Aus der DRK-Klinik für Frauenheilkunde
der Medizinischen Fakultät Charité
der Humboldt-Universität zu Berlin

DISSERTATION

Triptorelinazetat 2,1 mg versus Triptorelinazetat 4,12 mg zur ovariellen Suppression im Rahmen der In-vitro-Fertilisation.

Eine prospektive randomisierte Dosisfindungsstudie

Zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät Charité
der Humboldt-Universität zu Berlin

von
Susanne Heinze
aus Berlin

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h. c. R. Felix

Gutachter: **1.** Prof. Dr. med. H. Kentenich

2. Prof. Dr. med. J.W. Dudenhausen

3. Prof. Dr. Dr. med. I. Cascorbi

Promotionsdatum: 13.06.2002

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung 5

1.1 Einführung 5
1.2 Physiologische Grundlagen 8
1.3 GnRH-Agonisten 9
1.3.1 Synthetische GnRH-Agonisten 9
1.3.2 Indikationen zur GnRH-Agonisten-Therapie 11
1.3.3 Unerwünschte Wirkung der GnRH-Agonistentherapie 13
1.3.4 GnRH-Agonisten in der assistierten Reproduktion 15
1.4 In-vitro-Fertilisation 17
1.4.1 Entwicklung der Reproduktionsmedizin 17
1.4.2 Ethische und rechtliche Aspekte der außerkörperlichen Befruchtung 19

2. Material und Methode 21

2.1 Studiendesign 21
2.2 Patientinnen 22
2.3 Ablauf der Behandlung 23
2.3.1 Downregulation/ovarielle Suppression im langen Protokoll 23
2.3.2 Ovarielle Stimulation 24
2.3.3 Ovulationsinduktion 24
2.3.4 Oozytengewinnung 24
2.3.5 Labortechnische Aufbereitung zur IvF 25
2.3.6.a Insemination 25
2.3.6.b ICSI 25
2.3.7 Embryotransfer 26
2.3.8 Unterstützung der Lutealphase 27
2.4 Behandlungsparameter 27
2.4.1 Hormonelle Parameter 27
2.4.2 Fertilitätsparameter 28
2.4.3 Behandlungsabbrüche 28
2.5 Datenauswertung und Statistik 28

3. Ergebnisse 30

3.1 Hormonparameter in der Stimulationsbehandlung 30
3.1.1 Östradiolkonzentrationen 30
3.1.2 LH-Konzentrationen 32
3.1.3 Progesteronkonzentrationen 34
3.2 Therapieabbrüche während der Stimulationsbehandlung 36
3.3 Ergebnisse der Fertilisationsbehandlung 37
3.3.1 Follikelpunktionsraten 37
3.3.2 Oozyten und Fertilisationsraten 37
3.4 Schwangerschaftsraten 38

4. Diskussion 40

4.1 Einführung in die Diskussion 40
4.2 GnRH-Agonisten in der Reproduktionsmedizin 41
4.3 Vergleich von IvF-Zyklen mit und ohne Downregulation 42
4.4 Vergleich unterschiedlicher Dosierungsprotokolle von GnRH-Angonisten während der Stimulation zur In-vitro-Fertilisation 45
4.5 GnRH-Antagonisten im Vergleich zu GnRH-Agonisten 51
4.6 Fazit und Schlussfolgerungen für die Praxis 53

5. Zusammenfassung 55

6. Literatur 57

7. Danksagung 69

1. Einleitung

1.1 Einführung

Weltweit leiden etwa 10% aller Paare unter unerfülltem Kinderwunsch, wobei die Ursache zu 40% rein männlich, zu weiteren 40% weiblich und zu 20% im weiblichen und männlichen Bereich liegen (Hull et al. 1985). Neben konventionellen Formen der Sterilitätstherapie wie der hormonellen Stimulationsbehandlung mit Clomifenzitrat oder humanem Menopausen-Gonadotropin (HMG) und anschließender homologer Insemination, hat sich seit mittlerweile über 20 Jahren die In-vitro-Fertilisation (IvF) etabliert. Dieses Verfahren wurde zunächst als Therapie der ersten Wahl bei tubarer Sterilität indiziert (Steptoe und Edwards 1978).

Seit 1994 ist das Spektrum der assistierten Reproduktionstechniken um die intracytoplasmatische Spermieninjektion (ICSI) zur Therapie bei ausgeprägterer Oligoasthenoteratozoospermie erweitert worden (van Steirteghem et al. 1993).

Während Louise Brown als erstes Baby nach IvF 1978 noch aus einem unstimulierten Zyklus entstand, wurden bald verschiedene hormonelle Stimulationsschemata verwandt, um eine kontrollierte ovarielle Überstimulation und ein Heranwachsen mehrerer Follikel zu erreichen. Hierdurch gelang es, die Anzahl der transferierten Embryonen zu erhöhen und dadurch eine höhere Schwangerschaftsrate zu erreichen (Hull 1990, SART 1993 und 1999, Jones 1996, DIR 1996, 1997 und 1998).
Das Problem der anfänglichen Stimulationsschemata lag jedoch in den häufig vorzeitig auftretenden Ovulationen sowie in der nicht gleichmäßigen Kohorte der herangereiften Follikel (Felberbaum und Diedrich 1996). Aus diesen Gründen wurden Anfang bis Mitte der 80-er Jahre erste Versuche mit Gonadotropin-Releasinghormon-Agonisten (**GnRH-Agonisten**, auch **GnRH-Analoga** genannt) zur ovariellen Suppression durchgeführt (Porter et al. 1984, Fleming et al. 1985). Durch den Einsatz der GnRH-Agonisten konnte der endogene LH-Anstieg vermieden werden und die Ovulation konnte durch HCG-Gabe kontrolliert induziert werden (Baird 1987, Bettendorf 1990).
Die Gabe von GnRH-Agonisten bewirkt eine vorübergehende Suppression der Hypophyse zur Ausschaltung einer Interferenz während der Stimulationstherapie (Karck 1996). Diese so genannte ”Down-Regulation” ab der Lutealphase des der Stimulation vorausgegangenen Zyklus führte im Rahmen der IvF-Behandlung zur weiteren Verbesserung der Schwangerschaftsraten (Neveu 1987, Antoine 1990, Ron-El 1991).
Allerdings geht die GnRH-Agonisten-Behandlung häufig mit unerwünschten Wirkungen einher: Neben einer höheren Inzidenz von Überstimulationssyndromen während der IvF-Behandlung (Bettendorf

1990) kommt es durch die Unterdrückung der normalen Funktion der Achse Hypothalamus-Hypophyse-Gonade zu einer hypoöstrogenen Situation mit entsprechenden Befindlichkeitsstörungen wie Hitzewallungen, Kopfschmerzen, Übelkeit und Schwindel. Zusätzlich nimmt die Libido ab und psychische Verstimmungen belasten die Patientinnen (Felberbaum und Diedrich 1996). Darüber hinaus kommt es durch die direkte Wirkung der GnRH-Agonisten auf das Follikelwachstum und die Eizellen selbst in Abhängigkeit der Dosis zu negativen Auswirkungen auf die IvF-Behandlungsergebnisse mit geringeren Schwangerschaftsraten (Seifert et al. 1998).

Aus diesen Gründen sind verschiedene Untersuchungen zur Dosisfindung der GnRH-Applikation durchgeführt worden (Balasch et al. 1992, Feldberg et al. 1994, Simon et al. 1994, Schoemaker et al. 1995, Tsai et al. 1995, Braeckmans et al. 1996 und Janssens et al. 1998).

In den bisher vorliegenden Studien wurden jedoch überwiegend die Dosen von **täglich** applizierten GnRH-Agonisten untersucht. Das in Deutschland meist verwandte Protokoll, das so genannte lange Protokoll: die einmalige Applikation eines **Depot**-GnRH-Agonisten in der Lutealphase des Vorzyklus (Deutsches IvF-Register 1996, 1997, 1998), wurde bisher in keiner Studie – in einem direkten Dosisvergleich unter Berücksichtigung der Schwangerschaftsraten - untersucht.

Allein Balasch et al. (1992) untersuchten 3,75 mg Buserelinazetat versus 1,87 mg Triptorelinazetat in einer Einmalgabe bezüglich der Downregulation, untersuchten jedoch nicht den Einfluss auf das Ergebnis der in-vitro-Fertilisation sowie die nachfolgenden Schwangerschaftsraten.

In dem Bestreben, die dosisabhängigen ungünstigen Einflüsse auf die IvF-Behandlungsergebnisse zu minimieren und die ebenfalls dosisabhängigen unerwünschten Wirkungen (sog. Nebenwirkungen) von GnRH-Agonisten im langen Protokoll vor in-vitro-Fertilisation zu reduzieren, ergab sich die folgende **Frage: Ist die halbe Dosis eines Depot-GnRH-Agonisten zur ovariellen Suppression vor geplanter in vitro-Befruchtung bei gleich bleibend guten Schwangerschaftsraten ausreichend?**

Hierzu wurde eine **prospektive randomisierte Untersuchung** geplant. 200 Frauen aus dem IvF-Kollektiv (IvF sowie IvF/ICSI) der DRK-Frauenklinik Berlin Charlottenburg wurden in eine Behandlungsgruppe mit 2,1 mg Triptorelinazetat (n=100) und eine Behandlungsgruppe mit 4,12 mg Triptorelinazetat (n=100) zur Downregulation am 22. Zyklustag eingeteilt.

Die Kontrolle der ovariellen Suppression erfolgte mittels Bestimmung der Parameter Östradiol, LH und Progesteron vom 1. Tag der HMG-/FSH-Stimulation bis zum Tage nach der Ovulationsinduktion mit HCG. Der Erfolg der Therapie wurde gemessen anhand der gewonnenen Oozyten, der Fertilisationen, der transferierten Embryonen und der entstandenen Schwangerschaften, jeweils bezogen auf die Anzahl der begonnenen Stimulationen, der durchgeführten Punktionen und Embryotransfere.

Die Auswertung der Daten erfolgte mit dem Computerprogramm SPSS, die statistische Überprüfung auf Signifikanz wurde mitbetreut durch die Abteilung für Dokumentation und Statistik der Universitätsfrauenklinik der Charité, Campus Virchow-Klinikum.
Die bisherige Literatur beschäftigt sich kaum mit der Fragestellung nach der optimal niedrigen Dosis von **Depot**- GnRH-Agonisten, speziell im Rahmen von IvF unter Berücksichtigung der Schwangerschaftsraten, sondern meist mit täglich zu applizierenden Präparaten.

Der Autorin ist keine vergleichbare Untersuchung zum Zwecke der Dosisfindung von **Depot**-GnRH-Agonisten zur ovariellen Suppression im so genannten **langen Protokoll** vor geplanter künstlichen Befruchtung unter Berücksichtigung der **Schwangerschaftsraten** bekannt.

Die zunehmende Bedeutung der in-vitro-Fertilisation mit weltweit steigenden Punktionszahlen einerseits und die ausgeprägten unerwünschten Wirkungen unter der GnRH-Agonisten-Suppressionstherapie mit den dosisabhängigen ungünstigen Auswirkungen auf die IvF-Behandlungsergebnisse andererseits rechtfertigen die Bemühungen um die Suche nach einer **optimal niedrigen Dosis** der **Depot-GnRH-Agonisten** zur ”Down-Regulation”.

1.2 Physiologische Grundlagen

Bereits 1932 wurde von Hohlweg und Jungmann ein der Hypophyse als direkter Stimulator der Ovarien übergeordnetes Sexualzentrum vermutet (Karck 1996). 1952 konnte nachgewiesen werden, dass Stimulationsleistungen des Hypophysenvorderlappens durch Zentren im Hypothalamus reguliert werden. Der Hypothalamus mit den sekretorischen Neuralzellen des Nucleus arcuatus und der Area praeoptica stellt dabei das übergeordnete Organ in dem zyklischen Regelkreis der Frau dar. Hier wird das Gonadotropin-Releasinghormon synthetisiert und in pulsatiler Form sezerniert (Leyendecker et al. 1980, Felberbaum und Diedrich 1996). Die Axone der sekretorischen Neuralzellen stellen einen engen Kontakt zu den Gefäßen der hypothalamisch-hypophysären Pfortadersysteme her. Durch die pulsatile Ausschüttung des GnRH kommt es in der Adenohypophyse zu einer gleichfalls pulsatilen Freisetzung der Gonadotropine: FSH (follikelstimulierendes Hormon) und LH (luteinisierendes Hormon). Es kann als gesichert angenommen werden, dass die FSH- und LH-Ausschüttung aus der Hypophyse nur durch ein Releasinghormon stimuliert wird. Die Spontanaktivität des hypothalamischen Pulsgenerators wird wiederum von einer Reihe von Neurotransmittern, Neuropeptiden, endogenen Opioiden und den Sexualsteroiden gesteuert. Der zeitliche Abstand zwischen zwei Pulsen beträgt beim Menschen in der Regel 70-90 Minuten.

Das GnRH-Molekül ist eine aus 10 Aminosäuren bestehende Eiweißkette (Dekapeptid). Die Isolierung und Charakterisierung gelang 1971 unabhängig durch die zwei Arbeitsgruppen von Mazuo und Burgos. 1977 erhielten Shally und Guillemin für diese Leistung den Nobelpreis zugesprochen. Die Halbwertszeit des zirkulierenden GnRH liegt bei 2-5 Minuten und ist damit ausgesprochen kurz. Es wird durch entsprechende Peptidasen, vor allem an der Position 6, rasch enzymatisch gespalten und inaktiviert. Die Folge ist, dass die freigesetzten GnRH-Pulse tatsächlich als Einzelpulse von der Adenohypophyse registriert und beantwortet werden können. Diese pulsatile Freisetzung von GnRH ist für die physiologische Funktion der Gonadotropin-sezernierenden Hyphophysenvorderlappenzellen unerlässlich. 1987 konnte erstmalig gezeigt werden, dass die kontinuierliche Verabreichung von GnRH zu einem Abfall der FSH-/LH-Sekretion führt (Felberbaum und Diedrich 1996).

Das GnRH-Molekül bindet an spezifischen zellmembranständigen Rezeptoren der gonadotropen Zellen der Adenohypophyse, die etwa 10% ihrer Zellmasse ausmachen. Eine gonadotrope Zelle ist in der Lage, sowohl FSH als auch LH zu sezernieren, allerdings scheint es zyklusabhängige Verschiebungen dieser Funktionen zu geben. Synthese und Freisetzung von FSH und LH unterliegen dabei der Regulation des GnRH. Die Besetzung des GnRH-Rezeptors bewirkt eine calciumabhängige Freisetzung der Gonadotropine, an der zahlreiche weitere ”second messenger” wie Phospholitide, Diazylglyzerol, Proteinkinase C, Inositolphosphate und cAMP beteiligt sind. Nach Bindung des GnRH-Moleküls an

seinen Rezeptor wird der ganze GnRH-Rezeptorkomplex in die gonadotrope Zelle aufgenommen und abgebaut. Diese Internalisierung des GnRH-Rezeptorkomplexes ist zwar für die Freisetzung der Gonadotropine selbst nicht von Nöten, jedoch von größter Bedeutung für die Wirkung der so genannten Superagonisten (Karck 1996).

1.3 GnRH-Agonisten

1.3.1 Synthetische GnRH-Agonisten

Nach der erfolgreichen Charakterisierung des GnRH-Moleküls wurde das Decapeptid strukturell an den Positionen 6 und 10 modifiziert, um eine höhere Rezeptorbindungsaffinität an den gonadotropen Zellen der Adenohypohyse zu schaffen und um einen raschen enzymatischen Abbau zu verhindern.

GnRH-Agonisten haben eine 100- bis 200-fach höhere Affinität zu den GnRH-Rezeptoren als das natürliche Peptid, dadurch kommt es zunächst zu einer vermehrten Ausschüttung von FSH und LH aus den entsprechenden Speichern (sog. ”flare-up”-Effekt). Bei längerfristiger Einwirkung des GnRH-Agonisten kommt es zur Abnahme der Rezeptorendichte. Die Agonistenrezeptorenkomplexe werden in die gonadotrope Zelle aufgenommen (Internalisierung) und lysosomal abgebaut. Die Neusynthese der Rezeptoren ist nicht in der Lage, den Rezeptorverlust rasch genug zu kompensieren. Die Rezeptorendichte an der Zellmembran der gonadotropen Zelle nimmt ab (”Down-Regulation”). Gleichzeitig erfolgt die Hemmung der Postrezeptormechanismen und die Abnahme von FSH- und LH-Synthese. Die Hypophyse wird desensitiviert und refraktär gegenüber dem Stimulus des hyopothalamischen GnRH. FSH- und LH-Konzentrationen im Serum fallen ab, die Follikelreifung arretiert, die ovarielle Sexualsteroidbiosynthese kommt zum Erliegen. Die Folge sind Sexualsteroidkonzentrationen im Serum auf Kastrationsniveau. Das Ergebnis ist ein medikamentös induzierter, zeitlich begrenzter hypogonadotroper Hypogonadismus. Die Downregulation durch eine Depotagonistenbehandlung besteht durchschnittlich für 6 Wochen, erst danach tritt wieder ein hypothalamisch hypophysär gesteuerter Zyklus ein. Diese pharmakologischen Phänomene sind die Basis des therapeutischen Einsatzes von GnRH-Agonisten (Schoemaker et al. 1995, Filicori et al. 1983, 1996).

Unter den Applikationsformen der GnRH-Agonisten muss man die monatliche i.m. oder s.c. Depotform von der täglichen s.c. oder nasalen Form unterscheiden. Die Applikation von GnRH-Agonisten kann bislang nur nasal oder parenteral erfolgen, da Peptide bei oraler Aufnahme im Gastrointestinaltrakt inaktiviert werden. Die derzeit in Deutschland für die Anwendung in der Gynäkologie zugelassenen Präparate sind **Triptorelin-**, **Leuprorelin-**, **Goserelin**azetat als Depotpräparate oder täglich s.c. Applikationen sowie **Buserelin**azetat als Depot oder wie **Nafarelin**azetat als nasale Applikation.

Diese GnRH-Agonisten unterscheiden sich nicht in ihrem sehr spezifischen Wirkprinzip. Bei äquipotenten Dosierungen sind keine Unterschiede zwischen den o.g. Superagonisten zu erwarten, sowohl bezüglich der erwünschten als auch der unerwünschten Wirkungen.

In der klinischen Anwendung besteht jedoch ein bedeutsamer Unterschied bezüglich der **Spiegelstabilität**: diese ist bei den **Depot-Präparaten am größten**, geringfügige Unterschiede der Rezeptoraffinität und Abbaukinetik sind hier ohne Bedeutung. Bei täglicher subkutaner und vor allem bei nasaler Gabe ist zu beachten, dass die Bioverfügbarkeit inter- und intraindividuell deutlichen Schwankungen unterliegen kann. Generell ist die systemische Aufnahme von 100 µg GnRH-Agonisten pro Tag zur Suppression der Gonadenfunktion ausreichend (Karck 1996).

Die übliche Dosis zur Downregulation beträgt 3,75 mg eines Depot-GnRH-Agonisten oder 0,1 mg eines täglich subkutan zu applizierenden Agonisten oder 0,2 mg täglich nasal (entsprechend 2 Sprühstößen). Die Dosierungen der verschiedenen Präparate sind Tabelle 1 zu entnehmen:

Tabelle 1. Die in Deutschland auf dem Markt befindlichen GnRH-Agonisten im Überblick.

Handelsname	**Wirkstoff**	**Firma**	**Form**	**Dosis**
Decapeptyl®	Triptorelin-acetat	Ferring	s.c.	0,1 mg/Tag und 0,5 mg/Tag
Decapeptyl® Gyn Depot	Triptorelin-acetat	Ferring	i.m./s.c.	4,12 mg/Monat
Enantone®-Gyn Depot	Leuprorelin-acetat	Takeda	i.m./s.c.	3,75 mg/Monat
Zoladex®-Gyn Implantat	Goserelin-acetat	Astra Zeneca	s.c.	3,8 mg/Monat
Profact® nasal	Buserelin-acetat	Aventis Pharma	s.c.	6,6 mg/2 Monate 9,9 mg/3 Monate
Profact® nasal	Buserelin-acetat	Aventis Pharma	nasal	0,1 mg/Sprühstoß 2-6 x täglich
Synarela®	Nafarelin-acetat	Heumann	nasal	0,23 mg/Sprühstoß, 2-6 x tägl.

1.3.2 Indikationen zur GnRH-Agonistentherapie

Allgemein ergeben sich aus dem spezifischen Wirkmechanismus der GnRH-Agonisten – der Desensitivierung der Hypophysenzellen gegenüber GnRH – folgende Ansätze für eine therapeutische Nutzung:

- durch Unterdrückung einer normalen Funktion der Achse Hypothalamus-Hypophyse-Gonade für Erkrankungen, die in ihrem Verlauf von einer hypophysären FSH/LH-Produktion oder gonadalen Steroidsynthese abhängig sind ; zum anderen zur Vermeidung einer Interferenz während der Stimulationstherapie.
- durch Unterdrückung einer pathologischen Funktion der hypophysär-gonadalen Achse z. B. beim Syndrom der polyzystischen Ovarien.
- durch Bindung an periphere GnRH- bzw. GnRH-Agonisten-Rezeptoren: zur Intervention durch Entkoppelung von krankhaftem Gewebe mit erhöhten Rezeptorenkonzentrationen.

Die häufigsten Indikationen für die GnRH-Agonistentherapie sind der Tabelle 2 zu entnehmen.

Tabelle 2. Indikationen für GnRH-Agonisten.

.- Medikamentöse und präoperative Therapie der Endometriose
- Präoperative Therapie des Uterus myomatosus vor Myomenukleation oder Hysterektomie
- Medikamentöse Kastration beim östrogenrezeptorpositiven Mammakarzinom
- Zeitlich begrenzte Kastration beim Prostatakarzinom
- Ovarielle Suppression zur ”Downregulation” vor Stimulationstherapie
- GnRH-Analoga in der Therapie der Pubertas praecox

Trotz des in fast allen Fällen unerwünschten ”flare up”-Effektes haben sich die GnRH-Agonisten als Therapeutikum überall dort durchgesetzt, wo eine zeitlich begrenzte medikamentöse Kastration erwünscht ist.

Die ersten Anwendungen von GnRH-Agonisten im therapeutischen Bereich erfolgten zur Therapie des symptomatischen Uterus myomatosus (Filicori et al. 1983). Die Hypophysendesensibilisierung und ovarielle Suppression führte zu einer 50%-igen Reduktion des Uterusvolumens und der Myome. Hierdurch wurde eine Kontrolle der unerwünschten Hypermenorrhöen erreicht. Seitdem wurden viele Studien zur konservativen Therapie des Uterus myomatosus mittels GnRH-Agonisten veröffentlicht (Arimura et al. 1991, Balasch et al. 1995, Matter et al. 1998). Allerdings zeigte sich, dass bei einer Beendigung der GnRH-Agonistentherapie nach 6 Monaten ein schnelles erneutes Wachstum von Uterus und Myomen erfolgte, so dass sich mittlerweile eine präoperative einmalige Downregulation bei Uterus myomatosus vor Myomenukleation etabliert hat (Broekmans 1996).

Auch in der Therapie der Endometriose haben sich die GnRH-Agonisten etabliert. Um die Effizienz der GnRH-Agonisten zu überprüfen, erfolgte ein Vergleich mit dem bisher klassischen Therapeutikum Danazol. In mehreren Studien konnte die Überlegenheit von Triptorelinazetat im Vergleich zu Danazol in der Therapie der Endometriose gezeigt werden (Cirkel 1996). Allerdings haben auch hier prospektiv randomisierte Studien gezeigt, dass die Endometriose durch eine hohe Rezidivrate charakterisiert ist und dass es nach Absetzen der Therapie mit GnRH-Agonisten zu erneuten Rezidiven kommt.

Einen weiteren festen Stellenwert hat die GnRH-Agonistenbehandlung in der Therapie des östrogenrezeptorpositiven Mammakarzinoms. Mehrere Studien konnten zeigen, dass auch eine neoadjuvante Therapie des Mammakarzinoms (GnRH-Agonisten-Therapie bei östrogenrezeptorpositivem Mammakarzinom vor dem chirurgischen Eingriff) erfolgreich war (Gazet et al. 1996). Lunenfeld (1998) weist daraufhin, dass sich bei prämenopausalen Frauen, die an Mammakarzinom mit axillären Lymphknotenmetastasen erkrankt sind, sowohl eine adjuvante Chemotherapie als auch eine Ovarektomie günstig auf die Prognose auswirken. Beim Vergleich der Ovarektomie und der CMF-Chemotherapie als adjuvante Behandlungsmaßnahmen bei Frauen mit Mammakarzinom Stadium II ergab sich kein Unterschied im Hinblick auf die Überlebens- und Rezidivrate. Bei einem hohen Rezeptorgehalt erwies sich die Ovarektomie von Vorteil bei einer niedrigen Chemotherapie (Lunenfeld 1998).

Bereits seit Entdeckung der GnRH-Agonisten erfolgt deren Einsatz in der Therapie des Prostatakarzinoms. In Gegensatz zu der früher durchgeführten chirurgischen Kastration, die eine Fülle von körperlichen und psychologischen Problemen hervorrufen (u. a. kardiovaskuläre Komplikationen), wird durch die GnRH-Agonisten-Gabe eine risikoärmere, zeitlich begrenzte Kastration erreicht. Allerdings ist festzustellen, dass obwohl GnRH-Agonisten eine akzeptable Methode der hormonellen Kastration darstellen, man jedoch nicht erwarten kann, dass die Resultate komplett mit der Orchiektomie vergleichbar sind (Labrie 1993).

1.3.3 Unerwünschte Wirkungen der GnRH-Agonistentherapie

GnRH-Agonisten sind sehr sichere Medikamente ohne Hinweis auf toxische oder teratogene Wirkungen für den Menschen, allergische Reaktionen sind sehr selten (Einzelfälle).

Die meist zwei bis vier Wochen nach Beginn einer GnRH-Agonistentherapie auftretenden unerwünschten Wirkungen (sog. Nebenwirkungen) sind Phänomene des Östrogenentzugs. Diese Befindlichkeitsstörungen sind weitgehend identisch mit den Veränderungen, die von Frauen nach der natürlichen Menopause beschrieben werden. Nur selten wünschen Patientinnen eine vorzeitige Beendigung der Behandlung wegen dieser Symptome, da sie als auf die Dauer der Therapie begrenzte Beeinträchtigung überwiegend gut verkraftet werden. Eine Übersicht ist Tabelle 3 zu entnehmen.

Tabelle 3. Befindlichkeitsstörungen und Häufigkeit der Symptome unter 6-monatiger Leuprorelinazetat-Depot-Gabe (Karck 1996).

Symptom	**%-Zahl betroffener Frauen**
Hitzewallungen	91%
Schlaflosigkeit	55%
Stimmungsschwankungen	45%
Schmierblutungen	42%
Kopfschmerzen	39%
trockene Vagina	37%
Myalgien/Atralgien	25%
vermehrter Haarausfall	18%
Mastodynie	14%
periphere Ödeme	12%
Depressionen	9%
Müdigkeit	8%
Merkschwierigkeiten	6%
Libidoverlust	6%
Akne	4%
Libidozunahme	3%
Appetitverlust	3%

Die Wirkungen - erwünschte sowie unerwünschte - einer längerfristigen GnRH-Agonistenbehandlung sind zum einen bedingt durch die kurzfristig erhöhte Ausschüttung von FSH und LH (”flare-up-Effekt”), zum anderen durch die Langzeit-Downregulation. In 81% aller Fälle kommt es zum Auftreten von Hitzewallungen, in 30% von Kopfschmerzen, in 21% von Übelkeit und Schwindel. Die Libido nimmt ab und psychische Verstimmungen belasten die Patientin (Felberbaum und Diedrich 1996). Zusätzlich besteht die Gefahr der Osteoporose, vor allem bei jüngeren Patientinnen nach Dauertherapie. So schwankt der Verlust der Knochenmasse je nach Literatur zwischen 3,4 und 7,4% nach Durchführung einer sechsmonatigen Dauertherapie mit GnRH-Agonisten. Sechs Monate nach Beendigung der Therapie normalisiert sich die Knochendichte, den Ausgangswerten entsprechend (Karck 1996).
Allerdings scheint es im Falle der Myome und auch der Endometriose eine Östradiolschwellenkonzentration zu geben, die keine Stimulation der sexualsteroidabhängigen Erkrankung bewirkt, wohl aber die Symptome des Östrogenentzuges vermeidet. Die Schwellendosis ist jedoch noch nicht definiert und scheint auch individuell unterschiedlich zu sein. Aus diesen Überlegungen heraus wurde eine ”add-back-Therapie” entwickelt. Maheux und Mitarbeiter gaben bereits 1991 ihren Patientinnen nach dreimonatiger Goserelintherapie täglich 0,3 mg konjugierte Östrogene von Tag 1 bis 25 und hielten dadurch die Östradiolkonzentrationen im Bereich von ca. 25 pg/ml. Unter fortgesetzter Goserelintherapie kam es dabei zu keinem erneuten Wachstum der Myome, wohl aber zu einer deutlichen Besserung der subjektiven Symptome (Maheux et al. 1991).
Von entscheidender Bedeutung ist, dass die hemmende Wirkung der GnRH-Agonisten stets erst nach einem stimulierenden Intervall einsetzt. Dieser sog. ”flare-up” führt innerhalb von 12 Stunden zu einem ca. 5-fachen Anstieg der FSH-Konzentrationen im Serum und zu einem fast 10-fachen Anstieg der LH-Konzentrationen. Parallel dazu kommt es zu einem kurzzeitigen Anstieg der Östradiolkonzentrationen um das 4-fache (Felberbaum und Diedrich 1996). Danach fallen die Werte kontinuierlich ab, im Falle des FSH schneller als im Falle des LH. Dieser negative Einfluss des ”flare-up” ist nicht zu vernachlässigen, da es beispielsweise beim Prostatakarzinom bei bestehenden Knochenmetastasen zum sog. ”flare-Syndrom” mit Zunahme der subjektiven Schmerz- und Beschwerdesymptomatik kommt. Daher wird in der Therapie des Prostatakarzinoms der GnRH-Agonist mit einem Androgen-Antagonisten, dem Cyproteronazetat, kombiniert. Ähnliche Beobachtungen konnten bisher bei den gynäkologischen Indikationen nicht gemacht werden. Jedoch kann eine negativ stimulierende Beeinflussung, z. B. eines hormonrezeptorpositven Mammakarzinoms, nicht ausgeschlossen werden.

1.3.4 GnRH-Agonisten in der assistierten Reproduktion

Leyendecker et al. (1980) konnten die pulsatile Förderung der Synthese und Sekretion von LH und FSH durch Gonadotropinreleasinghormone mittels einer GnRH-Pumpe zeigen. Die hypothalamische Amenorrhöe ist gekennzeichnet durch eine verminderte oder gar fehlende, GnRH vermittelte Stimulation der gonadotropen Partialfunktion der ansonsten intakten Hypophyse. Die pulsatile Applikation mittels Pumpe kann subkutan oder intravenös erfolgen. Bei adäquater Applikation sind eine Ovulationsrate von nahezu 100% und außerordentlich hohe Schwangerschaftsraten von 70-80% zu erreichen. Voraussetzungen für eine pulsatile GnRH-Therapie sind eine intakte Hypophyse, der aktuelle Schwangerschaftswunsch der Patientin sowie eine hypothalamische Amenorrhöe ohne sonstige Ursache (Existenz stimulierbarer Follikel) (Leyendecker et al. 1980).

Im Gegensatz zur pulsatilen Applikation, die die Freisetzung und Synthese der hypophysären Gonadotropine stimuliert, ist bei der kontinuierlichen Verabreichung von GnRH-Agonisten vor der in-vitro-Fertilisation eine Downregulation erwünscht. Die Hauptindikation zur Anwendung der GnRH-Agonisten im IvF-Programm ist die Vermeidung des vorzeitigen LH-Gipfels mit Luteinisierung während der Gonadotropinstimulationsbehandlung. Der vorzeitige Anstieg der LH-Konzentration im Serum (”premature LH peak”) mit nachfolgend vorzeitiger Luteinisierung des Follikels war verantwortlich für eine relativ niedrige Effizienz der ovariellen Stimulation im ”Vor-GnRH-Zeitalter”. Gleichzeitig hatte dieser vorzeitige LH-peak einen negativen Einfluss auf die Oozyten und Embryonenqualität sowie infolgedessen auf die Schwangerschaftsrate (Felberbaum und Diedrich 1996). Durch Einführung der Agonistenvorbehandlung konnten diese Schwierigkeiten und Nachteile weitestgehend behoben und die Rate aus diesem Grunde abzubrechender Stimulationszyklen bis auf unter 2% gesenkt werden (Filicori et al. 1996). Der Einsatz der GnRH-Agonisten im Rahmen der ovariellen Stimulation markierte den Beginn des sog. modernen Managements im Rahmen der assistierten Reproduktion. Die Ovulationsinduktion wurde planbar. Somit ist ein Teil des auch psychischen Druckes sowohl von den Patientinnen als auch von den behandelnden Ärzten genommen worden. Mittlerweile hat sich die Stimulationsbehandlung mit vorangehender Downregulation als Therapie der ersten Wahl durchgesetzt (Deutsches IvF Register 1996, 1997 und 1998).
Im Wesentlichen gibt es drei Stimulationsschemata zur Nutzung der Effekte der GnRH-Agonisten. Das am meisten angewandte Protokoll ist das Langzeitprotokoll, während die anderen beiden (Kurz- und Ultrakurzprotokolle) mittlerweile nur bei selteneren Indikationen eingesetzt werden.

1) Beim **Langzeitprotokoll** beginnt die GnRH-Agonistengabe in der Regel in der Mitte der Lutealphase des Vorzyklus (ca. 22. Zyklustag). Die Applikation kann durch einmalige Depotgabe erfol-

gen oder mittels subkutaner bzw. nasaler Applikation täglich. Es dauert mindestens 10 bis 14 Tage, bis die entsprechende Suppression der Gonadotropinfunktion erreicht wird. Nach 14 Tagen erfolgt für gewöhnlich die Stimulation mit Gonadotropinen (FSH oder HMG). Die GnRH-Agonistengabe wird bei täglicher Applikation bis zur Ovulationsinduktion beibehalten. Durch diese Downregulation ist ein vorzeitiger LH-peak zuverlässig auszuschließen. Die Absetzrate der Stimulationsbehandlungen ist auf unter 2% gesunken (Abdalla et al. 1989, 1990).

2) Die Verwendung des **Kurzprotokolls** nützt den am Anfang der Behandlung auftretenden Stimulationseffekt (”flare-up-Effekt”) des GnRH-Agonisten aus. Dieser Effekt dauert 1 bis 2 Tage lang an und kann dadurch für die Follikelrekrutierung von Nutzen sein. Der GnRH-Agonist wird ab dem 1. bis 3. Zyklustag bis zum Tag der Ovulationsinduktion in niedriger Dosierung, z. B. 2x 400 µg Nafarelin/Tag intranasal, appliziert (Felberbaum und Diedrich 1996).

3) Beim **Ultrakurzprotokoll** erhält die Patientin nur während der ersten 3 Zyklustage einen GnRH-Agonisten (nasal oder subkutan). Die Gonadotropine werden vom 2. oder 3. Zyklustag an gegeben. Wie im Kurzzeitprotokoll wird hierbei der ”flare-up-Effekt” ausgenutzt (FIVNAT 1993, SART 1993 und 1999, DIR 1996, 1997 und 1998).

Die Vorteile der beiden kurzen Protokolle im Vergleich zum langen Protokoll liegen in der kürzeren Behandlungsdauer, im niedrigeren Verbrauch von Stimulationsmedikamenten und einer niedrigeren Inzidenz von Überstimulationssyndromen.

Von Nachteil ist die erhöhte LH-Konzentration in der frühen Follikelphase auf Grund der endogenen verstärkten Gonadotropinfreisetzung mit potenziell negativen Auswirkungen auf die Follikelreifung und -qualität. Die Anzahl gewonnener Eizellen, die Embryotransfer- und Schwangerschaftsraten sind geringer im Vergleich zum langen Protokoll (Felberbaum und Dietrich 1996).

Im langen Protokoll überwiegen die Vorteile gegenüber den Nachteilen. Deshalb hat sich das lange Protokoll weltweit überwiegend durchgesetzt. Es strebt die Desensitivierung der Hypophyse vor Beginn der HMG-Stimulation an. Der Vorteil des Medikationsbeginns in der mittleren Lutealphase liegt in dem Zusammenfall des ”flare-up” mit dem physiologischen Gonadotropinanstieg zu diesem Zeitpunkt. Als Nachteil muss die Möglichkeit bezeichnet werden, in eine extrem frühe bereits bestehende Gravidität hinein zu therapieren. Teratogene Effekte der GnRH-Agonistenpräparate konnten jedoch nicht festgestellt werden (Siller-Khodr 1989). 14 Tage nach Beginn der GnRH-Agonistenmedikation kann von einer weitgehenden Entkoppelung der hypothalamo-hypophysär-ovariellen Achse ausgegangen werden. Bei LH-Werten unter 10 IU/l und Östradiolwerten unter 50 pg/ml kann die HMG-Stimulation beginnen. Vorher erfolgt eine Basisvaginalsonografie zum Ausschluss funktioneller Ovarialzysten. Solche Zysten treten beim langen Protokoll in ca. 13 - 25% der Stimulationszyklen auf. Dabei handelt sich in den meisten Fällen um Follikelzysten, bewirkt durch den ”flare-up-Effekt”.

Auf Grund der später einsetzenden hypophysären Blockade ovulieren diese Follikel jedoch nicht und verharren im Zustand der funktionellen Zyste (Felberbaum und Dietrich 1996).
Die Stimulationsbehandlung beginnt mit zwei bis drei Ampullen HMG (humanes Menopausengonadotropin) oder FSH täglich bis zur Ovulationsinduktion. Der Zeitpunkt der Punktion kann den äußeren zeitlichen Gegebenheiten angepasst werden. Muss die Ovulationsinduktion auf Grund besonderer Konstellationen um 24 oder auch 48 Stunden verschoben werden, kann dies vertreten werden. Durch das beschriebene lange Protokoll wird eine Synchronisation der Follikelreifung erreicht. Dies wiederum ermöglicht die Rekrutierung einer größeren Anzahl von Follikeln. Nach vaginaler Punktion stehen dann mehrere Eizellen für die IvF zur Verfügung. Im Einzelfall führt dies allerdings auch zu nicht akzeptablen, exzessiven ovariellen Überstimulationen. Über 40 Eizellen im Rahmen einer Punktion können auftreten. Es sollte jedoch das Ziel sein, durch eine kontrollierte ovarielle Stimulation eine ausreichende Anzahl optimal gereifter Eizellen zu gewinnen. Damit wäre den Erfordernissen des Deutschen Embryonenschutzgesetzes, das einen Transfer von maximal 3 Embryonen erlaubt, Rechnung getragen.
Smitz et al. beschrieben 1987 erstmalig die Insuffizienz der Lutealphase als Folge der vorangegangenen hypophysären Downregulation durch GnRH-Agonisten. 8 Tage nach der die Ovulation induzierenden HCG-Gabe kommt es zu einem massiven Abfall der Konzentration sowohl von Progesteron als auch von Östradiol. Die GnRH-Agonisten dringen dabei in die reifenden Follikel ein und binden an GnRH-Rezeptoren der Granulosazellen. Die Substitution in der Lutealphase erfolgt durch HCG oder mikronisiertes Progesteron.

1.4 In-vitro-Fertilisation

1.4.1 Entwicklung der Reproduktionsmedizin

Während ägyptische und griechische Ärzte noch glaubten, dass der Samen im Hirn des Mannes entstehe (aus dem Kopf gebar Zeus seine Lieblingstochter Athene) und für Aristoteles z. B. das männliche Erbe nur aus dem Samen kam, vertraten die Antonisten bereits im 5. Jahrhundert v. u. Z. die Auffassung, Mann und Frau seien im gleichen Maße an der Fortpflanzung beteiligt. Die abendländische Vorstellung wurde über das Mittelalter bis hinein in die Neuzeit stark von der Vererbungslehre des Aristoteles beeinflusst.
Noch im 16. Jahrhundert wurde der Einfluss der Magie auf das Fruchtbarkeitsgeschehen betont. Sterilität entstehe entweder direkt durch Geister oder diese bedienten sich der Hilfe von Hexen und Hexenmeistern. 1672 erfolgte die erste wissenschaftlich fundierte Arbeit der modernen Reproduktions-

medizin. Regnier de Graaf entdeckte den Follikel in den Eierstöcken von Kaninchen, Schafen und Menschen. Bereits fünf Jahre später erfolgte die Entdeckung von Spermien (beschrieben als Dikkens-Tierchen) im männlichen Ejakulat von Tier und Mensch durch Leuvenhoeck und Hamm 1677. 1827 entdeckte von Baer das Säugetierei, 1850 Leydig die nach ihm benannten Zwischenzellen und im gleichen Jahr Sertoli die seinen Namen tragenden vegetativen Hodenzellen.

1865 beobachtete Hertwig die Verschmelzung von Ei- und Samenzellen an durchsichtigen Seeigeleiern. 1878 gelang dem Österreicher Schenk die erste extrakorporale Befruchtung von Kaninchen- und Meerschweinchenoozyten auf Gebärmutterschleimhaut. Die erste erfolgreiche Leihmutterschaft erfolgte 1890: Heape übertrug Embryonen eines Angorakaninchens in ein Kaninchen der Rasse Belgischer Riese. Zwei Angorakaninchen wurden ausgetragen. Es dauerte jedoch noch bis 1944, bis die Amerikaner Rock und Menking erstmalig menschliche Oozyten im Reagenzglas befruchteten. Erst 1959 gelang die erste IvF eines Säugetiers beim Kaninchen, bei der lebende Junge hervorgingen.

Wie sich zeigt, ging die Entwicklung der IvF zunächst mit der Veterinärmedizin einher. 1970 gelang Steptoe und Edwards die erste laparoskopische Entnahme menschlicher präovulatorischer Eizellen und bereits 1973 berichtete Lopata von einer ersten Schwangerschaft (Jones et al. 1995). Vier Jahre später berichteten Steptoe und Edwards von der ersten erfolgreichen Schwangerschaft nach in-vitro-Fertilisation: Geburt von Louise Brown (Steptoe und Edwards 1978). Die Entwicklung in Deutschland erfolgte verzögert mit der Geburt des ersten Kindes 1982 in Erlangen (Kentenich 1987). Die Anzahl der Zentren, die die in-vitro-Fertilisation in Deutschland durchführen, hat von 1982 (5 Zentren) bis 1998 (86 Zentren) kontinuierlich zugenommen (Deutsches IvF-Register 1998).

Die Anzahl der Follikelpunktionen pro Jahr hat ebenfalls seit 1982 kontinuierlich zugenommen, von 742 Versuchen im Jahre 1982 nahm die Zahl kontinuierlich auf 32.116 Zyklen (12.150 IvF-Zyklen und 19.966 IvF/ICSI-Zyklen) im Jahre 1998 zu (Zahlen aus prospektiv registrierten Behandlungen im DIR).

1998 wurden in Deutschland zur Stimulation bei der assistierten Fertilisation in über 90% der Fälle GnRH-Agonisten eingesetzt und dabei in 79% im langen Protokoll. 14% der Zyklen erfolgten nach einem kurzen GnRH-Protokoll, 5% aller IvF-Zyklen erfolgten ohne GnRH-Agonisten und 1,4% mit GnRH-Antagonisten (Deutsches IvF-Register 1998). Die Schwangerschaftsraten lagen bei der in-vitro-Fertilisation bei 20,6% pro Punktion, 22,6% pro Transfer, bei der intracytoplasmatischen Spermieninjektion (ICSI) bei 22,7 % pro Punktion und 23,5% pro Transfer. Weltweit sind 1991 82.299 Punktionen durchgeführt worden, 1991 wurden 11.094 Kinder geboren (Diedrich et al. 1996).

Seit 1994 kam es zu einer deutlichen Erweiterung des Indikationsbereiches durch die Einführung der intracytoplasmatischen Spermieninjektion (van Steirteghem et al. 1993). Die ICSI-Methode, bei der ein einzelnes Spermatozoon in die Oozyte injiziert wird, ist die Behandlungsmethode der Wahl bei

männlich bedingter Sterilität, in Ergänzung zur konventionellen in-vitro-Fertilisation ohne Mikromanipulation. Die Zahl der durchgeführten Follikelpunktionen stieg daraufhin erneut exponentiell an. 1998 wurden 16.763 IvF-Zyklen und 23.578 IvF/ICSI-Zyklen in Deutschland durchgeführt (Deutsches IvF-Register 1998).

1.4.2 Ethische und rechtliche Aspekte der außerkörperlichen Befruchtung

In den letzten 20 Jahren haben auf dem Gebiet der assistierten Reproduktion entscheidende innovative Entwicklungen stattgefunden. Mit der Geburt des ersten Kindes nach erfolgreicher in-vitro-Fertilisation und anschließendem Embryotransfer im Jahre 1978 begann eine neue Ära der Reproduktionsmedizin.

Die Einführung der Techniken der Mikromanipulation, insbesondere der intracytoplasmatischen Spermieninjektion (ICSI), hat den Indikationsbereich für den Einsatz der Techniken zur assistierten Reproduktion bei männlich bedingter Sterilität erweitert.

Diese technische Verfügbarkeit menschlicher Fortpflanzung hat zu deutlichen Kontroversen und Spannungen in der Gesellschaft geführt. Die angebotenen Hilfen müssen deshalb immer von den Verantwortlichen vor dem Paar sowie vor der Gesellschaft sittlich verantwortet werden.

Aus diesen Gründen hat die Kinderwunschsprechstunde der ehemaligen FU-Frauenklinik sich bereits 1982 zu ethischen Rahmenbedingungen bekannt, die unter dem Namen **”Berliner Modell”** bekannt wurden.

Dies heißt im Einzelnen:

- extrakorporale Befruchtung innerhalb der Familienstruktur, keine Ei- oder Samenspende, keine Leihmutterschaft
- keine verändernden Manipulationen an Embryonen, keine verbrauchende Forschung
- maßvolle Stimulation, kein Einfrieren von Embryonen, nach Möglichkeit alle Embryonen zurück zur Mutter
- strenge Indikation, insbesondere keine IvF bei psychosomatischen Kontraindikationen (Kentenich 1989)

Diese Richtlinien stellten eine Selbstbeschränkung im Umgang mit der Methode der in-vitro-Fertilisation dar, weil zum damaligen Zeitpunkt keine ethischen oder rechtlichen Richtlinien von standesärztlicher oder staatlicher Seite bestanden. Bestandteile dieser Selbstregelung finden sich im Embryonenschutzgesetz von 1990 wieder.

Das **Deutsche Embryonenschutzgesetz** verbietet:

- die missbräuchliche Anwendung von Fortpflanzungstechniken
- die missbräuchliche Verwendung menschlicher Embryonen
- die eigenmächtige Befruchtung, eigenmächtige Embryoübertragung, künstliche Befruchtung nach dem Tode
- die künstliche Veränderung menschlicher Keimbahnzellen
- das Klonen
- die Chimären- und Hybridbildung
- den Transfer von mehr als drei Embryonen (Embryonenschutzgesetz 1990)

2. Material und Methode

2.1 Studiendesign

Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich um eine prospektive und randomisierte Studie.
Dabei wurden 200 IvF- und IvF/ICSI-Behandlungszyklen der Jahre 1997 und 1998 ausgewertet.
Es wurden 200 Patientinnen aus der Kinderwunschsprechstunde der DRK-Frauenklinik randomisiert, die im Rahmen des üblichen Prozedere (siehe Kapitel 2.3) vor geplanter künstlicher Befruchtung im sog. langen Protokoll downreguliert wurden: 100 Patientinnen erhielten 4,12 mg Triptorelinazetat entsprechend der Standarddosis (**1 Ampulle** Decapeptyl® Gyn, i.m., im Folgenden **Gruppe B** genannt), weitere 100 Patientinnen erhielten die halbierte Dosis, also 2,1 mg Triptorelinazetat (**1/2 Ampulle** Decapeptyl® Gyn, i.m., **Gruppe A** genannt), jeweils zur Downregulation.

Bei dem verwendeten **GnRH-Agonisten** handelt es sich um das **Depot-Präparat Decapeptyl® Gyn** der Firma Ferring Arzneimittel, welches jeweils einmalig intramuskulär appliziert wurde: **am 22. Zyklustag (mittlere Lutealphase)** des der Stimulations- und IvF-Behandlung vorausgegangenen Zyklus.
Mögliche **Komedikationen** waren L-Thyroxin, Bromocriptin, Prednisolon, um die jeweilige Patientin bei entsprechender Indikation in einen hormonell normalen Zustand zu versetzen. Da es sich in dieser Studie um normogonadotrope Patientinnen handelt, haben die o.g. Komedikationen nach aktuellem Wissensstand keinen Einfluss auf die Studienergebnisse.

Einschlusskriterien:
Zwischen 18- und 38-jährige regelmäßig menstruierende, sekundär oder primär sterile Patientinnen mit einem ovulatorischen Zyklus, bei denen eine IvF- oder IvF/ICSI-Therapie geplant war.

Ausschlusskriterien:
Nicht eingeschlossen wurden Patientinnen, die eine GnRH-Analoga-Medikation in den vergangenen 8 Wochen erhalten hatten; des Weiteren bei anamnestischem Hinweis auf oder Nachweis von ”low-responder”.

Die Ethikkommission wurde nicht angerufen, da die angewendeten Medikationen zu den Indikationen zugelassen sind und vor Beginn der Behandlung ein "informed consent" hergestellt wurde.

2.2 Patientinnen

Zusammensetzung der Gruppen:

In **Gruppe A** erhielten n = 100 Patientinnen 2,1 mg Triptorelinazetat (=halbierte Standarddosis),in **Gruppe B** erhielten n = 100 Patientinnen 4,12 mg Triptorelinazetat (=Standarddosis), jeweils zur Downregulation im sog. langen Protokoll.

Die **Altersverteilung** war in beiden Studienarmen gleich:

In der Gruppe der Patientinnen, die 2,1 mg Triptorelinazetat erhielten (**Gruppe A**) betrug das Alter 22-38 Jahre, im Median 32 Jahre. In der Gruppe der Patientinnen, die 4,12 mg Triptorelinazetat erhielten (**Gruppe B**) lag das Alter bei 20-38 Jahren, im Median bei 32 Jahren.

Die Verteilung bezüglich der **Sterilitätsursachen** sah folgendermaßen aus:

In **Gruppe A** lag bei 21% der Patientinnen eine tubare Ursache der Sterilität zu Grunde. Eine männlich bedingte Sterilität lag bei 63% der Patientinnen vor. Gemischte Sterilität mit männlicher und tubarer Indikation bestand in 16% der Fälle.

In der **Gruppe B** waren 25% der Patientinnen von tubarer Sterilität betroffen, 60% von männlich bedingter Sterilität. In 15% der Fälle lag eine gemischte Sterilitätsursache vor.

Die relative Verteilung der Sterilitätsursachen ist anteilig in beiden Studienarmen ohne signifikanten Unterschied, sodass auch diesbezüglich statistisch eine Vergleichbarkeit gegeben ist.

Den Indikationen entsprechend wurden **IvF– bzw. IvF/ICSI-Behandlungen** durchgeführt:

In **Gruppe A** wurde bei 92 von 100 Patientinnen die Follikelpunktion durchgeführt; IvF wurde 22 mal (24 %) und IvF/ICSI 70 mal (76%) durchgeführt (bei 8 Patientinnen erfolgte keine Punktion).

In **Gruppe B** wurden 97 der 100 Patientinnen punktiert; hier wurde IvF 29 mal (30%) und IvF/ICSI 68 mal (70%) durchgeführt (3 Patientinnen wurden nicht punktiert).

Beide Gruppen sind auch bezüglich der durchgeführten Methode der assistierten Reproduktion in ihrer Zusammensetzung ohne signifikanten Unterschied.

Von den erhobenen Patientinnen waren in **Gruppe A** 69% Patientinnen primär, 31% sekundär steril. In **Gruppe B** lag eine primäre Sterilität bei 54% der Patientinnen und eine sekundäre Sterilität bei 46% der Patientinnen vor. Diese Unterschiede sind statistisch signifikant (p = 0,042); es wurde jedoch bei der Randomisierung auf die Unterscheidung von primärer und sekundärer Sterilität verzichtet, da dies ohne Einfluss auf die Ergebnisse bezüglich der Fragestellung dieser Studie (ovarielle Antwort auf Downregulation mit halbierter Dosis und Schwangerschaftsraten pro Embryotransfer) ist, denn bei

dem Studienkollektiv handelt es sich in beiden Studienarmen um normovulatorische Sterilitätspatientinnen mit annähernd gleicher Gruppenzusammensetzung bezüglich der Sterilitätsfaktoren .

Insgesamt besteht eine **statistische Vergleichbarkeit der beiden Studienarme** bei annähernd gleicher Verteilung bezüglich der Kriterien, die zur Beantwortung der Fragestellung der vorliegenden Studie relevant sind.

2.3 Ablauf der Behandlung

Das Prozedere der im Rahmen der Studie durchgeführten Behandlungen entspricht den Behandlungsstandards, wie sie in der Kinderwunschsprechstunde des Hauses etabliert sind und im Folgenden ausgeführt werden(Kentenich 1989, Kentenich et al. 1996).

In-vitro-Fertilisation werden an der DRK-Frauenklinik, Westend (vormals Pulsstraße, Frauenklinik der FU-Berlin) seit 1984 durchgeführt. 1998 erfolgten 949 IvF- Zyklen, davon 69,5% IvF/ICSI-Zyklen, in der Regel im so genannten langen Protokoll.

Indikationen für die in-vitro-Fertilisation sind

- irreparabel geschädigte oder fehlende Eileiter,
- schwere Endometriose,

als **Indikationen für die intracytoplasmatische Spermieninjektion** (IvF/ICSI) gilt

- die männlich bedingte Sterilität (Oligoasthenoteratozoospermie III°, OAT-Syndrom),
- die fehlende Fertilisation nach vorangegangener IvF-Therapie.

Vor Beginn der Therapie erfolgen eine ausführliche Anamnese, die Bestimmung der hormonellen Basisparameter, die Abklärung der tubaren Situation, ein HIV-Test beider Partner, eine Hepatitis-Serologie sowie ein zweimaliges Spermiogramm.

2.3.1 Downregulation/ovarielle Suppression im langen Protokoll

Die Behandlung beginnt mit der Applikation des Depot-GnRH-Agonisten Triptorelinazetat (Standarddosis: 4,12 mg Triptorelinazetat, siehe auch Kapitel 2.1). Diese Downregulation erfolgt am 22. Zyklustag des Vorzyklus.

Die **Überprüfung der ovariellen Suppression** erfolgt durch Bestimmung der Hormonspiegel von **Östradiol, LH und Progesteron,** 14 Tage nach Downregulation bzw. bei entsprechenden klinischen Symptomen.

Eine ovarielle Suppression wird definiert mit Östradiolwerten unter 50 pg/ml, LH unter 4 U/l und Progesteron unter 2 ng/ml. In diesem Falle beginnt die Stimulationsbehandlung.

2.3.2 Ovarielle Stimulation

Etwa 14 Tage nach Gabe des Depot-GnRH-Agonisten ist die ovarielle Suppression erfolgt. Nun beginnt die ovarielle Stimulationsbehandlung mit Gonadotropinen. Diese hat zum Ziel, unter kontrollierter Kodominanz mehrere Follikel (8-10) zur präovulatorischen Reife zu bringen. Die übliche Anfangsdosierung sind 3 Ampullen (225 IE) FSH oder HMG (humanes Menopausengonadotropin) täglich (Wildt et al. 1986). Die Stimulation wird individuell unter hormoneller und vaginalsonografischer Kontrolle mit täglich 2-3 Ampullen HMG fortgesetzt, bis zu einer Follikelgröße von durchschnittlich 20 mm Durchmesser und einem Östradiolwert von 200 pg/ml/reifem Follikel (Casper et al. 1987, Neulen 1997). Dies sind die Voraussetzungen zur Ovulationsinduktion mittels HCG.

Zum **hormonellen Zyklusmonitoring** werden die Östradiol-, LH- und Progesteronbestimmungen am Tag 1 und am Tag 7 der Stimulationsbehandlung, 2 Tage vor HCG-Gabe, 1 Tag vor HCG-Gabe, am Tag der HCG-Gabe morgens um 8.00 Uhr und abends um 22.00 Uhr und am Tage nach der HCG-Gabe durchgeführt.

2.3.3 Ovulationsinduktion

Sind die oben genannten Kriterien der präovulatorischen Follikelreife erfüllt, erfolgt am Abend des Kontrolltages um 22.00 Uhr in Absprache mit der Patientin bzw. dem Paar die Injektion von 10.000 IE Chorion Gonadotropin (HCG) intramusculär oder subcutan.

2.3.4 Oozytengewinnung

36 Stunden nach HCG-Gabe erfolgt die Follikelpunktion zur Oozytengewinnung transvaginal unter sonografischer Kontrolle (Michelmann et al. 1987, Gembruch et al. 1988). Die Patientin erhält dazu wahlweise entweder eine leichte Sedierung oder eine Allgemeinnarkose. Der Eingriff erfolgt unter Monitoring der Vitalparameter durch das anästhesiologische Team. Zur Vorbereitung wird die Scheide mit Alkohol und Kochsalzlösung gespült. Auf dem zuvor desinfizierten Vaginalschallkopf (7,5 MHz) ist eine Führungshülse arretiert, durch die die 2-lumige Punktionskanüle in einer vorausberechneten Linie im Ultraschallbild bewegt wird. Die Follikel eines Ovars werden möglichst mit einmaligem Durchstechen der Vaginalwand nacheinander punktiert und mittels steuerbarem Unterdruck (ca. 100-140 mmHg) abgesaugt. Die in einer so genannten Eifalle (Reagenzglas) aufgefangene Follikelflüssigkeit wird direkt im Operationssaal durch den Biologen unter sterilen Kautelen mit Hilfe eines Stereomikroskops beurteilt. Bei Punktaten ohne auffindbare Eizelle erfolgt die Spülung des Follikels (Lehmann et al. 1984). Es werden alle Follikel punktiert, da auch kleinere Follikel reife Eizellen enthalten können (Kentenich et al. 1988).

Nach Beendigung des Eingriffs erfolgt für ca. 4 Stunden eine Beobachtung der ruhenden Patientin unter regelmäßiger Kontrolle der Kreislaufparameter, bei Wohlbefinden anschließend die Entlassung nach Hause. Nur in Einzelfällen ist die laparoskopische Punktion der Follikel notwendig, z.B. wenn die Ovarien transvaginal nicht zu punktieren sind.
Parallel zur Follikelpunktion werden nach Masturbation aus dem Ejakulat des Partners die Spermatozoen gewonnen, im Falle der Azoospermie durch eine testikuläre Spermienextraktion mittels Hodenbiopsie.

2.3.5 Labortechnische Aufbereitung zur IvF

Aus der Follikelflüssigkeit werden die präovulatorischen Eizellen mit einer Glaspipette durch geringen Sog in das Nährmedium (Ham's F 10 Medium, versetzt mit 10% Patientinnenserum) überführt, wo in tubenähnlichem Milieu je nach Reife der Eizellen eine unterschiedlich lange Präinkubation (ca. 2-6 Stunden) bei 37° Celsius im CO_2-Inkubator erfolgt. Die reife Eizelle trägt ein Polkörperchen als Zeichen der abgeschlossenen ersten Reifeteilung, das Zytoplasma ist homogen und farblos.
Parallel dazu erfolgt die Spermaaufbereitung, wodurch die Spermatozoen in vitro den zur Erlangung der Befruchtungsfähigkeit notwendigen Reifungsprozess (Kapazitation und akrosomale Reaktion) durchmachen (Diedrich et al. 1996): Nach Verflüssigung des Ejakulats werden die Spermien zweimal mit jeweils 2 ml Kulturmedium (Ham's F 10 Medium und 10% Serum) gewaschen und für 10 Minuten mit 200 g zentrifugiert. Die vom Prostatasekret befreiten beweglichen Samenzellen werden mit Hilfe der Swim Up, Fall-Down and Glaswoll-Filtrationstechnik (van der Ven 1987) konzentriert.

2.3.6.a Insemination

Es werden pro reife Eizelle 200.000 bis 300.000 motile Spermien in das Medium gegeben, nach dem Oozyten und Sperma, wie zuvor beschrieben, aufbereitet wurden.

2.3.6.b ICSI

Alternativ wird bei männlich bedingter Sterilität die intracytoplasmatische Spermieninjektion (ICSI) durchgeführt. ICSI ist eine Zusatzmaßnahme im Rahmen der IvF: durch eine assistierte Fertilisation mittels Mikroinjektion eines Spermiums in die Eizelle wird der natürliche Vorgang der Imprägnation (Vereinigung von Ei- und Samenzelle) nachgeahmt.
Dazu wird die Eizelle von den umgebenden Granulosazellen befreit: 2 Stunden nach Punktion werden die Eizellen für 2-5 Minuten einer Hyaluronidaselösung (enthält 60 U/ml aktives Enzym, gelöst in Ham's F 10 Medium) ausgesetzt. Die nach der Digestion verbliebenen Granulosazellschichten werden mit dünnen Glaskapillaren (150 µm Innendurchmesser) abgetrennt, bis das Polkörperchen der Eizelle

klar zu erkennen ist. Anschließend werden die Eizellen mehrfach in Ham's F 10 Medium mit 10% Patientinnenserum gewaschen und 2 Stunden inkubiert.
Die Spermien werden durch das Swim Up-Verfahren in Ham's F 10 Medium mit 1% Humanalbumin aufbereitet. Ist die Anzahl motiler Spermien zu gering, wird das Zentrifugatpellet mehrfach gewaschen. Nach der Spermienreinigung wird der Überstand mit den motilen Spermien im Verhältnis 1:2 mit einer 10% Polyvinylpyrolidonlösung vermischt, um die Motilität der Spermien zu bremsen. Zur Vorbereitung der Injektion werden Petrischalen mit zuvor über 24 Stunden äquilibriertem Mineralöl gefüllt. Im Zentrum werden 2 Tropfen von je 10 µl Ham's F 10 Medium mit 10% Patientinnenserum und 10 µl der Spermienaufbereitung eingebracht.
Zur Spermieninjektion wird die Eizelle an einer Haltepipette so arretiert, dass das Polkörperchen entweder bei 12.00 Uhr oder bei 6.00 Uhr sichtbar ist. Somit wird bei der Injektion der intrazelluläre Spindelapparat mit den daran fixierten Chromosomen in unmittelbarer Nähe des Polkörperchens nicht verletzt. In die Injektionspipette (ca. 5 µm Durchmesser, mit angeschliffenem Winkel von 20-30°) wird ein Spermium mit der Geißel voran aufgenommen, nachdem es zuvor durch einen Schlag mit der Pipette auf den Schwanzteil immobilisiert wurde. Die Injektionspipette wird exakt gegenüber der Haltepipette durch die Zona pellucida in die Eizelle eingestochen und das Spermium komplett und mit möglichst geringem zusätzlichen Volumen im Zytoplasma der Eizelle deponiert (Al-Hasani 1995, Neulen 1997).

Die entweder **spontan oder durch ICSI imprägnierten Eizellen** werden anschließend in frische Kulturmedien gebracht und für weitere 24 Stunden kultiviert. Die Kontrolle der Fertilisation erfolgt am darauf folgenden Tag unter Beobachtung der Vorkernstadien. Werden mehr Vorkernstadien beobachtet als Embryonen transferiert werden können, so kann eine Kryokonservierung der imprägnierten Eizellen erfolgen.

2.3.7 Embryotransfer

Nach einer weiteren Inkubation von 24 Stunden erfolgt am Tag 2 oder3 nach der Eizellentnahme der Transfer von maximal 3 Embryonen, die sich in der Regel im Vier- bis Achtzellstadium befinden.
Dazu wird die Patientin ggf. nach leichter Sedierung im Bett in das IvF-Labor gefahren und in Steinschnittlage gelagert. Mit Hilfe eines Entenschnabel-Spekulums wird die Zervix eingestellt und mit einem Tupfer gereinigt. Nur selten ist das Anhaken der Portio zum Einführen des Transferkatheters notwendig. Die zu transferierenden fertilisierten Oozyten werden in ein Transfermedium (Ham's F 10 Medium mit 90% Patientinnenserum) überführt und in den Embryonentransferkatheter (Wallace-

Katheter) geladen. Mit Hilfe einer Mikroliter-Spritze werden 1-3 Embryonen via Katheter transzervikal in das Uteruskavum eingespült. Nach einigen Sekunden in situ wird der Katheter langsam retrahiert und mit Nährmedium ausgespült. Falls verbliebene Embryonen gefunden werden, wird der Vorgang des Transfers wiederholt. Im Anschluss an den Transfer ruht die Patientin für etwa 1 Stunde, bevor sie nach einem ärztlichen Gespräch über ihren Behandlungsverlauf nach Hause entlassen wird (Kentenich 1989, Diedrich 1990).

2.3.8 Unterstützung der Lutealphase

Die Unterstützung der Lutealphase erfolgt mit 5.000 Einheiten HCG am Tage des Embryotransfers mit anschließender Wiederholung vier Tage nach Embryotransfer. Bei starker ovarieller Antwort (viele Eizellen) und erhöhtem Risiko für ein Überstimulationssyndrom (OHSS) erfolgt die Gabe von mikronisierten Progesteronkapseln intravaginal 600 mg täglich (Utrogest® 100 mg, 3 x 2 Kapseln/die). Die Progesterontherapie erfolgt für mindestens 2 Wochen, bei positivem Schwangerschaftstest wird sie fortgeführt (Kentenich 1989, Diedrich 1996).

Der **Behandlungserfolg** wird gemessen anhand von ß-HCG-Werten aus dem Serum 12 Tage nach Embryotransfer. Der Schwangerschaftstest wird als positiv bewertet bei mindestens zweimaligen ß-HCG-Werten über 50 U/l in mindestens zweitägigen Abständen. Klinische Schwangerschaften werden mittels transvaginaler Sonografie unter dem Nachweis fetaler Herzaktion kontrolliert.

2.4 Behandlungsparameter

2.4.1 Hormonelle Parameter

Durch Bestimmung der Hormonspiegel von **Östradiol, LH und Progesteron** wurde 14 Tage nach Downregulation und vor Beginn der Stimulationsbehandlung die ovarielle Suppression kontrolliert. Diese wurde definiert mit Östradiolwerten unter 50 pg/ml, LH unter 4 U/l und Progesteron unter 2 ng/ml.

Zum hormonellen Zyklusmonitoring wurden die Östradiol-, LH- und Progesteronbestimmungen am Tag 1 und am Tag 7 der Stimulationsbehandlung, 2 Tage vor HCG-Gabe, 1 Tag vor HCG-Gabe, am Tag der HCG-Gabe morgens um 8.00 Uhr und abends um 22.00 Uhr und am Tage nach der HCG-Gabe durchgeführt.

Die Messungen wurden am Tag der Blutentnahme im Labor der DRK-Kliniken Mark-Brandenburg, Drontheimer Straße (Leiter: Dr.Ostapovic) mit einem Enzym-Immuno-Essay-Verfahren (Gerät: ACE der Firma Ciba-Corning) durchgeführt.

2.4.2 Fertilitätsparameter

Die Fertilitätsergebnisse wurden kontrolliert mittels der Anzahl der gewonnenen Oozyten (unabhängig vom Reifegrad), der Anzahl der fertilisierten Oozyten, der Anzahl der transferierten Embryonen und der eingetretenen Schwangerschaften.

Schwangerschaft wurde nach dem Deutschen IvF-Register definiert als ß-HCG über 50 IE/ml und/oder einer positiven embryonalen Herzaktion. Somit gehen in diese Untersuchung auch sog. nicht klinische ß-HCG-Schwangerschaften ein (Deutsches IvF Register 1996, 1997 und 1998).

2.4.3 Behandlungsabbrüche

Die abgebrochenen IvF-Zyklen wurden in Einzelfallanalysen ausgewertet.

Im Falle einer **vorzeitigen Luteinisierung** wurde der Body mass index (BMI = kg/m^2) bestimmt: Dieses trat nur in einem Fall auf. Die 1,61 m große Frau mit einem Körpergewicht von 50 kg hatte einen normalen BMI von 19,3. Auf eine Bestimmung des BMI aller Studienpatientinnen wurde verzichtet, da nach **intramuskulärer Applikation von Depot-GnRH-Agonisten** die erzielten Wirkstoff-Serumspiegel unabhängig sind von unterschiedlicher Größe, Gewicht und BMI der Patientinnen (Runnebaum 1992, Karck 1996).

2.5 Datenauswertung und Statistik

Die Auswertung der Daten erfolgte mit dem Computerprogramm SPSS 10.0.

Die Signifikanzprüfungen erfolgten unter Mitarbeit von Herrn Dipl. Physiker J. Pachaly, Bereich Dokumentation und Statistik der Universitätsfrauenklinik der Charité, Campus Virchow-Klinikum.

Die **Arbeitshypothese** lautete: 2,1 mg Triptorelinacetat (Depot) sind für die LH-Suppression im Stimulationszyklus vor IvF bzw. IvF/ICSI ausreichend.

Vor diesem Hintergrund wurden folgende biometrische Prüfverfahren angewandt:

Mit Fisher’s-Exact-Test wurden in 4-Feldertafeln zweiseitig Unterschiede in den beiden Studiengruppen geprüft.

Bei Variablen mit Rangcharakter wurden Unterschiede zweiseitig mit dem U-Test nach Mann-Whitney geprüft.
Sämtliche Verteilungen der Hormonkonzentrationen zu den einzelnen Zeitpunkten im Verlauf der Behandlung wurden mittels Mann-Whitney-U-Test geprüft.
Es wurde ein multivariater Gruppenvergleich mittels logistischer Regression auf statistisch signifikante Zusammenhänge bezüglich möglicher Einflussgrößen (Alter, Sterilitätsfaktoren) zwischen Decapeptylgabe und Behandlungsergebnissen durchgeführt.
Auf eine Power-Analyse wurde verzichtet, da das Studiendesign die Prüfung der Effizienz der halbierten Dosis eines Depot-GnRH-Agonisten bezüglich der LH-Suppression unter Berücksichtigung der Fertilisations- und Schwangerschaftsraten zum Gegenstand hat und nicht die Untersuchung der Differenz der beiden Studiengruppen A und B (Yuzpe et al. 1995).

Statistische Signifikanz wurde bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p<0,05$ angenommen, die jeweiligen Irrtumswahrscheinlichkeiten selbst wurden angegeben.

3. Ergebnisse

Die Ergebnisse der Sterilitätsbehandlung beider Studiengruppen werden in Tabelle 7 (S. 39) zusammenfassend gegenübergestellt und im Kapitel 3.2 bis 3.4 erläutert.
Die erhobenen Hormonparameter wurden in den Tabellen 4 (S. 31), 5 (S. 33) und 6 (S. 35) unter Angaben der Medianwerte und der 95%-Vertrauensbereiche (Verteilungsfreie Vertrauensgrenzen für Quantile stetiger Verteilung. In: Wiss. Tabellen Geigy 1980) dargestellt. Außerdem wurde eine grafische Darstellung durch Boxplots (nach Tuckey) gewählt, um in anschaulicher Form die wesentlichen Eigenschaften im Sinne der klinisch relevanten Gesamtverteilung der Hormonspiegel jeweils darzustellen; siehe Abbildung 1 (S. 32), 2 (S. 34) und 3 (S. 36).

3.1 Hormonparameter in der Stimulationsbehandlung

Während der Stimulationsbehandlung mit r FSH (rekombinantes follikelstimulierendes Hormon) bzw. HMG (humanes Menopausengonadotropin) vor IvF oder IvF/ICSI wurden die Hormonparameter Östradiol (E2), luteotropes Hormon (LH) und Progesteron (P) an folgenden Tagen gemessen: Tag 1= 1. Stimulationstag vor begonnener Stimulation, Tag 7 der Stimulation, 2 Tage vor Ovulationsauslösung mit HCG (humanes Choriongonadotropin), 1 Tag vor HCG-Gabe, am Tag der HCG-Gabe um 8.00 und um 22.00 Uhr und am Tage nach der HCG-Gabe.
Die Bestimmung der Östradiolkonzentrationen erfolgte in pg/ml, die Bestimmung des LH in International Units (U/l), die Bestimmung des Progesteron in ng/ml, jeweils aus dem Serum.

3.1.1 Östradiolkonzentrationen

Der Median der Östradiolkonzentration vor Stimulationsbeginn in Gruppe A (Triptorelinazetat 2,1 mg) lag bei 7,0 pg/ml versus 5,0 pg/ml in Gruppe B (Triptorelinazetat 4,12 mg). Dieser Unterschied war nicht signifikant.
Am 7. Tag der Stimulation lag der Median des Östradiol in Gruppe A bei 242 pg/ml versus 265 pg/ml in Gruppe B.
2 Tage vor HCG-Gabe lagen die Werte in Gruppe A bei 1217 pg/ml versus 1028 pg/ml in Gruppe B.
1 Tag vor HCG-Gabe lagen die Werte bei 1636 pg/ml versus 1621 pg/ml in Gruppe B.
Am Tag der HCG-Gabe erfolgten zwei Östradiolbestimmungen:
Morgens um 8.00 Uhr lag der Östradiolmedian in Gruppe A bei 2378 pg/ml versus 2144 pg/ml in Gruppe B.
Um 22.00 Uhr direkt vor der Ovulationsinduktion erfolgte eine erneute Östradiolbestimmung, hier lag der Median bei Gruppe A bei 2311 pg/ml versus 1885 pg/ml in Gruppe B.

Am Tag nach der HCG-Gabe wurde das Östradiol erneut bestimmt, hier lag der Median in Gruppe A bei 2755 pg/ml versus 2424 pg/ml in Gruppe B.

Tabelle 4. Median und (95% Vertrauensbereiche) der **Östradiolkonzentrationen** (pg/ml) im Serum vom Tag 1 der Stimulationsbehandlung bis zum Tag nach Ovulationsauslösung mit HCG (humanes Choriongonadotropin), vor künstlicher Befruchtung.

	Tag 1	Tag 7	HCG -2	HCG -1	HCG 8.00 Uhr	HCG 22.00 Uhr	HCG +1
Gruppe A	**7**	**242**	**1217**	**1636**	**2378**	**2311**	**2755**
	(5-11)	(192-348)	(920-1536)	(1408-2181)	(1916-2717)	(1764-2679)	(2187-3122)
Gruppe B	**5**	**265**	**1028**	**1621**	**2144**	**1885**	**2424**
	(1-9)	(208-317)	(863-1328)	(1442-1921)	(1836-2475)	(1697-2429)	(1906-2972)
p	0,70	0,42	0,44	0,79	0,62	0,33	0,47
	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Gruppe A = Halbierte Dosis des Depot-GnRH-Agonisten (Triptorelinazetat 2,1 mg)
Gruppe B = Standarddosis des Depot-GnRH-Agonisten (Triptorelinazetat 4,12 mg)
ns = nicht signifikant, da p = 0,05

Sämtliche erhobenen Befunde zeigten keine signifikanten Unterschiede auf. Hiermit zeigte sich, dass vor Beginn der Stimulation eine ähnlich hohe Suppression des Östradiols sowohl nach voller Triptorelinazetatdosis (4,12 mg) als auch nach halber Triptorelinazetatdosis (2,1 mg) vorlag. Während der Stimulationsbehandlung lag der Median der Östradiolkonzentrationen in der Gruppe B (4,12 mg Triptorelinazetat) geringfügig unter dem Median der Gruppe A (2,1 mg Triptorelinazetat). Die Unterschiede waren jedoch nicht signifikant.

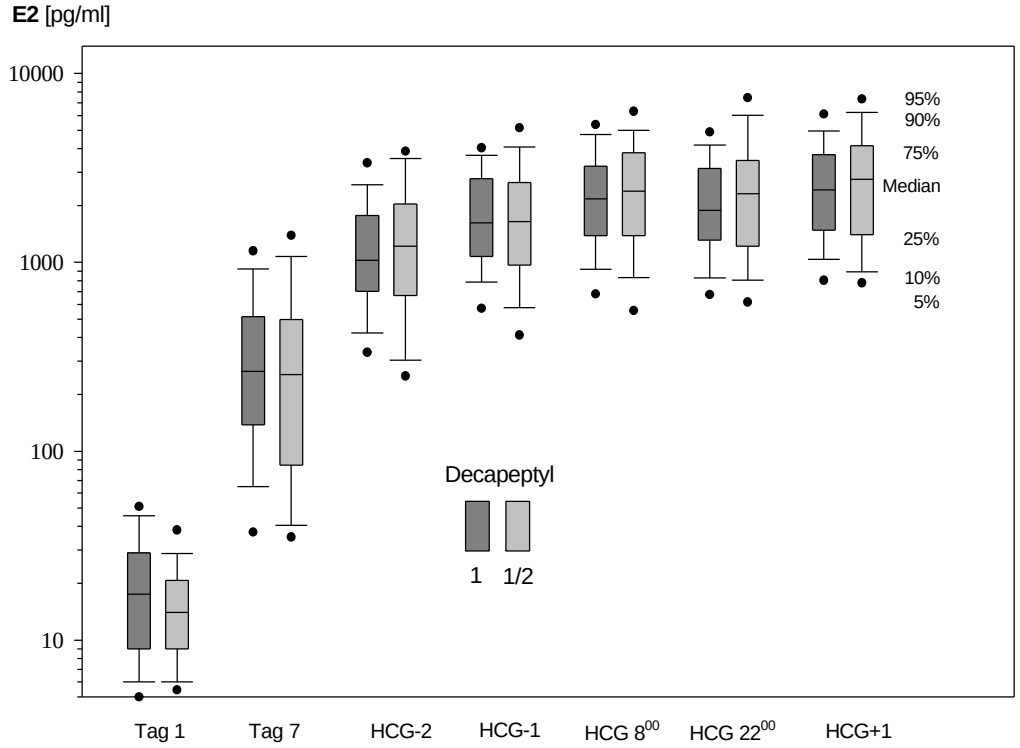

Abbildung 1. Boxplot-Darstellung der **Östradiolkonzentrationen** (E2) im Serum im Verlauf der Stimulationsbehandlung (nach Downregulation im so genannten langen Protokoll) vom Tag 1 der Stimulationsbehandlung mit FSH bzw. HMG (vor Applikation) bis zum Tag nach Ovulationsauslösung mit HCG (humanes Choriongonadotropin).
Decapeptyl 1/2=Gruppe A: 2,1 mg Triptorelinacetat; Decapeptyl 1=Gr. B: 4,12 mg Triptorelinacetat

3.1.2 LH-Konzentrationen

Die LH-Konzentrationen am Tag 1 der Stimulation vor Gonadotropingabe (FSH bzw. HMG) betrugen im Median in beiden Gruppen 1,7 U/l. Am 7. Tag der Stimulation lag das LH im Median bei 1,1 U/l, ebenfalls in beiden Gruppen. Zwei Tage vor HCG-Gabe lagen die LH-Werte bei 1,0 U/l in Gruppe A versus 1,1 U/l in Gruppe B. Einen Tag vor HCG-Gabe lagen die Mediane in beiden Gruppen bei jeweils 1,0 U/l. Am Tag der HCG-Gabe erfolgte die Bestimmung morgens und abends. Um 8.00 Uhr morgens lag das LH bei 1,0 U/l in Gruppe A versus 0,9 U/l in Gruppe B. Direkt vor Ovulationsinduktion um 22.00 Uhr lag das LH in Gruppe A bei 0,7 U/l versus 0,6 U/l in Gruppe B.

Am Tag nach der HCG-Gabe lag das LH in Gruppe A bei 0,8 U/l versus 0,6 U/l in Gruppe B.

Diese Unterschiede waren in beiden Gruppen ohne Signifikanz, es ließ sich auch kein Trend zu einem erhöhten LH in der halben Triptorelinazetatdosis darstellen.

Da bei einem LH-Wert über 4 U/l vor Beginn der Stimulation keine komplette Downregulation anzunehmen ist, wurden die Gruppen nach dem Anteil von Patientinnen mit LH-Werten über 4 U/l untersucht.

Tabelle 5. Median und (95% Vertrauensbereiche) der **LH-Konzentrationen** (IU/l) im Serum vom Tag 1 der Stimulationsbehandlung bis zum Tag nach Ovulationsauslösung mit HCG (humanes Choriongonadotropin), vor künstlicher Befruchtung.

	Tag 1	Tag 7	HCG -2	HCG -1	HCG 8.00 Uhr	HCG 22.00 Uhr	HCG +1
Gruppe A	**1,7**	**1,1**	**1,0**	**1,0**	**1,0**	**0,7**	**0,8**
	(1,6-1,9)	(1,0-1,3)	(0,9-1,2)	(0,9-1,3)	(0,9-1,1)	(0,6-0,7)	(0,7-0,9)
Gruppe B	**1,7**	**1,1**	**1,1**	**1,0**	**0,9**	**0,6**	**0,6**
	(1,5-1,9)	(1,0-1,2)	(1,0-1,2)	(0,9-1,1)	(0,9-1,0)	(0,5-0,7)	(0,6-0,8)
p	0,84	0,35	0,94	0,20	0,16	0,34	0,12
	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Gruppe A = Halbierte Dosis des Depot-GnRH-Agonisten (Triptorelinazetat 2,1 mg)
Gruppe B = Standarddosis des Depot-GnRH-Agonisten (Triptorelinazetat 4,12 mg)
ns = nicht signifikant, da p = 0,05; LH = Luteotropes Hormon

Am Tag 1 (vor Stimulationsbeginn) lagen in beiden Gruppen 3 Patientinnen mit den LH-Werten über 4 U/l. Am Tag 7 lagen 5 Patientinnen in der Gruppe A (Triptorelinazetat 2,1 mg) über 4 U/l versus 2 Patientinnen in der Gruppe B. Zwei Tage vor HCG-Gabe lagen jeweils 2 Patientinnen in beiden Gruppen mit den LH-Werten über 4 U/l. Am Tag vor der HCG-Gabe lagen 7 Patientinnen in der Gruppe A über 4 U/l versus 2 Patientinnen in der Gruppe B. Am Tag der HCG-Gabe um 8.00 Uhr lagen 3 Patientinnen in der Gruppe A über 4 U/l versus 0 Patientinnen in der Gruppe B. Am Tag der HCG-Gabe um 22.00 Uhr vor Ovulationsinduktion lag in keiner Gruppe eine Patientin mit LH-Werten über 4 U/l.

Am Tag nach der HCG-Gabe lagen 3 Patientinnen in Gruppe A mit LH-Werten über 4 U/l versus 0 Patientinnen in Gruppe B (Follikelpunktionen in Gruppe A n=92, in Gruppe B n=97).

Insgesamt ist der Unterschied mit einer geringfügig höheren Anzahl von Patientinnen mit LH-Werten über 4 U/l in der Gruppe A (2,1 mg Triptorelinazetat) im Vergleich zur Gruppe B statistisch nicht signifikant.

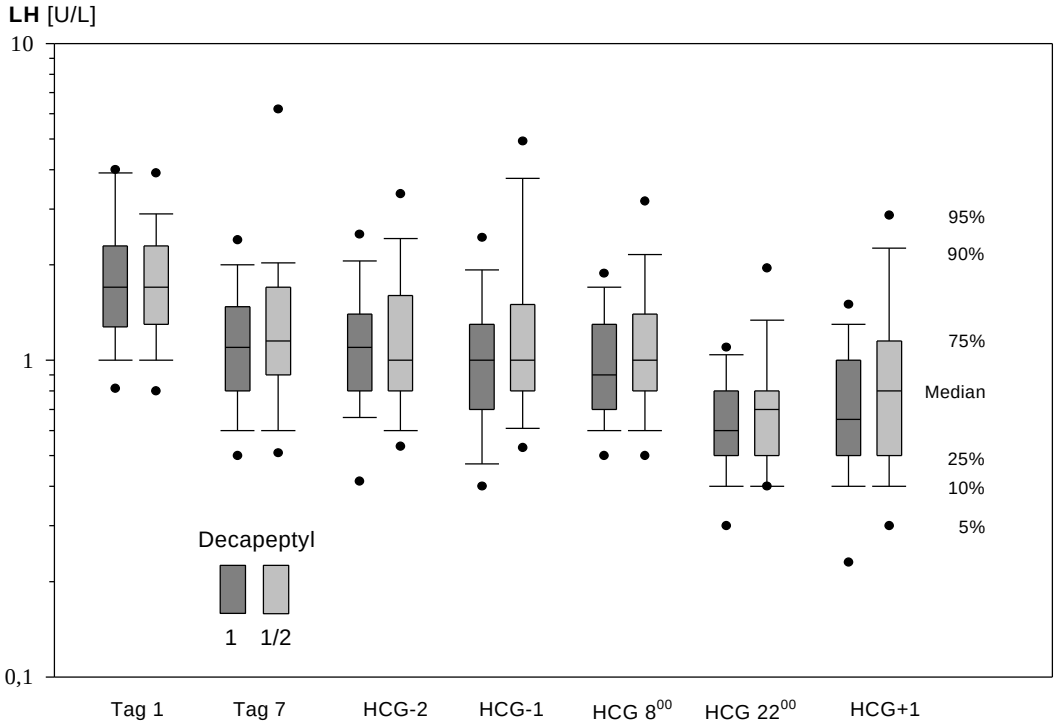

Abbildung 2. Boxplot-Darstellung der Konzentrationen des **luteotropen Hormons (LH)** im Serum im Verlauf der Stimulationsbehandlung (nach Downregulation im so genannten langen Protokoll) vom Tag 1 der Stimulationsbehandlung mit FSH bzw. HMG (vor Applikation) bis zum Tag nach Ovulationsauslösung mit HCG (humanes Choriongonadotropin).
Decapeptyl 1/2 = Gruppe A mit 2,1 mg Triptorelinacetat;
Decapeptyl 1 = Gruppe B mit 4,12 mg Triptorelinacetat

3.1.3 Progesteronkonzentrationen

Vor Beginn der Stimulationsbehandlung am 1. Tag zeigte sich in Gruppe A ein Median von 0,6 ng/ml Progesteron versus 0,5 ng/ml in Gruppe B.

Am 7. Tag der Stimulationsbehandlung lag der Median bei 0,6 ng/ml in beiden Gruppen.

2 Tage vor HCG-Gabe zeigten sich folgende Medianwerte: in Gruppe A 0,6 ng/ml, in Gruppe B 0,8 ng/ml Progesteron.

Am Tag vor der HCG-Gabe lag das Progesteron in Gruppe A bei 0,8 ng/ml versus 0,9 ng/ml in Gruppe B.

Am Tag der HCG-Gabe um 8.00 Uhr lag der Median der Gruppe A bei 0,9 ng/ml, in Gruppe B bei 1,0 ng/ml. Am Tag der HCG-Gabe um 22.00 Uhr betrug der Medianwert in Gruppe A 0,8 ng/ml versus 0,7 ng/ml in Gruppe B.

Am Tag nach der HCG-Gabe lag das Progesteron in Gruppe A bei 6,6 ng/ml versus 6,8 ng/ml in Gruppe B. Die Progesteronkonzentrationen zeigten im Vergleich beider Gruppen keine signifikanten Unterschiede.

Tabelle 6. Median und (95% Vertrauensbereiche) der **Progesteronkonzentrationen** (ng/ml) im Serum vom Tag 1 der Stimulationsbehandlung bis zum Tag nach Ovulationsauslösung mit HCG (humanes Choriongonadotropin), vor künstlicher Befruchtung.

	Tag 1	Tag 7	HCG -2	HCG -1	HCG 8.00 Uhr	HCG 22.00 Uhr	HCG +1
Gruppe A	**0,6**	**0,6**	**0,7**	**0,8**	**0,9**	**0,8**	**6,6**
	(0,5-0,6)	(0,5-0,6)	(0,6-0,8)	(0,8-1,0)	(0,8-1,0)	(0,6-0,9)	(5,4-8,4)
Gruppe B	**0,5**	**0,6**	**0,8**	**0,9**	**1,0**	**0,7**	**6,8**
	(0,5-0,6)	(0,5-0,7)	(0,7-0,9)	(0,8-1,0)	(0,9-1,1)	(0,6-0,8)	(6,0-8,2)
p	0,88	0,89	0,71	0,78	0,77	0,20	0,44
	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Gruppe A = Halbierte Dosis des Depot-GnRH-Agonisten (Triptorelinazetat 2,1 mg)
Gruppe B = Standarddosis des Depot-GnRH-Agonisten (Triptorelinazetat 4,12 mg)
ns = nicht signifikant, da p = 0,05

Es wird davon ausgegangen, dass bei Progesteronwerten über 2 ng/ml eine Luteinisierung stattgefunden hat. Deshalb wurde die Anzahl von Patientinnen beider Gruppen mit Progesteronkonzentrationen über 2 ng/ml verglichen.

Hierbei zeigte sich, dass vor Beginn der Stimulation in beiden Gruppen keine Patientin einen Progesteronwert über 2 ng/ml aufwies. Somit konnte in allen Fällen eine sichere Downregulation durch den Depot-GnRH-Agonisten in beiden Dosierungen nachgewiesen werden.

Am Tag vor der HCG-Gabe wiesen 4 Patientinnen in der Gruppe A (Triptorelinazetat 2,1 mg) einen Progesteronwert über 2 ng/ml auf, in der Gruppe B hatte keine der Patientinnen einen Progesteronwert über diesen Niveau.

Am Tage der HCG-Gabe selbst wiesen 5 Patientinnen in der Gruppe A versus 4 Patientinnen in der Gruppe B einen Progesteronwert über 2 ng/ml auf. Diese Unterschiede sind statistisch nicht signifikant.

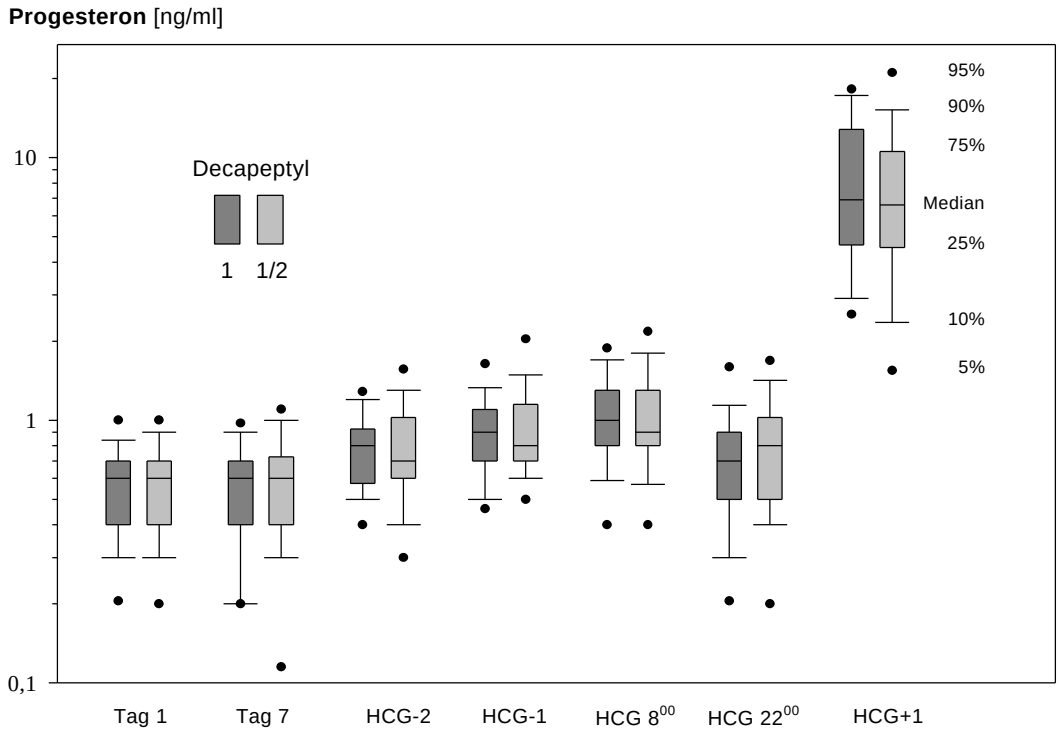

Abbildung 3. Boxplot-Darstellung der **Progesteronkonzentrationen** im Serum im Verlauf der Stimulationsbehandlung (nach Downregulation im so genannten langen Protokoll) vom Tag 1 der Stimulationsbehandlung mit FSH bzw. HMG (vor Applikation) bis zum Tag nach Ovulationsauslösung mit HCG (humanes Choriongonadotropin).
Decapeptyl 1/2 = Gruppe A mit 2,1 mg Triptorelinacetat;
Decapeptyl 1 = Gruppe B mit 4,12 mg Triptorelinacetat

3.2 Therapieabbrüche während der Stimulationsbehandlung

Von den 100 ursprünglich erhobenen Patientinnen in der Gruppe A (Triptorelinazetat 2,1 mg) brachen 2 Patientinnen aus persönlichen Gründen die IvF-Behandlung ab. In der Gruppe B (Triptorelinazetat 4,12 mg) brach keine der Patientinnen ab, somit verbleiben in Gruppe A 98 Frauen versus 100 Frauen in Gruppe B.

Die Anzahl der begonnenen Stimulationen betrug somit in Gruppe A n=98, in Gruppe B n=100.

Bei 6 Patientinnen in Gruppe A wurde die Therapie aus medizinischen Gründen abgebrochen. In Gruppe B wurde die Behandlung in 3 Fällen abgebrochen. Dies entspricht einer Absetzrate von 6% in Gruppe A versus 3% in Gruppe B. Dieser Unterschied ist statistisch nicht signifikant (p=0,33).

Die 6 Patientinnen in der Gruppe A (2,1 mg Triptorelinazetat) verteilten sich wie folgt:
5 Patientinnen wurden abgesetzt wegen erstmalig erkannter low-response, hier kam es zum Follikelwachstum von ein bis maximal zwei Follikeln, so dass bei 4 der 5 Patientinnen eine Insemination durchgeführt und in einem späteren Therapieverlauf eine von vornherein stärkere Stimulationsdosis gewählt wurde. Bei einer Patientin (normaler BMI: 19,3) kam es unter Triptorelinazetat 2,1 mg zu einer vorzeitigen Ovulation mit einem LH-peak von 24 U/l und einem anschließenden Progeronanstieg auf 3,3 ng/ml.
In der Gruppe B (Triptorelinazetat 4,12 mg) verteilten sich die 3 abgesetzten Patientinnen wie folgt:
2 Patientinnen wurden ebenfalls wegen low-response abgesetzt. Hierbei stellte sich bei einer Patientin ein erstmalig erkanntes Turner-Mosaik-Syndrom dar. Die 3. Patientin wurde wegen eines ausgeprägten Überstimulationssyndroms III. Grades abgesetzt. In der Triptorelinazetat 4,12 mg-Gruppe zeigte sich somit, dass keine Patientin wegen einer vorzeitigen Ovulation abgesetzt werden musste.
Diese Unterschiede sind statistisch nicht signifikant. Man kann festhalten, dass insgesamt nur eine Patientin in der Triptorelinazetat 2,1 mg-Gruppe keine suffiziente Downregulation aufwies und hier eine vorzeitige Luteinisierung zum Therapieabbruch führte.

3.3 Ergebnisse der Fertilisationsbehandlung

3.3.1 Follikelpunktionsraten

Die vaginale Follikelpunktion zur Oozytengewinnung erfolgte somit bei 92 Patientinnen in Gruppe A (Triptorelinazetat 2,1 mg). In Gruppe B wurden 97 Patientinnen vaginal punktiert. Dies entspricht einer Punktionsrate pro begonnener Stimulation von 94% in Gruppe A versus 97% in Gruppe B. Dieser Unterschied ist statistisch nicht signifikant (p=0,33).

3.3.2 Oozyten und Fertilisationsraten

Die Anzahl der gewonnen Oozyten pro Punktion betrug in der Gruppe A (Triptorelinazetat 2,1 mg) im Median 10 (1103 Oozyten bei 92 Punktionen) versus 11 Oozyten pro Punktion im Median in Gruppe B (1122 Oozyten bei 97 Punktionen). Dieser Unterschied ist statistisch nicht signifikant (p=0,99).
In Gruppe A (Triptorelinazetat 2,1 mg) wiesen 86 der 92 punktierten Patientinnen eine Fertilisation mit mindestens einmal zwei Vorkernen auf (Fertilisationsrate pro Punktion 94%). In Gruppe B (Triptorelinazetat 4,12 mg) kam es bei 96 der 97 punktierten Patientinnen zu einer Fertilisation (Fertilisationsrate 99%). Die scheinbar höhere Fertilisationsrate in Gruppe B ist statistisch jedoch nicht signifikant (p=0,06).

Die Fertilisationsrate pro Oozyte lag in Gruppe A bei 48% (528 fertilisierte Oozyten pro 1103 gewonnene Oozyten). In Gruppe B lag die Fertilisationsrate bei 50% (556 fertilisierte Oozyten bei 1122 gewonnenen Oozyten). Dieser Unterschied ist ebenfalls nicht signifikant (p=0,45).

Ein Embryotransfer fand bei allen 86 Patientinnen mit Fertilisation in der Gruppe A und bei allen 96 Patientinnen mit Fertilisation der Gruppe B statt (Embryotransfer pro Punktion 94% versus 99%). Wie bei den o.g. Fertilisationsraten ist dieser Unterschied mit einem p=0,06 statistisch noch nicht signifikant. Die Anzahl der transferierten Embryonen betrug in Gruppe A 215, in Gruppe B 242. Im Mittel wurden in Gruppe A 2,4 (Median: 3) Embryonen übertragen (215 Embryonen bei 86 Embryotransferen) versus im Mittel 2,5 (Median: 3) Embryonen in Gruppe B (242 Embryonen pro 96 Transfere), also ohne signifikanten Unterschied (p=0,49).

Kam es zur Follikelpunktion, ist somit in keinem der untersuchten Parameter ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen der Gruppe A (Triptorelinazetat 2,1 mg) und Gruppe B (Triptorelinazetat 4,12 mg) festzustellen. Auch bezüglich der Fertilisationsraten pro Follikelpunktion findet sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen.

Bezieht man die Embryotransfere auf die Anzahl der begonnenen Stimulationen, so zeigt sich ein statistisch signifikanter Unterschied (p<0,05): In Gruppe A wurden 86 Transfere bei 98 begonnenen Stimulationen durchgeführt (88%). In Gruppe B dagegen wurden 96 Embryotransfere bei 100 begonnenen Stimulationen durchgeführt (96%), p=0,04.

3.4 Schwangerschaftsraten

Eine Schwangerschaft trat in Gruppe A (Triptorelinazetat 2,1 mg) in 24 Fällen ein (nach Follikelpunktion bei 92 Frauen), in Gruppe B wurden 27 der 97 punktierten Patientinnen schwanger. Die Schwangerschaftsrate in Gruppe A pro Punktion lag bei 26% versus 28% in Gruppe B (24 / 92 versus 27 / 97). Dieser Unterschied ist nicht signifikant (p= 0,87).

Die Schwangerschaftsrate pro begonnener Stimulation lag in Gruppe A bei 25% (24 Schwangerschaften nach 98 begonnenen Stimulationen) versus 27% in Gruppe B (27 Schwangerschaften nach 100 begonnenen Stimulationen). Dieser Unterschied ist ebenfalls nicht signifikant (p=0,75).

Die Schwangerschaftsrate pro Embryotransfer lag bei 28% in Gruppe A (24 Schwangerschaften bei 86 Frauen nach Embryotransfer) versus ebenfalls 28% in Gruppe B (27 Schwangerschaften bei 96 Frauen nach Embryotransfer). Die Gruppen sind diesbezüglich ohne Unterschied.

Abschließend lässt sich feststellen, dass sowohl nach Gabe der halbierten Standarddosis (2,1 mg Triptorelinazetat) in Gruppe A als auch nach Gabe der Standarddosis (4,12 mg Triptorelinazetat) in Gruppe B zur Downregulation durch einen Depot-GnRH-Agonisten vergleichbare Punktions-, Fertilisations- und Schwangerschaftsraten erzielt wurden. Ein einziger statistisch signifikanter Unterschied findet sich bezüglich der Embryotransferrate pro begonnener Stimulation (p=0,04), was auf die Anzahl der abgesetzten Zyklen zurückzuführen ist.

Tabelle 7. Ergebnisse der Sterilitätsbehandlung mit zwei verschiedenen Dosierungen des Depot-GnRH-Agonisten Triptorelinacetat (2,1 mg vs 4,12 mg) zur Downregulation nach dem so genannten langen Protokoll im Rahmen von IvF bzw. IvF/ICSI

Parameter	Einheit	Gruppe A Halbe Dosis	Gruppe B Standarddosis	p	
erhobene Patientinnen	n	100	100		
Alter, Median (min-max)	Jahre	32 (22-38)	32 (20-38)	0,58	ns
begonnene Stimulationen	n	98*	100	0,33	ns
Stimulationsabbrüche	n	6	3	0,33	ns
vorzeitige Luteinisierung/Ovulation	n	1	0		ns
Follikelpunktionen	n	92	97		ns
gewonnene Oozyten (Median)	n	10	11	0,99	ns
Fertilisationen	n	86	96	0,06	ns
durch IvF	%	24	30		ns
durch IvF mit ICSI	%	76	70		ns
Embryotransfere	n	86	96		ns
transf. Embryonen, Mean (Median)	n	2,4 (3)	2,5 (3)	0,49	ns
Schwangerschaften	n	24	27		ns
Fertilisation/Follikelpunktion	%	94	99	0,06	ns
Emryotransfer/ beg.Stimulation	%	88	96	0,04	s
Schwangerschaftsraten					
Schwangerschaft/Stimulation	%	25	27	0,75	ns
Schwangerschaft/Follikelpunktion	%	26	28	0,87	ns
Schwangerschaft/ Embryotransfer	**%**	**28**	**28**		ns

*Zwei Patientinnen hatten die Behandlung aus persönlichen Gründen bei Stimulationsbeginn abgebrochen.
ns = nicht signifikant bei p=0,05; s=statistisch signifikant mit p<0,05

4. Diskussion

4.1 Einführung in die Diskussion

Aus der Hauptwirkung der GnRH-Agonisten, der Desensitivierung der Hypophyse, ergeben sich folgende allgemeine Ansätze für eine therapeutische Nutzung der Substanzen.

Durch Unterdrückung einer normalen Funktion der Achse Hypothalamus-Hypophyse-Gonade erscheinen Erkrankungen einer Therapie mit GnRH-Agonisten zugängig, die in ihrem Verlauf entweder von einer hypophysären FSH/LH-Produktion oder gonadalen Steroidsynthese abhängig oder beeinflusst sind. Dies sind im Wesentlichen die Endometriose, der Uterus myomatosus (vor Myomenukleation oder Hysterektomie), die medikamentöse Kastration beim östrogenrezeptorpositiven Mamma-Karzinom, die zeitlich begrenzte Kastration beim Prostata-Karzinom, die Pubertas praecox und die ovarielle Suppression zur Downregulation vor Stimulationstherapie mit anschließender In-vitro-Fertilisation (siehe auch Tabelle 2, Seite 11).

Bei der Sterilitätsdiagnostik und bei der Klassifikation von Störungen der Ovarialfunktion ist der GnRH-Test ein wichtiges Instrument, bei dem nach Bestimmung der Ausgangswerte von LH und FSH zwischen 25 und 100 µg natives GnRH intravenös appliziert wird und nach 30 bzw. 60 Minuten die Gonadotropine bestimmt werden.

Die einzige Therapie mit originärem GnRH zeigt sich in der Anwendung der GnRH-Pumpe bei hypothalamisch-hypophysären-amenorrhöischen Frauen (im wesentlichen Patientinnen mit einer Ovarialinsuffizienz WHO I). Hier können 60 bis 90% der behandelten Frauen eine Schwangerschaft mittels intravenöser oder subkutaner Applikation des GnRH erzielen. Die Ovulationsrate liegt bei diesem kleinen Kollektiv nahezu bei 100% (Leyendecker et al. 1980, Karck 1996).

Die Isolierung und Charakterisierung des Gonadotropin-Realeasing-Hormones (GnRH) 1971 führte sehr bald zu Versuchen, diese Entdeckung auch medizinisch zu nutzen. Allerdings stellte sich heraus, dass das GnRH-Molekül nur eine sehr kurze biologische Halbwertzeit hat, so dass man mit der Modifikation des Moleküls begann. Ausgehend von der Primärstruktur des GnRH-Moleküls wurden eine große Reihe von Agonisten entwickelt, die mittlerweile in ca. 1700 verschiedenen Verbindungen vorliegen.

Die Untersuchung dieser synthetischen Agonisten in vivo und in vitro ergab, dass die beiden Molekülenden Glu1 und Gly10-$CONH_2$ eine wichtige Rolle bei der Bindung an den Rezeptor spielen, sowie die Position Gly6 für den Abbau durch Endopeptidasen (Karck 1996).

Anfang der 70-iger Jahre war noch nicht bekannt, dass für eine adäquate Anregung von Hypophyse und Gonaden eine pulsatile GnRH-Ausschüttung notwendig ist. Im Bestreben fertilitätssteigernde

Medikamente zu entwickeln, wurden Superagonisten synthetisiert. Im weiteren Verlauf der Forschung wurde jedoch aufgezeigt, dass kurze GnRH-Pulse alle 60 bis 90 Minuten notwendig sind, um die Hypophyse zu einer ebenfalls pulsatilen Gonadotropinausschüttung anzuregen (Leyendecker et al. 1980). Anschließend wurde jedoch rasch erkannt, dass die mittlerweile zur Verfügung stehenden Superagonisten bei permanenter Zufuhr die hypophysäre Gonadotropinsekretion supprimieren. Damit war die Möglichkeit gegeben, eine gezielte medikamentöse Kastration durchzuführen. Die potentielle Anwendbarkeit dieses Prinzips in der Behandlung zahlreicher sexuellsteroidabhängiger Erkrankungen führte zu einer zügigen Weiterentwicklung und schließlich Anwendung der Medikamente zunächst bei Patienten mit einem Prostata-Karzinom (Karck, 1996).

Da die Peptide bei oraler Aufnahme zum größten Teil im Gastrointestinaltrakt inaktiviert und gespalten werden, kommt eine orale Applikation der GnRH-Agonisten von vornherein nicht in Betracht.

Daher wurden primär wässrige Lösungen der Peptide benutzt, um zunächst in vitro und im tierexperimentellen Ansatz die Wirksamkeit der entwickelten Agonisten zu überprüfen. Hierbei wurde schnell deutlich, dass eine intravenöse Verabreichung nicht nötig war. Mehrere Autoren stellten fest, dass die tägliche Applikation von 100 µg der verschiedenen GnRH-Agonisten in wässriger Lösung zur Suppression der Gonadenfunktion notwendig und ausreichend ist (Filicori 1983, Flemming und Coutts 1986, Karck 1996).

Die Applikationsformen der GnRH-Agonisten liegen mittlerweile als nasale (Nafarelin und Buserelin), täglich subkutane (Triptorelin, Buserelin) oder als Depotformel (Triptorelin, Leuprorelin, Goserelin und Buserelin) vor (siehe auch Tabelle 1, Seite 10).

Die Wirksubstanz wird in einem Kopolymerisat aus Milchsäure und Glykolsäure dispergiert. Der in der Matrix eingeschlossene Wirkstoff wird dabei kontinuierlich freigesetzt. Triptorelin und Leuprorelin werden vor Injektion in einem Suspensionsmittel aufgeschüttelt. Beim Goserelin ist man einen anderen Weg gegangen und implantiert einen ca. 1 cm langen und 1 mm dicken Stift des Kopolymers, in dem das Peptid dispergiert ist. Seit August 1995 ist in Deutschland auch eine Depotpräparation des Buserelin (Präfakt®-Depot) im Handel mit einem ähnlichen galenischen Prinzip wie bei Goserelin.

4.2 GnRH-Agonisten in der Reproduktionsmedizin

Die günstigen Ergebnisse, die in der Sterilitätstherapie von Patientinnen mit hypothalamischer Amenorrhöe durch GnRH-Pumpe oder durch eine Gonadotropinbehandlung zu erzielen waren, hatten frühzeitig mehrere Untersucher angeregt, die GnRH-Agonisten zu nutzen, um eine künstliche reversible hypothalamische Amenorrhöe zu schaffen.

Die zeitlich begrenzte Suppression des LH wurde insbesondere bei der In-vitro-Fertilisation erwünscht, um den so genannten prämaturen LH-Anstieg während der Stimulationsbehandlung zu vermeiden und somit die Absetzrate vor erfolgter Follikelpunktion zu verringern. Des Weiteren wurde durch die GnRH-Agonisten-Gabe in Kombination mit der ovariellen Stimulationsbehandlung das Heranreifen einer Kohorte mehrerer präovulatorischer Follikel möglich, was die Behandlungserfolge der IvF deutlich verbesserte.

Drei verschiedene Therapieschemata zur kontrollierten ovariellen Hyperstimulation in Kombination mit GnRH-Agonistenbehandlung wurden entwickelt: das ultrakurze, das kurze und das lange Protokoll.

Die Erläuterung dieser Protokolle mit den jeweiligen Vor- und Nachteilen findet sich im Kapitel 1.3.4 (Seite 15-17).

4.3 Vergleich von IvF-Zyklen mit und ohne Downregulation

Insbesondere bei Frauen, bei denen in vorangegangenen Zyklen keine vaginale Follikelpunktion zur In-vitro-Fertilisation durchgeführt werden konnte, weil es zu einem vorzeitigen LH-Anstieg kam, zeigten erste Pilotstudien mit den GnRH-Agonisten ermutigende Ergebnisse.

Bettendorf et al. (1986) konnte in 12 Zyklen vier Konzeptionen erreichen. In einer größeren Anzahl von Studien zeigte sich ein Vorteil für die Kombination der GnRH-Agonisten mit HMG/HCG sowohl bei anovulatorischen Patientinnen als auch bei normoovulatorischen Frauen, bei denen eine Superovulation angestrebt wurde, um eine nachfolgende In-vitro-Fertilisation durchzuführen.

Die günstigere Wirkung der Kombinationstherapie führte zu einer Supprimierung des Hypophysenvorderlappens mit der Verhinderung einer vorzeitigen Luteinisierung, so dass weniger Behandlungszyklen abgebrochen werden mussten. Außerdem gab es Indizien für eine bessere Synchronisation der Follikelreifung mit Heranreifung einer größeren Zahl maturer Follikel pro Zyklus. Dies zeigte sich auch darin, dass bei Patientinnen mit nur schwacher Östradiolsynthese eine deutlich stärkere HMG-Stimulation ohne einen prämaturen LH-Peak durchgeführt werden konnte (Neveau et al. 1987, Antoine et al. 1990 Kubic et al. 1990, Maroulis et al. 1991, Ron-El et al. 1991, Kingsland et al. 1992).

Karck (1996) führte eine Metaanalyse von 6 größeren prospektiv randomisierten Studien durch, bei denen die alleinige Stimulation mit HMG mit einer GnRH-Agonist/HMG-Stimulation im langen Protokoll verglichen wurden. In der HMG-Gruppe ohne vorherige Downregulation wurden in 25% der Fälle der Zyklus abgebrochen, während nach vorangegangener Downregulation dies nur in 9% der Fälle geschah. Die Schwangerschaftsrate zeigte nur in 3 der 6 Studien einen signifikanten Unterschied mit einem Benefit für die vorangegangene Downregulation. Insgesamt zeigte sich jedoch ein signifi-

kanter Unterschied in der Metaanalyse mit einer Schwangerschaftsrate von 26% in der downregulierten Gruppe versus 15% wenn HMG alleine appliziert wurde.
Diese ermutigenden Ergebnisse führten dazu, dass bereits in Frankreich 1993 90% aller IvF-Zyklen mit einer Downregulation im langen Protokoll vorbereitet wurden. Auch in Deutschland (Deutsches IvF-Register 1996, 1997 und 1998) sind 90% der Zyklen mittlerweile durch eine Downregulation mit GnRH-Agonisten vorbereitet.
Die **Vorteile der Downregulation** liegen neben der Verhinderung einer vorzeitigen Luteinisierung, einer geringeren Abbruchrate, einer besseren Synchronisation der Follikelreifung und einem Heranreifen einer größeren Anzahl maturer Follikel pro Zyklus auch in der besseren zeitlichen Steuerung der invasiven Maßnahmen wie Oozytengewinnung und Embryotransfer mit insgesamt besseren Behandlungsergebnissen (Felberbaum und Diedrich 1996, Filicori et al. 1996).

Nachteile dieses Procedere sind jedoch neben den unerwünschten GnRH-Agonisten-Wirkungen ein vermehrter Bedarf an HMG-Injektionen sowie eine höhere Inzidenz der ovariellen Überstimulationen.

Dies hat dazu geführt, dass sich nunmehr die GnRH-Antagonisten anfangen zu etablieren, bei denen eine signifikant niedrigere Menge von FSH oder HMG zur Stimulationsbehandlung benötigt wird und bei denen signifikant weniger Überstimulationssyndrome auftreten. Allerdings konnten diese Stimulationsschemata bisher keine besseren Schwangerschafsraten im Vergleich zur Vorbehandlung mit GnRH-Agonisten im langen Protokoll aufweisen (Felberbaum 1999, Olivennes et al. 1999).

Karck (1996) kritisiert, dass, obwohl heute von fast allen reproduktionsmedizinischen Zentren im Allgemeinen bei den Stimulationsbehandlungen eine GnRH-Agonisten-Vorbehandlung durchgeführt wird, die wissenschaftliche Basis für diese Behandlungsschemata bisher noch nicht abgesichert ist. Es gebe sowohl Studien die einen Vorteil bei einer GnRH-Agonisten-Vorbehandlung zeigen, aber auch eine große Zahl von Untersuchungen, die keinen Nutzen nachweisen können. Der Vorteil bezüglich der Schwangerschaftsraten bei den IvF-Zyklen ist statistisch signifikant (s.o.), jedoch konnte dies bei den Zyklen ohne IvF mit anschließender Stimulationsbehandlung lediglich als Trend zu Gunsten der GnRH-Agonisten-Vorbehandlung gezeigt werden. Maroli (1991) und Kingsland (1992) fanden in prospektiv randomisierten Studien keinen signifikanten Unterschied zwischen alleiniger HMG-Stimulationsbehandlung und vorangehender Downregulation und zogen daraus den Schluss, dass keine Indikation für die grundsätzliche Anwendung von GnRH-Agonisten in der IvF-Therapie besteht. Zu anderen Ergebnissen und Schlussfolgerungen kamen Neveau et al. (1987), Antoine et al. (1990) und Ron-El et al. (1991). In diesen Studien zeigte sich ein signifikanter Vorteil für die Frauen mit der

GnRH-Agonisten-Vorbehandlung ab der Lutealphase des vorangegangenen Zyklus insbesondere bezüglich der Häufigkeit der abgebrochenen Zyklen und der Schwangerschaftsraten. Für andere Kriterien wie die Anzahl der gewonnenen Oozyten, Fertilisierungsrate, Implantationsrate, Schwangerschaftsrate pro Embryotransfer bestanden zwar Trends, aber ein einheitliches Ergebnis lässt sich nicht darstellen. Dies betrifft immer das sog. lange Protokoll, bei dem die GnRH-Agonisten ab der mittlutealen Phase des Vorzyklus entweder als einmalige Depot-Gabe oder als tägliche Subkutangabe appliziert wurde.

Neben dem mittlerweile etablierten langen Protokoll, das 79% aller Stimulationsbehandlungen vorbereitet (Deutsches IvF-Register 1998), wurden auch Versuche unternommen, kürzere Protokolle zu etablieren (Maroulis et al. 1991 und Kingsland et al. 1992).

Bei den kurzen, so genannten "flare-up"-Protokollen werden die GnRH-Agonisten täglich intranasal oder subkutan ab dem 1. Zyklustag verabreicht.

In einer Metaanalyse von 6 Studien zum Vergleich von HMG alleine zu GnRH-Agonisten im kurzen Protokoll bei IvF-Patientinnen konnte Karck (1996) keinen signifikanten Unterschied bezüglich der Schwangerschaftsraten aufzeigen. Die Anzahl der abgebrochenen Zyklen lag bei der HMG-Stimulation alleine bei 25% versus 18% beim GnRH-Agonisten/HMG-Schema im kurzen Protokoll. Die Schwangerschaftsrate lag bei 23% in der HMG-Gruppe versus 22% in der GnRH-Agonisten/HMG-Gruppe.

Zu einem ähnlichen Ergebnis führte die Analyse der umfangreichsten IvF-Datenbank, dem französischen IvF-Register FIVNAT, in der mit ca. 77.000 Fällen rund 80% der in Frankreich zwischen 1986 und 1990 durchgeführten IvF-Zyklen gespeichert sind. Hier zeigte sich ein hoch signifikanter Unterschied ($p < 0{,}001$) zwischen dem langen GnRH-Agonisten-Protokoll (Schwangerschaftsrate 19,6%) und dem kurzen Protokoll (Schwangerschaftsrate 14,8%). Kein Unterschied konnte gezeigt werden zwischen dem kurzen Protokoll und der Therapie ohne GnRH-Agonisten (Schwangerschaftsrate 15,1%) (FIVNAT 1993).

Im Vergleich zu den Berichten aus IvF-Programmen liegen nur sehr wenige Studien über den Nutzen einer GnRH-Agonisten-Vorbehandlung bei Patientinnen vor, bei denen eine Konzeption entweder spontan oder durch intrauterine Insemination geplant ist.

Die Daten von Bettendorf und Lindner (1990) ergeben im retrospektiven Vergleich keinen signifikanten Vorteil für diese Vorbehandlung, dennoch zeigt auch hier die Differenz in den Schwangerschaftsraten von 14% zu 9% ohne vorangegangene Downregulation einen deutlichen Trend zu Gunsten einer GnRH-Agonisten-Behandlung. Diese Ergebnisse zeigen, dass für normoovulatorische Frauen, bei denen eine intrauterine Insemination geplant ist, eine Vorbehandlung mit GnRH-Agonisten keinen wesentlichen Vorteil bringt. Wahrscheinlich ist dies dadurch zu erklären, dass in diesem Falle eine

größere Toleranz gegenüber einem prämaturen LH-Anstieg oder einer Ovulation im Vergleich zu IvF-Programmen besteht. Im Gegenteil: hier wird häufig der körpereigene LH-peak als diagnostisches Kriterium zur Ovulationsinduktion genutzt (Kentenich et al. 1987).

Insgesamt kann man sagen, dass die medikamentöse Ausschaltung der Hypophyse durch GnRH-Agonisten von Vorteil ist für Patientinnen, bei denen eine In-vitro-Fertilisation durchgeführt werden soll. Hier müssen deutlich weniger Zyklen abgebrochen werden, womit man vielen Frauen die psycho-physische Belastung und Enttäuschung erspart, die durch einen solchen Behandlungsabbruch entsteht. Weiterhin bessert sich die Schwangerschaftsrate pro Zyklus bei Anwendung der GnRH-Agonisten ab der Lutealphase des der Stimulation vorangehenden Zyklus.
Diese Vorteile werden jedoch eingeschränkt durch die unerwünschten Wirkungen, vor allem die downregulationsbedingten so genannten Nebenwirkungen der GnRH-Agonisten (hot flashes, klimakterische Symptome),sowie die höhere Inzidenz des ovariellen Hyperstimulationssyndroms. Dies trifft nicht zu für die Anwendung der GnRH-Agonisten ab der frühen Follikelphase des Stimulationszyklus ("flare-up"-Protokolle) und bei Zyklen ohne IvF. Jedoch ist hier die Therapie individuell zu sehen, da bei bestimmten Untergruppen von Patientinnen (Therapieversager) vermutlich eine GnRH-Agonisten-Therapie günstigere Resultate erzielen kann (Karck 1996).

4.4 Vergleich unterschiedlicher Dosierungsprotokolle von GnRH-Agonisten während der Stimulation zur In-vitro-Fertilisation

Während die Sicherheit und Effektivität der GnRH-Agonisten im langen Protokoll zur Downregulation vor In-vitro-Fertilisation gesichert ist, ist die effektive minimale Dosis noch weiterhin umstritten. Dies führte dazu, dass eine ganze Reihe von Untersuchungen zur Findung einer optimalen Dosis durchgeführt wurden. Die Diskussion ist erschwert durch die verschiedenen Applikationsformen der verwendeten GnRH-Agonisten (nasale tägliche Applikation, subkutane tägliche Applikation, Depot-Applikation) in unterschiedlichen Behandlungsprotokollen. Somit ist hier ein Vergleich nur bedingt möglich.
Eine zu intensive Downregulation hat negative Auswirkungen auf die Ergebnisse der Sterilitätsbehandlung mit niedrigeren Schwangerschaftsraten, was auf die ungünstige Wirkung der GnRH-Agonisten auf das Follikelwachstum und die Eizellen selbst zurückzuführen ist (Seifert et al. 1998).
Außerdem sind die dosisabhängigen so genannten Nebenwirkungen während einer Downregulation mit GnRH-Agonisten beträchtlich. Karck (1996) führt eine Liste der nach Downregulation auftretenden Befindlichkeitsstörungen auf. An oberster Stelle stehen die Hitzewallungen, die 91% der Frauen

erleben, gefolgt von Schlaflosigkeit mit 55%, Stimmungsschwankungen mit 45%, Schmierblutungen mit 42%, Kopfschmerzen mit 39% und sonstigen vasomotorischen Symptomen (siehe auch Tabelle 3, Seite 13). Die sog. Nebenwirkungen sind in fast allen Studien –wie auch der eigenen – noch nicht Gegenstand der Untersuchung.
Primär stellt sich also die Frage, ob eine geringere Dosis der GnRH-Agonisten für die Downregulation ausreichend ist und ob hierunter gleiche Erfolgsraten bei der In-vitro-Fertilisation zu erreichen sind.

Balasch et al. (1992) führten eine erste Studie durch, bei der 3,75 mg mit 1,87 mg Triptorelin in einer Depotformel verglichen wurden. In der sehr kleinen Gruppe wurden 20 Frauen mit einem regelmäßigen menstruellen Zyklus und normaler Ovarfunktion randomisiert verglichen. Die Downregulation erfolgte entweder in der frühen Follikelphase oder während der Mittlutelphase des Zyklus. Untersucht wurden die Hormonparameter Östradiol, FSH, LH und Progesteron. Die Ergebnisse zeigten, dass sowohl die Standarddosis als auch die halbe Dosis gleich effektiv in der Downregulation der Hypophyse waren und zeigten zusätzlich, dass die Desensitivierung der Hypophyse schneller in der frühen Follikelphase erfolgte im Vergleich zur Mittlutelphasenapplikation.
In dieser Pilotstudie wurden jedoch **nicht** die nachfolgenden In-vitro-Fertilisationen untersucht.
Diese Studie von Balasch et al. (1992) ist die einzige Studie bei der ein Depot-Agonist bezüglich unterschiedlicher Dosen verglichen wurde, jedoch in verschiedenen Behandlungsschemata.
Seifert et al. (1998) untersuchten an 203 Patientinnen den Effekt wiederholter Downregulationen mit Decapeptyl-Depot® auf die Behandlungsergebnisse während 3 aufeinander folgenden IvF-Zyklen im langen Protokoll. Sie konnten einen kumulativen Down-Effekt nachweisen: die endogene LH-Konzentration nahm von Zyklus zu Zyklus ab. Es kam zu einer Verschlechterung der klinischen Ergebnisse mit geringeren Schwangerschafts- und Geburtenraten, vor allem im dritten Zyklus. Daraus leiteten sie ab, kurz wirksame GnRH-Agonisten den Depot-Präparaten zur Vorbereitung einer IvF-Behandlung vorzuziehen.
Schoemaker et al. (1995) verglichen vier verschiedenen Dosen von täglicher Triptorelingabe zur Downregulation. Nach Downregulation mit 5,15,50 und 100 µg Triptorelin/Tag mit Beginn in der Lutealphase wurde vor Ovulationsinduktion mit HCG ein 500 µg GnRH-Belastungstest durchgeführt. Die Ergebnisse zeigten, dass bei einer Dosis von 5 und 15 µg Triptorelin/Tag nur eine partielle, bei 50 und 100 µg/Tag jedoch eine totale Suppression der Hypophysenfunktion vorlag. Hierbei zeigte sich, dass der LH-Level im Gegensatz zum FSH-Level direkt abhängig von der Dosis des GnRH war. Unklar blieb ob eine tägliche Dosis von 15 µg GnRH-Agonist/Tag nicht eventuell ausreichend zur Sup-

pression des LH-peaks ist. Auch in dieser Studie wurden **nicht** die Schwangerschaftsraten beim IvF nicht untersucht.

Simon et al. (1994) führten eine randomisierte prospektive Studie durch, bei der 42 ovulatorische Patientinnen mit einer tubaren Sterilität die Standarddosis von 0,5 mg Triptorelin/Tag ab Tag 21 des Zyklus für 14 Tage erhielten. Nach erfolgter Downregulation wurden die Patientinnen randomisiert in einer Gruppe mit 0,1 mg Triptorelin/Tag und in einer zweiten Gruppe mit 0,5 mg Triptorelin/Tag, unterteilt. Die Stimulation wurde durchgeführt mit 225 IU HMG/Tag.

Die Autoren fanden keinen Unterschied bezüglich der Anzahl der Eizellen, der Fertilisations- und Teilungsrate, der durchschnittlichen Anzahl der transferierten Embryonen und der Schwangerschaftsrate. In beiden Armen fanden sich jeweils 7 klinische Schwangerschaften mit einer Schwangerschaftsrate von 32 respektive 35% pro Embryotransfer.

Die Autoren schlossen hieraus, dass sich, obwohl die geringere Dosis des Triptorelin zu keinem erhöhten vorzeitigen Progesteronanstieg führte, kein Vorteil bezüglich einer besseren ovariellen Ansprechbarkeit oder besseren klinischen Schwangerschaftsrate zeigte. Die niedrigere GnRH-Agonisten-Dosis führte zu keiner besseren Oozyten- oder Embryonenqualität und hatte keinen Einfluss auf die Implantation des Embryos.

Tsai et al. (1995) untersuchten die subkutane tägliche Leuprolidegabe versus einer low-dose-Leuprolideazetat-Depotgabe von 1,88 mg subkutan. Die Autoren fanden keinen statistischen Unterschied bezüglich des Basisöstradiols vor Stimulationsbehandlung (24,5 pg/ml versus 21,9 pg/ml) sowie der FSH-Konzentration (3,9 U/ml versus 3,2 U/ml). Auch am Tage der HCG-Gabe zur Ovulationsinduktion zeigte sich kein Unterschied nach täglicher 0,5 mg Leuprolideapplikation versus der low-dose-Depot-Applikation (E2: 1657 versus 1512 pg/ml). Ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zeigten sich bezüglich des LH und des FSH vor Ovulationsinduktion.

In der **eigenen Untersuchung** wurden die Laborparameter Östradiol, LH und Progesteron vor Stimulationsbeginn gemessen. Auch hier fand sich kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen Triptorelinazetat-Depot 2,1 mg und Triptorelinazetat-Depot 4,12 mg. Der Median des Östradiol vor Stimulationsbeginn lag bei 7,0 pg/ml versus 5,0 pg/ml. Auch am Tag der HCG-Gabe und am Tag nach der HCG-Gabe fanden sich keine signifikanten Unterschiede bezüglich des Östradiol, des Progesteron und des LH. Die Östradiolkonzentrationen lagen im Stimulationsverlauf in der Triptorelinazetat-Gruppe B (4,12 mg) geringfügig und nicht signifikant unter denen der Triptorelin-azetat-Gruppe A (2,1 mg).

Am Tage nach der HCG-Gabe wiesen drei Patientinnen der Gruppe A (Triptorelinazetat 2,1 mg) LH-Werte über 4 IU/l auf. In Gruppe B (Triptorelinazetat 4,12 mg) hatte keine der Patientinnen einen LH-Wert über 4 IU/l. Auch diese Unterschiede sind nicht signifikant.

Tsai et al. (1995) fanden in beiden Armen einen Hinweis auf einen vorzeitigen LH-peak, allerdings musste bei zwei Patientinnen in der Standarddosis-Gruppe die Therapie wegen low response abgebrochen werden.

In der **eigenen Untersuchung** wurden in der Gruppe A Triptorelinazetat 2,1 mg bei 6 Patientinnen aus medizinischen Gründen die Therapie abgebrochen, dies erfolgte in 5 Fällen wegen einer erstmalig erkannten low response. In einem Fall kam es zu einem nachgewiesenen LH-peak mit anschließender Luteinisierung, so dass hier keine suffiziente Downregulation anzunehmen war. In Gruppe B (Triptorelinazetat-Depot 4,2 mg) wurden zwei Zyklen wegen low response abgebrochen und ein weiterer Zyklus wegen eines ausgeprägten Überstimulationssyndroms. In der Standarddosis-Gruppe B kam es zu keinem vorzeitigen LH-peak. Die Absetzrate betrug 6% in Gruppe A versus 3% in Gruppe B. Die Unterschiede sind statistisch nicht signifikant.

Tsai et al. (1995) fanden ebenfalls keine signifikanten Unterschiede bezüglich der benötigten HMG-Dosis, der Anzahl der gewonnenen Oozyten, der Anzahl der fertilisierten Oozyten, der transferierten Embryonen und der Schwangerschaftsrate. Während in der Standarddosis-Gruppe die Schwangerschaftsrate 21,2% betrug, lag sie bei 25% in der reduzierten Leuprolideazetat-Depotdosis-Gruppe. Die Autoren schlossen aus dieser Studie, dass die subkutane low dose-Leuprolideazetat-Depotapplikation eine sinnvolle Alternative zur täglichen Suppression in der Stimulationsbehandlung zur IvF darstellt.

Feldberg et al. (1994) untersuchten eine spezielle Untergruppe der IvF-Patientinnen, die so genannten low responder. 106 Patientinnen mit vorangegangenen frustranen IvF-Versuchen, bei denen es nur zum Wachstum von 1-2 Follikeln kam, wurden in drei Arme unterteilt. Gruppe 1 (n=29) erhielten eine Einmaldosis mit 3,75 mg Triptorelin-Depot. Die zweite Gruppe (n=41) erhielten ab Tag 21 des Zyklus 0,5 mg tägliche Triptorelinapplikationen gefolgt von 0,1 mg täglicher Triptorelinapplikation ab dem 1. Stimulationstag. Gruppe 3 erhielt 0,1 mg Triptorelin ab Tag 21 des Zyklus und 0,05 mg Triptorelin täglich ab Stimulationsbeginn. Signifikante Unterschiede konnten sich in folgenden Punkten darstellen: Die Absetzrate war in Gruppe 1 (Depot) mit 44,8% signifikant höher als in Gruppe 2 und in Gruppe 3. Der Median des Östradiols am Tag der HCG-Gabe lag in Gruppe 3 (low dose Triptorelin täglich) signifikant höher als in Gruppe 1 und in Gruppe 2 (841 pg/ml versus 676 pg/ml und 413 pg/ml). Progesteron am Tag der HCG-Gabe lag in allen drei Gruppe gleich. Die Anzahl der transferierten Embryonen lag mit n = 3,1 pro Transfer in Gruppe 3 signifikant höher als in Gruppe 1 und in Gruppe 2. Die Anzahl der benötigten HMG-Ampullen war in Gruppe 3 signifikant niedriger als in Gruppe 1 und in Gruppe 2.

Die Autoren konnten überzeugend darstellen, dass in einem Minimaldosisprotokoll mit 0,1 mg Triptorelin täglich ab Tag 21 des Zyklus und 0,05 mg Triptorelin täglich ab Stimulationsbeginn signifikant bessere Ergebnisse bei der In-vitro-Fertilisation von low responder-Patientinnen zu erreichen sind.
Diese ermutigenden Ergebnisse konnten in der **eigenen Studie** nicht nachgewiesen werden (s.o.). Erstaunlicherweise lag die Absetzrate wegen erstmalig diagnostizierter low response in der Gruppe mit der halbierten Standarddosis des Depot-GnRH-Agonisten über der in der Standarddosis-Gruppe. Allerdings sind hier die Unterschiede statistisch nicht signifikant.

Yuzpe et al. (1995) verglichen 200 IvF-Patientinnen nach nasaler Applikation von 400 µg versus 600 µg Nafarelinazetat. Die verbrauchte Menge an HMG war gleich in beiden Gruppen. Die Schwangerschaftsrate lag bei 13% pro Zyklus und 21,7% pro Embryotransfer in der Gruppe mit Nafarelinazetat 400 µg und 19% pro Zyklus und 30% pro Embryotransfer in der Nafarelinazetat-Gruppe mit 600 µg. Diese Unterschiede waren nicht signifikant. Sie fanden in keiner Gruppe einen spontanen LH-peak. Allerdings lagen die Östradiolwerte in der Gruppe mit 600 µg Nafarelinazetat leicht unter denen der Gruppe mit 400 µg Nafarelinazetat.
Dies entspricht den Ergebnissen der **eigenen Untersuchung**, bei der ebenfalls, jedoch nur geringfügig niedrigere Östradiolwerte nach Downregulation mit der vollen Triptorelinazetatdosis gefunden wurden.
Broekmans et al. (1996) untersuchten vier verschiedene Triptorelindosen bezüglich ihres Einflusses auf die Downregulation der Hypophyse. Die Patientinnen erhielten eine **tägliche** Dosis von 25, 50, 100 und 200 µg Triptorelinazetat ab der mittleren Lutealphase im Vorzyklus. Hierbei zeigte sich, dass erst ab 50 µg Triptorelin pro Tag eine suffiziente Downregulation zu erreichen war. In einem zweiten Ansatz fanden die Autoren, dass nach täglicher Gabe von 100 µg Triptorelin auch nach einer mehrtägigen Unterbrechung die Downregulation gewährleistet ist.
Von Janssens et al. (1998) wurde folgende Studie durchgeführt: In einem prospektiven randomisierten doppelblind und placebokontrollierten Ansatz wurde versucht, die minimale tägliche Dosis von Triptorelinazetat zu finden. 240 Patientinnen wurden in vier Arme randomisiert. Sie erhielten entweder eine Placeboapplikation oder **tägliche** Triptorelingaben von 15, 50 oder 100 µg.
In der Placebogruppe wiesen 23% der Patientinnen einen vorzeitigen LH-peak auf. In keiner der drei GnRH-Agonisten-Gruppen kam es zu einem vorzeitigen LH-peak. Während bereits bei 50 µg Triptorelin eine Suppression erfolgte, kam es zu einem signifikant höherem Abfall des FSH unter 50 µg Triptorelin. Die minimale Dosis um das LH niedrig zu halten lag ebenfalls bei 50 µg Triptorelin pro Tag. Jedoch zeigte sich, dass die Dauer der FSH-Stimulation und die Dosis der verbrauchten FSH-Ampullen bei höheren Triptorelindosen auch anstiegen. Die Autoren fanden eine signifikant höhere

Rate an gewonnenen Oozyten, Fertilisation, transferierten Embryos und Schwangerschaften in der 50 µg Triptorelingruppe.
Die Autoren zogen den Schluss, dass 15 µg Triptorelin ausreichen, um den LH-peak zu unterbinden, dass aber zur Optimierung der Therapie eine Dosis von 50 µg Triptorelin ideal ist.

In der **eigenen Untersuchung** fand sich kein signifikanter Unterschied bezüglich der Anzahl der gewonnenen Eizellenproportion (im Median: 10 Oozyten in Gruppe A versus 11 Oozyten pro Punktion in Gruppe B). Ebenfalls keine statistisch signifikanten Unterschiede zeigten sich bezüglich der Fertilisationsraten: Die Fertilisationsrate pro Follikelpunktion lag bei 99% in der Triptorelinazetat 4,12 mg-Gruppe versus 94% in der Triptorelinazetat 2,1 mg-Gruppe (p=0,06).
Bezüglich der Schwangerschaftsraten pro Punktion und pro Transfer waren die Unterschiede ebenfalls statistisch nicht signifikant. Bezieht man jedoch die Rate der Embryotransfere auf die Anzahl begonnener Stimulationen (88% in Gruppe A versus 96% in Gruppe B, p=0,04), zeigt sich ein statistisch signifikanter Vorteil für die Gruppe mit der Triptorelinazetatstandarddosis (p<0,5). Dieser einzig statistisch signifikante Unterschied bezüglich der Embryotransferrate pro begonnener Stimulation lässt sich am ehesten auf die Rate der abgesetzten Zyklen zurückführen.
Elgendy et al. (1998) verglichen 400 µg Nafarelinazetat mit 600 µg Nafarelinazetat täglich. Alle Patientinnen erhielten 225 Einheiten FSH pro Tag. Die LH- und Östradiollevel lagen in der niedrigeren Nafarelin-Gruppe signifikant höher. Es wurden signifikant mehr Eizellen gefunden und mehr Embryonen wurden transferiert. Allerdings zeigte sich kein Unterschied bezüglich der Schwangerschaftsrate. In beiden Gruppen (jeweils n=32) wurden jeweils 4 Zyklen abgesetzt.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die GnRH-Agonisten-Applikation zur Downregulation vor In-vitro-Fertilisation im langen Protokoll als eine etablierte Methode gelten kann.
Die **Ergebnisse aus der eigenen Studie** stimmen überwiegend mit denen vergleichbarer Untersuchungen überein:
Niedrigere Dosen zur Downregulation sind sowohl bei der täglichen Applikation als auch bei der Depot-Applikation möglich. Bei der täglichen Applikation dürften 50 µg Triptorelinazetat pro Tag gegenüber der Standarddosis von 100 µg Triptorelinazetat pro Tag ausreichen. Auch beim Nafarelinazetat sind 400 µg pro Tag für eine suffiziente Downregulation mit gleichwertiger Schwangerschaftsrate ausreichend.
Bezüglich der Depotgabe von Triptorelinazetat scheint eine gleichwertige Downregulation bei 2,1 mg Triptorelinazetat-Depot versus 4,12 mg Triptorelinazetat-Depot gewährleistet zu sein. Keine signifi-

kanten Unterschiede zeigten sich sowohl in der eigenen Untersuchung als auch bei Balasch et al. (1992) bezüglich der Suppression der Hormonparameter Östradiol, LH und Progesteron.
Auch bezüglich der Schwangerschaftsraten lässt sich in der eigenen Untersuchung kein signifikanter Unterschied darstellen.
Allerdings finden sich weniger durchgeführte Embryotransfere bezogen auf die Anzahl begonnener Stimulationen in der low dose-Triptorelinazetat-Depot-Gruppe. Dabei müssen die "drop outs" berücksichtigt werden, die in Gruppe B geringer waren als in Gruppe A.

4.5 GnRH-Antagonisten im Vergleich zu GnRH-Agonisten

GnRH-Antagonisten stellen Modifikationen des ursprünglichen Decapeptids dar, die ebenfalls in der Lage sind an hypophysären GnRH-Rezeptoren zu binden, aber keine Gonadotropinsekretion auslösen. Die erste Generation dieser Substanzklasse erwies sich als wirksam in vitro und in vivo, allerdings traten auf Grund histaminfreisetzender Effekte dieser Substanzen allergische Nebenwirkungen auf. Lokalisierte Rötungen bis hin zum anaphylaktischen Schock machten eine klinische Anwendung unmöglich (Felberbaum und Diedrich 1996). Mit der jüngsten Generation dieser Substanzklasse ist es allerdings in den letzten Jahren gelungen, potente GnRH-Antagonisten zu synthetisieren, die keine relevante Histaminfreisetzung hervorrufen. Sie sind das Ganirelix und das Cetrorelix, das seit 01.05.1999 für die klinische Anwendung zugelassen ist.
Der Effekt der GnRH-Antagonisten beruht auf einem völlig anderen pharmakologischen Wirkungsprinzip. An Stelle einer Downregulation der GnRH-Rezeptoren mit nachfolgender Desensitivierung der gonadotropen Zellen konkurriert hier der GnRH-Antagonist mit dem nativen GnRH um die Bindung an den zellmembranständigen Rezeptoren. Der Antagonist führt zu einer klassischen kompetetiven Hemmung am GnRH-Rezeptor, so dass die antagonisierende Wirkung an der Hypophyse sofort ohne zwischenzeitliche stimulierenden Effekt einsetzt.
Im Wesentlichen unterscheidet man zwei Anwendungsschemata der GnRH-Antagonisten:
Die tägliche Applikation von 0,25 mg Cetrorelix beispielsweise erfolgt ab Tag 4 der Stimulationsbehandlung mit täglicher Gabe über insgesamt durchschnittlich 7 Tage. Alternativ wird der Antagonist in einer einmaligen Gabe von 3 mg injiziert, wenn der Östradiolspiegel einen Wert von ca. 150 bis 200 pg/ml pro Follikel erreicht hat. Dies ist allgemein um den 9. Zyklustag der Fall (Felberbaum und Diedrich 1996). Beide Stimulationsvarianten haben sich als sicher und effektiv erwiesen. Die Hypophyse bleibt unter der Cetrorelixmedikation gegenüber dem stimulierenden Reiz des GnRH sensibel und ist weiterhin in der Lage adäquat zu reagieren. Dies konnten Felberbaum und Diedrich 1996 anhand des GnRH-Testes demonstrieren.

Mannaerts et al. (1999) zeigten anhand der Daten von 800 Patientinnen, dass das Risiko für die Entwicklung eines Überstimulationssyndroms um 50% gesenkt werden konnte.
Allerdings sind die Schwangerschaftsraten bei den GnRH-Antagonisten zurzeit noch unter denen der Standardprotokolle mit GnRH-Agonisten, wenn auch die Unterschiede nicht signifikant sind.
Tarlatzis und Mannaerts (1999) führten eine Multizenterstudie durch, bei der sie Ganirelix in der o.g. 0,25 mg-Applikation mit dem langen Protokoll nach intranasaler Buserelinapplikation verglichen. 730 Zyklen wurden randomisiert mit einem Verhältnis von 2:1 (Ganirelix: Buserelin) untersucht. Die Rate an ovariellen Überstimulationssyndromen (OHSS) lag mit 2,4% signifikant niedriger als in der Standardreferenzgruppe mit 5,9%. Auch die durchschnittliche Anzahl an verbrauchtem rekombinanten FSH lag mit 1500 IU versus 1800 IU in der Ganirelixgruppe signifikant niedriger. In der Ganirelix-Gruppe lag der Anteil der aufgetretenen LH-peaks (>=10 IU/l) mit 2,8% mehr als doppelt so hoch als in der Buserelingruppe (1,3%). Die Östradiollevel lagen am Tag der HCG-Gabe bei 1190 pg/ml in der Ganirelix und 1700 pg/ml in der Buserelingruppe. Die durchschnittliche Anzahl der gewonnenen Eizellen lag bei 9,1 versus 10,4 Oozyten pro Punktion. Die Fertilisationsrate war in beiden Gruppen gleich und die Anzahl der transferierten Embryonen mit 2,2 Embryonen pro Transfer ebenfalls. Die Schwangerschaftsrate pro Punktion lag bei 15,7% in der Ganirelix und 21,8% in der Buserelingruppe. Dieser Unterschied war nicht signifikant.
In einer zweiten Untersuchung von Olivennes et al. (1999) wurde der GnRH-Antagonist Cetrorelix mit Triptorelinazetat-Depot verglichen. In dieser prospektiven randomisierten Multizenterstudie zeigten sich ähnliche Ergebnisse wie in der Untersuchung von Tarlatzis und Mannaerts (1999), auch hier fand sich eine signifikant niedrigere Rate an Überstimulationssyndromen bei leicht niedrigerer Schwangerschaftsrate von 22,8% in der Cetrorelix-Gruppe versus 30,6% in der Triptorelin-Gruppe. Auch dieser Unterschied war nicht signifikant. Insgesamt war die Stimulation bei Cetrorelixapplikation kürzer und es wurden weniger HMG-Ampullen benötigt.
Insgesamt kann man feststellen, dass die GnRH-Antagonisten eine Alternative zu den GnRH-Agonisten darstellen. Während dieser neueren Stimulationsschemata kommt es zu niedrigeren Raten von Überstimulationssyndromen, allerdings liegen die Schwangerschaftsraten noch unter denen der GnRH-Analoga. Dies könnte jedoch auch ein Effekt der fehlenden Erfahrung mit diesem Stimulationsschemata sein.

4.6 Fazit und Schlussfolgerungen für die Praxis

Die vorbereitende Downregulation vor Stimulationsbehandlung mit nachfolgender In-vitro-Fertilisation mittels GnRH-Agonisten (auch GnRH-Analoga genannt) ist mittlerweile weltweit etabliert. In allen großen IvF-Registern werden mittlerweile 90% der IvF-Zyklen nach einer GnRH-Agonisten-Vorbehandlung durchgeführt. Dies erfolgt zu 90% nach Downregulation in der mittlutealen Phase, im sog. langen Protokoll (FIVNAT 1993, Deutsches IvF-Register 1996, 1997 und 1998).

Die **Vorteile** der Downregulation sind unbestritten und liegen in einer besseren zeitlichen Planbarkeit, einem Heranwachsen einer homogeneren Kohorte von Eizellen, dem Ausschluss einer vorzeitigen Luteinisierung mit nachfolgendem Therapieabbruch und einer Tendenz zu höheren Schwangerschaftsraten im Vergleich zum nicht downregulierten Zyklus.

Die **Nachteile** liegen in einem höheren Gonadotropinverbrauch zur Stimulationsbehandlung, den damit verbundenen höheren Kosten für die bereits an sich sehr kostenintensive Therapie und in nicht zu unterschätzenden dosisabhängigen unerwünschten Wirkungen der GnRH-Agonisten. Diese sind bedingt durch die therapeutisch erwünschte vorübergehende Suppression der Hypophyse mit einer hypoöstrogenen Situation (Karck 1996). Dies führt meist zu klimakterischen Symptomen wie Hitzewallungen, Depressionen, Kopfschmerzen und Oligomenorrhöen in nachfolgenden Zyklen (siehe auch Tabelle 3, S. 13). Die Untersuchung bezüglich Inzidenz und Ausprägung dieser unerwünschten Wirkungen war nicht Gegenstand der vorliegenden Arbeit, wie auch in den meisten anderen Studien. Dieser Aspekt sollte in Zukunft verstärkt berücksichtigt werden.

Außerdem führt eine zu intensive Downregulation zu negativen Auswirkungen auf die Ergebnisse der Sterilitätsbehandlung mit niedrigeren Schwangerschaftsraten, was auf die ungünstige Wirkung der GnRH-Agonisten auf das Follikelwachstum und die Eizellen selbst zurückzuführen ist (Seifert et al. 1998).

Hieraus ergibt sich die Rechtfertigung für eine Suche nach geringeren Dosierungen der GnRH-Agonisten, bei denen geringere psychovegetative Symptome und gleich bleibend niedrige Raten an vorzeitiger Luteinisierung zu erwarten sind, bei konstant guten Behandlungsergebnissen/Schwangerschaftsraten.

Ziel der vorliegenden Studie war es, die Effizienz der halbierten Dosis eines **Depot**-GnRH-Agonisten zur Downregulation bezüglich der LH-Suppression vor und der Schwangerschaftsraten nach künstlicher Befruchtung zu prüfen.

In der eigenen Untersuchung fanden sich bei halbierter Standarddosis des Depot-GnRH-Agonisten keine signifikanten Unterschiede gegenüber der Standarddosisgruppe in den Hormonparametern, der Anzahl der gefundenen Oozyten, der Fertilisationsrate pro Punktion und der Schwangerschaftsrate pro Transfer.

Somit kann - in Übereinstimmung mit den meisten anderen Autoren - davon ausgegangen werden, dass auch eine halbe Dosis des GnRH-Agonisten Triptorelinazetat als **Depot** für die notwendige Suppression im downregulierten IvF-Zyklus ausreichend ist.

Allerdings fand sich eine signifikant niedrigere Rate an Fertilisationen und Embryotransferen pro begonnener Stimulation in der Gruppe der Patientinnen mit der halben Dosis, dies ist jedoch auf die Stimulationsabbrüche im Verlauf einer prospektive Studie ("drop outs") zurückzuführen.

Die Frage ist, ob die Tatsache, dass es bei nur einer Patientin der Gruppe mit der halben Dosis wegen vorzeitiger Luteinisierung zu einem Stimulationsabbruch kam, die höhere Dosis eines GnRH-Agonisten generell rechtfertigt.

Um diese Frage präziser zu beantworten, sollten – auch im Sinne der "evidence based medicine" - Dosisvergleichsstudien mit größeren Fallzahlen vorgenommen werden, die auch die sog. Nebenwirkungen in die Untersuchung einbeziehen.

Es muss der Grundsatz gelten, nur so viel Substanz anzuwenden, dass ein vorzeitiger LH-Anstieg und damit eine vorzeitige Ovulation verhindert wird.

Bei höheren Konzentrationen ist zumindest ein negativer Einfluss auf die kumulativen Ergebnisse der IvF-Behandlungen zu erwarten (Seifert et al. 1998).

Nach wie vor gilt die GnRH-Agonisten-Therapie als "gold standard" in der In-vitro-Fertilisation (Felberbaum 1999).

Der Einsatz der GnRH-Antagonisten, bei denen es zu einem niedrigeren Ampullenverbrauch an Gonadotropinen und einer signifikant niedrigeren Rate von Überstimulationssyndromen kommt, wird sicherlich perspektivisch die Stimulationsschemata bei der In-vitro-Fertilisation verändern. Allerdings sind in ersten vergleichenden Studien zwischen GnRH-Agonisten und GnRH-Antagonisten niedrigere Schwangerschaftsraten bei den GnRH-Antagonisten gefunden worden.

Somit scheint auch weiterhin eine Vorbereitung der Stimulationsbehandlung mittels GnRH-Agonisten zur Downregulation im langen Protokoll ihren Stellenwert in der Reproduktionsmedizin zu behalten, jedoch perspektivisch mit geringeren Dosierungen als bisher üblich.

5. Zusammenfassung

In der vorliegenden prospektiv randomisierten Untersuchung wurde der GnRH-Agonist Triptorelinazetat in der Standarddosis 4,12 mg mit der halben Dosis von 2,1 mg als **Depot**injektion zur ovariellen Suppression vor Stimulationsbehandlung mit Gonadotropinen im Rahmen der In-vitro-Fertilisation verglichen, um die Effizienz der halbierten Dosis bezüglich der LH-Suppression und der Schwangerschaftsraten zu prüfen.

Hierzu wurden 200 sterile Patientinnen aus dem Kollektiv der Kinderwunschsprechstunde der DRK-Frauenklinik Berlin-Charlottenburg ausgewählt. Einschlusskriterien waren 18 bis 38-jährige normovulatorische Patientinnen, bei denen eine IvF- oder IvF/ICSI-Therapie geplant war. In der Anamnese bestand kein Hinweis auf “low responder“ in vorangegangenen IvF-Versuchen. Eine eventuell vorausgegangene GnRH-Agonisten-Medikation musste mindestens 8 Wochen zurückliegen.

In beide Studienarme wurden jeweils 100 Patientinnen eingeschlossen, die prospektiv randomisiert 2,1 mg Depot-Triptorelinazetat (Gruppe A) oder 4,12 mg Depot-Triptorelinazetat (Gruppe B) erhielten.

Die Überprüfung der ovariellen Suppression erfolgte mittels Messen der Parameter Östradiol (E2), luteotropes Hormon (LH) und Progesteron (P). Die Stimulationsbehandlung erfolgte mittels humanem menopausen Gonadotropin (HMG) oder rekombinantem FSH. Die durchschnittliche Stimulationsdosis lag bei 225 IU FSH/HMG pro Tag.

Die Östradiol-, LH- und Progesteronbestimmungen wurden am 1. Tag vor Stimulationsbeginn, am 7. Tag der Stimulationsbehandlung, 2 Tage vor Ovulationsinduktion, 1 Tag vor Ovulationsinduktion, am Tag der HCG-Gabe (Ovulationsinduktion) morgens um 8.00 und abends um 22.00 Uhr und am Tag nach der HCG-Gabe durchgeführt.

Bezüglich aller drei Hormonparameter fand sich kein statistisch signifikanter Unterschied, sowohl vor Stimulationsbeginn als auch während der gesamten Stimulationsbehandlung. Es zeigten sich lediglich geringfügig niedrigere Östradiolkonzentrationen bei der vollen Triptorelinazetatdosis, beispielsweise lagen die E2-Werte im Median nach HCG-Gabe bei 2755 pg/ml in der Gruppe A (Triptorelinazetat 2,1 mg) versus 2424 pg/ml in Gruppe B (Triptorelinazetat 4,12 mg). Bezüglich des LH ließen sich zu keinem Zeitpunkt höhere Werte in der Gruppe mit halber Triptorelindosis nachweisen.

Von den 100 ursprünglich erhobenen Patientinnen der Gruppe A brachen 2 Patientinnen aus persönlichen Gründen die IvF-Behandlung ab, so dass insgesamt 98 Patientinnen, die die halbe Dosis (Triptorelinazetat 2,1 mg) erhalten hatten, mit 100 Patientinnen nach Standarddosis bezüglich des Behandlungsverlaufs untersucht werden konnten.

In Gruppe A wurde bei 6 Patientinnen die Therapie aus medizinischen Gründen abgebrochen.

In 5 Fällen erfolgte dies wegen erstmalig erkannter mangelnder Stimulierbarkeit der Ovarien (low response) mit Wachstum von maximal 1-2 Follikeln. In einem Fall allerdings kam es zu einem vorzeitigen LH-peak mit anschließender Luteinisierung, so dass dieser Zyklus wegen nicht erfolgter Downregulation abgebrochen werden musste. In Gruppe B wurden drei Zyklen aus medizinischen Gründen abgebrochen, zwei Therpieabbrüche erfolgten wegen mangelnder ovarieller Reaktion (low response), einmal wegen OHSS III°. In dieser Gruppe kam es zu keiner vorzeitigen Luteinisierung. Die Unterschiede sind nicht signifikant.

Insgesamt wurden 92 Follikelpunktionen in Gruppe A versus 97 Follikelpunktionen in Gruppe B durchgeführt. Die Anzahl der gewonnenen Eizellen pro Punktion betrug in Gruppe A (Triptorelinacetat 2,1 mg) im Median 10 Oozyten versus 11 Oozyten in Gruppe B (Triptorelinazetat 4,2 mg). Dieser Unterschied ist ebenfalls nicht signifikant.

Die Fertilisationsrate pro Follikelpunktion lag in Gruppe A bei 94% (86 von 92), in Gruppe B kam es bei 96 der 97 Patientinnen zu einer Fertilisation (Fertilisationsrate 99%). Hier zeigte sich eine leicht höhere Fertilisationsrate in Gruppe B ($p=0,06$). Diese Unterschiede sind jedoch statistisch noch nicht signifikant. Auch die Fertilisationsraten pro Oozyte (48% versus 50%) zeigten keine signifikanten Unterschiede. Die Transferrate pro Punktion lag in Gruppe A bei 94% versus 99% in Gruppe B (nicht signifikant). Bezieht man jedoch die Rate der Embryotransfere auf die Anzahl begonnener Stimulationen wurden 86 Embryotransfere bei 98 begonnenen Stimulationen in der Gruppe A durchgeführt (88%) versus 96 erfolgte Embryotransfere bei 100 begonnenen Stimulationen in Gruppe B (96%), $p=0,04$. Dieser Unterschied ist signifikant ($p<0,05$).

Die Schwangerschaftsrate pro Follikelpunktion lag in Gruppe A bei 26% versus 28% in Gruppe B (24 Schwangerschaften bei 92 Punktionen versus 27 Schwangerschaften bei 97 Punktionen). Dieser Unterschied ist nicht signifikant. Die Schwangerschaftsrate pro Embryotransfer lag in beiden Gruppen bei 28% (24 von 86 Embryotransferen in Gruppe A versus 27 von 96 Embryotransferen in Gruppe B).

Insgesamt lässt sich also sagen, dass keiner der Hormonparameter Östradiol, LH und Progesteron signifikante Unterschiede nach Downregulation mit halbierter Standarddosis gegenüber der Standarddosis aufwies. Auch die Anzahl der gewonnenen Oozyten (unabhängig vom Reifegrad) und Fertilisationsraten pro Follikelpunktion zeigten keine signifikanten Unterschiede. Bezieht man jedoch die Fertilisationen auf die begonnenen Stimulationen, so zeigte sich eine signifikant bessere Fertilisations- und Embryotransferrate in der Gruppe mit Triptorelinazetat 4,12 mg (Standarddosis), bedingt durch die höhere Anzahl der Behandlungsabbrüche (in Gruppe A 6 versus 3 in Gruppe B). Dies konnte sich jedoch nicht auf die Schwangerschaftsraten auswirken, die bei beiden Gruppen bezogen auf den Embryotransfer mit 28% gleich hoch war.

6. Literatur

1. Abdalla, H., Baber, R., Leonard, T.: Timed oocyte collection in an assisted conception program using GnRH analogue. Hum Reprod 4 (1989) 927-930

2. Abdalla, H., Ahuja, T., Leonard, T., Morris, N., Honour, J., Jacobs, H.: Comparative trial of luteinizing hormone-releasing hormone analog/human menopausal gonadotropin and clomiphene citrate/human menopausal gonadotropin in an assisted conception program. Fertil Steril 53 (1990) 473-478

3. Aboulghar, M. A., Mansour, R. T., Serour, G. I., Amin, Y. M.: The prognostic value of successful in-vitro fertilization in subsequent trials. Hum Reprod 9 (1994) 1932-1934

4. Al-Hasani, S., Küpker, W., Felberbaum, R., Diedrich, C., Sturm, R., Bauer, O., Diedrich, K.: Die intrazytoplasmatische Spermieninjektion unter Verwendung des Mini-Swim-Up-Verfahrens. Fertilität 11 (1995) 111-114

5. Antoine, J., Salat-Baroux, J., Alvarez, S., Cornet, D., Tibi, C., Mandelbaum, J.: Ovarian stimulation using human menopausal gonadotropin with or without LHRH analogues in a long protocol for in vitro fertilisation: a prospective randomised comparison. Hum Reprod 5 (1990) 565-569

6. Arimura, A.: The backstage story of the discovery of LHRH. Endocrinology 129 (1991) 1687-1689

7. Baird, D. T.: A model for follicle selection and ovulation: lessons from superovulation. J Steroid Biochem 27 (1987) 15-23

8. Balasch, J., Gomez, F., Casamitjana, R., Carmona, F., Rivera, F., Vanrell, J. A.: Pituitary-ovarian suppression by the standard and half-doses of D-Trp-6-luteinizing hormone-releasing hormone depot. Hum Reprod 7 (1992) 1230-1234

9. Balasch, J., Manau, D., Mimo, J.: Sequential gonadotrophin-releasing hormone agonist/low-dose oral contraceptive treatment for leiomyomata uteri. Hum Reprod 10 (1995) 529-532

10. Bettendorf, G., Lindner, C.: Ovarielle Funktionsstörungen und deren Therapie. In: Bettendorf, G., Breckwoldt, H. (Hrsg.): Reproduktionsmedizin. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart (1990), S. 427-463

11. Bonduelle, M., Legein J., Buysee, A., Devroey, P., van Steirteghem, A. C., Liebaers, I.: Comparative follow-up study of 130 children born after ICSI and 130 children born after IvF. Abstracts of the 10th Annual Meeting of the ESHRE, Brussels (1994)

12. Bouchard, P., Leroy, I., Christin-Maitre, S., Olivennes, F., Charbonnel, B., Frydman, R.: Perspectives on the use of GnRH antagonists in ovulation induction. In: Filicori, M., Flamigni, C. (Hrsg.): Treatment with GnRH analogs: Controversies and perspectives. Parthenon Publishing Group, New York, London (1995), p. 195-199

13. Breckwoldt, M., Karck, U., Keck, C.: Endokrinologie: Anatomie und Physiologie der weiblichen Geschlechtsorgane. In: Keck, C., Neulen, J., Breckwoldt, M. (Hrsg.): Praxis der Frauenheilkunde. Band I. Thieme, Stuttgart, New York (1997), S. 2-16

14. Broekmans, F. J.: GnRH agonists and uterine leiomyomas. Hum Reprod 11, Suppl. 3 (1996) 3-25

15. Broekmans, F. J., Hompes, P. G. A., Lambalk, C.-B., Schoute, E., Broeders, A., Schoemaker, J.: Short term pituitary desensitization: effects of different doses of the gonadotrophin-releasing hormone agonist triptorelin. Hum Reprod 11 (1996) 55-60

16. Buckett, W. M., Tan, S. L.: Use of GnRH agonists in ovulation induction. In: Filicori, M., Flamigni, C. (Hrsg.): Treatment of infertility: the new frontiers. Communications Media for Education (1998), p. 135-138

17. Burgus, R., Butcher, M., Amoss, M.: Primary structure of the ovine hypothalamic luteinizing hormone-releasing factor (LFR). Proc Natl Acad Sci USA 96 (1972) 278

18. Bühler, K.: Safety aspects of the use of GnRH agonists in benign and malign indications. Gynecol Endocrinol 13, Suppl. 1 (1999) 48

19. Casper, R. F., Armstrong, D. T., Brown, S. E., Daniel, S. A., Yuzpe, A. A., Erskine, H.: In vitro fertilization: determination of follicular maturation for timing of human chorionic gonadotropin administration. Fertil Steril 47 (1987) 345-349

20. Casper, R. F.: Potential benefits of GnRH antagonists in assisted reproduction. Gynecol Endocrinol 13, Suppl. 1 (1999) 15

21. Check, J. H., Lurie, D., Callan, C., Baker, A., Benfer, K.: Comparison of the cumulative probability of pregnancy after in-vitro fertilization-embryo transfer by infertility factor and age. Fertil Steril 61 (1994) 257-263

22. Cirkel, U.: Medical treatment of symptomatic endometriosis. Hum Reprod 11, Suppl. 3 (1996) 89-102

23. Daya, S.: The outcome of gonadotropin releasing hormone agonist (GnRHa) administration in early pregnancy. Gynecol Endocrinol 13, Suppl. 1 (1999) 49

24. Deutsches IvF-Register, Jahrbuch 1996

25. Deutsches IvF-Register, Jahrbuch 1997

26. Deutsches IvF-Register, Jahrbuch 1998

27. Devroey, P., Albano, C., Smitz, J., Felberbaum, R., Diedrich, K.: New concepts in COS-ART related to the use of LHRH antagonists. Gynecol Endocrinol 13, Suppl. 1 (1999) 16

28. Diedrich, K.: Neue Wege in Diagnostik und Therapie der Sterilität. Enke, Stuttgart (1990)

29. Diedrich, K., Felberbaum, R., Baumann, P.: Assistierte Reproduktion – Ein Überblick. Gynäkologe 29 (1996) 413-419

30. Edwards, R. G., Handyside, A. H.: Future developments in IVF. Br Med Bull 46 (3) (1990) 823-841

31. Elgendy, M., Afnan, M., Holder, R., Lashen, H., Afifi, Y., Lenton, W., Sharif, K.: Reducing the dose of gonadotrophin-releasing hormone agonist on starting ovarian stimulation: effect on ovarian response and in-vitro fertilization outcome. Hum Reprod 13 (1998) 2382-2385

32. Embryonenschutzgesetz: Annahme eines Gesetzesentwurfes durch den Deutschen Bundestag vom 10.10.1990 mit Gültigkeit ab dem 01.01.1991 (1990)

33. Fauser, B.: Endocrinological findings during treatment with Ganirelix (Orgalutran®). Gynecol Endocrinol 13, Suppl. 1 (1999) 13

34. Felberbaum, R.: New Lamps for old? – Agonists vs antagonists in ART. Gynecol Endocrinol 13, Suppl. 1 (1999) 23

35. Felberbaum, R., Diedrich, K.: Klinischer Einsatz der GnRH Analoga im Rahmen der Sterilitätstherapie: Agonisten und Antagonisten. Gynäkologe 29 (1996) 420-432

36. Felberbaum, R. Diedrich, K.: Use of GnRH antagonists in ovulation induction. In: Filicori, M., Flamigni, C. (Hrsg.): Treatment of infertility: the new frontiers. Communications media for education (1998) p. 139-151

37. Feldberg, D., Dicker, D., Farhi, J., Shalev, J., Ashkenazi, J., Ben-Rafael, Z.: Minidose gonadotropin-releasing hormone agonist is the treatment of choice in poor responders with high follicle-stimulating hormone levels. Fertil Steril 62 (1994) 343-346

38. Filicori, M., Hall, D., Loughin, J.: A conservative approach to the management of uterine leiomyomata: pituitary desensitisation by a luteinizing hormone-releasing hormone analogue. Am J Obstet Gynecol 147 (1983) 726-729

39. Filicori, M., Cognini, G. E., Arnone, R., Falbo, A., Pocognoli, C., Tabarelli, C., Carbone, F., Ciampaglia, W., Pari, C., Casadio, P.: Endocrine and clinical characteristics of different GnRH agonist regimens used for gonadotropin ovulation induction. In: Filicori, M., Flamigni, C. (Hrsg.): Treatment with GnRH analogs: Controversies and perspectives. Parthenon Publishing Group, New York, London (1995), p. 183-187

40. Filicori, M., Cognini, G. E., Arnone, R., Carbone, F., Falbo, A., Tabarelli, C., Ciampaglia, W., Casadio, P., Spettoli, D., Pecorari, R.: Role of different GnRH agonists regimens in pituitary suppression and the outcome of controlled ovarian hyperstimulation. Hum Reprod 11, Suppl. 3 (1996) 123-132

41. FIVNAT: French national IVF registry: analysis of 1986 to 1990 data. Fertil Steril 59 (1993) 587-595

42. Fleming J., Haxton, M. J., Hamilton, M. P., McCune, G. S., Black, W. P., MacNaughton, M. C., Coutts, J. R.: Successful treatment of infertile women with oligomenorrhoea using a combination of an LH-RH agonist and exogenous gonadotrophins. Br J Obstet Gynaecol 92 (1985) 369-373

43. Fleming, J., Coutts, J. R. T.: Induction of multiple follicular growth in normally menstruating women with endogenous gonadotropin suppression. Fertil Steril 45 (1986) 226-230

44. Ganirelix dose-finding study group: A double-blind, randomized, dose-finding study to assess the efficacy of the gonadotrophin-releasing hormone antagonist ganirelix (Org 37462) to prevent premature luteinizing hormone surges in women undergoing ovarien stimulation with recombinant follicle stimulating hormone (Puregon ®). Hum Reprod 13 (1998) 3023-3031

45. Gembruch, U., Diedrich, K., Al-Hasani, S., Welker, B., Wahode, J., van der Ven, H., Krebs, D.: Transvaginale, ultraschall-kontrollierte Follikelpunktion. Geburtsh Frauenheilk 48 (1988) 617-624

46. Hillier, S. G.: Roles of follicle stimulating hormone and luteinizing hormone in controlled ovarian hyperstimulation. Hum Reprod 11, Suppl. 3 (1996) 113-121

47. Hodgen, G.: GnRH agonists and antagonists in ovarien stimulation. Hum Reprod 11, Suppl 1 (1996) 123-136

48. Hull, M. G. R.: Indications for assisted conception. Br Med Bull 46 (1990) 580-595

49. Hull, M. G. R., Glazener, C., Kelly, N., Conway, D., Foster, P., Hinton, R., Coulson, C., Lambert, P., Watt, E., Desai, K.: Population studies of causes, treatment and outcome of infertility. Br Med J 291 (1985) 1693-1697

50. Janssens, R., Lambalk, C., Vermeiden, J., Schats, R., Schoemaker, J., Mak, S.: Dose-finding study of triptorelin acetate for prevention of premature LH surge: a prospektive, randomized, double-blind, placebo-controlled study. Hum Reprod 13, Abstract Book 1 (1998) 49-50

51. Jones, H. W. Jr.: What has happened? Where are we? In: Human conception in-vitro. Hum Reprod 11 (1996) 7-24

52. Karck, U.: GnRH und seine Analoga, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart (1996)

53. Kentenich, H.: Die In Vitro Fertilisation im Rahmen einer Kinderwunschsprechstunde unter besonderer Berücksichtigung psychosozialer Gesichtspunkte. Habilitationsschrift, vorgelegt am Fachbereich 3 -UKRV- der Freien Universität Berlin (1989)

54. Kentenich, H.: Männliche Subfertilität als limitierender Faktor. Alete Wissenschaftlicher Dienst, Jubiläumsveranstaltung der Gesellschaft für Geburtshilfe und Gynäkologie in Berlin, 12.-14. Mai 1994 (1994)

55. Kentenich, H., Pachaly, J., Schmiady, H., Schönegg, W., Radke, E., Dincer, C., Stauber, M.: Prognostischer Wert von Spermiogrammparametern für den IVF-Erfolg. Fertilität 3 (1987) 151-156

56. Kentenich, H., Sabri, O., Schmiady, H., Schönegg, W., Stauber, M.: Lohnt es sich, kleinere Follikel zu punktieren? Zur Abhängigkeit von Follikelgröße und Teilungsrate. In: Schirren, C., Semm, K. (Hrsg.): Fortschritte der Fertilitätsforschung, Band 16. Grosse, Berlin (1988), S. 270

57. Kentenich, H., Würfel, W.: IvF bei ungewollter Kinderlosigkeit. Ein Weg mit Chancen. Informationsbroschüre der Kinderwunschsprechstunde der DRK-Frauenklinik, Pulsstraße. Organon GmbH (Hrsg.), Oberschleißheim (1996)

58. Kerin, J. F., Warnes, G. M.: Monitoring of ovarian response to stimulation in in-vitro fertilization cycles. Clin Obstet Gynecol 29 (1986) 158-170

59. Kingsland, C., Tan, S., Bickerton, N., Mason, B., Campbell, S.: The routine use of gonadotropin-releasing hormone agonists for all patients undergoing in vitro fertilisation. Is there any medical advantage? A prospective randomized study. Fertil Steril 57 (1992) 804-809

60. Kubic, C., Guzick, D., Berga, S., Zeleznik, A.: Randomized, prospective trial of leuprolide acetate and conventional superovulation in first cycles of in vitro fertilisation and gamete intrafallopian transfer. Fertil Steril 54 (1990) 836-841

61. Küpker, W., Al-Hasani, S., Bauer, O., Diedrich, K.: Neue Techniken der assistierten Befruchtung. Fertilität 10 (1994) 216-220

62. Labrie, F.: GnRH agonists in prostate cancer. In: Lunenfeld, B.,Insler, V. (Hrsg.): GnRH analogues: State of the art, Parthenon Publishing Group, New York, London (1993), p. 103-122

63. Lehmann, F., Diedrich,K, van der Ven, H., Al-Hasani, S., Hamerich, U., Krebs, D.: Die Durchführung der laparoskopischen Follikelpunktion und Eizellgewinnung zur in vitro Fertilisation. Geburtsh Frauenheilk 44 (1984) 388-391

64. Leidenberger, F. A., Ahrendt, H.-J., Bamberger, A.-M., Brill, K., Cirkel, U., Elger, W., Höppner, W., Huber, J., Luderschmidt, Ch., Moltz, L., Mukhopadhyay, A., Naether, O. G. J., Rudolf, K., Schulte, H. M., Schulze, W., Stahnke, N., Teichmann, A. T., Tinneberg, H. R., Weise, H.-Ch.: Klinische Endokrinologie für Frauenärzte, 2. Aufl., Springer Verlag (1998)

65. Lewit, N., Kol, S., Manor, D., Itskovitz-Eldor, J.: The use of GnRH analogs for induction of the preovulatory gonadotropin surge in assisted reproduction and prevention of the ovulatory hyperstimulation syndrome. Gynecol Endocrinol 9, Suppl. 4 (1995) 13-18

66. Leyendecker, G., Wildt, L., Hansmann, M.: Pregnancies following chronic intermittent (pulsatile) administration of GnRH by means of protable pump (”Zyklomat”) - A new approach of the treatment of infertility in hypothalmic amenorrhea. J Clin Endocrinol 51 (1980) 1214-1216

67. Lindner, C., Braendle, W., Lichtenberg, V.: Ovarian response and pregnancy rates in In Vitro fertilization, gamete intrafallopian transfer, and in In Vitro fertilization therapies after combined gonadotropin-releasing hormone agonist/human menopausal gonadotropin stimulation. Gynecol Obstet Invest 29 (1990) 140

68. MacLachlan, V., Besanko, M., O'Shea, F., Wade, H., Wood, C., Trounson, A., Healy, D.: A controlled study of luteinizing hormone-releasing hormone agonist (buserelin) for the induction of folliculogenesis before in vitro fertilisation. N Engl J Med 320 (1989) 1233-1237

69. Maheux, R.: GnRH agonists: an alternative to surgery? Hum Reprod 11, Suppl. 3 (1996) 43-50

70. Maheux, R., Gilloteau, C., Lemay, A.: Luteinizing hormone-releasing hormoen agonists and uterine leiomyoma: a pilot study. Am J Obstet Gynecol 152 (1985) 1034-1038

71. Maheux, R., Lemay, A., Blanchet, P.: Maintained reduction of uterine leiomyoma following addition of hormonal replacement therapy to a monthly luteinizing hormone-releasing hormone agonist implant: a pilot study. Hum Reprod 6 (1991) 500-505

72. Mannaerts, B., Oberyé, J., Peters, M., Orlemans, E.: Introducing the new GnRH antagonist Ganirelix (Orgalutran®). Gynecol Endocrinol 13, Suppl. 1 (1999) 12

73. Marcus, S., Edwards, E.: High rates of pregnancy after long-term down-regulation of women with severe endometriosis. Am J Obstet Gynecol 171 (1994) 812-817

74. Maroulis, G., Emery, M., Verkauf, B., Saphier, A., Bernhisel, M., Yeko, T.: Prospective randomized study of human menotropin versus a follicular and a luteal phase gonadotropin-releasing hormone analog – human menotropin stimulation protocols for in vitro fertilisation. Fertil Steril 55 (1991) 1157-1164

75. Martin, M., Gives, C., Schriock, E., Glass, R., Dandekar, P.: The choice of a gonadotropin-releasing hormone analog influences outcome of in vitro fertilization treatment. Am J Obstet Gynecol 170 (1994) 1629-1634

76. Matsuo, H., Baba, Y., Nair, R., Arimura, A. Schally, A.: Structure of porcine LH and FSH releasing factor. I. The proposed amino acid sequence. Biochem Biophys Res Commun 43 (1971) 1334

77. Matta W. H., Shaw, R. W., Burford, G. D.: Endocrinology and clinical evaluation following a single administration of a gonadotropin-releasing hormone agonist (Zoladex), in a depot formulation, to premenopausal women. Fertil Steril 49 (1988) 163-165

78. Meldrum, D. R., Chang, R. J., Lu, J., Vale, W., Rivier, J., Judd, H. L.: ”Medical oophorectomy” using a long-acting GnRH agonist - a possible new approach to the treatment of endometriosis. J Clin Endocrinol Metab 54 (1982) 1081-1083

79. Michelmann, H. W., Tinneberg, H. R., Weisner, D., Mettler, L.: Die transvaginale ultraschallkontrollierte Follikelpunktion im Rahmen der menschlichen in vitro Fertilisation. Geburtsh Frauenheilk 47 (1987) 619-622

80. Naether, O. G. J., Baukloh, V., Fischer, R.: Einfluss andrologischer Parameter auf den Ausgang der in-vitro-Fertilisation (IvF) - Verdoppelung der andrologischen Indikation innerhalb von 6 Jahren. Fertilität 11 (1995) 107-110

81. Nakamura, K., Oosawa, M., Kondou, I., Inagaki, S., Shibata, H., Narita, O., Suganuma, N., Tomody, Y.: Menotropin stimulation after prolonged gonadotropin releasing hormone agonist pretreatment for in vitro fertilisation in patients with endometriosis. J Assist Reprod Genet 92 (1992) 113-117

82. Neulen, J.: Reproduktionsmedizin; Rationelle Therapie der weiblichen Sterilität. In: Keck, C., Neulen, J., Breckwoldt, M. (Hrsg.): Praxis der Frauenheilkunde, Band I. Thieme, Stuttgart, New York (1997), S. 124-148

83. Neveu, S., Hedon, B., Bringer, J., Chinchole, J. M., Arnal, F., Hurneau, C., Cristol, P., Viala, J. L.: Ovarian stimulation by a combination of a gonadotropin-releasing hormone agonist and gonadotropins for in vitro fertilization. Fertil Steril 47 (1987) 639-643

84. Olivennes, F., Belaisch-Allart, J., Emperaire, J. C., Hedon, B., Alvarez, S., Moreau, L., Nicollet, B., Zorn, J. R., Bouchard, P., Frydman, R.: Comparison in a prospective multicentric randomized study in IVF-ET of a single dose of GnRH antagonist (Cetrorelix) to a GnRH agonist long protocol (Triptoreline in depot formula). Gynecol Endocrinol 13, Suppl. 1 (1999) 14

85. Porcu, E., Dal Prato, L., Seracchioli, R., Fabbri, R., Petracchi, S., Flamigni, C.: GnRH agonists and assisted reproduction outcome. In: Filicori, M., Flamigni, C. (Hrsg.): Treatment with GnRH analogs: Controversies and perspectives. Parthenon Publishing Group, New York, London (1995), p. 189-194

86. Porter, R. N., Smith, W., Craft, I. L., Abdulwahid, N. A., Jacob, H. S.: Induction of ovulation for in-vitro fertilization using buserelin and gonadotropins. Lancet 2 (1984) 1284-1285

87. Radowicki, S., Koczorowski, R., Olszewska, D.: Bone mass density (BMD) after 12 month treatment with aGnRH. Gynecol Endocrinol 13, Suppl. 1 (1999) 59

88. Radowicki, S., Koczorowski, R., Skórzewska, K.: Hormonal profile women treated with Triptorelin. Gynecol Endocrinol 13, Suppl. 1 (1999) 59

89. Rietmüller-Winzen, H., Siebert-Weigel, M., Prothmann, A.: Safety aspects of GnRH antagonists. Gynecol Endocrinol 13, Suppl. 1 (1999) 50

90. Rivier, J., Jiang, G.-C., Lahrichi, S. L., Porter, J., Koerber, S. C., Rizo, J., Corrigan, A., Gierasch, L., Hagler, A., Vale, W., Rivier, C.: Dose relationship between GnRH-antagonists and pituitary suppression. Hum Reprod 11, Suppl. 3 (1996) 133-147

91. Ron-El, R., Herman, A., Golan, A., Nachum, H., Soffer, Y., Caspi, E.: Gonadotropins and combined gonadotropins protocols in a randomized prospective study. Fertil Steril 55 (1991) 574-578

92. Runnebaum, B., Breckwoldt, M.: Leuprorelinacetat – Ein neues GnRH-Analogon. Grundlagen und Klinik, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg (1992)

93. Rutherford, A.: Improvement on in-vitro fertilization after treatment with buserelin, an agonist of luteinizing hormone releasing hormone. Br Med J 296 (1988) 1965-1968

94. Rutherford, A., Subak-Sharpe, R., Dawson, K., Margara, R., Franks, S., Winston, R.: Improvement of in vitro fertilization after treatment with buserelin, an agonist of luteinizing hormone releasing hormone. Br Med J 296 (1988) 1765-1768

95. Samuel, F. M., Brinsden, P. R., Macnamee, M., Rainsbury, P. A., Elder, K. T., Edwards, R. G.: Comparative trial between an ultra-short and long protocol of luteinizing hormone-releasing hormone agonist for ovarian stimulation in in-vitro fertilization. Hum Reprod 3 (1993) 238-243

96. Schoemaker, J., Scheele, F., Broekmans, F. J. M., Janssens, M. J.: GnRH analogs in in vitro fertilization: to dose or overdose? Gynecol Endocrinol 9, Suppl. 4 (1995) 3-6

97. Seifert, B., Hein, H., Käsbauer, J., Libl, A., Seifert, D.: Der Effekt wiederholter Down-Regulationen mit Decapetyl-Depot auf die klinischen Behandlungsergebnisse der IVF-ET während 3 Zyklen. Fertilität 13 (1998) 206-211

98. Siler-Khodr, T. M.: GnRH agonist and the trophoblast and embryo. Gynecol Endocrinol 13, Suppl. 1 (1999) 49

99. Simon, A., Benshushan, A., Shushan, A., Zajicek, G., Dorembus, D., Lewin, A, Laufer, N.: A comparison between a standard and reduced dose of D-Trp-6-luteinizing hormone-releasing hormone administered after pituitary suppression for in-vitro fertilization. Hum Reprod 9 (1994) 1813-1817

100. Smitz, J., Devroey, P., Braeckman, P.: Management of failed cycles in a IVF/GIFT programme with the combination of a GnRH analogue and HMG. Hum Reprod 2 (1987) 309-314

101. Society for Assisted Reproductive Technology (SART): Assisted reproducitve technology in the United States and Canada: 1992 results generated from the American Fertility Society/Society for Assisted Reproductive Technology Registry. Fertil Steril 59 (1993) 1239-1244

102. Society for Assisted Reproductive Technology (SART): Assisted reproducitve technology in the United States: 1996 results generated from the American Fertility Society/Society for Assisted Reproductive Technology Registry. Fertil Steril 71 (1999) 798-807

103. Steptoe, P. C., Edwards, R. G.: Birth after the reimplantation of a human embryo. Lancet 2 (1978) 366

104. Tan, S. L.: Use of oral contraceptive and LHRH agonist for patient scheduling in ART. Gynecol Endocrinol 13, Suppl. 1 (1999) 21

105. Tarlatzis, B., Mannaerts, B.: Clinical outcome of a multi-center trial of Ganirelix (Orgalutran®) in women undergoing controlled ovarien hyperstimulation. Gynecol Endocrinol 13, Suppl. 1 (1999) 13

106. Tsai, H.-D., Chen, C. M., Lo, H. Y., Chang, C. C.: Subcutaneous low dose leuprolide acetate depot versus leuprolide acetate for women undergoing ovarian stimulation for in-vitro fertilization. Hum Reprod 10 (1995) 2909 - 2912

107. Tuckey, J. W.: Exploratory data analysis. Addison-Wesley Publishing Company, Reading, Massachusetts (1977)

108. van der Ven, H.: Neue Aspekte der Inseminationsbehandlung. In: Diedrich, K. (Hrsg.): Neue Wege in Diagnostik und Therapie der weiblichen Sterilität. Enke, Stuttgart (1987) S. 104

109. van der Ven, Runnebaum, Diedrich, Vogt, Geisthövel, Würfel, Michelmann: Stellungnahme der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe und der Arbeitsgemeinschaft für gynäkologische Endokrinologie und Fortpflanzungsmedizin: Empfehlungen zur Durchführung der intrazytoplasmatischen Spermieninjektion (ICSI) als Zusatzmaßnahme bei IVF-ET-Therapie. Frauenarzt 36 (6) (1995) 618-619

110. van Steirteghem, A. C., Liu, J., Joris, H., Nagy, Z., Janssenswillen, C., Tournaye, H., Derde, M. P., van Assche, E., Devroey, P.: Higher success rate by intracytoplasmasmic sperm injection than by subzonal insemination. Report of a second series of 300 consecutive treatment cycles. Hum Reprod 8 (1993) 1055-1060

111. Vargyas, J. M., Morente, C., Shangold, G., Marrs, R. P.: The effect of different methods of ovarian stimulation for in vitro fertilization and embryo transfer replacement. Fertil Steril 42 (1984) 745-749

112. Verteilungsfreie Vertrauensgrenzen für Quantile stetiger Verteilungen. In: Wiss. Tabellen Geigy. Teilband Statistik. 8. Auflage. Ciba-Geigy-AG Basel (1980), S. 103 und 198

113. Watanabe, Y., Nozaki, M., Nakamura, G.-I., Sano, M., Matsuguchi, H., Nakano, H.: Efficacy of a low-dose leuprolide acetate depot in the treatment of uterine leiomyomata in Japanese women. Fertil Steril 58 (1992) 66-71

114. Wildt, L., Diedrich, K., van der Ven, H.: Ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization controlled by GnRH agonist administered in combination with human menopausal gonadotrophins. Hum Reprod 1 (1986) 15-19

115. Yuzpe, A. A., Nisker, J. A., Kaplan, B. R., Tummon, I. S., Auckland, J.: Nafarelin acetate for pituitary down-regulation in in-vitro fertilization: Comparison of two dosages. J Reprod Med 40 (1995) 83-88

116. Zorn, J.-R., Barata, M., Brami, C., Epelboin, S., Nathan, C., Papageorgiou, G., Quantin, P., Rolet, F., Savale, M., Boyer, P., Guichard, A., Cedard, L., Comaru-Schally, A., Schally, A.: Ovarian stimulation for in vitro fertilization combining administration gonadotrophins and blockade of the pituitary with D-Trp^{6}-LHRH microcapsules: pilot studies with two protocols. Hum Reprod 3 (1988) 235-239

7. Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. H. Kentenich möchte ich für die Überlassung des Themas und die wertvollen Anregungen ebenso wie für die Unterstützung und Betreuung recht herzlich danken.

Insbesondere danke ich Herrn Dr. med. A. Tandler-Schneider, Fertility Center Berlin für die vielseitige Unterstützung und gute Betreuung .

Des Weiteren möchte ich mich sehr bei Herrn Dipl. Physiker J. Pachaly, Bereich Dokumentation und Statistik der Universitäts-Frauenklinik der Charité, Campus Virchow bedanken.