglicherweise weitere Kryoembryonenübertragungen stattfinden, die dann außerhalb der Studie nicht mehr erfasst werden.

4.2 Merkmale der Stimulation und Embryologiedaten

Bei Patientinnen, bei denen keine Lebendgeburt eintrat, betrug die durchschnittliche Anzahl der gewonnenen Oozyten durch Follikelpunktion und die Anzahl der gefrorenen 2PN bei Gruppe A 17,6 ($\pm 9,6$) und 7,9 ($\pm 4,8$), bei Gruppe B 15,5 ($\pm 6,8$) und 7,4 ($\pm 3,4$). Bei Patientinnen, die eine Lebendgeburt hatten, betrug die durchschnittliche Anzahl von gewonnenen Oozyten durch Follikelpunktion und die Anzahl der gefrorenen 2PN bei Gruppe A 17,9 ($\pm 8,0$) und 8,1 ($\pm 4,6$), bei Gruppe B 22,0 ($\pm 11,9$) und 11,7 ($\pm 6,6$). Die Anzahl der Oozyten bei Patientinnen mit oder ohne Lebendgeburt war also in der Gruppe A etwa gleich. In Gruppe B hatten die Patientinnen mit Lebendgeburten eine höhere Anzahl an gewonnenen Oozyten zur Verfügung, was als Ausdruck einer guten Prognose interpretiert werden kann.

In mehreren randomisierten Studien war zwar bereits untersucht worden, ob es Unterschiede in der Schwangerschaftsrate bei verschiedenen Stimulationsdosen gibt bzw. ob die erhaltene Anzahl an Oozyten voraussagend für die Schwangerschaftswahrscheinlichkeit ist. Dabei wurde festgestellt, dass zwischen 100 IE/ Tag vs. 200 IE/Tag kein Unterschied in der Schwangerschaftsrate besteht (Hoomans and Mulder, 2002; Out et al., 2001).

Trotzdem bleibt weiterhin unklar, ob Patientinnen von einer höheren Anzahl an gewonnenen 2PN-Oozyten nach hohen Stimulationsdosen profitieren, da noch keine weiteren

Ergebnisse über kumulative Schwangerschaftsraten nach FRET vorliegen und im Besonderen keine kontrollierten Studien zur kumulativen Schwangerschaftsrate durchgeführt wurden.

Es ist nicht davon auszugehen, dass eine lineare Dosis-Wirkungsbeziehung bei der ovariellen Stimulation besteht. **Abb. 11** und **15** zeigen tendenziell, dass mit einer höheren Anzahl an gewonnenen Oozyten nach Stimulation ein relativ höherer Verlust an Oozyten zu verzeichnen ist. Dies liegt vermutlich an der relativen Zunahme an unreifen Oozyten (Kok et al., 2006). In der Studie von Kok et al. wurde der mögliche negative Effekt auf die Qualität der Eizelle bei starker ovarieller Antwort nach intensivierter Stimulation untersucht mit dem Ergebnis, dass eine hohe Anzahl an gewonnenen Oozyten (starke ovarielle Antwort auf die ovarielle Überstimulation) allerdings nicht mit einer sinkenden Schwangerschaftswahrscheinlichkeit assoziiert ist.

Somit kann weiterhin der Weg verfolgt werden, mit einem Stimulationszyklus möglichst viele Eizellen zu gewinnen und anschließend in einem artifiziellen Zyklus repetitive Embryonenübertragung folgen zu lassen, um damit das OHSS-Risiko niedrig zu halten bzw. zu eliminieren und gleichzeitig möglicherweise die Chance auf eine Lebendgeburt zu steigern.

In der vorliegenden Arbeit waren am Ende des Nachbeobachtungszeitraumes viele Oozyten noch nicht transferiert worden; somit haben einige Patientinnen ihre gewonnenen, zur Verfügung stehenden kryokonservierten Oozyten noch nicht voll ausgeschöpft.

4.3 Ovariellies Überstimulationssyndrom

In der vorliegenden Arbeit konnte bei Gruppe A nach Stimulation (siehe 2.6.1) kein Fall eines schweren OHSS beobachtet werden, obwohl für die Patientinnen aufgrund des Risikoprofils dieser Gruppe sogar ein hohes Risiko für dieses Erkrankungsbild gegeben war.

Auch bei Patientinnen der Gruppe B konnte nach Stimulationsintensivierung kein Fall eines schweren OHSS beobachtet werden.

Mehrere im Jahr 2009 veröffentlichte Studien weisen ebenfalls darauf hin, dass GnRH-Agonisten im Vergleich zu HCG zur Auslösung der finalen Eizellreifung im GnRH-Anta-

gonisten-Protokoll eine geringere Inzidenz eines OHSS aufweisen (Bodri et al., 2009; Sismanoglu et al., 2009).

Durch den frischen ET bei den erwähnten Studien ist aber das Auftreten eines late-onset-OHSS nicht ausgeschlossen, da die Gelbkörper durch das endogen produzierte HCG in der Frühschwangerschaft reaktiviert werden können. Durch den FRET wird dies jedoch umgangen, und so könnten die noch vorkommenden OHSS-Fälle, wie in der vorliegenden Arbeit gezeigt, völlig verhindert werden. Um aber eine wirkliche abschließende Beurteilung treffen zu können, müsste ein größeres Kollektiv an Patientinnen untersucht werden.

4.4 Kumulative Lebendgeburtenwahrscheinlichkeit und Inzidenz der Lebendgeburten entsprechend der FRET-Behandlungsränge

Anhand dieser Studie kann die Lebendgeburtenrate nach repetitivem Embryo-Transfer nach GnRH-Agonisten-Trigger abgeschätzt werden. In den ersten vier FRET-Zyklen war die Lebendgeburtenwahrscheinlichkeit durchaus stabil. Patientinnen mit einer großen Anzahl von gefrorenen Oozyten nach finaler Eizellreifung mit GnRH-Agonisten sollten ermutigt werden, sich möglichst vieler Zyklen zu unterziehen, um das Potenzial der gewonnen Oozyten auszunutzen. In der Gruppe A wurde zwar keine Schwangerschaft in einem fünften, sechsten oder siebten FRET-Behandlungsrang erlangt (siehe **Abb. 13**), jedoch kam es zu einer Schwangerschaft in Gruppe B nach einem sechsten FRET-Behandlungsrang (siehe **Abb. 18**); dennoch sollten hieraus keine voreiligen Schlüsse gezogen werden. Es sollte hierzu eine größere Kohorte von Patientinnen untersucht werden, um zuverlässig Aussagen über die Lebendgeburtenwahrscheinlichkeit in höheren FRET-Behandlungsrängen ableiten zu können.

An dieser Stelle soll betont werden, dass durch das deutsche Embryonenschutzgesetz nicht mehr als drei Embryonen in einem Zyklus transferiert werden dürfen und alle aufgetauten 2PN-Oozyten auch transferiert werden müssen (Bundesgesetzblatt I, 1990). Wenn eine größere Anzahl an Oozyten/Embryonen aufgetaut werden dürfte und eine Selektion von Embryonen nach morphologischen Kriterien für den Transfer erfolgen würde, so wäre möglicherweise dieselbe Lebendgeburtenrate in einem kürzeren Intervall und mit weniger Embryonenübertragungen zu erreichen.

4.5 Neonatale Ergebnisse

Bis auf eine schwere Frühgeburt (Zwillingschwangerschaft) in der 28. SSW und ein Amnioninfektionssyndrom (Einlingsgeburt) in der 32. SSW wurden alle Kinder gesund geboren. Es wurden keine bedeutsamen Fehlbildungen beobachtet. Trotz dieses guten neonatalen Ergebnisses müssen auch in diesem Punkt größere Kohorten von Patientinnen und deren Neugeborene gewählt werden, um besser die Inzidenz nachteiliger Ergebnisse bei den Kindern abschätzen zu können. Idealerweise sollte dies in einer kontrollierten Kohorten-Studie durchgeführt werden.

4.6 Fazit

Die Stimulation im GnRH-Antagonisten-Protokoll kombiniert mit GnRH-Analoga zur finalen Eizellreifung und anschließender Kryokonservierung aller 2PN-Eizellen ist ein Vorgehen, das nicht nur bei OHSS-Risikopatientinnen angewandt werden kann. Die Arbeit zeigt das Potenzial der Vermeidung eines OHSS auch bei der intensivierten ovariellen Stimulation, wie sie in Gruppe B erfolgte. Eine breite Anwendung könnte dazu beitragen, bei gleichzeitig akzeptablen Schwangerschaftswahrscheinlichkeiten die Inzidenz eines OHSS zu senken. Voraussetzung dafür ist eine hohe Überlebensrate nach der Kryokonservierung.

Die intensivierte ovarielle Stimulation und Eizellreifung mit GnRH-Agonist im GnRH-Antagonisten-Mehrfach-Dosis-Protokoll und elektiver Kryokonservierung aller 2PN-Eizellen in der Gruppe B ist bisher die erste Studie, die auf diese Weise durchgeführt wurde. Sie lässt sich somit nicht mit anderen Studien vergleichen. Jedoch kann sie richtungsweisend für weitere Studien sein, die in gleicher Weise verfahren könnten, um die Entwicklung einer sicheren und effizienten Stimulation voranzutreiben. Die Arbeit lässt eine erste Abschätzung zur Durchführbarkeit erkennen.

5. Zusammenfassung

Das OHSS stellt die häufigste iatrogene Komplikation bei der ovariellen Stimulation im Rahmen der IVF-Behandlung dar. Die Pathophysiologie dieses Syndroms gilt als noch nicht völlig aufgeklärt. Bekannt ist aber, dass eine Reihe von Substanzen und Mediatoren für die erhöhte Gefäßpermeabilität wie für die Gefäßdilatation in peripheren Arteriolen verantwortlich gemacht werden. Dies hat eine Flüssigkeitsverschiebung von intrazellulär in den sog. „dritten Raum“ zur Folge und erklärt die daraus resultierenden typischen Symptome. Sie reichen u.a. von leichten abdominalen Spannungsgefühlen und Unwohlsein bis hin zu Atemnot, Wassereinlagerungen in der Lunge und im Bauchraum, thrombembolischen Komplikationen, Verminderung der Nierendurchblutung und -funktion. Als wesentlicher Mediator und Auslöser des OHSS wird hCG gesehen. Exogenes hCG kann zum „early-onset“-OHSS, endogenes hCG kann zum „late-onset“-OHSS führen.

In der Literatur findet sich eine Vielzahl von Präventionsmaßnahmen eines OHSS. Sie setzen zum einen im Bereich der ovariellen Stimulation, zum anderen bei der Reduktion der Follikel an. Auch Änderungen in der Lutealphasenunterstützung mit hCG-freier Unterstützung, elektiver Kryokonservierung aller Embryonen, Lutealphasen-GnRH-Antagonisten-Administration sowie Änderungen der hCG-Dosis zur Auslösung der finalen Eizellreifung werden vorgeschlagen.

Eine relativ neue Methode stellt die Kombination der finalen Eizellreifung mit GnRH-Agonisten im GnRH-Antagonisten-Protokoll mit anschließender Kryokonservierung aller Oozyten im Zweikernstadium und späterem Embryonen-Transfer in einem künstlichen Zyklus dar. Dieses zur Sekundärprävention vorgeschlagene Vorgehen wurde bei Patientinnen mit dem Risiko für ein OHSS (Gruppe A) nach dosisangepasster Stimulation und bei Patientinnen ohne vorbestehenden Risiko für ein OHSS (Gruppe B) nach erfolgter Stimulationsintensivierung für diese Arbeit durchgeführt.

Hauptzielparameter der Arbeit ist die Inzidenz von schwerem OHSS pro Patientin. Sekundäre Zielparameter sind u.a. die kumulative Lebendgeburtenrate pro Patientin und die Lebendgeburtenrate pro ET.

Die vorliegende Arbeit fasst den 5-jährigen Beobachtungszeitraum der untersuchten Kohorten prospektiv zusammen.

Die Inzidenz bei Anwendung der oben beschriebenen neuen Methode eines schweren OHSS lag für beide Gruppen bei 0 %.

Abschließend ist festzustellen, dass GnRH-Agonisten zur Auslösung der finalen Eizellreifung im GnRH-Antagonisten-Protokoll und anschließender Kryokonservierung aller 2PN-Oozyten ein gutes Vorgehen zur Sekundärprävention des OHSS darstellt. Hinsichtlich der Schwangerschaftsrate müssen weitere Studien folgen, um eine abschließende Beurteilung zu ermöglichen, ob auch in Hinblick auf die zu erzielende Schwangerschaftsrate eine Stimulationsintensivierung sinnvoll ist.

6. Literaturverzeichnis

- Aboulghar M. Prediction of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS). Estradiol level has an important role in the prediction of OHSS. *Hum Reprod* 2003; (18): 1140-1141.
- Aboulghar M, Evers J H, Al Inany H. Intravenous albumin for preventing severe ovarian hyperstimulation syndrome: a Cochrane review. *Hum Reprod* 2002; (17): 3027-3032.
- Aboulghar M A, Mansour R T, Serour G I, Elattar I, Amin Y. Follicular aspiration does not protect against the development of ovarian hyperstimulation syndrome. *J Assist Reprod Genet* 1992; (9): 238-243.
- Abramov Y, Elchalal U, Schenker J G. Obstetric outcome of in vitro fertilized pregnancies complicated by severe ovarian hyperstimulation syndrome: a multicenter study. *Fertil Steril* 1998; (70): 1070-1076.
- Abramov Y, Schenker J G, Lewin A, Kafka I, Jaffe H, Barak V. Soluble ICAM-1 and E-selectin levels correlate with clinical and biological aspects of severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril* 2001; (76): 51-57.
- Acevedo B, Gomez-Palomares J L, Ricciarelli E, Hernandez E R. Triggering ovulation with gonadotropin-releasing hormone agonists does not compromise embryo implantation rates. *Fertil Steril* 2006; (86): 1682-1687.
- Al Hasani S, Ozmen B, Koutlaki N, Schoepper B, Diedrich K, Schultze-Mosgau A. Three years of routine vitrification of human zygotes: is it still fair to advocate slow-rate freezing? *Reprod Biomed Online* 2007; (14): 288-293.
- Al Inany H, Aboulghar M. GnRH antagonist in assisted reproduction: a Cochrane review. *Hum Reprod* 2002; (17): 874-885.
- Al Shawaf T, Zosmer A, Hussain S, Tozer A, Panay N, Wilson C, Lower A M, Grudzinskas J G. Prevention of severe ovarian hyperstimulation syndrome in IVF with or without ICSI and embryo transfer: a modified 'coasting' strategy based on ultrasound for identification of high-risk patients. *Hum Reprod* 2001; (16): 24-30.
- Alvarez C, Marti-Bonmati L, Novella-Maestre E, Sanz R, Gomez R, Fernandez-Sanchez M, Simon C, Pellicer A. Dopamine agonist cabergoline reduces hemoconcentration and ascites in hyperstimulated women undergoing assisted reproduction. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; (92): 2931-2937.
- Binder H, Cupisti S, Dittrich R, Einhaus F, Kries J, Müller A, Strauß R, Beckmann M.W. Ovariellles Überstimulationssyndrom- update - Teil 1. *Geburtshilfe Frauenheilkunde* 2004; (64): 53-76.
- Binder H, Griesinger G, Kiesel L. Ovariellles Überstimulationssyndrom. *Gynäkologische Endokrinologie* 2007; (5): 203-211.
- Blankstein J, Shalev J, Saadon T, Kukia E E, Rabinovici J, Pariente C, Lunenfeld B, Serr D M, Mashiach S. Ovarian hyperstimulation syndrome: prediction by number and size of preovulatory ovarian follicles. *Fertil Steril* 1987; (47): 597-602.

- Bodri D, Guillen J J, Galindo A, Mataro D, Pujol A, Coll O. Triggering with human chorionic gonadotropin or a gonadotropin-releasing hormone agonist in gonadotropin-releasing hormone antagonist-treated oocyte donor cycles: findings of a large retrospective cohort study. *Fertil Steril* 2009; (91): 365-371.
- Brinsden P R, Wada I, Tan S L, Balen A, Jacobs H S. Diagnosis, prevention and management of ovarian hyperstimulation syndrome. *Br J Obstet Gynaecol* 1995; (102): 767-772.
- Buehler K, Lunenfeld B. Geschichte der Gonadotropintherapie. In: *Das deutsche IVF-Register 1996- 2006*. 2006; 51-64.
- Bundesgesetzblatt I. (1990) Gesetz zum Schutze der Embryonen (Embryonenschutzgesetz), 2746.
- Busso C E, Garcia-Velasco J, Gomez R, Alvarez C, Simon C, Pellicer A. Symposium: Update on prediction and management of OHSS prevention of OHSS--dopamine agonists. *Reprod Biomed Online* 2009; (19): 43-51.
- Chen C D, Chen H F, Lu H F, Chen S U, Ho H N, Yang Y S. Value of serum and follicular fluid cytokine profile in the prediction of moderate to severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum Reprod* 2000; (15): 1037-1042.
- Cochius J I, Burns R J, Blumbergs P C, Mack K, Alderman C P. Creutzfeldt-Jakob disease in a recipient of human pituitary-derived gonadotrophin. *Aust N Z J Med* 1990; (20): 592-593.
- Daya S, Ledger W, Auray J P, Duru G, Silverberg K, Wikland M, Bouzayen R, Howles C M, Beresniak A. Cost-effectiveness modelling of recombinant FSH versus urinary FSH in assisted reproduction techniques in the UK. *Hum Reprod* 2001; (16): 2563-2569.
- Delbaere A, Bergmann P J, Gervy-Decoster C, Staroukine M, Englert Y. Angiotensin II immunoreactivity is elevated in ascites during severe ovarian hyperstimulation syndrome: implications for pathophysiology and clinical management. *Fertil Steril* 1994; (62): 731-737.
- Delvigne A, Rozenberg S. Systematic review of data concerning etiopathology of ovarian hyperstimulation syndrome. *Int J Fertil Womens Med* 2002; (47): 211-226.
- Dufau M L, Catt K J, Tsuruhara T. Retention of in vitro biological activities by desialylated human luteinizing hormone and chorionic gonadotropin. *Biochem Biophys Res Commun* 1971; (44): 1022-1029.
- Dumble L J, Klein R D. Creutzfeldt-Jakob legacy for Australian women treated with human pituitary gonadotropins. *Lancet* 1992; (340): 847-848.
- Engmann L, DiLuigi A, Schmidt D, Nulsen J, Maier D, Benadiva C. 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* 2008; (89): 84-91.

- Enskog A, Henriksson M, Unander M, Nilsson L, Brannstrom M. Prospective study of the clinical and laboratory parameters of patients in whom ovarian hyperstimulation syndrome developed during controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1999; (71): 808-814.
- Fares F A, Suganuma N, Nishimori K, LaPolt P S, Hsueh A J, Boime I. Design of a long-acting follitropin agonist by fusing the C-terminal sequence of the chorionic gonadotropin beta subunit to the follitropin beta subunit. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992; (89): 4304-4308.
- Felberbaum R E, Bühler K, van der Ven H, Blumenauer K, Fiedler K, Gnoth C, Happel L, Kupka M. Statistische Betrachtung aus den letzten 10 Jahren. In: Deutsche IVF-Register D.I.R., 1996- 2005. 2005; 201-236.
- Felberbaum R E, Reissmann T, Kupker W, Bauer O, Al Hasani S, Diedrich C, Diedrich K. Preserved pituitary response under ovarian stimulation with HMG and GnRH antagonists (Cetrorelix) in women with tubal infertility. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1995; (61): 151-155.
- Fischl F. Begriffsbestimmung und Pathogenese: Sterilität - Fertilität. In: Kinderwunsch. (Ed.Fischl FH). Gablitz: Krause & Pachernegg GmbH, 2000; 2: 47-55.
- Gemzell C A, Diczfalusy E, Tillinger G. Clinical effect of human pituitary follicle-stimulating hormone (FSH). *J Clin Endocrinol Metab* 1958; (18): 1333-1348.
- Geva E, Jaffe R B. Role of vascular endothelial growth factor in ovarian physiology and pathology. *Fertil Steril* 2000; (74): 429-438.
- Golan A, Ron-el R, Herman A, Soffer Y, Weinraub Z, Caspi E. Ovarian hyperstimulation syndrome: an update review. *Obstet Gynecol Surv* 1989; (44): 430-440.
- Golan A, Weissman A. Symposium: Update on prediction and management of OHSS a modern classification of OHSS. *Reprod Biomed Online* 2009; (19): 28-32.
- Goldsman M P, Pedram A, Dominguez C E, Ciuffardi I, Levin E, Asch R H. Increased capillary permeability induced by human follicular fluid: a hypothesis for an ovarian origin of the hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril* 1995; (63): 268-272.
- Griesinger G, Diedrich K. [New developments in ovarian stimulation]. *Gynakol Geburtshilfliche Rundsch* 2009; (49): 55-61.
- Griesinger G, Diedrich K, Devroey P, Kolibianakis E M. GnRH agonist for triggering final oocyte maturation in the GnRH antagonist ovarian hyperstimulation protocol: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2006; (12): 159-168.
- Griesinger G, Felberbaum R, Diedrich K. GnRH antagonists in ovarian stimulation: a treatment regimen of clinicians' second choice? Data from the German national IVF registry. *Hum Reprod* 2005; (20): 2373-2375.
- Grochowski D, Wolczynski S, Kuczynski W, Domitrz J, Szamatowicz J, Szamatowicz M. Correctly timed coasting reduces the risk of ovarian hyperstimulation syndrome and gives good cycle outcome in an in vitro fertilization program. *Gynecol Endocrinol* 2001; (15): 234-238.

- Gustofson R L, Segars J H, Larsen F W. Ganirelix acetate causes a rapid reduction in estradiol levels without adversely affecting oocyte maturation in women pretreated with leuprolide acetate who are at risk of ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum Reprod* 2006; (21): 2830-2837.
- Guvenal F, Guvenal T, Timuroglu Y, Timuroglu T, Cetin M. Spontaneous ovarian hyperstimulation-like reaction caused by primary hypothyroidism. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2006; (85): 124-125.
- Hahn D W, McGuire J L, Vale W W, Rivier J. Reproductive/endocrine and anaphylactoid properties of an LHRH-antagonist, ORF 18260 [Ac-DNAL1(2), 4FDPhe2,D-Trp3,D-Arg6]-GnRH. *Life Sci* 1985; (37): 505-514.
- Heijnen E M, Eijkemans M J, de Klerk C, Polinder S, Beckers N G, Klinkert E R, Broekmans F J, Passchier J, Te Velde E R, Macklon N S, Fauser B C. A mild treatment strategy for in-vitro fertilisation: a randomised non-inferiority trial. *Lancet* 2007; (369): 743-749.
- Hoff J D, Quigley M E, Yen S S. Hormonal dynamics at midcycle: a reevaluation. *J Clin Endocrinol Metab* 1983; (57): 792-796.
- Hoomans E H, Mulder B B. A group-comparative, randomized, double-blind comparison of the efficacy and efficiency of two fixed daily dose regimens (100- and 200-IU) of recombinant follicle stimulating hormone (rFSH, Puregon) in Asian women undergoing ovarian stimulation for IVF/ICSI. *J Assist Reprod Genet* 2002; (19): 470-476.
- Humaidan P, Bredkjaer H E, Bungum L, Bungum M, Grondahl M L, Westergaard L, Andersen C Y. GnRH agonist (buserelin) or hCG for ovulation induction in GnRH antagonist IVF/ICSI cycles: a prospective randomized study. *Hum Reprod* 2005; (20): 1213-1220.
- Kodama H, Fukuda J, Karube H, Matsui T, Shimizu Y, Tanaka T. In vitro fertilization of in vitro matured oocytes obtained from the follicles without hCG exposure for prevention of severe ovarian hyperstimulation syndrome: a case report. *J Obstet Gynaecol Res* 1996; (22): 61-65.
- Kok J D, Looman C W, Weima S M, te Velde E R. 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* 2006; (85): 918-924.
- Kolibianakis E M, Collins J, Tarlatzis B C, Devroey P, Diedrich K, Griesinger G. 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* 2006; (12): 651-671.
- Kovachev E, Kozovski I, Markova V, Gemer O, Cherneva S. [Role of intercellular adhesion molecule-1 and E-selectin in the pathogenesis of ovarian hyperstimulation syndrome]. *Akush Ginekol (Sofia)* 2005; (44): 26-31.
- Küpker W, Scwinger E, Mennike K, Bals-Pratsch M, Ludwig M, Diedrich K. genetic reasons of male infertility. *Der Gynäkologe* 33[2], 79-87. 2000.
- Lainas T G, Sfontouris I A, Zorzovilis I Z, Petsas G K, Lainas G T, Kolibianakis E M. Management of severe early ovarian hyperstimulation syndrome by re-initiation of GnRH antagonist. *Reprod Biomed Online* 2007; (15): 408-412.

- Lee T H, Liu C H, Huang C C, Wu Y L, Shih Y T, Ho H N, Yang Y S, Lee M S. Serum anti-Mullerian hormone and estradiol levels as predictors of ovarian hyperstimulation syndrome in assisted reproduction technology cycles. *Hum Reprod* 2008; (23): 160-167.
- Leichtweiß H-P, Schröder H J, Singer D. Sexualfunktion, Schwangerschaft und Geburt. In: Physiologie. (Eds.Klinke R, Pape H-C, Silbernagel S). Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG, 2005; 5: 561-586.
- Liebermann J, Tucker M J. Vitrifying and warming of human oocytes, embryos, and blastocysts: vitrification procedures as an alternative to conventional cryopreservation. *Methods Mol Biol* 2004; (254): 345-364.
- Loumaye E. The control of endogenous secretion of LH by gonadotrophin-releasing hormone agonists during ovarian hyperstimulation for in-vitro fertilization and embryo transfer. *Hum Reprod* 1990; (5): 357-376.
- Ludwig M.: Grundlagen der Stimulation. In: Kinderwunschsprechstunde. 2. Aufl. Springer, Heidelberg 2005; 6:122-134
- Ludwig A K, Glawatz M, Griesinger G, Diedrich K, Ludwig M. Perioperative and post-operative complications of transvaginal ultrasound-guided oocyte retrieval: prospective study of >1000 oocyte retrievals. *Hum Reprod* 2006; (21): 3235-3240.
- Ludwig M, Schopper B, Katalinic A, Sturm R, Al Hasani S, Diedrich K. Experience with the elective transfer of two embryos under the conditions of the german embryo protection law: results of a retrospective data analysis of 2573 transfer cycles. *Hum Reprod* 2000; (15): 319-324.
- Lyons C A, Wheeler C A, Frishman G N, Hackett R J, Seifer D B, Haning R V, Jr. Early and late presentation of the ovarian hyperstimulation syndrome: two distinct entities with different risk factors. *Hum Reprod* 1994; (9): 792-799.
- Mathur R S, Akande A V, Keay S D, Hunt L P, Jenkins J M. Distinction between early and late ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril* 2000; (73): 901-907.
- Matta W H, Shaw R W, Hesp R, Evans R. Reversible trabecular bone density loss following induced hypo-oestrogenism with the GnRH analogue buserelin in premenopausal women. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1988; (29): 45-51.
- McClure N, Healy D L, Rogers P A, Sullivan J, Beaton L, Haning R V, Jr., Connolly D T, Robertson D M. Vascular endothelial growth factor as capillary permeability agent in ovarian hyperstimulation syndrome. *Lancet* 1994; (344): 235-236.
- Montanelli L, Delbaere A, Di Carlo C, Nappi C, Smits G, Vassart G, Costagliola S. A mutation in the follicle-stimulating hormone receptor as a cause of familial spontaneous ovarian hyperstimulation syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; (89): 1255-1258.
- Morgan J E, O'Neil C E, Coy D H, Hocart S J, Nekola M V. Antagonistic analogs of luteinizing hormone-releasing hormone are mast cell secretagogues. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1986; (80): 70-75.
- Nargund G, Hutchison L, Scaramuzzi R, Campbell S. Low-dose HCG is useful in preventing OHSS in high-risk women without adversely affecting the outcome of IVF cycles. *Reprod Biomed Online* 2007; (14): 682-685.

- Navot D, Bergh P A, Laufer N. Ovarian hyperstimulation syndrome in novel reproductive technologies: prevention and treatment. *Fertil Steril* 1992; (58): 249-261.
- Nawroth F, Rahimi G, Isachenko E, Isachenko V, Liebermann M, Tucker M J, Liebermann J. Cryopreservation in assisted reproductive technology: new trends. *Semin Reprod Med* 2005; (23): 325-335.
- Neulen J, Yan Z, Raczek S, Weindel K, Keck C, Weich H A, Marme D, Breckwoldt M. Human chorionic gonadotropin-dependent expression of vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor in human granulosa cells: importance in ovarian hyperstimulation syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; (80): 1967-1971.
- Out H J, David I, Ron-El R, Friedler S, Shalev E, Geslevich J, Dor J, Shulman A, Ben Rafael Z, Fisch B, Dirnfeld M. A randomized, double-blind clinical trial using fixed daily doses of 100 or 200 IU of recombinant FSH in ICSI cycles. *Hum Reprod* 2001; (16): 1104-1109.
- Pak S J, Warlich J, van Rooij T N. [RecDate - an IT-solution for the documentation and quality management of reproductive medicine]. *Zentralbl Gynakol* 2001; (123): 482-486.
- Palermo G, Joris H, Devroey P, Van Steirteghem A C. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet* 1992; (340): 17-18.
- Papanikolaou E G, Pozzobon C, Kolibianakis E M, Camus M, Tournaye H, Fatemi H M, Van Steirteghem A, Devroey P. Incidence and prediction of ovarian hyperstimulation syndrome in women undergoing gonadotropin-releasing hormone antagonist in vitro fertilization cycles. *Fertil Steril* 2006; (85): 112-120.
- Porter R N, Smith W, Craft I L, Abdulwahid N A, Jacobs H S. Induction of ovulation for in-vitro fertilisation using buserelin and gonadotropins. *Lancet* 1984; (2): 1284-1285.
- Rabau E, David A, Serr D M, Mashiach S, Lunenfeld B. Human menopausal gonadotropins for anovulation and sterility. Results of 7 years of treatment. *Am J Obstet Gynecol* 1967; (98): 92-98.
- Rall W. F., Fahy G.M. Ice-free cryopreservation of mouse embryos at -196 degrees C by vitrification. *Nature* 1985; (313) 573-5.
- Reynolds R M, Logie J J, Roseweir A K, McKnight A J, Millar R P. A role for kisspeptins in pregnancy: facts and speculations. *Reproduction* 2009; (138): 1-7.
- Ron-El R, Herman A, Golan A, Raziel A, Soffer Y, Caspi E. Follicle cyst formation following long-acting gonadotropin-releasing hormone analog administration. *Fertil Steril* 1989; (52): 1063-1066.
- Schenker J G, Weinstein D. Ovarian hyperstimulation syndrome: a current survey. *Fertil Steril* 1978; (30): 255-268.
- Schmutzler R K, Diedrich K. Basic and clinical aspects of GnRH-agonists in reproduction. *Int J Gynaecol Obstet* 1990; (32): 311-324.

- Schroder A K, Schopper B, Al Hasani S, Diedrich K, Ludwig M. Unilateral follicular aspiration and in-vitro maturation before contralateral oocyte retrieval: a method to prevent ovarian hyperstimulation syndrome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2003; (110): 186-189.
- Sismanoglu A, Tekin H I, Erden H F, Ciray N H, Ulug U, Bahceci M. Ovulation triggering with GnRH agonist vs. hCG in the same egg donor population undergoing donor oocyte cycles with GnRH antagonist: a prospective randomized cross-over trial. *J Assist Reprod Genet* 2009; (26): 251-256.
- Son W Y, Yoon S H, Lim J H. Effect of gonadotrophin priming on in-vitro maturation of oocytes collected from women at risk of OHSS. *Reprod Biomed Online* 2006; (13): 340-348.
- Steer C V, Mills C L, Tan S L, Campbell S, Edwards R G. The cumulative embryo score: a predictive embryo scoring technique to select the optimal number of embryos to transfer in an in-vitro fertilization and embryo transfer programme. *Hum Reprod* 1992; (7): 117-119.
- Step toe P C, Edwards R G. Birth after the reimplantation of a human embryo. *Lancet* 1978; (2): 366.
- Tarlatzis B C, Pados G, Bontis J, Lagos S, Grimbizis G, Spanos E, Mantalenakis S. Ovarian stimulation with busserelin/HMG/HCG: prospective randomized study of short versus long protocol. *Hum Reprod* 1993; (8): 807-812.
- Thuringer D. The vascular endothelial growth factor-induced disruption of gap junctions is relayed by an autocrine communication via ATP release in coronary capillary endothelium. *Ann N Y Acad Sci* 2004; (1030): 14-27.
- Tollan A, Holst N, Forsdahl F, Fadnes H O, Oian P, Maltau J M. Transcapillary fluid dynamics during ovarian stimulation for in vitro fertilization. *Am J Obstet Gynecol* 1990; (162): 554-558.
- Tomazevic T, Meden-Vrtovec H. Early timed follicular aspiration prevents severe ovarian hyperstimulation syndrome. *J Assist Reprod Genet* 1996; (13): 282-286.
- Trounson A O, Leeton J F, Wood C, Webb J, Wood J. Pregnancies in humans by fertilization in vitro and embryo transfer in the controlled ovulatory cycle. *Science* 1981; (212): 681-682.
- Youssef MA, Van der Veen F, Al-Inany HG, Griesinger G, Mochtar MH, Aboulfoutouh I, Khattab SM, van Wely M. Gonadotropin-releasing hormone agonist versus HCG for oocyte triggering in antagonist assisted reproductive technology cycles *Cochrane Database Syst Rev*. 2011; (1)
- Youssry M, Ozmen B, Zohni K, Diedrich K, Al Hasani S. Current aspects of blastocyst cryopreservation. *Reprod Biomed Online* 2008; (16): 311-320.

7. Danksagung

In erster Linie möchte ich meinem Doktorvater, Prof. Dr. Georg Griesinger, für die Bereitstellung des aktuellen und für die Betroffenen so wichtigen Themas und die Unterstützung in jeglicher Hinsicht bei dieser Arbeit ganz herzlich Dank sagen.

Herzlichen Dank an das Team des Reproduktionslabors für die Auskünfte über die einzelnen Arbeitsschritte und die Bereitstellung der Protokolle der Kryokonservierung.

Auch möchte ich den Mitarbeitern des Kinderwunschzentrums für die Kooperation bei der Absprache für den Zugang zum Arbeitsplatz und zu den Akten danken.

Ein großes Dankeschön an alle, die mich beim Korrekturlesen und bei der Formatierung unterstützt haben.

Vielen Dank auch an meinen Freund Jakob Slemeyer, der mich immer wieder aufgebaut und motiviert hat, an meinem Ziel festzuhalten, meine Arbeit zum Abschluss zu bringen.

Ganz besonderer Dank gilt meinen Eltern, Elisabeth und Wolfgang Berndt, ohne die ich mein Studium und die Promotion erst gar nicht hätte durchführen können.

8. Publikationen

1. Griesinger G., Berndt H., Schultz L., Depenbusch M., Schultze-Mosgau A.: *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. (EJOG), Volume 149, Issue 2, 190-194; April 2010
2. Griesinger G., Berndt H., Schultz L., Schultze-Mosgau A., Diedrich K., von Otte S.: *Intensified ovarian stimulation in a GnRH-antagonist protocol with agonist triggering and elective vitrification of all 2-PN oocytes for transfer in a frozen-thawed cycle: a prospective, clinical feasibility study.* Reprod. Biomed. Online, Volume 22, Issue 2, 133-139; Februar 2011

9. Lebenslauf

HENRIETTE MARGARETA BERNDT

Persönliche Angaben

Geburtsdatum 23. September 1982
Geburtsort Pegnitz (Bayern)
Staatsangehörigkeit deutsch



Schulbildung

1988 – 1993 Grundschulen Bayern/ Rheinland-Pfalz
1993 – 2002 Trifels-Gymnasium Annweiler, Rheinland-Pfalz
03/2002 Allgemeine Hochschulreife

Hochschulstudium

10/2002 – 10/2004 Medizinstudium an der Philipps-Universität Marburg
09/2004 Physikum; Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung an der Philipps-Universität Marburg
10/2004 – 05/2009 Medizinstudium an der Universität zu Lübeck
05/2009 Staatsexamen, Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung an der Universität zu Lübeck
WS 2009/10 Promotionssemester

Praktisches Jahr

02-06/2008 Chirurgie, Hue Central Hospital, Vietnam
06-10/2008 Gynäkologie und Geburtshilfe, Sana-Klinik Eutin
10/2008 – 01/2009 Innere Medizin, DRK-Krankenhaus Mölln-Ratzeburg

Facharztausbildung

02/2010 – 01/2012 Assistenzärztin in der Frauenklinik am Universitätsklinikum Lübeck

Lübeck, den 20. März 2012