

**Korrelation der Ergebnisse der Polkörperdiagnostik  
mit patientenspezifischen Indikationen**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Hohen Medizinischen Fakultät  
Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität  
Bonn

vorgelegt von  
Mareike Sabarstinski  
aus Gera  
2007

Angefertigt mit Genehmigung der  
Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. med. H. van der Ven
2. Gutachter: Prof. Dr. D. Klingmüller

Tag der Mündlichen Prüfung: 04. Mai 2007

Aus der Abteilung für Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin  
Zentrum für Geburtshilfe und Frauenheilkunde der Universität Bonn  
Direktor: Prof. Dr. med. H. van der Ven

Die Dissertation ist auf dem Hochschulschriftenserver der ULB Bonn [http://hss.ulb.uni-bonn.de/diss\\_online](http://hss.ulb.uni-bonn.de/diss_online) elektronisch publiziert.

## Inhaltsverzeichnis

<b>Inhaltsverzeichnis</b>	<b>3</b>
<b>1 Einleitung</b>	<b>6</b>
1.1 Einführung in die Thematik der Polkörperdiagnostik	6
1.2 Assistierte Reproduktion (IVF und ICSI)	7
1.2.1 Mikroskopische Beurteilung der Eizelle im Vorkernstadium	10
1.2.2 Mikroskopische Beurteilung der Morphologie und Teilungsgeschwindigkeit des Embryos	10
1.2.3 Pränataldiagnostik (PND)	11
1.2.4 Präimplantationsdiagnostik (PID)	12
1.2.5 Polkörperdiagnostik (PKD)	15
1.3 Geschichte der Polkörperdiagnostik	15
1.4 Prinzip der Polkörperbiopsie	16
1.5 Indikationen der Polkörperdiagnostik	19
1.6 Zielsetzung und Fragestellung der Arbeit	21
<b>2 Material und Methoden</b>	<b>23</b>
2.1 Definitionen	23
2.2 Untersuchungsgruppen	24
2.3 Vorbehandlung	26
2.4 Durchführung der Polkörperbiopsie	26
2.4.1 Zeitlicher Ablauf der Polkörperdiagnostik	26
2.4.2 Biopsie-Methoden	29
2.4.3 Nachweis numerischer und struktureller Chromosomenfehlverteilungen	30
2.5 Embryotransfer und Bestimmung des Implantationserfolges	33
2.6 Statistische Verfahren	34
<b>3 Ergebnisse</b>	<b>37</b>
3.1 Vergleich des gesamten PKD-Patientenkollektivs mit dem Kollektiv der Kontrollgruppe	37
3.1.1 Vergleich der Patientenkollektive im Alter unter 35 Jahren	39
3.1.2 Vergleich der Patientenkollektive im Alter zwischen 35 und 39 Jahren	41
3.1.3 Vergleich der Patientenkollektive im Alter über 40 Jahren	43

3.2	Vergleich des gesamten PKD-Patientenkollektivs mit dem Kollektiv der Kontrollgruppe unterteilt nach Vorversuchen	45
3.2.1	Vergleich der Patientenkollektive im Alter unter 35 Jahren unterteilt nach Vorversuchen	49
3.2.2	Vergleich der Patientenkollektive im Alter zwischen 35 und 39 Jahren unterteilt nach Vorversuchen	53
3.2.3	Vergleich der Patientenkollektive im Alter über 40 Jahren unterteilt nach Vorversuchen	56
3.3	Vergleich der Untersuchungsgruppen innerhalb ihrer jeweiligen Altersklassen	60
3.3.1	Vergleich der Polkörperpatientinnen in verschiedenen Alterskategorien	61
3.3.2	Vergleich der Kontrollgruppe in verschiedenen Alterskategorien	64
3.4	Separater Vergleich der Polkörpergruppe mit der Kontrollgruppe anhand festgelegter Kriterien	67
3.5	Polkörperdiagnostik-Zyklen in Abhängigkeit von Vor-Aborten	69
3.5.1	PKD-Zyklen aller Altersklassen in Abhängigkeit von Vor-Aborten	70
3.5.2	PKD-Zyklen der unter 35-jährigen in Abhängigkeit von Vor-Aborten	75
3.5.3	PKD-Zyklen der 35- bis 39-jährigen in Abhängigkeit von Vor-Aborten	76
3.5.4	PKD-Zyklen der über 40-jährigen in Abhängigkeit von Vor-Aborten	80
3.6	Korrelation zwischen mütterlichem Alter und Eizellanzahl	84
<b>4</b>	<b>Diskussion</b>	<b>86</b>
4.1	Polkörperdiagnostik und Präimplantationsdiagnostik - Methoden zur genetischen Diagnostik	86
4.2	Fragestellung der Arbeit	88
4.3	Sammelauswertung des Vergleichs der gesamten Polkörpergruppe mit der Gesamtkontrollgruppe	89
4.3.1	Vergleich der Patientenkollektive mit und ohne Polkörperdiagnostik unter 35 Jahren	90
4.3.2	Vergleich der Patientenkollektive mit und ohne Polkörperdiagnostik zwischen 35 und 39 Jahren	91
4.3.3	Vergleich der Patientenkollektive mit und ohne Polkörperdiagnostik über 40 Jahren	92

4.4	Sondervergleich der Polkörpergruppe mit der Kontrollgruppe anhand festgelegter Kriterien	93
4.5	Aborte	94
4.6	Eizellen	95
4.7	Sammelauswertung der Vergleiche innerhalb der jeweiligen Kollektive	96
4.7.1	Vergleich innerhalb des Polkörperkollektivs	96
4.7.2	Vergleich innerhalb des Kontrollkollektivs	97
4.8	Sammelauswertung der PKD-Zyklen in Abhängigkeit von Vor-Aborten	99
4.8.1	Vergleich der PKD Zyklen aller Altersklassen in Abhängigkeit von Vor-Aborten	100
4.8.2	Vergleich der PKD-Zyklen der 35-jährigen in Abhängigkeit von Vor-Aborten	101
4.8.3	Vergleich der PKD-Zyklen der 35- bis 39-jährigen in Abhängigkeit von Vor-Aborten	101
4.8.4	Vergleich der PKD-Zyklen der über 40-jährigen in Abhängigkeit von Vor-Aborten	102
4.9	Grenzen und Möglichkeiten der Polkörperdiagnostik	102
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>107</b>
<b>6</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>109</b>
<b>7</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>115</b>
<b>8</b>	<b>Danksagung</b>	<b>116</b>

# 1 Einleitung

## 1.1 Einführung in die Thematik der Polkörperdiagnostik

Der unerfüllte Kinderwunsch ist ein Problem, welches in der westlichen Welt zunehmend häufiger auftritt. In Europa liegt die Zahl der ungewollt kinderlosen Paare derzeit bei ca. 15%. Auf Deutschland bezogen bleiben somit mehr als etwa zwei Millionen Paare mit Kinderwunsch innerhalb eines Jahres kinderlos (Diedrich, 2003).

Die Gründe für eine ungewollte Kinderlosigkeit sind vielfältig und verteilen sich zu jeweils ca. 40% auf Mann und Frau.

Störungen der weiblichen Fertilität können hypothalamisch-hypophysär, ovariell, tubar, uterin, zervikal, vaginal, psychisch oder extragenital bedingt sein. Als häufigste hormonelle und funktionelle bzw. organische Ursachen sind Eileiterverschluss, Funktionsstörungen der Eierstöcke, Endometriose, Myome und Gebärmutterfehlbildungen zu nennen (Breckwoldt und Keck, 2001).

Männliche Unfruchtbarkeit kann auf Störungen im hypothalamisch-hypophysären Regelkreis und primärer Schädigung der Hoden mit Beeinflussung der Spermienproduktion beruhen; des Weiteren kommen Transportstörungen im Bereich der Samenwege, immunologische Sterilität in Form von Spermatozoenautoantikörpern, psychische und extragenitale Ursachen in Frage (Breckwoldt und Keck, 2001).

Bei etwa 10% ist die Ursache der Kinderlosigkeit bei beiden Partnern gleichermaßen begründet. Störungen der Interaktion in der Partnerschaft, Antikörper gegen Spermien, gestörte Samenzell-Eizell-Interaktion und Störungen in der Embryonalentwicklung können hierfür maßgebend sein.

In weiteren 10% lassen sich trotz intensiver Untersuchungen weder beim Mann noch bei der Frau Erklärungen für die ungewollte Kinderlosigkeit finden (idiopathische Sterilität). Neben den organischen, immunologischen und biologischen Ursachen können psychische Aspekte, Umweltbelastungen, Stress, Rauchen und ungesunde Ernährung die Fruchtbarkeit beeinträchtigen.

Des Weiteren spielt die gesellschaftliche Entwicklung eine Rolle. Durch die verbesserte Möglichkeit zur Verhütung entscheiden sich heutzutage viele Frauen erst für eine berufliche Karriere und in einem höheren Alter für die Planung einer Familie (Griesinger et al., 2004).

Selbst unter optimalen Bedingungen beträgt die Wahrscheinlichkeit, auf natürlichem Wege schwanger zu werden, nur ca. 20% pro Monatszyklus. Die Aussichten für ein Paar, durch eine medizinische Behandlung zu einem Kind zu gelangen, hängt von der Schwere der Fruchtbarkeitsstörung, dem Alter der Frau und der Behandlungsmethode ab.

Dennoch kann der Hälfte aller Paare mit einem Sterilitätsproblem durch medizinische Maßnahmen geholfen werden. Die gegenwärtigen Behandlungsmöglichkeiten variieren und können im Einzelfall von einer hormonellen Stimulation bis zur künstlichen Befruchtung reichen.

Insbesondere der Fortschritt in den Methoden der assistierten Reproduktion - der In-vitro-Fertilisation (IVF) und der intracytoplasmatischen Spermieninjektion - hat in den letzten Jahren zu einer entscheidenden Erfolgsverbesserung in der Kinderwunschbehandlung beigetragen.

Mit dem Einsatz der genetischen Diagnostik (Präimplantationsdiagnostik, Polkörperdiagnostik) im Rahmen einer Maßnahme der assistierten Reproduktion kann die Erfolgsrate der künstlichen Befruchtung gegebenenfalls weiter erhöht werden.

## **1.2 Assistierte Reproduktion (IVF und ICSI)**

Die In-vitro-Fertilisation und die intracytoplasmatische Spermieninjektion sind Methoden der assistierten Reproduktion.

Die grundlegenden Ziele der künstlichen Befruchtung sind die Steigerung von Schwangerschaftsraten und die Reduktion von Mehrlingsschwangerschaften und Fehlgeburten.

Die In-vitro-Fertilisation (IVF) mit nachfolgendem Embryotransfer wurde ursprünglich zur Behandlung von Frauen mit verschlossenen Eileitern (tubare Sterilität) entwickelt; sie

wird heute aber auch bei mittelschweren männlichen Fruchtbarkeitsstörungen, bei Endometriose und bei idiopathischer Sterilität mit Erfolg eingesetzt.

Bei dieser Methode handelt es sich um ein heute gesellschaftlich akzeptiertes Verfahren zur Vereinigung von Eizelle und Samenzelle im Reagenzglas (extrakorporale Befruchtung). Dabei wird nach Aufbereitung des Ejakulats (Swim-up-Verfahren) die Insemination mit rund 50 000 Spermatozoen durchgeführt.

Innerhalb von 16 Stunden bilden sich nach Eindringen des Spermiums in die Eizelle ein männlicher und weiblicher Vorkern (Pronuclei). In diesem Vorkernstadium sind die mütterlichen und väterlichen Erbinformationen noch nicht verschmolzen; sie liegen getrennt vor. Eine erfolgreiche Insemination wird definiert als Vorhandensein von zwei Vorkernen sowie zwei Polkörpern. Während im Rahmen des deutschen Embryonenschutzgesetzes (EschG) nur maximal drei der Zygoten kultiviert und transferiert werden dürfen, müssen die restlichen vor der Befruchtung, also der Verschmelzung der Pronuclei, kryokonserviert werden (EschG, 1990). Das EschG untersagt die Befruchtung von mehr Eizellen, als innerhalb eines Behandlungszyklus übertragen werden sollen §1(1) 5, wobei Befruchtung als Verschmelzung der Vorkerne definiert wird.

1978 wurde der erste Erfolg dieser Methode mit der Geburt von Louise Brown in England verbucht (Felberbaum, 2003).

In Deutschland wurde die IVF-Methode erstmals 1982 von fünf Zentren angeboten. Die damals dokumentierte Anzahl von Behandlungszyklen betrug 742 (Deutsches IVF-Register, 2003).

Im Jahr 2003 haben 114 deutsche Zentren die In-vitro-Fertilisation angeboten und 28058 Behandlungszyklen durchführen können (Deutsches IVF-Register, 2003). Im Vergleich zum Jahr 1982 ist dies eine Steigerung um den Faktor 37,8.

Die intracytoplasmatische Spermieninjektion (ICSI) ist eine neuere, seit 1992 beim Menschen eingesetzte Weiterentwicklung der IVF-Methode, bei welcher eine einzige Samenzelle mit einer Mikronadel (Innendurchmesser 0,005 mm) direkt ins Zytoplasma der Eizelle eingespritzt wird. Zur Mikroinjektion wird ein Invertmikroskop verwendet (Montag et al., 1997).



Mit ICSI erzielt man weltweit Erfolge bei Behandlung von männlicher Subfertilität bis hin zur Azoospermie. Der Ablauf für das Paar ist identisch mit der IVF-Methode.

Seit 1994 wurde die ICSI in deutschen Zentren eingesetzt. Im Jahr 2002 wurde die ICSI in 112 Zentren angeboten. Die 1994 dokumentierten 5856 Behandlungszyklen sind innerhalb von acht Jahren auf 51389 Behandlungszyklen angestiegen (Deutsches IVF-Register, 2003).

Molekulargenetischen Untersuchungsmethoden wie die Präimplantationsdiagnostik und Polkörperdiagnostik erfordern vorab den Einsatz einer ICSI.

Die postnatale Entwicklung bzw. das Fehlbildungsrisiko der Kinder nach assistierter Reproduktion wurde bisher kritisch hinterfragt. Die Annahme eines erhöhten Risikos für Fehlbildungen in der Schwangerschaft und bei der Geburt nach IVF bzw. ICSI konnte bisher nicht belegt werden (Schröder et al., 2003a).

Möglicherweise steht die beobachtete erhöhte Fehlbildungsrate der In-vitro-Kultur nach IVF und ICSI in Zusammenhang mit sterilitätsassoziierten und genetischen Hintergrundrisiken der Kinderwunschpatienten (Schröder et al., 2003a).

Indes konnte man ein steigendes Abortrisiko nach assistierter Reproduktion mit dem Vorhandensein vorheriger Aborte, einem mütterlichem Alter über 35 Jahren sowie der Implantation von kryokonservierten Eizellen belegen (Kupka et al., 2004).

Es bieten sich derzeit mehrere Möglichkeiten zur Beurteilung der Eizelle bzw. des Embryos/Fetus:

- Mikroskopische Beurteilung der Eizelle im Vorkernstadium (siehe Abschnitt 1.2.1)
- Mikroskopische Beurteilung der Morphologie und Teilungsgeschwindigkeit des Embryos (siehe Abschnitt 1.2.2)
- Pränataldiagnostik (siehe Abschnitt 1.2.3)
- Präimplantationsdiagnostik (siehe Abschnitt 1.2.4)
- Polkörperdiagnostik (siehe Abschnitt 1.2.5)

### **1.2.1 Mikroskopische Beurteilung der Eizelle im Vorkernstadium**

Mit Hilfe lichtmikroskopischer Untersuchungen lassen sich im Vorkernstadium anhand der Morphologie Aussagen zur Qualität der Eizelle treffen (Montag et al., 2001).

Die prognostische Relevanz besteht in der erhöhten Wahrscheinlichkeit auf eine gute Embryonalentwicklung. Anhand der morphologischen Beurteilung nach dem so genannten „Pronucleus-Scoring“ kann beim Einsetzen „ideal“ eingestufte Eizellen mit bestimmten Vorkernmustern eine deutlich höhere Schwangerschaftsrate erzielt werden (37% versus 26%) (Montag und van der Ven, 2003).

Diese Beurteilung muß jedoch innerhalb eines kurzen Zeitraumes stattfinden. Es können lediglich Aussagen über die Korrelation zwischen Morphologie und Entwicklung der Eizelle getroffen werden, jedoch nicht zu eventuell vorhandenen Chromosomenfehlverteilungen, so genannten Aneuploidien. Diese sind nur im Rahmen der Präimplantationsdiagnostik oder der Polkörperdiagnostik möglich.

### **1.2.2 Mikroskopische Beurteilung der Morphologie und Teilungsgeschwindigkeit des Embryos**

Zwecks Beurteilung der Morphologie der Embryonen wird eine Art „Punktesystem“ bzw. ein „Embryoscore“ genutzt, in dem optische Kriterien über einen Zeitraum von drei bis fünf Tagen beurteilt werden (Griesinger et al., 2004; Schröder et al., 2003b). Darin werden Symmetrie und Intaktheit der zellulären Strukturen bewertet. Hinzu kommt die Bewertung der Teilungsrate; prognostisch günstig ist eine zeitgerechte kontinuierliche Weiterentwicklung der Zygote (Montag und van der Ven, 2003).

Analog der Beurteilung der Eizellen im Vorkernstadium ist der Transfer potenter Embryonen, die weder morphologische noch zeitlich entwicklungsbedingte Auffälligkeiten zeigen, für eine Erhöhung der Schwangerschaftsrate relevant.

Nachteile dieses Verfahrens liegen in den Einschränkungen des deutschen Embryonenschutzgesetzes (EschG, 1990). Da nur maximal drei Embryonen kultiviert und somit länger beurteilt werden dürfen, ist in vielen Fällen keine Eizelle mit hohem Einnistungspotential vorhanden. Da der Transfer von nicht lebensfähigen Embryonen als nicht sinnvoll erscheint, ist es diskussionswürdig, ob eine Erhöhung der Weiterkultivierung auf mindestens sechs Eizellen im Vorkernstadium gewährleistet werden sollte (Frommel, 2002; Montag und van der Ven, 2002; Schröder et al., 2003b).

Des Weiteren können mit dieser Methode im Embryonalstadium, analog dem Vorkernstadium der Eizelle, keine Aussagen zu dem Aneuploidierisiko gemacht werden.

### **1.2.3 Pränataldiagnostik (PND)**

Die Pränataldiagnostik ist die Diagnostik kindlicher Erkrankungen und Fehlbildungen von der Einnistung in die Gebärmutter bis zur Geburt. Somit fällt jede Vorsorgeuntersuchung der Schwangeren unter eine pränataldiagnostische Maßnahme. Die PND bietet die Möglichkeit, Entwicklungsstörungen des Ungeborenen eingeschränkt zu therapieren oder sich frühzeitig gegen eine Austragung des Kindes zu entscheiden. Der daraus resultierende Ausdruck „Schwangerschaft auf Probe“ drückt die Inkaufnahme eines Abortes aus (Diedrich, 2003).

Man unterscheidet die oft unzuverlässigen nicht-invasiven Methoden wie mütterliche Blutuntersuchungen, Ultraschall und Kardiotokographie von den invasiven:

#### *Chorionzottenbiopsie/Plazentazottenbiopsie*

Eine Gewinnung von Zellen durch Biopsie des Chorion frondosum oder der Plazenta kann ca. in der 10. bis 12. Schwangerschaftswoche durchgeführt werden. Es bietet sich die Möglichkeit der Chromosomendarstellung aus Direkt-Präparation (Ergebnis nach einem Tag) als auch aus einer Langzeitkultur (Ergebnis nach zwei bis drei Wochen).

Das Eingriffsrisiko bei transabdominaler Punktion beträgt 0,3 bis 0,5% (Gloning und Brusis, 1989).

#### Amniozentese (Fruchtwasserpunktion)

Ab der 15. Woche können fetale Zellen aus dem Fruchtwasser gewonnen werden. Eine Chromosomendarstellung und Virusnachweise aus Zellkultur dauert ca. zwei bis drei Wochen und eine FISH-Analyse der Chromosomen 21, 18, 13, X, Y liegt nach ca. einem Tag vor.

Das Eingriffsrisiko ist analog zu dem der Chorionzottenbiopsie (Gloning und Brusis, 1989).

#### Chordozentese (Nabelschnurpunktion)

Ab der 20. Woche hat man Zugang zum fetalen Kreislauf: Es bieten sich die Möglichkeit zur Untersuchung fetalen Blutes und direkte Behandlung des Fetus.

Das Eingriffsrisiko beträgt 0,3 - 1% (Gloning und Brusis, 1989).

Die bei der PND häufig vorgefundenen numerischen Chromosomenfehlverteilungen (insbesondere der Trisomie 21) wären mit einer genetischen Diagnostik am Embryo (Präimplantationsdiagnostik, siehe Abschnitt 1.2.4) sicher sowie mit einer Diagnostik an der Eizelle (Polkörperdiagnostik, siehe Abschnitt 1.2.5) zu einem hohen Prozentsatz vermeidbar.

### **1.2.4 Präimplantationsdiagnostik (PID)**

Bei der PID (englisch: preimplantation genetic diagnosis, PGD) handelt es sich um eine genetische Untersuchung am Embryo vor Embryotransfer (Handyside et al., 1990).

Die 1990 vorgestellte Methode beruht auf der Entnahme von ein bis zwei Blastomeren im 8-12-Zell-Stadium des menschlichen Embryos mit anschließender genetischer Diagnostik (siehe Abbildung 1) (Handyside et al., 1990).

Alternativ bietet sich die Entnahme von Zellen im Blastozystenstadium an (Veiga et al., 1997). Diese Möglichkeit ist ethisch unbedenklicher (Schonung der inneren Zellmasse),

jedoch auf dem heutigen Stand der Forschung bislang problematisch umzusetzen (näher beschrieben: Strowitzki, 2003).

Diagnostische Methoden der PID sind modifizierte PCR-Methoden (nested PCR; Fluoreszenz-PCR; multiplex PCR) sowie die Darstellung bestimmter Chromosomen mittels Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH).



**Abbildung 1 Präimplantationsdiagnostik am Maus-Embryo**

Indikationen für die Durchführung einer PID sind Aneuploidie-Testung, Prädispositionsdiagnostik von malignen Erkrankungen, insbesondere monogen bedingten Erkrankungen, sowie die Möglichkeit der Geschlechterwahl aus medizinischen und nichtmedizinischen Gründen. Während letztere in der Regel auf fraglichen sozialen und kulturellen Hintergründen beruht, wird eine medizinische Geschlechterwahl vornehmlich bei den bislang über 200 X-chromosomalen identifizierten Erbkrankheiten eingesetzt (Handyside et al., 1990).

Derzeit bieten weltweit ca. 40 bis 60 Zentren die PID an. In Europa ist die PID in Deutschland, Irland, Österreich und der Schweiz gesetzlich verboten bzw. nicht Gesetzes-konform durchführbar.

In Deutschland ist nach dem EschG die genetische Untersuchung von totipotenten Embryonalzellen (Zellen bis zum 8-Zell-Stadium) untersagt, jedoch wäre eine Diagnostik an Zellen im pluripotenten Stadium, somit dem Blastozystenstadium, nach §1, I Nr.2

und §2, I Nr.2 des EschG rein rechtlich möglich (EschG, 1990; Nationaler Ethikrat, 2003, 2004). Schwerpunkt der politischen Diskussionen über die PID und deren Zulassung ist die Unantastbarkeit der Menschenwürde, die im Artikel 1 des Grundgesetzes verankert ist (Art. 1 Abs. 1 Satz 2 GG).

Vorteile der PID sind die Detektion schwerwiegender genetischer Erbkrankheiten, die eine sehr hohe familiäre Belastung mit sich führen.

Somit wäre die PID gleichzeitig auch eine Alternative für Paare, die nicht den Weg der Pränataldiagnostik - also einer „Schwangerschaft auf Probe“ - gehen möchten bzw. aus kulturellen Gründen nicht mit einem eventuellen Spätabbruch einverstanden sind (Hardy und Handyside, 1992).

Ein weiterer Vorteil besteht darin, dass mit Hilfe der PID Rückschlüsse auf die Störungen des paternalen Erbgutes sowie eventuelle Fehlvorgänge während der Meiose und Zygotenbildung möglich sind (Gianaroli et al., 1997).

Offensichtlicher Nachteil des PID-Verfahrens ist, dass es nicht bei einer Beobachtung des Embryos bleibt, sondern in Form von Zellentnahmen zu einem Eingriff in dessen Substanz kommt (Koch, 2003). Die Schutzbedürftigkeit des ungeborenen Lebens sowie die Verfügung über den Menschen und dessen Würde ist unter ethischen Aspekten nicht zu ignorieren (Hüppe, 2003). Zudem sind noch nicht genügend Kinder nach PID auf die Welt gekommen, um eindeutige Aussagen über die eventuellen Folgen dieses Eingriffs bezüglich der Entwicklung treffen zu können.

Des Weiteren stehen die Argumentationen einer Diskriminierung aufgrund genetischer Merkmale im Vordergrund. Beim so genannten „social sexing“ kommt es zu einer Geschlechterselektion ohne Krankheitswert (Strowitzki, 2003). Auch werden Gefahren der Diskriminierung im Bereichen des Versicherungs- und Arbeitsrecht gesehen (Reiche, 2003).

Auf die Einschränkung der Kryokonservierung nach genetischer Diagnostik wird in Abschnitt 4.9 dieser Arbeit eingegangen.

### **1.2.5 Polkörperdiagnostik (PKD)**

Die Polkörperdiagnostik wird zum indirekten Nachweis von numerischen und strukturellen Chromosomenstörungen in der menschlichen Eizelle im Rahmen einer Maßnahme der assistierten Reproduktion eingesetzt. Eine Erfassung monogener Erkrankungen ist mit Einschränkung möglich.

Die Diagnose erfolgt über den ersten und zweiten Polkörper, deren Abschnürung im Laufe der meiotischen Reifeteilung bzw. nach dem Eindringen des Spermiums erfolgt und für die weitere Entwicklung des Embryos keine Rolle spielt (Montag et al., 2002).

Die PKD erfordert keine invasive Manipulation am Embryo. Untersucht wird die Eizelle während des Vorkernstadiums, das Embryonalstadium liegt erst ab dem Stadium der Verschmelzung beider Vorkerne vor. Daher kann man die PKD auch als Präfertilisationsdiagnostik bezeichnen (Montag et al., 2002).

Die PKD bietet den Ländern eine diagnostische Alternative, in denen Embryobiopsien aufgrund gesetzlicher Bestimmungen nicht durchgeführt werden dürfen (Deutschland, Schweiz, Österreich).

### **1.3 Geschichte der Polkörperdiagnostik**

1990 wurde die Methode der Polkörperdiagnostik erstmals von der Arbeitsgruppe um Yuri Verlinsky in Chicago vorgestellt (Verlinsky et al., 1990). Die Vorreiter auf diesem Gebiet der genetischen Diagnostik an der menschlichen Eizelle haben seitdem mehr als 1700 Behandlungszyklen zu verzeichnen.

International wird die Polkörperdiagnostik zur Detektion von numerischen Chromosomenfehlverteilungen (Aneuploidien) und strukturellen Chromosomenstörungen (Translokationen) sowie monogenen Erkrankungen der Eizelle angewandt. In der Regel erfolgt eine Absicherung der gestellten Diagnosen mit der Präimplantationsdiagnostik.

Die Möglichkeit zur PKD bieten derzeit weltweit acht bis zehn Zentren an.

In Deutschland wird die In-vitro-Fertilisation und somit die Möglichkeit zur Polkörperdiagnostik in Bonn, Hamburg, Karlsruhe, Kiel, Lübeck, München und Wiesbaden eingesetzt. Indikationsstellungen sind numerische und strukturelle Chromosomenstörungen.

Seit 1997 beschäftigt man sich an der Frauenklinik der Universität Bonn mit der PKD. Nach ausreichend tierexperimenteller Vorarbeit und positivem Ethikvotum wird seit Mai 2001 bei Patientinnen mit fortgeschrittenem Alter die Polkörperdiagnostik angewandt. Die erste Geburt nach PKD in Deutschland wurde von der Bonner Arbeitsgruppe erzielt und mitgeteilt (van der Ven et al., 2002).

#### **1.4 Prinzip der Polkörperbiopsie**

Die PKD erlaubt eine indirekte Aussage über die genetische Beschaffenheit der Eizelle durch Biopsie und Analyse der Polkörper (Montag et al., 2003).

Während der Reifung der Eizelle, der Meiose, kommt es innerhalb von zwei Reifeteilungen zur Reduktion des diploiden Chromosomensatzes der Urkeimzelle auf einen einfachen, in den Gameten enthaltenen haploiden Satz. Bei anschließender Befruchtung können somit weibliche und männliche Gameten zu einer Zygote verschmelzen, die dann wiederum den normalen diploiden Satz - in Form einer Kombination aus mütterlicher und väterlicher Erbanlage - enthält.

Die erste Reifeteilung beginnt unmittelbar vor dem Eisprung und dient dazu, die diploiden homologen Chromosomen zu separieren und zu einem haploiden Satz zu reduzieren. Bei diesem Vorgang wird durch Ausschleusen der Chromosomen ein erster Polkörper - meist am animalen Pol der Eizelle - abgeschnürt, welcher einen identischen Chromosomensatz zu dem in der Eizelle verbleibenden Chromosomensatz aufweist. Die Induktion der zweiten Reifeteilung erfolgt durch Eindringen eines Spermiums in die Eizelle. Sie ähnelt einer mitotischen Teilung, da in dieser Phase der Meiose die Schwesterchromatiden getrennt werden. Es findet eine erneute Abschnürung und Bildung eines Polkörpers, dem zweiten Polkörper, statt.



Aufgrund der Tatsache, dass sich Polkörper und Eizelle wie „Bild und Spiegelbild“ verhalten, lassen sich durch Biopsie der Polkörper und Darstellung derer Chromosomen und Chromatiden Rückschlüsse auf die der Eizelle ziehen (Montag et al., 2002).

Lässt sich im Rahmen der Aneuploidie-Testung im Polkörper ein überschüssiges Chromosom bzw. Chromatid darstellen, kann man auf eine Monosomie in der befruchteten Eizelle schließen. Analog muss beim Fehlen eines Chromosoms bzw. Chromatids im Polkörper dieses während der vorangegangenen Meiose in der Eizelle verblieben sein. Resultierend würde man in der Eizelle nach Befruchtung eine Trisomie vorfinden.

Letztere Variante, fehlende Chromosomen bzw. Chromatide in Polkörpern mit daraus resultierenden Aneuploidien der Eizelle (meist Trisomien), findet man häufiger als umgekehrt (Kuliev et al., 2003).

Diese maternal bedingten Trisomien entstehen zum Großteil während der ersten Meiose (77, 1%), während nur 22,9% aus der zweiten resultieren (Verlinsky und Kuliev, 1996). Als eine mögliche Ursache der häufigeren Fehlverteilung wird ein Zusammenhang zwischen dem mütterlichen Alter und der altersabhängigen Reduktion der meiotischen Rekombination vermutet (siehe Abbildung 3) (Sherman et al., 1994; Hassold et al., 1995).

Rein prozentual reduziert sich allein bei der Untersuchung des ersten Polkörpers und dessen Chromosomenverteilung die Aneuploidierate der gebildeten Embryonen um mindestens zwei Drittel (Kuliev et al., 2003a; Munné et al., 1995).

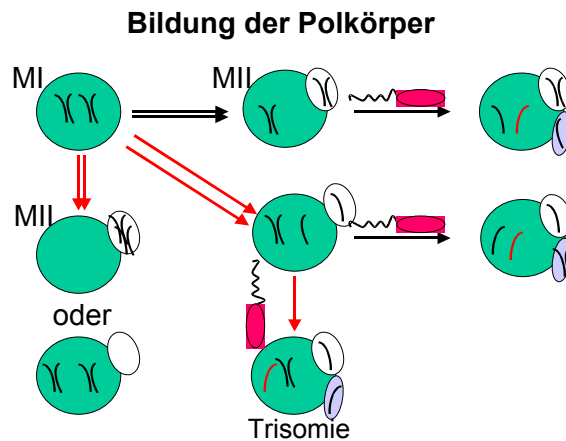
Die höhere Fehlverteilung während der ersten Meiose zeichnet sich in 63,5% in vermehrten Chromatiden-Fehlverteilungen aus, wovon mehrheitlich Chromatiden in Polkörpern fehlen (48,1%) (Kuliev et al., 2003a).

Nur bei 6,4% der resultierenden Aneuploidien während der ersten Meiose handelt es sich um komplette Chromosomenfehlverteilungen, bei denen es sich ebenso vermehrt um fehlende Chromosomen handelt (5,9%) (Kuliev et al., 2003a).

Bei einem Drittel der Aneuploidien lassen sich Fehlverteilung während der zweiten Meiose, somit bei der Diagnostik des zweiten Polkörpers, finden. Da zum Teil noch Fehlverteilungen aus der ersten Meiose resultieren, lassen sich nach der zweiten

Reifeteilung häufiger Chromatidfehlverteilungen als komplette Chromosomenfehlverteilungen finden (Chromatid/Chromosomenfehlerrate 9:1) (Kuliev et al., 2003a).

Am Beispiel der folgenden Abbildung lässt sich die Variabilität der numerischen Fehlverteilungen darstellen:



**Abbildung 2 Variabilität der numerischen Fehlverteilungen bei der maternalen Meiose**

Der Nachweis von bekannten strukturellen Chromosomenstörungen (Translokationen) beruht auf demselben Prinzip wie das der Aneuploidie-Testung. Es ergeben sich lediglich zeitliche Abweichungen sowie ein modifiziertes Färbeprotokoll bei der Darstellung der Polkörper.

Die Polkörperdiagnostik im Ausland zielt neben der Aneuploidie-Testung und dem Nachweis struktureller Chromosomenfehler zusätzlich auf die Detektion monogener Erbkrankheiten (meist x-rezessive und autosomal-rezessive Erbkrankheiten). Diese Methode beruht auf der Tatsache, dass bestimmte Patientinnen als Konduktoren (d.h. heterozygot für eine rezessive Erbkrankheit sind und somit phänotypisch unauffällig) für

das rezessive Gen fungieren. Findet sich nun im Polkörper eine homozygote Form des entsprechend krankmachenden Gens, ist die heterozygote Form des Gens während der Reifeteilung in der Eizelle verblieben. Diese befruchtete Eizelle wäre prinzipiell für den Transfer geeignet (Verlinsky et al., 1994; Verlinsky und Kuliev, 1996).

Da die Fehldiagnosen aber relativ häufig sind, werden diese Indikationen in der Regel mit einer Präimplantationsdiagnostik abgesichert (Montag et al., 2003).

Sowohl bei der Polkörperdiagnostik als auch bei der PID (siehe Abschnitt 1.2.4) findet sich eine Einschränkung der Kryokonservierung.

Bisher konnte nach Auftauen und erfolgreichem Embryotransfer keine klinische Schwangerschaft herbeigeführt werden (Montag, 2004; nach persönlicher Mitteilung).

Als mögliche Ursache wird der Einfluss der bleibenden Öffnung nach Biopsie in der Zona pellucida diskutiert (Strowitzki, 2003).

## **1.5 Indikationen der Polkörperdiagnostik**

Eine Polkörperdiagnostik dient im Rahmen einer assistierten Reproduktion dem indirekten Nachweis von Chromosomenfehlverteilungen in der menschlichen Eizelle ohne invasive Manipulation am Embryo.

Eingesetzt wird die PKD insbesondere bei Patientinnen im fortgeschrittenen Alter. Da die Auftretenswahrscheinlichkeit für Veränderung der genetischen Beschaffenheit der Eizellen (Aneuploidierate) mit zunehmendem Alter der Frau steigt (siehe Abbildung 3), kann die PKD zu einer Verbesserung von Schwangerschafts- und Geburtenrate bzw. Minimierung der Abortrate führen (Verlinsky et al., 1996, 1998).

Eine weitere Indikationsstellung für die Durchführung einer PKD ist bei drei oder mehr Aborten unklarer Genese sowie Aborten mit rezidivierenden Aneuploidien gegeben.

Insbesondere Patientinnen mit mehr als drei erfolglosen IVF-Versuchen sowie bekannten Chromosomenstörungen (Aneuploidien/Translokationen) wird die Möglichkeit zu einer PKD angeboten (Montag et al., 2003).

Schließlich bietet sich mit der PKD eine Alternative für die Patientinnen, die eine belastende PND umgehen möchten, aber dennoch eine, wenn auch eingeschränkte, genetische Diagnostik wünschen (Ludwig et al., 2001; Schwinger, 2004; Verlinsky und Kuliev, 1996).

### Korrelation Alter – Aneuploidierate

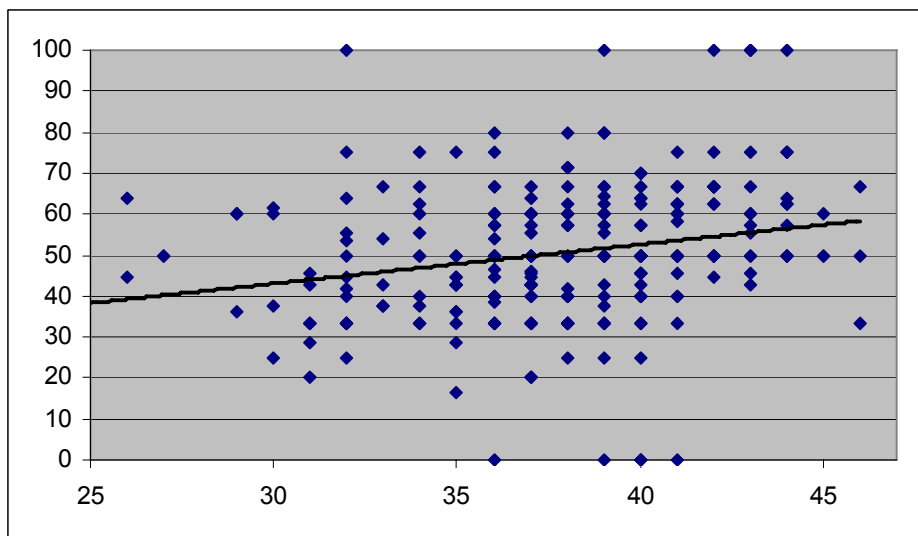


Abbildung 3 Abhängigkeit zwischen mütterlichem Alter und Aneuploidierate der Eizelle

International wird die PKD zum Nachweis von numerischen Chromosomenstörungen (Aneuploidien), strukturellen Chromosomenstörungen (Translokationen) sowie monogener Erbkrankheiten in der Eizelle eingesetzt.

In Deutschland hat sich die Testung numerischer und struktureller Chromosomenaberrationen durchgesetzt. Die Detektion der letztgenannten Methode - Nachweis monogener Erbkrankheiten - wird unter enormen zeitlichem und personellem Aufwand nur in zwei Zentren in Deutschland angeboten (siehe Abschnitt 1.3).

## 1.6 Zielsetzung und Fragestellung der Arbeit

Ziel dieser retrospektiven Arbeit ist es, mittels Vergleich zweier Patientenkollektive die Indikationsstellungen einer Polkörperdiagnostik herauszuarbeiten.

Als Grundlage dienen ein Patientenkollektiv von 205 Patientinnen, die sich in dem Zeitraum von Mai 2001 bis Januar 2004 291 Behandlungszyklen im Rahmen der Polkörperdiagnostik an der Frauenklinik der Universität Bonn unterzogen haben, sowie ein Gesamtpatientenkontrollkollektiv von 853 Patientinnen, die im selben Zeitraum 1266 Zyklen mit intracytoplasmatischer Spermieninjektion ohne Polkörperbiopsie erhalten haben.

Die Frauenklinik der Universität Bonn ist eines der 114 Zentren in Deutschland, das im Rahmen der Kinderwunschbehandlung zusätzlich zu der Methode der In-vitro-Fertilisation (IVF) die intracytoplasmatischen Spermieninjektion (ICSI) anbietet (Deutsches IVF-Register, 2003).

Mit einem stetigen Zuwachs an ICSI-Behandlungen konnten im Jahr 2003 deutschlandweit 51389 Behandlungszyklen verzeichnet werden, analog zu der Anzahl der 28058 durchgeführten IVF-Behandlungen (Deutsches IVF-Register, 2003).

Weitere Fragestellungen, die sich bei der Studie ergaben, sind:

- Inwieweit können im Rahmen der Auswertung dieser retrospektiven Arbeit Daten für eine angestrebte prospektive Studie gewonnen werden (Ermöglichung der prospektiven Datenformung, d.h. ein Behandlungszyklus wird noch vor Abschluss der Therapie gemeldet und der Verlauf kontinuierlich ergänzt)?
- Inwieweit spielt der Faktor mütterliches Alter eine Rolle für den Erfolg der assistierten Reproduktion mit Polkörperdiagnostik?
- Kann die Höhe der Vor-Aborte der Patienten die Aussicht auf eine erfolgreiche Schwangerschaft beeinflussen?
- Gibt es eine Korrelation zwischen bereits vorausgegangenen Schwangerschaften und Erfolg der assistierten Reproduktion mit Polkörperdiagnostik?
- Welchen Einfluss übt die Anzahl der Vorversuche auf die Baby-take-home-Rate aus?

- Inwieweit beeinflusst die Korrelation mütterliches Alter - Eizellanzahl den Schwangerschaftserfolg?
- Welche Bedeutung kann dem Zusammenhang zwischen dem mütterlichen Alter und der Aneuploidierate der Eizelle für eine erfolgreiche Schwangerschaft beigemessen werden?

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Definitionen

#### Embryonen pro Transfer

Summenzahl der zurückgesetzten Embryonen pro Transfer im Rahmen eines Behandlungszyklus

#### Schwangerschaft:

Als Schwangerschaft wird derjenige Zustand bezeichnet, in dem ein positiver HCG-Wert (human chorionic gonadotropine) im Harn und im Blutserum (mittels RIA, ELISA) nachgewiesen werden kann. Somit fallen auch serologische Schwangerschaften unter diesen Begriff.

#### Klinische Schwangerschaft:

Von einer klinischen Schwangerschaft spricht man, wenn vier Wochen nach Embryotransfer sonographisch mindestens eine Fruchthöhle festgestellt wird.

#### Klinische Schwangerschaften pro Embryotransfer:

Die klinische Schwangerschaftsrate pro Embryotransfer errechnet sich durch folgende Formel:

$$\frac{\text{Summenzahl der klinischen Schwangerschaft}}{\text{Summenzahl der durchgeführten Transfers ( x 0,01)}}$$

#### Implantationsrate pro transferierten Embryo:

Mit Hilfe folgender Formel lässt sich die Implantationsrate pro Embryotransfer errechnen: (Hull et al., 1996)

$$\frac{\text{Summenzahl der sonographisch beobachteten Fruchthöhlen}}{\text{Summenzahl der transferierten Embryonen ( x 0,01)}}$$

Abort:

Vorzeitige Beendigung einer klinischen Schwangerschaft (spontan oder induziert)

Baby-take-home-Rate:

Die Baby-take-home-Rate stellt das Verhältnis der Summenzahl der geborenen Kinder zu den durchgeführten Behandlungs- bzw. Transferzyklen dar:

$$\frac{\text{Summenzahl der geborenen Kinder}}{\text{Summenzahl der durchgeführten Behandlungszyklen ( x 0,01)}}$$

bzw.

$$\frac{\text{Summenzahl der geborenen Kinder}}{\text{Summenzahl der durchgeführten Transferzyklen ( x 0,01)}}$$

primäre Sterilität

Zustand der Unfruchtbarkeit ohne bisherige Konzeption

sekundäre Sterilität

Zustand der Unfruchtbarkeit nach bereits vorangegangener Schwangerschaft

**2.2 Untersuchungsgruppen**

Die statistischen Daten dieser Studie wurden aus zwei Patientenkollektiven ermittelt, die im Rahmen einer Kinderwunschbehandlung zwischen Mai 2001 und Januar 2004 in der Bonner Frauenklinik erfasst wurden. Dabei wurden in die Studie 205 PKD-Patientinnen mit 291 Behandlungszyklen sowie 853 Patientinnen mit 1266 Zyklen aus der Kontrollgruppe eingeschlossen.

Sämtliche Daten wurden aus einer prospektiven Datenbank aller in Bonn durchgeführten Behandlungszyklen ermittelt.



Vor Durchführung der Behandlung wurden die Patientinnen neben humangenetischen Voruntersuchungen umfassenden andrologischen, gynäkologischen und zytogenetischen Untersuchungen unterzogen (Montag et al., 1997).

Voraussetzung für die Einbeziehung der Patientinnen samt Behandlungszyklen in die Studie spielten folgende Kriterien:

- Normale Anatomie des Uterus
- Regelmäßigkeit im Menstruationszyklus und fehlende Hinweise auf Menopause
- Regelrechte Ovulation basierend auf der Bestimmung des Serum-Progesteron-Spiegels (< 30 nmol/l)
- Keine Kontraindikationen zur Schwangerschaft
- Negatives Testergebnis für Serum Hepatitis-B-Antigen und - Antikörper sowie für HIV-Antikörper
- Behandlung erfolgte nach einem standardisierten Stimulationsprotokoll
- Normaler FSH-Spiegel während der frühen Follikelphase
- Erfolgreiche Fertilisation (Vorhandensein von befruchteter Eizelle mit zwei Vorkernen am Tag 1 nach der Follikelpunktion)
- Allen Patientinnen wurden am Tag 3 nach der Follikelpunktion höchstens drei Embryonen transferiert.
- Zum Transfer kamen nur frische Embryonen

Kriterien für eine IVF-Behandlung waren tubare und idiopathische Sterilität sowie Endometriose, immunologische Faktoren und kombinierte Ursachen.

Indikationen für die Durchführung einer Polkörperdiagnostik waren vorangegangene Schwangerschaften mit habituellen Aborten, ein mütterliches Alter von über 35 Jahren sowie eine ausbleibende Schwangerschaft nach drei vorangegangenen Embryotransfers mit qualitativ geeigneten Embryonen (Montag et al., 2003).

## **2.3 Vorbehandlung**

Um mit Hilfe der Vorbehandlung durchschnittlich sechs bis acht Eizellen pro Zyklus zu gewinnen, kommen die Methoden der ovariellen Stimulation, Ovulationsinduktion, Unterstützung der Lutealphase und Spermatozoenaufbereitung sowie Follikelpunktion zur Anwendung (Diedrich et al., 1985; Gembruch et al., 1988a, 1988b; Montag et al., 1997; Testart et al., 1981). Bei diesen handelt es sich um grundlegende Voraussetzungen für eine geplante künstliche Befruchtung. Diese Methoden wurden bereits mehrfach beschrieben.

## **2.4 Durchführung der Polkörperbiopsie**

### **2.4.1 Zeitlicher Ablauf der Polkörperdiagnostik**

Der zeitliche Ablauf der Polkörperdiagnostik macht aufgrund der zeitlich begrenzten Vorgaben des Embryonenschutzgesetzes ein optimiertes Vorgehen erforderlich (siehe Abbildung 4) (EschG, 1990; Montag et al., 2004a).

Der erste Tag der Polkörperdiagnostik beginnt mit der Imprägnation der Eizelle mit Hilfe der intracytoplasmatischen Spermieninjektion (ICSI).

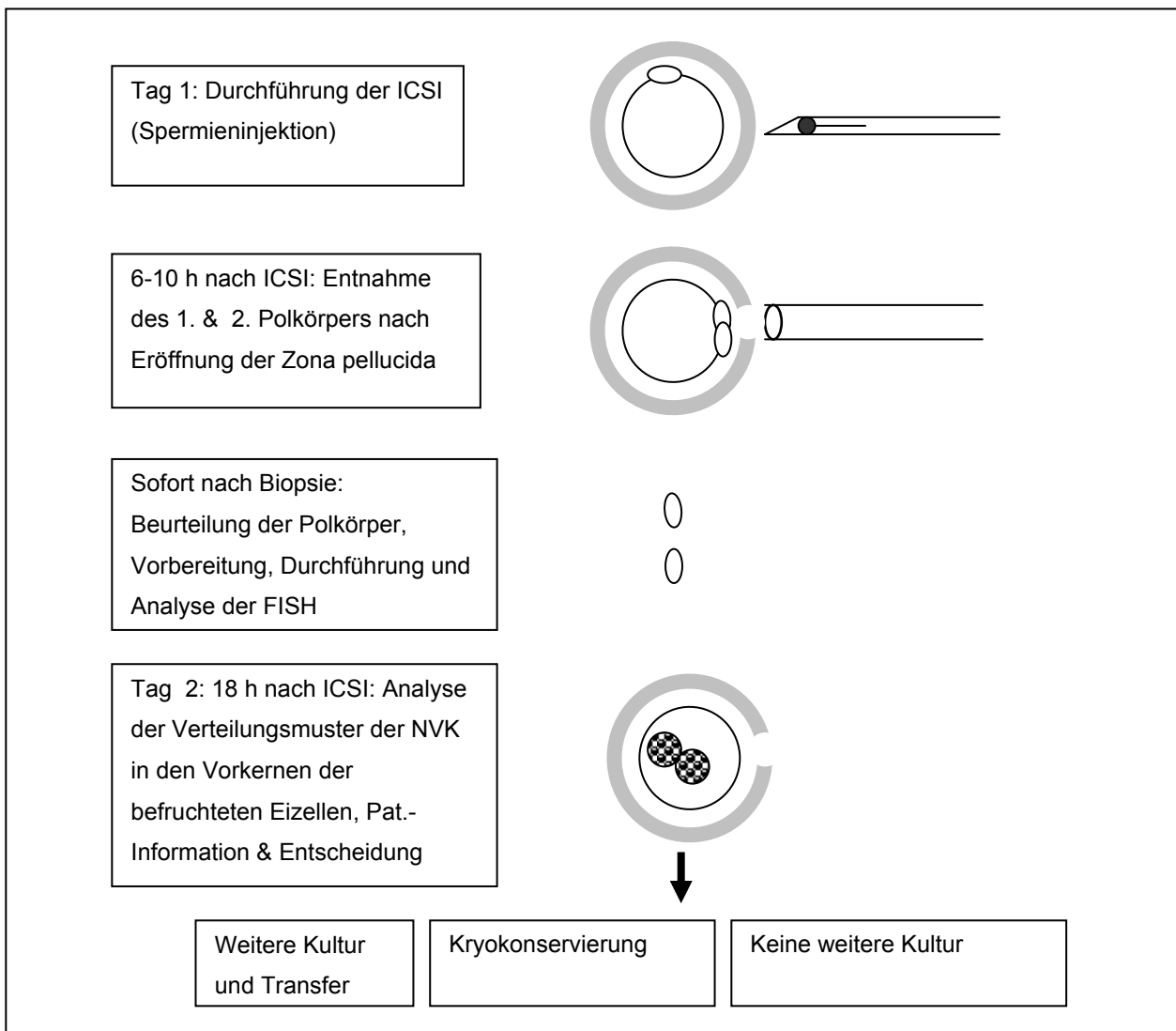
Nach erfolgter ICSI dauert es ca. 18-20 Stunden bis zur Entstehung des Embryonalstadiums, welches ab dem Stadium der Verschmelzung beider Vorkerne in der Eizelle vorliegt. Innerhalb dieser Zeit ist im Rahmen des EschG eine Mikromanipulation der Eizellen zur Biopsie der Polkörper und anschließender Diagnostik möglich.

Ca. sechs bis zehn Stunden nach erfolgter Injektion wird die Zona pellucida der Eizelle mit Hilfe eines Lasers (siehe Abschnitt 2.4.2) eröffnet, um die Polkörper aus dem perivitellinen Raum entnehmen zu können.

Nach Eröffnen der Zona pellucida erfolgt die Aspiration des Polkörpers mit einer stumpfen Biopsienadel (Custom-Tip 02/240, Eppendorf, Deutschland) mit darauf folgender Inkubation (< drei Minuten) des Polkörpers in einem hypotonem Medium. Die Manipulation und Überführung der Polkörper auf Objektträger mit anschließender Fixierung bedarf bei Erfahrung 10-15 Minuten für fünf Eizellen.

Die gesamte Polkörperbiopsie mit anschließender Fixierung der Polkörper dauert pro Behandlungszyklus etwa 40 Minuten.

Die restlichen sieben bis elf Stunden werden zum Transport des Materials in ein humangenetisches Labor, der Durchführung einer Multi-color-Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (siehe Abschnitt 2.4.3) und der Beurteilung derer Ergebnisse genutzt. Am zweiten Tag, 18 Stunden nach ICSI, erfolgt die Analyse der Verteilungsmuster der Nukleolus-Vorläufer-Körperchen (NVK) in den Vorkernen der befruchteten Eizellen. Anschließend wird die Patientin über die Resultate der Polkörperdiagnostik informiert und trifft eine Entscheidung bezüglich des geplanten Embryotransfers (Montag et al., 2004a).

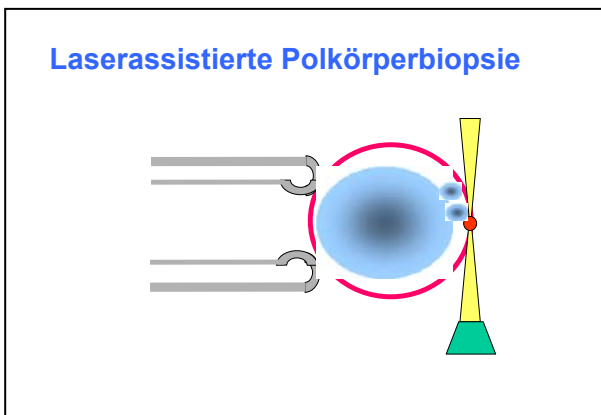


**Abbildung 4 Zeitlicher Ablauf der Biopsie der Polkörper und anschließender Diagnostik**

## 2.4.2 Biopsie-Methoden

Es gibt verschiedene Methoden zur Eröffnung der Eizelhülle, die analog zu den Methoden geschehen, die beim Hatching verwendet werden (Hatching: Mit Erreichen des Blastozystenstadiums ist der Zeitpunkt gekommen, an dem der Embryo die Zona pellucida verlassen muss, um sich einnisten zu können). Mit dem "Assisted Hatching" (=Schlüpfhilfe) wird versucht, nach assistierter Reproduktion dem heranwachsenden Embryo das Verlassen der Zona pellucida zu erleichtern. Dazu wird die Umhüllung angeritzt oder ausgedünnt:

- chemisch: Die Zona pellucida wird hierbei mittels saurer Tyrode-Lösung ausgedünnt. Da dieser Vorgang jedoch nicht exakt steuerbar ist und das Enzym Kontakt mit der Eizelle erhält, ist diese Methode für die Polkörperbiopsie nicht einsetzbar (Montag et al., 1998).
- mechanisch: Bei dieser Form der partiellen Zonadisektion werden zwei Öffnungen zueinander im Winkel von 90 ° mittels einer Kapillare in die Hülle gedreht. Diese auf Zona-drilling-basiernde Methode wird vor allem von der Arbeitsgruppe um Y. Verlinsky in Chicago genutzt. Nachteile im Vergleich zur laserassistierten Biopsie sind ein größerer Zeitaufwand und eine höhere Verletzungsgefahr des Embryos (Montag et al., 2003).
- laserassistiert: Die befruchtete Eizelle wird mit einer Haltepipette fixiert und mit einem Diodenlaserstrahl (Fertilase oder Octax, MTG, Deutschland) gezielt über dem Polkörper "beschossen" (siehe Abbildung 5). Diese Methode erlaubt bei optimal ausgerichteter Eizell/Polkörperachse innerhalb von Millisekunden die zielgenaue Eröffnung der Zona pellucida in einem eng umrissenen Bereich (Montag et al., 1998).



**Abbildung 5 Schematische Darstellung der laserassistierten Polkörperbiopsie**

Seit 1997 wird die Methode der laserassistierten Biopsie der Bonner Arbeitsgruppe erprobt und optimiert. Diese Technik wird gegenüber der mechanischen Zonadissektion favorisiert, da der Defekt, der in der Glashaut erzeugt wird, sehr gezielt gesetzt werden kann und auch die Größe und Tiefe des Defekts exakt einstellbar sind. Verletzungen des Embryos, Verlust der Polkörper (ca. 1-2%) sowie Hybridisierungsartefakte treten nach intensiver Vorbereitung äußerst selten auf.

Der Einsatz des Diodenlasersystems in der Polkörperdiagnostik ist genauso effizient wie die im Ausland standardisierte, auf Zona-drilling-basiernde Methode, gleichwohl in Präzision und einfacherer Anwendung überlegen (siehe Abschnitt 4.9) (Montag et al., 2004b).

### **2.4.3 Nachweis numerischer und struktureller Chromosomenfehlverteilungen**

Der für den Nachweis von numerischen Chromosomenfehlverteilungen (Aneuploidien) folgend dargestellte Ablauf ist mit dem Nachweis von strukturellen Chromosomenfehlverteilungen (Translokationen) vergleichbar.

Gewöhnlich erfolgt die Darstellung der Chromosomenfehlverteilungen mit einer Multi-color-Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH). Diese bietet die Möglichkeit, in einer

Hybridisierungsrunde fünf Chromosomen gleichzeitig darzustellen und anschließend beurteilen zu können. Untersucht werden die Chromosomen, die am häufigsten bei Aneuploidien in Schwangerschaften angetroffen werden (Hassold et al., 1980, 1984).

Bei diesen handelt es sich um die Chromosomen 13, 16, 18, 21 und 22.

Nach Überführung und anschließender Fixation des Polkörpers auf einen Objektträger erfolgt derzeit routinemäßig die Durchführung der 5-color-Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung des Polkörpers nach dem entsprechenden Protokoll des Hybridisierungskits (Multivision PB, Abbott, Wiesbaden).

Nach vier bis acht Stunden Hybridisierung im Hybridisierungsofen (Hybrite, Vysis) erfolgt die Darstellung der Chromosomen (PB Kit, Vysis) mit Hilfe eines Invertmikroskops.

Zur Analyse der unterschiedlichen Fluorophore und Beurteilung der FISH Ergebnisse ist das Mikroskop mit einer Fluoreszenzeinrichtung, speziell adaptierten Filtersätzen (Vysis) sowie einem digitalen Bildaufnahme- und Analysesystems ausgestattet (Aquacosmos, Hamamatsu, Herrsching).

Pro Chromatid wird ein Fluoreszenzsignal sichtbar. Bei normaler Verteilung finden sich somit zwei Signale pro Chromosom im ersten Polkörper (siehe Abbildung 6) und ein Signal pro untersuchtes Chromosom im zweiten Polkörper.

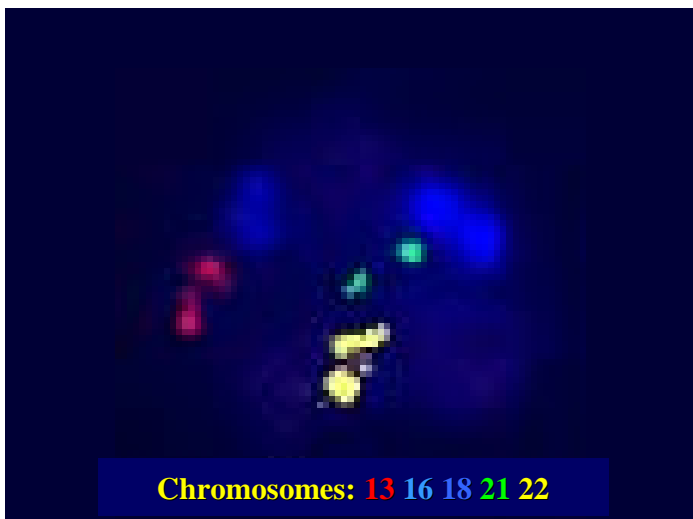


Abbildung 6 Normalbefund des ersten Polkörpers / Darstellung der Chromosomen 13 (rot), 16 (aqua), 18 (blau), 21 (grün) und 22 (orange) nach dem Färbeprotokoll des MultiVysion PB kit

Ziel der Polkörperdiagnostik ist es, durch Detektion möglichst vieler Chromosomen eine Risikominimierung von Chromosomenfehlverteilungen in der Eizelle anzustreben.

Kürzliche Studien haben gezeigt, dass eine direkte positive Korrelation zwischen dem Erfolg der Aneuploidie-Testung und der Anzahl der zu untersuchten Chromosomen vorliegt (Munné et al., 1998).

Um die Anzahl der auf fünf Chromosomen limitierte FISH zu erhöhen, wurde die Möglichkeit diskutiert, eine zweite Hybridisierungsrunde durchzuführen (Gianaroli et al., 1999; Munné et al., 2003). Nach dem Embryonenschutzgesetz unterliegt Deutschland, die Schweiz und Italien jedoch zeitlichen Einschränkungen, die diese Möglichkeit nicht in Betracht kommen lassen.

Die begrenzte Anzahl der zu analysierenden Chromosomen bleibt ein limitierender Faktor der FISH. Gelöst würde dieses Problem mit einer alternativen Screeningmethode, der so genannten „vergleichenden genomischen Hybridisierung“ (comparative genomic hybridisation, CGH). Diese Methode erlaubt es, im Rahmen der Polkörperdiagnostik den gesamten Chromosomensatz eines Polkörpers in einer einzigen Hybridisierungsrunde darzustellen (Wells et al., 1999).

Als Sonderform des „reverse painting“ (Variante des „Chromosome painting“, bei welcher als Sonde die amplifizierte DNA des zu charakterisierenden Chromosoms auf vorgefertigte, normale Metaphasen hybridisiert wird) bedient sich die CGH mit Paintingsonden, die ein spezifisches Chromosom in seiner Gesamtheit markieren. Als Hybridisierungssonden wird hierbei die komplette genomische DNA verwendet. Durch anschließende vergleichende Hybridisierung mit einer DNA aus Normalgewebe auf eine Kontrollmetaphase können alle Veränderungen innerhalb eines Genoms detektiert werden. Nach Visualisierung der Zielchromosomen mit Hilfe eines Fluoreszenzmikroskops und einer CCD-Kamera (charge-coupled device) erfolgt die Überlagerung und Angleichung der Fluoreszenzaufnahmen am Computer. Außer balancierten Translokationen können somit neben numerischen Unterschieden Deletionen und Amplifikationen innerhalb des Genoms durch Unter- bzw. Überrepräsentation einer Hybridisierungssonde auf den betreffenden Chromosomenregionen sichtbar gemacht werden (Gutiérrez-Mateo et al., 2004).



Obwohl der Nutzen dieser Methode offensichtlich scheint, kann sie derzeit in der Polkörperdiagnostik nicht routinemäßig eingesetzt werden. Neben den hohen Kosten ist das Verfahren zeitlich aufwendig und dauert durchschnittlich vier Tage (siehe Abschnitt 2.4, Abbildung 4).

Die Methode der Wahl für die Aneuploidie-Testung ist derzeit somit die Multi-color-in-situ-Hybridisierung (Montag et al., 2005).

Als Fortentwicklung zu der 5-FISH kommt in Bonn seit Dezember 2002 eine modifizierte Variante, die 6-color-in-situ-Hybridisierung, zur Anwendung. Mit dieser ist es möglich, zu den Chromosomen 13, 16, 18, 21 und 22 aus der 5-color-FISH zusätzlich das Chromosom X zu beurteilen.

Ein Vergleich mit einer Kontrollgruppe erbrachte signifikante Ergebnisse in der biochemischen Schwangerschaftsrate und tendierte in klinischer Schwangerschafts- und Abortrate zugunsten der 6-color-FISH (Montag et al., 2005).

Mit der simultanen Untersuchung von sechs Chromosomen in einer einzigen Hybridisierungsrunde im Rahmen der PKD ist ein weiterer Schritt in der Aneuploidie-Testung gemacht worden (Montag et al., 2005).

## **2.5 Embryotransfer und Bestimmung des Implantationserfolges**

Am dritten Tag nach Follikelpunktion sowie erfolgter PKD werden die Embryonen in einem G2-Medium über einen Transfer-Katheter in den Uterus transferiert (Montag et al., 2001). Anschließend findet eine mikroskopische Prüfung des Kathetersystems statt, ob der Transfer erfolgreich war.

In der Frauenklinik der Universität Bonn werden nach einer PKD im Schnitt 1,7 Embryonen transferiert, obwohl nach dem deutschen EschG maximal drei Embryonen zulässig wären (Montag et al., 2001). Angestrebt jedoch wird eine Reduktion der Mehrlingsschwangerschaftsrate und eine Erhöhung der Schwangerschaftsrate durch den Transfer weniger, aber dafür geeigneteren Embryonen (Montag und van der Ven, 2003).

Für einen Implantationserfolg spricht, wenn eine klinische Schwangerschaft, definiert als Vorhandensein von mindestens einer Fruchthöhle und embryonaler Herzaktivität unter sonographischer Darstellung, vier Wochen nach transvaginalen Embryotransfer festgestellt wird (Egbase et al., 1996).

Eine Schwangerschaft sowie die postnatale Entwicklung nach IVF sowie ICSI verlaufen grundsätzlich normal (Bonduelle et al., 1998a, 1998b, 2003; Saunders et al., 1996; Sutcliffe et al., 2001; Wennerholm et al., 1991; Yovich et al., 1986).

Auch die PKD nach einer ICSI hat keinen erwiesenen Nachteil auf den Verlauf der Schwangerschaft samt kindlicher Entwicklung (Montag et al., 2005).

## **2.6 Statistische Verfahren**

Mit Hilfe des Computerprogramms „Rec Date“ der Bonner Frauenklinik wurden zunächst aus den prospektiv erfassten Patientendaten über ein Auswertungsmodul Daten generiert, welche dann in eine Tabellenkalkulation exportiert wurden (Microsoft Excel, Office-Paket 2000). Das Programm „Rec Date“ umfasst alle Kinderwunschpatienten, die in der Frauenklinik Bonn behandelt wurden.

Es wurde eine Tabellenkalkulation aus Polkörper-Patientinnen erstellt und analog eine Tabellenkalkulation aus Patientinnen der Kontrollgruppe. Diese beiden Stammtabellen (PKD-Patientinnen versus Kontrollgruppe) bildeten die Grundlage für die anschließenden statistischen Testverfahren.

Folgende Kriterien waren für die retrospektive Studie entscheidend:

- mütterliches Alter
- Anzahl von Vorversuchen (IVF und ICSI)
- Anzahl der vorausgegangenen Embryotransfers
- Anzahl und Ausgang (Abort, EU, Geburt, biochemische bzw. serologische Schwangerschaft) vorangegangener Schwangerschaften
- Sterilisationsursache
- Anzahl der punktierten Eizellen

- Anzahl der Behandlungszyklen mit Transfer
- Anzahl der transferierten Embryos
- Ausgang (Abort, EU, Geburt, biochemische bzw. serologische Schwangerschaft) des jeweils aktuellen Behandlungszyklus

Zur Auswertung dieser Daten sind statistische Methoden genutzt und Signifikanzprüfungen durchgeführt worden. Dabei wurde die Fehlerwahrscheinlichkeit  $p$  anhand der gegebenen Daten berechnet und mit der vorgegebenen Fehlerwahrscheinlichkeit  $\alpha$  verglichen.

Folgende mathematische Verfahren für unabhängige Stichproben sind dabei zur Anwendung gekommen:

- Berechnung von Mittelwerten und Standardabweichungen
- Berechnung von Medianen
- Vierfelder-  $\chi^2$ -Test für unverbundene Stichproben
- Welch-Test (2-Stichproben-t-Test für unverbundene Stichproben für unterschiedliche Varianzen)

Die Berechnung der Mittelwerte und Standardabweichungen zielten auf die Prüfgröße „Anzahl der punktierten Eizellen“, um einen An- oder Abstieg in verschiedenen mütterlichen Alterskategorien beurteilen zu können.

Die Ermittlung des Median bezog sich auf die Prüfgröße „mütterliches Alter“.

Der Vierfelder -  $\chi^2$ -Test wurde bei folgenden Prüfgrößen angewandt: Zyklen mit Transfer, Schwangerschaften, klinischen Schwangerschaften, Implantationsraten, Aborten, Baby-take-home-Raten pro Zyklus und Baby-take-home-Raten pro Transfer.

Dabei wurden die errechneten kritischen Werte der Prüfgrößen mit dem zu  $\alpha$  gehörigen kritischen Wert  $k_\alpha$  verglichen, um Aussagen zur Signifikanz des Untersuchungsergebnisses zu machen.

Das Signifikanzniveau  $\alpha$  wurde mit  $\alpha = 5\%$  ( $=0,05$ ) festgelegt. Beim Überschreiten des Signifikanzniveaus wurde die Fehlerwahrscheinlichkeit  $p$  in den Tabellen zwecks Übersichtlichkeit jedoch erst ab dem Wert  $p > 0,25$  als nicht signifikant (n.s.) zum Niveau  $\alpha$  bezeichnet.

Der Welch-Test für unverbundene Stichproben diene dem Vergleich folgender Prüfgrößen: Embryonen pro Transfer, Anzahl der punktierten Eizellen sowie mütterlichen Alters.

Dieser Test nimmt an, dass die Mittelwerte zweier Datensätze unterschiedlich sind und daraus resultierend ein signifikanter Unterschied besteht. Somit lässt sich mit Hilfe des Welch-Tests bestimmen, ob die Mittelwerte zweier Stichproben gleich sind, und es können Aussagen zur Signifikanz des Untersuchungsergebnisses getroffen werden.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Vergleich des gesamten PKD-Patientenkollektivs mit dem Kollektiv der Kontrollgruppe

Um einen Überblick über das gesamte Patientenkollektiv zu erhalten, wurden die beiden Gruppen bestehend aus Polkörperpatientinnen und Patientinnen der Kontrollgruppe in einer Tabelle gegenübergestellt und nach den genannten Prüfgrößen (siehe Abschnitt 2.6) statistisch ausgewertet. In dieser retrospektiven Studie wurden 291 Patientinnen mit vorangegangener Polkörperdiagnostik mit 1266 Patientinnen ohne Polkörperdiagnostik verglichen. Die Altersspanne dieses Kollektivs umfasste den Bereich zwischen 20 und 47 Jahren (Median des Alters der PKG: 38 Jahre; Median des Alters der KG: 35 Jahre).

Die Polkörpergruppe erhielt mit 84,2% zu 91% der Kontrollgruppe hochsignifikant weniger Zyklen mit Transfer ( $p < 0,001$ ).

Positiv für die Polkörpergruppe war die Zahl der transferierten Embryonen, die signifikant niedriger war als die der Kontrollgruppe ( $p < 0,0001$ ).

Die klinische Schwangerschaftsrate fiel deutlich zugunsten der Kontrollgruppe aus ( $p < 0,005$ ).

Die Implantationsrate war mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit von  $p < 0,025$  höher als die der Polkörpergruppe.

Bei der Baby-take-home-Rate pro Transfer schnitt die Polkörpergruppe deutlich schlechter ab als die Kontrollgruppe ( $p < 0,005$ ). Dieser signifikante Unterschied lässt vermuten, dass eine Behandlung mit höherer Zyklen- und Embryonenanzahl, wie sie bei der Kontrollgruppe erfolgte, erfolgreich war.

Die niedrige Baby-take-home-Rate pro Zyklus der Polkörpergruppe ist nicht unbedingt auf die geringere Zyklenzahl und Zahl der transferierten Embryonen zurückzuführen.

Das deutlich schlechtere Ergebnis ( $p < 0,001$ ) erklärt sich mit Hinblick auf den Unterschied im Stichprobenumfang von 291 Behandlungszyklen zu 1266 Behandlungszyklen.

Einziges nichtsignifikantes Ergebnis zeigte sich beim Vergleich der Abortraten, die sich mit 19,2% der Polkörperpatientinnen zu 18,1% der Kontrollgruppe bezogen auf die Gesamtstichproben nicht wesentlich unterschieden.

Bei diesem auf den ersten Blick schlechterem Ergebnis für die Polkörpergruppe muss man aber beachten, dass die Kontrollgruppe einen anderen, niedrigeren Altersdurchschnitt aufweist als die Polkörpergruppe. Aufgrund dieser Altersunterschiede in den beiden Subgruppen darf man es nicht beim Vergleich mit der allgemeinen Kontrollgruppe belassen, sondern muss den Vergleich in den entsprechenden Altersgruppen ziehen, um eindeutige Aussagen treffen zu können.

In nachfolgenden Auswertungen wurde das Patientenkollektiv in drei Alterssubgruppen unterteilt (unter 35 Jahren; zwischen 35 und 39 Jahren und über 40 Jahren).

Ein Überblick der beiden kompletten, nicht altersspezifischen Patientenkollektive samt den ausgewerteten Prüfgrößen wird in Tabelle 1 dargestellt.

ALTERSKATEGORIE alle Altersklassen	PKD-GRUPPE - alle VV	KONTROLLGRUPPE - alle VV	p ( $\chi^2$ -Test/2- Stichproben-t-Test)
Behandlungszyklen	291	1266	-
Zyklen mit Transfer (ET)	245 (84,2%)	1152 (91%)	p < 0,001
Embryonen / Transfer	1,77 (433/245)	1,95 (2246/1152)	p < 0,0001
Schwangerschaften (positives HCG)	71 (SS/ET=29%)	413 (SS/ET=35,9%)	p < 0,05
Klinische Schwangerschaften	52 (KSS/ET=21,2%)	365 (31,7%)	p < 0,005
Implantationsrate	13,9% (60/433)	18,3% (412/2246)	p < 0,025
Aborte	10 (Aborte/KSS=19,2%)	66 (Aborte/KSS=18,1%)	n.s.
Baby-take-home- Rate/Zyklus	14,1% (41/291)	23,6% (299/1266)	p < 0,001
Baby-take-home- Rate/Transfer	16,7% (41/245)	26% (299/1152)	p < 0,005
Mittelwert der punktierten Eizellen	9,99	8,58	p < 0,0001
Standardabweichung der punktierten Eizellen	4,65	4,96	-
Median des Alters	38	35	p < 0,0001

Tabelle 1 Sammelauswertung aller Patienten

### 3.1.1 Vergleich der Patientenkollektive im Alter unter 35 Jahren

55 Patientinnen mit Polkörperdiagnostik und 618 Patientinnen ohne Polkörperdiagnostik unter 35 Jahren wurden vergleichend gegenübergestellt. Bei dieser Gruppe handelte es sich um das Kollektiv mit den jüngsten Patienten (Median des Alters der PKG: 32 Jahre, Median des Alters der KG: 31 Jahre; p = 0,0475).

Die Polkörpergruppe erhielt in dieser Altersklasse deutlich weniger Zyklen mit Transfer als die Kontrollgruppe (p < 0,001), jedoch wurden signifikant weniger Embryonen transferiert (1,73 zu 1,93 Embryonen pro Transfer; p = 0,0002).

Die beiden genannten Prüfgrößen schienen sich negativ auf die Schwangerschaftsraten und die Implantationsrate auszuwirken. Die Polkörpergruppe hatte 15,9% klinische Schwangerschaften pro Zyklus mit Transfer (ET), während es bei der Kontrollgruppe 38,4% klinische Schwangerschaften pro ET waren ( $p < 0,005$ ). Ohne Polkörperdiagnostik verhielt sich die Implantationsrate prozentual mit 21,8% doppelt so hoch wie mit durchgeführter Polkörperdiagnostik (10,5%) ( $p < 0,025$ ).

Die Abortrate unterschied sich nicht, jedoch ist das Formulieren einer klaren Aussage bei derart niedrigen Werten von einem Abort pro sieben klinischen Schwangerschaften bei der Polkörpergruppe schwierig. (Im Vergleich betrug die Abortanzahl der Kontrollgruppe zahlenmäßig 35 zu 224 klinischen Schwangerschaften).

Die Baby-take-home-Rate pro Transfer der Polkörperpatientinnen war mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit von  $p < 0,005$  signifikant niedriger als die der Kontrollgruppe. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass sich bei Patientinnen unter 35 Jahren mehr Zyklen mit Transfer von mehr Embryonen durchaus positiv auf die Schwangerschafts- und somit Baby-take-home-Rate auswirken können.

Die Baby-take-home-Rate pro Zyklus fiel aufgrund des hohen Stichprobenunterschiedes von 55 Polkörperpatientinnen zu 618 aus der Kontrollgruppe deutlich niedriger für die Polkörperpatientinnen mit  $p < 0,001$  aus.

Ein weiterer signifikanter Unterschied ergab sich in der Anzahl der nach Follikelpunktion gewonnenen Eizellen. Den Patientinnen der Polkörpergruppe konnte mit durchschnittlich 11,4 Eizellen mehr entnommen werden als den Patientinnen der Kontrollgruppe mit 9,8 Eizellen ( $p < 0,04$ ).

Eine Übersicht der genannten Daten findet sich in Tabelle 2.



ALTERSKATEGORIE < 35 JAHRE	PKD-GRUPPE - alle VV	KONTROLLGRUPPE - alle VV	p ( $\chi^2$ -Test/2- Stichproben-t-Test)
Behandlungszyklen	55	618	-
Zyklen mit Transfer (ET)	44 (80%)	584 (94,5%)	p < 0,001
Embryonen / Transfer	1,73 (76/44)	1,93 (1125/584)	p = 0,0002
Schwangerschaften (positives HCG)	10 (SS/ET=22,7%)	249 (SS/ET=42,6%)	p < 0,01
Klinische Schwangerschaften	7 (KSS/ET=15,9%)	224 (KSS/ET=38,4%)	p < 0,005
Implantationsrate	10,5% (8/76)	21,8% (245/1125)	p < 0,025
Aborte	1 (Aborte/KSS=14,3%)	35 (Aborte/KSS=15,6%)	n.s.
Baby-take-home- Rate/Zyklus	9,1% (5/55)	30,6% (189/618)	p < 0,001
Baby-take-home- Rate/Transfer	11,4% (5/44)	32,4% (189/584)	p < 0,005
Mittelwert der punktierten Eizellen	11,4	9,85	p = 0,04
Standardabweichung der punktierten Eizellen	5,3	4,67	-
Median des Alters	32	31	p = 0,0475

Tabelle 2 Vergleich der unter 35-jährigen Patienten mit und ohne PKD

### 3.1.2 Vergleich der Patientenkollektive im Alter zwischen 35 und 39 Jahren

In der Alterskategorie von 35 bis 39 Jahren konnten 134 Patienten der Polkörpergruppe 489 Patienten ohne Polkörperdiagnostik gegenübergestellt werden. Bei dieser mittleren Alterklasse betrug der Altersschnitt 37 Jahre (Median des Alters der PKG: 37 Jahre; Median des Alters der KG: 37 Jahre; p = 0,0001).

Beim Vergleich zeigte sich keine Signifikanz in der Anzahl der Transferzyklen zwischen der Polkörper- und der Kontrollgruppe. Rund 88,8% Transferzyklen bezogen auf die

Behandlungszyklen wurden bei den Polkörperpatientinnen durchgeführt sowie 90,4% bei der Kontrollgruppe.

Einen Unterschied in der Embryonenzahl pro Transfer ergab sich zugunsten der Polkörpergruppe, der mit 1,8 Embryonen pro Transfer signifikant weniger Embryonen eingesetzt wurde als der Kontrollgruppe mit 2,01 Embryonen ( $p = 0,0024$ ).

Beim Vergleich der Schwangerschaftsraten und der Implantationsrate zeigten sich keine Auffälligkeiten.

Die Abortrate der Polkörperpatientinnen unterschied sich nicht von der Abortrate der Kontrollgruppe.

Sowohl die Baby-take-home-Rate bezogen auf den Behandlungszyklus als auch die Baby-take-home-Rate pro Transfer zeigten keine statistisch signifikanten Unterschiede innerhalb der beiden zu vergleichenden Gruppen.

Obwohl bei den Kontrollgruppenpatientinnen mehr Embryonen transferiert wurden, hat es zu keinen signifikanten Ergebnissen in den Schwangerschafts- und Baby-take-home-Raten geführt.

Der Mittelwert der punktierten Eizellen lag bei der Polkörpergruppe mit 9,6 Eizellen signifikant höher als der der Kontrollgruppe mit 8,1 ( $p < 0,0001$ ).

Die einzelnen Ergebnisse können anhand der Tabelle 3 entnommen werden.

ALTERSKATEGORIE	PKD-GRUPPE - alle VV	KONTROLLGRUPPE - alle VV	p ( $\chi^2$ -Test/2- Stichproben-t-Test)
<b>35-39 JAHRE</b>			
Behandlungszyklen	134	489	-
Zyklen mit Transfer (ET)	119 (88,8%)	442 (90,4%)	n.s.
Embryonen / Transfer	1,8 (214/119)	2,01 (887/442)	p = 0,0024
Schwangerschaften (positives HCG)	44 (SS/ET=37%)	138 (SS/ET=31,2%)	p < 0,25
Klinische Schwangerschaften	33 (KSS/ET=27,7%)	123 (KSS/ET=27,8%)	n.s.
Implantationsrate	17,8% (38/214)	16,7% (148/887)	n.s.
Aborte	7 (Aborte/KSS=21,2%)	23 (Aborte/KSS=18,7%)	n.s.
Baby-take-home- Rate/Zyklus	19,4% (26/134)	20,4% (100/489)	n.s.
Baby-take-home- Rate/Transfer	21,8%(26/119)	22,6% (100/442)	n.s.
Mittelwert der punktierten Eizellen	9,61	8,15	p < 0,0001
Standardabweichung der punktierten Eizellen	3,95	4,93	-
Median des Alters	37	37	p = 0,0001

Tabelle 3 Vergleich der 35- bis 39-jährigen Patienten mit und ohne PKD

### 3.1.3 Vergleich der Patientenkollektive im Alter über 40 Jahren

Die Gruppe der über 40-jährigen setzte sich aus 102 Patientinnen mit Polkörperdiagnostik und 159 aus der Kontrollgruppe zusammen. Es handelte sich um das älteste Patientenkollektiv der Studie (Median des Alters der PKG: 41 Jahre; Median des Alters der KG: 41 Jahre).

Die Zyklenanzahl mit Transfer zeigten mit 80,4% der Polkörpergruppe und 79,2% der Kontrollgruppe keine signifikanten Abweichungen.

Die Polkörperpergruppe unterschied sich mit 1,74 Embryonen pro Transfer nicht auffällig von denen der Kontrollgruppe mit 1,86 Embryonen.

Die Unterschiede in den Schwangerschaftsraten und der Implantationsrate waren nicht signifikant, auch wenn für die Polkörperpergruppe prozentual ein positiverer Eindruck entstand (klinische Schwangerschaft der PKD 14,6% zu 14,3%, Implantationsrate der PKD 9,8% zu 8,1%).

Die Abortrate erschien zugunsten der Polkörperpatientinnen auszufallen, da nur 16,7% im Vergleich zu 44,4% bei der Kontrollgruppe registriert wurden. Die Fehlerwahrscheinlichkeit mit  $p < 0,25$  ließ zwar keine klare Signifikanz zu, wies aber auf einen Trend zugunsten der PKD-Gruppe hin.

Die Baby-take-home-Raten konnten statistisch nicht überzeugen, prozentual jedoch vermittelte das Ergebnis der Polkörperpergruppe erneut einen besseren Eindruck (Baby-take-home-Rate pro Transfer bei der PKD betrug 12,2% zu 7,9% der Kontrollgruppe). Die Mittelwerte der punktierten Eizellen wichen signifikant voneinander ab. Der Polkörperpergruppe standen mit 8,9 Eizellen nach Follikelpunktion entsprechend mehr Eizellen zur Verfügung als der Kontrollgruppe mit 5,01 Eizellen ( $p < 0,0001$ ).

Die Daten finden sich in Tabelle 4 nach absoluten und relativen Zahlen aufgelistet.

<b>ALTERSKATEGORIE ≥ 40 JAHRE</b>	<b>PKD-GRUPPE - alle VV</b>	<b>KONTROLLGRUPPE - alle VV</b>	<b>p (<math>\chi^2</math>-Test/2- Stichproben-t-Test)</b>
<b>Behandlungszyklen</b>	102	159	-
<b>Zyklen mit Transfer (ET)</b>	82 (80,4 %)	126 (79,2%)	n.s.
<b>Embryonen / Transfer</b>	1,74 (143/82)	1,86 (234/126)	n.s.
<b>Schwangerschaften (positives HCG)</b>	17 (SS/ET=20,7%)	26 (SS/ET=20,6%)	n.s.
<b>Klinische Schwangerschaften</b>	12 (KSS/ET=14,6%)	18 (KSS/ET=14,3%)	n.s.
<b>Implantationsrate</b>	9,8% (14/143)	8,1% (19/234)	n.s.
<b>Aborte</b>	2 (Aborte/KSS=16,7%)	8 (Aborte/KSS=44,4%)	p < 0,25
<b>Baby-take-home- Rate/Zyklus</b>	9,8% (10/102)	6,3% (10/159)	n.s.
<b>Baby-take-home- Rate/Transfer</b>	12,2% (10/82)	7,9% (10/126)	n.s.
<b>Mittelwert der punktierten Eizellen</b>	8,97	5,01	p < 0,0001
<b>Standardabweichung der punktierten Eizellen</b>	4,69	4,13	-
<b>Median des Alters</b>	41	41	n.s.

Tabelle 4 Vergleich der über 40-jährigen Patienten mit und ohne PKD

### 3.2 Vergleich des gesamten PKD-Patientenkollektivs mit dem Kollektiv der Kontrollgruppe unterteilt nach Vorversuchen

Nach den obigen Vergleichen des gesamten Patientenkollektivs nach Alter wurde dieses als nächstes nach den Behandlungsvorversuchen, bezeichnend alle Versuche vor dem aktuellen, in die Studie eingegangenen Zyklus, sortiert. Dabei wurden die Kategorien null bis drei Vorversuche (VV) und mehr als vier VV gewählt. In jeder Kategorie wurden separat die beiden Untergruppen verglichen. Ergänzend erfolgte eine statistische Auswertung der einzelnen Gruppen innerhalb der unterschiedlichen Kategorien.

Das gesamte Kollektiv mit 291 Patienten mit Polkörperdiagnostik wurde dem der Kontrollgruppe mit 1266 Patienten gegenübergestellt. Bei weiterer Unterteilung in die Untergruppen umfasste die Kategorie mit null bis drei VV 164 Polkörperpatientinnen und 1063 Kontrollgruppenpatientinnen. Mehr als vier Vorversuche erhielten 127 Polkörper- und 203 Kontrollgruppenpatientinnen.

In der ersten Kategorie mit null bis drei Vorversuchen wiesen die Polkörperpatientinnen signifikant weniger Zyklen mit Transfer auf ( $p < 0,025$ ) sowie weniger Embryonen, die transferiert wurden ( $p < 0,0002$ ).

Resultierend ergab sich eine schlechtere klinische Schwangerschaftsrate für die Polkörperpatientinnen ( $p < 0,05$ ).

Auch die Implantationsrate mit  $p < 0,05$  fiel für die Polkörpergruppe signifikant schlechter aus.

Da sich auch die Abortrate und die Baby-take-home-Rate nicht signifikant von der Kontrollgruppe unterschieden, hatte die vermehrte Zyklen- und Embryonenzahl keine positiven Auswirkungen auf die Kontrollgruppe.

Lediglich die Baby-take-home-Rate pro Zyklus fiel günstig für die Kontrollgruppe aus ( $p < 0,025$ ), was sich aber mit dem immensen Stichprobenunterschied von 164 zu 1063 erklären ließe.

Ein weiterer signifikanter Unterschied fand sich in der Anzahl der Eizellen, die nach Follikelpunktion zur Verfügung standen. Positiv fiel das Ergebnis für die Polkörpergruppe aus, die mit durchschnittlich 10,5 Eizellen und einer Fehlerwahrscheinlichkeit von  $p < 0,0001$  deutlich mehr Eizellen zur Verfügung hatte als die Kontrollgruppe mit 8,65.

Analog der ersten Kategorie wies die zweite mit mehr als vier Vorversuchen einen Unterschied in Zyklenanzahl mit Transfer und Anzahl der transferierten Embryonen auf. Erneut hatte die Kontrollgruppe signifikant mehr Zyklen ( $p < 0,01$ ) und mit 2,02 zu 1,75 mehr Embryonen pro Transfer erhalten als die Polkörpergruppe ( $p < 0,0001$ ).

Beim Vergleich der Kontrollgruppen der beiden unterschiedlichen Kategorien fiel auf, dass die Zahl der transferierten Embryonen mit der Zahl der Vorversuche zugenommen hat ( $p = 0,00525$ ).

Die vermehrte Zyklen- und Embryonenzahl hatte keine Auswirkungen auf die Schwangerschaftsraten und Implantationsraten, auch die Aborte und die Baby-take-home-Raten zeigten sich unbeeinflusst.

Beim weiteren Vergleich fiel Anzahl der punktierten Eizellen auf, die bei der Polkörpergruppe signifikant höher waren als die Anzahl bei der Kontrollgruppe ( $p = 0,0374$ ).

Eine Signifikanz mit  $p = 0,031$  zeigte sich beim Betrachten der Eizellen der Polkörpergruppe mit null bis drei Vorversuche verglichen mit der, die mehr als vier Vorversuche hatte. Im Schnitt ist es zu einer Abnahme der Eizellanzahl von 10,5 zu 9,3 Eizellen gekommen.

Beim Vergleich der Kontrollgruppen in den unterschiedlichen Kategorien zeigten sich diesmal keine Abweichungen. Auffällig war jedoch, dass alle anderen Prüfgrößen bei der Kontrollgruppe im Gegensatz zur Polkörpergruppe signifikant schlechter wurden. Nach mehr als vier Vorversuchen der Patienten aus der Kontrollgruppe stieg die Abortrate und sanken die Schwangerschafts- und Implantationsraten mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit von  $p < 0,025$ .

Am deutlichsten sanken die Baby-take-home-Raten ( $p < 0,005$ ), während diese Abnahme bei den Polkörperpatienten mit  $p < 0,25$  kaum ins Gewicht fiel.

Obwohl es in beiden Kategorien insgesamt betrachtet schlechter für die Polkörpergruppe aussieht, darf man nach dieser Betrachtung keine vorzeitigen Schlüsse ziehen. Da es sich bei der Polkörpergruppe in beiden Kategorien um eine deutlich ältere Subgruppe handelt (0-3 VV: 38 Jahre zu 34 Jahre  $\rightarrow p < 0,0001$ ;  $\geq 4$  VV: 39 Jahre zu 36 Jahre  $\rightarrow p < 0,0001$ ), dürfen die Auswertungen nicht auf die allgemeine Kontrollgruppe bezogen werden.

Bei nachfolgenden Unterteilungen (siehe Tabelle 5 und Tabelle 6) in Alterssubgruppen lassen sich altersspezifische Aussagen treffen, die einen genaueren Überblick geben.

ALTERSKATEGORIE alle ALTERSKLASSEN	PKD-GRUPPE 0-3 VV	KONTROLLGRUPPE 0-3 VV	p ( $\chi^2$ -Test/2- Stichproben-t-Test)
Behandlungszyklen	164	1063	-
Zyklen mit Transfer (ET)	139 (84,8%) <sup>A</sup>	964 (90,7%) <sup>a</sup>	p < 0,025
Embryonen / Transfer	1,78 (248/139) <sup>B</sup>	1,94 (1867/964) <sup>b</sup>	p = 0,0002
Schwangerschaften (positives HCG)	44 (SS/ET=31,7%) <sup>C</sup>	361 (SS/ET=37,4%) <sup>c</sup>	p < 0,25
Klinische Schwangerschaften	34 (KSS/ET=24,5%) <sup>D</sup>	319 (KSS/ET=33,1%) <sup>d</sup>	p < 0,05
Implantationsrate	14,1% (35/248) <sup>E</sup>	19,3% (360/1867) <sup>e</sup>	p < 0,05
Aborte	6 (Aborte/KSS=17,6%) <sup>F</sup>	52 (Aborte/KSS=16,3%) <sup>f</sup>	n.s.
Baby-take-home- Rate/Zyklus	17,1% (28/164) <sup>G</sup>	25,1% (267/1063) <sup>g</sup>	p < 0,025
Baby-take-home- Rate/Transfer	20,1% (28/139) <sup>H</sup>	27,7% (267/964) <sup>h</sup>	p < 0,1
Mittelwert der punktierten Eizellen	10,5 <sup>I</sup>	8,66 <sup>i</sup>	p < 0,0001
Standardabweichung der punktierten Eizellen	4,92	4,84	-
Median des Alters	38 <sup>J</sup>	34 <sup>j</sup>	p < 0,0001

Tabelle 5 Vergleich der Patienten aller Altersklassen mit 0-3 Vorversuchen mit und ohne PKD



ALTERSKATEGORIE alle ALTERSKLASSEN	PKD-GRUPPE ≥ 4 VV	KONTROLLGRUPPE ≥ 4 VV	p ( $\chi^2$ -Test/2- Stichproben-t-Test)
Behandlungszyklen	127	203	-
Zyklen mit Transfer (ET)	106 (83,5%) <sup>A</sup>	188 (92,6%) <sup>a</sup>	p < 0,01
Embryonen / Transfer	1,75 (185/106) <sup>B</sup>	2,02 (379/188) <sup>b</sup>	p < 0,0001
Schwangerschaften (positives HCG)	27 (SS/ET=25,5%) <sup>C</sup>	52 (SS/ET=27,7%) <sup>c</sup>	n.s.
Klinische Schwangerschaften	18 (KSS/ET=17%) <sup>D</sup>	46 (KSS/ET=24,5%) <sup>d</sup>	p < 0,25
Implantationsrate	13,5% (25/185) <sup>E</sup>	13,7% (52/379) <sup>e</sup>	n.s.
Aborte	4 (Aborte/KSS=22,2%) <sup>F</sup>	14 (Aborte/KSS=30,4%) <sup>f</sup>	n.s.
Baby-take-home- Rate/Zyklus	10,2% (13/127) <sup>G</sup>	15,8% (32/203) <sup>g</sup>	p < 0,25
Baby-take-home- Rate/Transfer	12,3% (13/106) <sup>H</sup>	17% (32/188) <sup>h</sup>	n.s.
Mittelwert der punktierten Eizellen	9,34 <sup>I</sup>	8,21 <sup>i</sup>	p = 0,0374
Standardabweichung der punktierten Eizellen	4,21	5,54	-
Median des Alters	39 <sup>J</sup>	36 <sup>j</sup>	p < 0,0001

**Tabelle 6 Vergleich der Patienten aller Altersklassen mit ≥ 4 Vorversuchen mit und ohne PKD**

**PKD 0-3 VV versus PKD ≥ 4 VV:** A: n.s.; B: n.s.; C: n.s.; D: p < 0,25; E: n.s.; F: n.s.; G: p < 0,1; H: p < 0,25; I: p = 0,0310; J: p = 0,0536

**KG 0-3 VV versus KG ≥ 4 VV:** a: n.s.; b: p = 0,0525; c: p < 0,025; d: p < 0,025; e: p < 0,025; f: p < 0,025; g: p < 0,005; h: p < 0,005; i: n.s.; j: p < 0,0001

### 3.2.1 Vergleich der Patientenkollektive im Alter unter 35 Jahren unterteilt nach Vorversuchen

Nach Sortierung in die Altersklasse unter 35 Jahren wurden insgesamt 55 der 291 Behandlungszyklen der Polkörperpatientinnen 618 Behandlungszyklen der 1266 der Kontrollgruppe gegenübergestellt.

Die Klasse mit Patientinnen unter 35 Jahren stellte die jüngste Auswertungskategorie dieser Studie dar (Median des Alters der PKG: 32 Jahre; Median des Alters der KG: 31 Jahre).

32 der 55 Polkörperpatientinnen hatten null bis drei Vorversuche. Die restlichen 23 Patientinnen erhielten bereits mehr als vier Vorversuche.

Vergleichend hatten 540 der 618 Patientinnen der Kontrollgruppe null bis drei VV und 78 mehr als vier VV.

Die Polkörperpatientinnen mit null bis drei VV erhielten 26 Zyklen (81,3%) mit Transfer, die Kontrollgruppe 510 (94,4%). Die Zyklenanzahl der PKD-Patientinnen verhielt sich signifikant niedriger als die der Kontrollgruppe ( $p < 0,005$ ). Analog ergab sich ein signifikanter Unterschied beim Vergleich der Patientinnen, die mehr als vier VV hinter sich hatten ( $p < 0,025$ ). Es wurden 18 Zyklen (78,3%) mit Transfer bei den PKD-Patientinnen und 74 (94,9%) der Kontrollgruppe durchgeführt.

In beiden Gruppen erhielt die Kontrollgruppe somit deutlich mehr Zyklen mit Eizelltransfer.

Des Weiteren zeigte sich ein signifikanter Unterschied in der Anzahl der transferierten Embryonen, die bei den Polkörperpatientinnen beider Vorversuchsgruppen deutlich niedriger waren (0-3 VV:  $p < 0,05$ ;  $\geq 4$  VV:  $p < 0,01$ ) als die der Kontrollgruppe. Im Schnitt bekamen die Polkörperpatientinnen bei null bis drei Vorversuchen 1,77 und bei mehr als vier Vorversuchen 1,67 Embryonen eingesetzt. Im Gegensatz dazu erhielt die Kontrollgruppe jeweils 1,9 Embryonen pro Transfer.

Die erhöhte Zyklenanzahl einschließlich der höheren Anzahl Embryonen pro Transfer schien sich positiv auf die klinische Schwangerschaftsrate der Patienten mit null bis drei VV auszuwirken ( $p < 0,05$ ).

Doch trotz deutlich höherer Anzahl von Zyklen mit Transfer und einer signifikant höheren Embryonenanzahl bei der Kontrollgruppe, einschließlich der daraus resultierenden erhöhten klinischen Schwangerschaftsrate, ergab sich bei der Baby-take-home-Rate pro Transfer kein signifikanter Unterschied für die Kontrollgruppe.

Bei den Patientinnen mit mehr als vier VV ergab sich analog eine deutliche Signifikanz in der Zyklenanzahl mit Transfer ( $p < 0,025$ ), jedoch zeigten sich in diesem Fall weder

Unterschiede in den Schwangerschaftsraten noch in der Baby-take-home-Rate pro Transfer.

Ein Unterschied zeigte sich in der Baby-take-home-Rate bezogen auf die Zyklen der Kontrollgruppe mit null bis drei VV. Von 540 Zyklen (31,5%) mit geborenen Kindern konnten bei der Gruppe 170 Geburtszyklen verzeichnet werden. Dies war vergleichsweise zu den vier Geburtszyklen von 32 Zyklen (12,5%) mit geborenen Kindern der Polkörperpatientinnen signifikant höher, lässt sich aber auf die im Vergleich sehr viel höhere Fallzahl zurückführen.

Diese positive Auswirkung für die Patientinnen der Kontrollgruppe zeigte sich jedoch nicht bei denen, die schon mehr als vier VV bekommen hatten.

Die Implantationsrate wie auch die Abortrate zeigten statistisch keine Auffälligkeiten, wobei die Stichprobenzahlen der Polkörpergruppe mit einem Abort (20%) von 5 klinischen Schwangerschaften bei null bis drei VV und keinem Abort bei zwei klinischen Schwangerschaften bei mehr als vier VV extrem gering waren, um eindeutige Aussagen treffen zu können.

Die Anzahl der nach Follikelpunktion gewonnenen Eizellen verhielt sich unauffällig; der Mittelwert war alterstypisch mit 9,8 bis 11,5 höher als bei den anderen Altersgruppen anzusiedeln (siehe Abbildung 1).

Sowohl die Polkörperpatientinnen als auch die der Kontrollgruppe zeigten bei dem Vergleich der einzelnen Kategorien (0-3 VV versus  $\geq 4$  VV) keine signifikanten Unterschiede.

In Tabelle 7 und Tabelle 8 wurden die relativen und absoluten Anteile der ermittelten Daten der Gruppen über 35 Jahren dargestellt.

<b>ALTERSKATEGORIE &lt; 35 JAHRE</b>	<b>PKD-GRUPPE 0-3 VV</b>	<b>KONTROLLGRUPPE 0-3 VV</b>	<b>p (<math>\chi^2</math>-Test/2- Stichproben-t-Test)</b>
<b>Behandlungszyklen</b>	32	540	-
<b>Zyklen mit Transfer (ET)</b>	26 (81,3%) <sup>A</sup>	510 (94,4%) <sup>a</sup>	p < 0,005
<b>Embryonen / Transfer</b>	1,77 (46/26) <sup>B</sup>	1,92 (981/510) <sup>b</sup>	p = 0,0124
<b>Schwangerschaften (positives HCG)</b>	7 (SS/ET=26,9%) <sup>C</sup>	223 (SS/ET=43,7%) <sup>c</sup>	p < 0,1
<b>Klinische Schwangerschaften</b>	5 (KSS/ET=19,2%) <sup>D</sup>	199 (KSS/ET=39%) <sup>d</sup>	p < 0,05
<b>Implantationsrate</b>	10,9% (5/46) <sup>E</sup>	22,3% (219/981) <sup>e</sup>	p < 0,1
<b>Aborte</b>	1 (Aborte/KSS=20%) <sup>F</sup>	29 (Aborte/KSS=14,6%) <sup>f</sup>	n.s.
<b>Baby-take-home- Rate/Zyklus</b>	12,5% (4/32) <sup>G</sup>	31,5% (170/540) <sup>g</sup>	p < 0,025
<b>Baby-take-home- Rate/Transfer</b>	15,4% (4/26) <sup>H</sup>	33,3% (170/510) <sup>h</sup>	p < 0,1
<b>Mittelwert der punktierten Eizellen</b>	11,56 <sup>I</sup>	9,75 <sup>i</sup>	p = 0,0631
<b>Standardabweichung der punktierten Eizellen</b>	5,22	4,52	-
<b>Median des Alters</b>	32 <sup>J</sup>	31 <sup>j</sup>	n.s.

**Tabelle 7 Vergleich der unter 35-jährigen Patienten mit 0-3 Vorversuchen mit und ohne PKD**

ALTERSKATEGORIE < 35 JAHRE	PKD-GRUPPE ≥ 4 VV	KONTROLLGRUPPE ≥ 4 VV	p ( $\chi^2$ -Test/2- Stichproben-t-Test)
Behandlungszyklen	23	78	-
Zyklen mit Transfer (ET)	18 (78,3%) <sup>A</sup>	74 (94,9%) <sup>a</sup>	p < 0,025
Embryonen / Transfer	1,67 (30/18) <sup>B</sup>	1,95 (144/74) <sup>b</sup>	p = 0,0059
Schwangerschaften (positives HCG)	3 (SS/ET=16,7%) <sup>C</sup>	26 (SS/ET=35,1%) <sup>c</sup>	p < 0,25
Klinische Schwangerschaften	2 (KSS/ET=11,1%) <sup>D</sup>	25 (KSS/ET=33,8%) <sup>d</sup>	p < 0,1
Implantationsrate	10% (3/30) <sup>E</sup>	18,1% (26/144) <sup>e</sup>	n.s.
Aborte	0 <sup>F</sup>	6 (Aborte/KSS=24%) <sup>f</sup>	n.s.
Baby-take-home- Rate/Zyklus	4,3% (1/23) <sup>G</sup>	24,4% (19/78) <sup>g</sup>	p < 0,05
Baby-take-home- Rate/Transfer	5,6% (1/18) <sup>H</sup>	25,7% (19/74) <sup>h</sup>	p < 0,1
Mittelwert der punktierten Eizellen	11,17 <sup>I</sup>	10,53 <sup>i</sup>	n.s.
Standardabweichung der punktierten Eizellen	5,53	5,55	-
Median des Alters	32 <sup>J</sup>	31 <sup>j</sup>	p = 0,0446

**Tabelle 8 Vergleich der unter 35-jährigen Patienten mit ≥ 4 Vorversuchen mit und ohne PKD**

PKD 0-3 VV versus PKD ≥ 4 VV:

A: n.s.; B: n.s.; C: n.s.; D: n.s.; E: n.s.; F: n.s.; G: n.s.; H: n.s.; I: n.s.; J: p = 0,1304

KG 0-3 VV versus KG ≥ 4 VV:

a: n.s.; b: n.s.; c: p < 0,25; d: n.s.; e: p < 0,25; f: p < 0,25; g: p < 0,25; h: < 0,25; i: n.s.; j: n.s.

### 3.2.2 Vergleich der Patientenkollektive im Alter zwischen 35 und 39 Jahren unterteilt nach Vorversuchen

In die Gruppe zwischen 35 und 39 Jahren fielen insgesamt 134 Polkörperpatientinnen und 489 Patientinnen der Kontrollgruppe. Weiter unterteilt in null bis drei Vorversuche konnten 83 Polkörperpatientinnen mit 403 Kontrollgruppenpatientinnen verglichen werden sowie in mehr als vier Vorversuche 51 Polkörperpatientinnen mit 86 Patientinnen aus der Kontrollgruppe.

Hier zeigten sich in beiden Untergruppen keine Auffälligkeiten in der Zyklenanzahl mit Transfer.

Die Zahl der Embryonen pro Transfer war bei der zweiten Gruppe ( $\geq 4$  VV) mit 2,2 Embryonen pro Transfer bei der Kontrollgruppe im Vergleich zu 1,76 bei den Polkörperpatienten statistisch gesehen hoch signifikant ( $p < 0,0001$ ).

Dennoch ergaben sich für die nachfolgenden Schwangerschafts- und Baby-take-home-Raten keine positiven Auswirkungen für die Patientinnen der Kontrollgruppe.

Des Weiteren zeigten die Implantationsrate wie auch die Zahl der Aborte keine signifikanten Unterschiede zur Polkörpergruppe, jedoch tendierte das statistische Ergebnis der Implantationsrate mit  $p < 0,25$  sowie die prozentuale Verteilung bei den Aborten und Baby-take-home-Raten zugunsten der Polkörperpatientinnen.

Die Eizellrate nach Punktion war im Vergleich unauffällig ( $p < 0,1933$ ).

Im Gegensatz dazu waren bei der Gruppe mit null bis drei VV die unterschiedliche Anzahl der Eizellen, die nach Follikelpunktion zur Verfügung stand, auffällig. Die Polkörperpatientinnen hatten im Schnitt mit 10,83 deutlich mehr Eizellen als die Kontrollgruppe mit durchschnittlich 8,1 Eizellen ( $p < 0,0001$ ).

Ansonsten ergaben sich keine weiteren statistischen Unterschiede dieser Patientengruppen.

Bei Gegenüberstellung der beiden Kategorien (0-3 versus  $\geq 4$  VV) zeigten die Polkörperpatientinnen lediglich eine leicht signifikante Abnahme in der Anzahl der punktierten Eizellen, wenn sie bereits mehr als vier VV hinter sich hatten ( $p = 0,0178$ ).

Unterdessen fiel bei der Kontrollgruppe auf, dass sich Patientinnen, die schon mehr als vier VV hatten, wesentlich mehr Embryonen (2,2 Embryonen / Transfer) transferieren ließen als die mit null bis drei VV (1,96 Embryonen / Transfer) ( $p = 0,00074$ ).

Dies wirkte sich nicht auf die Schwangerschafts- und Baby-take-home-Rate aus, sondern auf die Abortrate, die mit 36,8% deutlich höher war, als die mit null bis drei VV (15,4%) ( $p < 0,05$ ).

Die genannten Daten sind in Tabelle 9 und Tabelle 10 dargestellt.

<b>ALTERSKATEGORIE</b> <b>35-39 JAHRE</b>	<b>PKD-GRUPPE</b> <b>0-3 VV</b>	<b>KONTROLLGRUPPE</b> <b>0-3 VV</b>	<b>p (<math>\chi^2</math>-Test/2- Stichproben-t-Test)</b>
<b>Behandlungszyklen</b>	83	403	-
<b>Zyklen mit Transfer (ET)</b>	74 (89,2%) <sup>A</sup>	361 (89,6%) <sup>a</sup>	n.s.
<b>Embryonen / Transfer</b>	1,82 (135/74) <sup>B</sup>	1,96 (709/361) <sup>b</sup>	p = 0,1237
<b>Schwangerschaften (positives HCG)</b>	28 (SS/ET=37,8%) <sup>C</sup>	117 (SS/ET=32,4%) <sup>c</sup>	n.s.
<b>Klinische Schwangerschaften</b>	21 (KSS/ET=28,4%) <sup>D</sup>	104 (KSS/ET=28,8%) <sup>d</sup>	n.s.
<b>Implantationsrate</b>	16,3% (22/135) <sup>E</sup>	17,5% (124/709) <sup>e</sup>	n.s.
<b>Aborte</b>	4 (Aborte/KSS=19%) <sup>F</sup>	16 (Aborte/KSS=15,4%) <sup>f</sup>	n.s.
<b>Baby-take-home- Rate/Zyklus</b>	20,5% (17/83) <sup>G</sup>	21,8% (88/403) <sup>g</sup>	n.s.
<b>Baby-take-home- Rate/Transfer</b>	23% (17/74) <sup>H</sup>	24,4% (88/361) <sup>h</sup>	n.s.
<b>Mittelwert der punktierten Eizellen</b>	10,83 <sup>I</sup>	8,15 <sup>i</sup>	p < 0,0001
<b>Standardabweichung der punktierten Eizellen</b>	4,39	4,86	-
<b>Median des Alters</b>	37 <sup>J</sup>	37 <sup>j</sup>	p = 0,0018

**Tabelle 9 Vergleich der 35- bis 39-jährigen Patienten mit 0-3 Vorversuchen mit und ohne PKD**

ALTERSKATEGORIE 35-39 JAHRE	PKD-GRUPPE ≥ 4 VV	KONTROLLGRUPPE ≥ 4 VV	p ( $\chi^2$ -Test/2- Stichproben-t-Test)
Behandlungszyklen	51	86	-
Zyklen mit Transfer (ET)	45 (88,2%) <sup>A</sup>	81 (94,2%) <sup>a</sup>	p < 0,25
Embryonen / Transfer	1,76 (79/45) <sup>B</sup>	2,2 (178/81) <sup>b</sup>	p = 0,0001
Schwangerschaften (positives HCG)	16 (SS/ET=35,6%) <sup>C</sup>	21 (SS/ET=25,9%) <sup>c</sup>	n.s.
Klinische Schwangerschaften	12 (KSS/ET=26,7%) <sup>D</sup>	19 (KSS/ET=23,5%) <sup>d</sup>	n.s.
Implantationsrate	20,3% (16/79) <sup>E</sup>	13,5% (24/178) <sup>e</sup>	p < 0,25
Aborte	3 (Aborte/KSS=25%) <sup>F</sup>	7 (Aborte/KSS=36,8%) <sup>f</sup>	n.s.
Baby-take-home- Rate/Zyklus	17,6% (9/51) <sup>G</sup>	14% (12/86) <sup>g</sup>	n.s.
Baby-take-home- Rate/Transfer	20% (9/45) <sup>H</sup>	14,8% (12/81) <sup>h</sup>	n.s.
Mittelwert der punktierten Eizellen	9,16 <sup>I</sup>	8,16 <sup>i</sup>	p = 0,1933
Standardabweichung der punktierten Eizellen	3,56	5,28	-
Median des Alters	37 <sup>J</sup>	37 <sup>j</sup>	p = 0,1119

**Tabelle 10 Vergleich der 35- bis 39-jährigen Patienten mit ≥ 4 Vorversuchen mit und ohne PKD**

**PKD 0-3 VV versus PKD ≥ 4 VV:** A: n.s.; B: n.s.; C: n.s.; D: n.s.; E: n.s.; F: n.s.; G: n.s.; H: n.s.; I: p = 0,0178; J: n.s.

**KG 0-3 VV versus KG ≥ 4 VV:** a: p < 0,25; b: p = 0,00074; c: n.s.; d: n.s.; e: p < 0,25; f: p < 0,05; g: p < 0,1; h: p < 0,1; i: n.s.;  
j: p = 0,177814

### 3.2.3 Vergleich der Patientenkollektive im Alter über 40 Jahren unterteilt nach Vorversuchen

Die älteste Patientengruppe mit über 40 Jahren bestand aus 261 Patientinnen, von denen 102 der Polkörpergruppe und 159 der Kontrollgruppe angehörten. Aufgeteilt in die Kategorien der Vorversuche erhielt man bei der Gruppe mit null bis drei



Vorversuchen 49 Polkörperpatientinnen sowie 120 Patientinnen aus der Kontrollgruppe (Median des Alters der PKG: 41 Jahre; Median des Alters der KG: 41 Jahre).

Die zweite Kategorie mit mehr als vier VV gliederte sich in 53 Polkörperpatientinnen und 39 aus der Kontrollgruppe (Median des Alters der PKG: 41 Jahre; Median des Alters der KG: 42 Jahre).

Bei der Auswertung der Untergruppe, die bisher null bis drei VV erhalten hatte, sah es anhand der prozentualen Verteilung zunächst so aus, als ob die Polkörperpatientinnen in fast allen Prüfgrößen besser abgeschnitten hätten als die Kontrollgruppe.

So waren beispielsweise die Schwangerschaftsraten wie auch die Implantationsraten zugunsten der Polkörperdiagnostik erhöht, statistisch gesehen jedoch nicht signifikant.

Bei der Anzahl der Aborte zeigte sich eine leichte Tendenz, wenn auch keine Signifikanz zugunsten der Polkörpergruppe. Mit 15,5% zu 43,8% hatte die Polkörpergruppe zwar zahlenmäßig auf den ersten Blick eindeutig weniger Aborte, statistisch ergab sich jedoch nur eine Fehlerwahrscheinlichkeit von  $p < 0,25$ .

Ähnlich verhielt es sich mit den Baby-take-home-Raten, die prozentual fast doppelt so hoch waren (Baby-take-home-Raten / Zyklus: 14,3% zu 7,5%; Baby-take-home-Raten / Transfer: 17,9% zu 9,7%) und wohl auf die unterschiedlichen Größen der Stichproben zurückzuführen sind. Statistisch ergaben sich nur Fehlerwahrscheinlichkeiten von  $p < 0,25$ , welche nur leicht zur Signifikanz tendieren.

Das einzig hochsignifikante Ergebnis war der Unterschied in der Anzahl der vorhandenen punktierten Eizellen. Mit durchschnittlich 9,2 Eizellen pro Behandlungszyklus hatten die Polkörperpatientinnen deutlich mehr als die im Schnitt 5,4 punktierten Eizellen der Kontrollgruppe ( $p < 0,0001$ ).

Die zweite Kategorie mit mehr als vier Vorversuchen wies analog der Gruppe mit weniger Vorversuchen wesentliche Unterschiede in der Zahl der punktierten Eizellen auf ( $p < 0,0001$ ). Wiederum standen der Kontrollgruppe signifikant weniger Eizellen nach Punktion zur Verfügung als der Polkörpergruppe. Mit nur 3,7 Eizellen der Kontrollgruppe zu 8,7 der Polkörpergruppe zeigte sich sogar eine Abnahme zur Kontrollgruppe mit null bis drei Vorversuche, die sich statistisch in der Fehlerwahrscheinlichkeit  $p = 0,0025$  ausdrückte.

Die anderen Prüfgrößen erbrachten keine statistischen Vor- oder Nachteile für eine der beiden Gruppen.

Die prozentuale Verteilung zugunsten der Polkörpergruppe vor allem in Bezug auf die deutlich niedrigere Abortrate (25% zu 50%) ließ anfangs Signifikanzen vermuten, jedoch waren die Zahlenwerte mit einem Abort pro klinische Schwangerschaft so gering, dass sich keine eindeutigen Aussagen treffen lassen können.

Ähnlich verhielt es sich mit den Baby-take-home-Raten, die mit Zahlenwerten von drei pro 53 Zyklen bzw. pro 43 Transfers der Polkörperpatientinnen im Vergleich zu einem pro 39 Zyklen bzw. pro 33 Transfers der Kontrollgruppe wenig Aussagekraft hatten, um allgemeingültige Schlüsse zu ziehen.

Nachzuvollziehen sind die Daten in Tabelle 11 und Tabelle 12.

ALTERSKATEGORIE ≥ 40 JAHRE	PKD-GRUPPE 0-3 VV	KONTROLLGRUPPE 0-3 VV	p ( $\chi^2$ -Test/2- Stichproben-t-Test)
Behandlungszyklen	49	120	-
Zyklen mit Transfer (ET)	39 (79,6%) <sup>A</sup>	93 (77,5%) <sup>a</sup>	n.s.
Embryonen / Transfer	1,72 (67/39) <sup>B</sup>	1,9 (177/93) <sup>b</sup>	n.s.
Schwangerschaften (positives HCG)	9 (SS/ET=23,1%) <sup>C</sup>	21 (SS/ET=22,6%) <sup>c</sup>	n.s.
Klinische Schwangerschaften	8 (KSS/ET=20,5%) <sup>D</sup>	16 (KSS/ET=17,2%) <sup>d</sup>	n.s.
Implantationsrate	11,9% (8/67) <sup>E</sup>	9,6% (17/177) <sup>e</sup>	n.s.
Aborte	1 (Aborte/KSS=12,5%) <sup>F</sup>	7 (Aborte/KSS=43,8%) <sup>f</sup>	p < 0,25
Baby-take-home- Rate/Zyklus	14,3% (7/49) <sup>G</sup>	7,5% (9/120) <sup>g</sup>	p < 0,25
Baby-take-home- Rate/Transfer	17,9% (7/39) <sup>H</sup>	9,7% (9/93) <sup>h</sup>	p < 0,25
Mittelwert der punktierten Eizellen	9,24 <sup>I</sup>	5,44 <sup>i</sup>	p < 0,0001
Standardabweichung der punktierten Eizellen	4,39	4,86	-
Median des Alters	37 <sup>J</sup>	37 <sup>j</sup>	p = 0,0018

Tabelle 11 Vergleich der über 40-jährigen Patienten mit 0-3 Vorversuchen mit und ohne PKD

ALTERSKATEGORIE ≥ 40 JAHRE	PKD-GRUPPE ≥ 4 VV	KONTROLLGRUPPE ≥ 4 VV	p ( $\chi^2$ -Test/2- Stichproben-t-Test)
Behandlungszyklen	53	39	-
Zyklen mit Transfer (ET)	43 (81,1%) <sup>A</sup>	33 (84,6%) <sup>a</sup>	n.s.
Embryonen / Transfer	1,77 (76/43) <sup>B</sup>	1,73 (57/33) <sup>b</sup>	n.s.
Schwangerschaften (positives HCG)	8 (SS/ET=18,6%) <sup>C</sup>	5 (SS/ET=15,2%) <sup>c</sup>	n.s.
Klinische Schwangerschaften	4 (KSS/ET=9,3%) <sup>D</sup>	2 (KSS/ET=6,1%) <sup>d</sup>	n.s.
Implantationsrate	7,9% (6/76) <sup>E</sup>	3,5% (2/57) <sup>e</sup>	n.s.
Aborte	1 (Aborte/KSS=25%) <sup>F</sup>	1 (Aborte/KSS=50%) <sup>f</sup>	n.s.
Baby-take-home- Rate/Zyklus	5,7% (3/53) <sup>G</sup>	2,6% (1/39) <sup>g</sup>	n.s.
Baby-take-home- Rate/Transfer	7% (3/43) <sup>H</sup>	3% (1/33) <sup>h</sup>	n.s.
Mittelwert der punktierten Eizellen	8,72 <sup>I</sup>	3,69 <sup>i</sup>	p < 0,0001
Standardabweichung der punktierten Eizellen	3,96	2,45	-
Median des Alters	41 <sup>J</sup>	42 <sup>j</sup>	p = 0,0358

**Tabelle 12 Vergleich der über 40-jährigen Patienten mit ≥ 4 Vorversuchen mit und ohne PKD**

PKD 0-3 VV versus PKD ≥ 4 VV : A: n.s.; B: n.s.; C: n.s.; D: p < 0,25; E: n.s.; F: n.s.; G: p < 0,25; H: p < 0,25; I: n.s.; J: n.s.

KG 0-3 VV versus KG ≥ 4 VV: a: n.s.; b: n.s.; c: n.s.; d: p < 0,25; e: p < 0,25; f: n.s.; g: n.s.; h: p < 0,25; i: p = 0,0025; j: p = 0,0044

### 3.3 Vergleich der Untersuchungsgruppen innerhalb ihrer jeweiligen Altersklassen

Nachfolgend wurden die beiden Untersuchungsgruppen separat in ihren jeweilig unterschiedlichen Alterssubgruppen betrachtet und verglichen. Auf die Unterteilung in unterschiedliche Vorversuche wurde verzichtet.

Verglichen wurden die Kollektive der unter 35-jährigen mit den 35- bis 39-jährigen, des Weiteren die Gruppen der 35- bis 39-jährigen mit den über 40-jährigen sowie die unter 35-jährigen mit den über 40-jährigen Patienten.

### **3.3.1 Vergleich der Polkörperpatientinnen in verschiedenen Alterskategorien**

Beim Vergleich der unter 35-jährigen Polkörperpatientinnen mit den 35- bis 39-jährigen zeigten sich keine relevanten Unterschiede. Die 55 Patienten unter 35 Jahren hatten mit 80% Transferzyklen nicht signifikant weniger als ihr Vergleichskollektiv mit 88,8% bestehend aus 134 Patientinnen zwischen 35 und 39 Jahren ( $p < 0,25$ ).

Die Embryonenzahl war bei der jüngeren Gruppe leicht, wenn auch nicht signifikant erniedrigt ( $p = 0,0873$ ).

Die klinische Schwangerschaftsrate war unauffällig ( $p < 0,25$ ), wenn auch prozentual zugunsten der 35- bis 39-jährigen hinweisend (15,9% der < 35-jährigen zu 27,7% der 35- bis 39-jährigen).

Die Abortrate war nicht signifikant, wobei erneut die niedrigen Zahlenwerte der unter 35-jährigen mit einem Abort pro sieben klinischen Schwangerschaften beachtet werden muß.

Analog der klinischen Schwangerschaftsrate zeigten die Baby-take-home-Raten keine Unterschiede, tendierten zahlenmäßig zugunsten der älteren Vergleichsgruppe (11,4% Baby-take-home-Rate / Transfer bei den unter 35-jährigen; 21,8% Baby-take-home-Rate / Transfer bei den 35- bis 39-jährigen,  $p < 0,25$ ).

Es zeigte sich keine Abnahme in der Anzahl der punktierten Eizellen.

Der Vergleich der 134 35- bis 39-jährigen Polkörperpatientinnen mit den 102 Patientinnen über 40 Jahren ließ keine Unterschiede in der Anzahl der Zyklen mit Transfer ( $p < 0,1$ ) wie auch der transferierten Embryonen erkennen ( $p = 0,0662$ ). Erste Unterschiede zeigten sich in den Schwangerschaftsraten. Sowohl die Schwangerschaftsrate mit positiven HCG-Werten ( $p < 0,025$ ) als auch die klinische Schwangerschaftsrate ( $p < 0,05$ ) waren bei dem jüngeren der beiden Kollektiven erhöht.

Trotz erhöhter Implantationsrate für die 35- bis 39-jährigen ( $p < 0,05$ ) war die Baby-take-home-Rate pro Transfer nicht signifikant erhöht ( $p < 0,1$ ), wies aber Tendenzen zugunsten des jüngeren Kollektivs auf.

Mögliche Auswirkungen auf die Abortrate zeigten sich nicht.

Mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit von  $p < 0,05$  hatten die 35- bis 39-jährigen eine höhere Baby-take-home-Rate pro Zyklus als die über 40-jährigen, die mit 102 Behandlungszyklen allerdings weniger Zyklen aufweisen konnten als die 134 Zyklen der 35- bis 39-jährigen.

Der Altersunterschied schien zu einer Abnahme der Anzahl punktierter Eizellen zu führen ( $p = 0,0387$ ). Dem jüngeren Kollektiv konnte mit 9,6 Eizellen mehr punktiert werden als den über 40-jährigen mit 8,9 Eizellen.

Die Abnahme der Eizellanzahl mit zunehmendem Alter wird graphisch in Abbildung 7 dargestellt und erläutert.

Der dritte Vergleich erfolgte zwischen den 55 Patientinnen aus dem jüngsten Kollektiv mit den 102 Patientinnen des ältesten.

Bei der Behandlung im Rahmen der Polkörperdiagnostik wurden bei den jüngeren Patientinnen mit 80% zu 80,4% annähernd gleich viele Zyklen mit Transfer durchgeführt wie bei den älteren.

Die Zahl der eingesetzten Embryonen war mit 1,73 der unter 35-jährigen nahezu identisch mit den 1,74 der über 40-jährigen.

Schwangerschafts- und Implantationsrate waren statistisch unauffällig, prozentual schien das jüngere Polkörperkollektiv bessere Raten zu erzielen.

Beim Vergleich der Abortrate ergab sich keine wesentliche Signifikanz, zu berücksichtigen waren jedoch die niedrigen Werte der unter 35-jährigen. Ein Abort pro sieben klinischen Schwangerschaften ist für die statistische Auswertung und anschließende Beurteilung sehr wenig.

Erneut war es zu einer sehr signifikanten Abnahme der Eizellanzahl der unter 35-jährigen der Polkörpergruppe gegenüber der Eizellanzahl der über 40-jährigen gekommen. Mit 8,9 Eizellen konnte letzteren eindeutig weniger entnommen werden als den jüngeren mit 11,4 Eizellen ( $p = 0,0053$ ).

Eine Übersicht der erfassten Daten findet sich in Tabelle 13.

<b>PKD-GRUPPE alle VV</b>	<b>p (&lt; 35 versus 35-39)</b>	<b>p (35-39 versus &gt; 40)</b>	<b>p (&lt; 35 versus &gt; 40)</b>
<b>Behandlungszyklen</b>	-	-	-
<b>Zyklen mit Transfer (ET)</b>	p < 0,25	p < 0,1	n.s.
<b>Embryonen / Transfer</b>	p = 0,0873	p = 0,0662	n.s.
<b>Schwangerschaften (positives HCG)</b>	p < 0,1	p < 0,025	n.s.
<b>Klinische Schwangerschaften</b>	p < 0,25	p < 0,05	n.s.
<b>Implantationsrate</b>	p < 0,25	p < 0,05	n.s.
<b>Aborte</b>	n.s.	n.s.	n.s.
<b>Baby-take-home- Rate/Zyklus</b>	p < 0,1	p < 0,05	n.s.
<b>Baby-take-home- Rate/Transfer</b>	p < 0,25	p < 0,1	n.s.
<b>Mittelwert der punktierten Eizellen</b>	p = 0,136	p = 0,039	p = 0,005
<b>Standardabweichung der punktierten Eizellen</b>	-	-	-
<b>Median des Alters</b>	-	-	-

**Tabelle 13 Vergleich des gesamten Patientenkollektivs mit PKD innerhalb der verschiedenen Altersgruppen**

### 3.3.2 Vergleich der Kontrollgruppe in verschiedenen Alterskategorien

Beim Vergleich der Kontrollgruppen in den unterschiedlichen Altersklassen konnte man signifikantere Ergebnisse beobachten.

618 Patientinnen unter 35 Jahren wurden 489 Patientinnen zwischen 35 und 39 Jahren gegenübergestellt. Mit 94,5% zu 90,4% und einer Fehlerwahrscheinlichkeit von  $p < 0,01$  wurden bei dem jüngeren Kollektiv mehr Embryotransfers durchgeführt.

Die Zahl der transferierten Embryonen lag nicht signifikant auseinander. Die unter 35-jährigen bekamen 1,93 Embryonen eingesetzt, die 35- bis 39-jährigen 2,01.

Die Schwangerschaftsraten zeigten hochsignifikante Unterschiede ( $p < 0,001$ ). Mit einer klinischen Schwangerschaftsrate von 38,4% der unter 35-jährigen zeigte sich ein deutlicher Abfall hin zu dem älteren Kollektiv, welches eine Rate von 27,8% hatte.

Ähnlich verhielt es sich mit der Implantationsrate. Mit 21,8% lag sie bei der jüngeren Gruppe um 5% höher als die der 35- bis 39-jährigen.

Die Abortraten unterschieden sich innerhalb der beiden Alterskategorien statistisch nicht voneinander.

Die Baby-take-home-Rate pro Transfer lag bei den 35- bis 39-jährigen signifikant niedriger ( $p < 0,001$ ). Mit 22,6% oder 100 Geburtszyklen pro 442 Embryotransfers (ET) konnte diese Gruppe deutlich weniger Geburtszyklen vorweisen als das jüngere Vergleichskollektiv. Dieses wies eine Baby-take-home-Rate von 32,4% mit 189 Geburtszyklen bezogen auf 584 Transferzyklen mit geborenen Kindern auf.

Die Baby-take-home-Rate pro Zyklus fiel entsprechend der unterschiedlich großen Stichproben zugunsten der größeren Gruppe, der unter 35-jährigen, aus ( $p < 0,001$ ).

Die Eizellrate sank signifikant mit höherem Alter der 35- bis 39-jährigen ( $p < 0,0001$ ). Den unter 35-jährigen konnten durchschnittlich noch 9,8 Eizellen punktiert werden, den 35- bis 39-jährigen nur noch 8,1.

Die zweite Vergleichsgruppe setzte sich aus den 35- bis 39-jährigen und den über 40-jährigen, dem somit ältesten Kollektiv, zusammen.



Die aus 159 Patientinnen bestehende ältere Kontrollgruppe erhielt hochsignifikant weniger Embryotransfers als ihr Vergleichskollektiv bestehend aus 489 Patientinnen ( $p < 0,001$ ; 79,2% zu 90,4%).

Die Zahl der transferierten Embryonen mit 1,86 Embryonen der über 40-jährigen zu 2,01 der jüngeren Gruppe ergab einen statistischen Unterschied mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit von  $p < 0,0001$ .

Die Schwangerschaftsraten und die Implantationsrate der über 40-jährigen blieben signifikant niedrig ( $p < 0,005$ ). Prozentual lagen die Raten der 35- bis 39-jährigen mit 27,8% klinischer Schwangerschaften und 16,7% erfolgter Implantationen fast doppelt so hoch wie bei den über 40-jährigen.

Auffällig war die Signifikanz nach Vergleich der Abortraten. Mit einer Abortrate von 44,4% und einer Fehlerwahrscheinlichkeit von  $p < 0,025$  mussten bei den über 40-jährigen mehr Aborte verzeichnet werden als bei den jüngeren mit 18,7%.

Beide Baby-take-home-Raten fielen zugunsten der 35- bis 39-jährigen aus. Mit Fehlerwahrscheinlichkeiten von  $p < 0,001$  zeigten die Zahlenwerte eine eindeutige Verschlechterung für das älteste Kollektiv der Kontrollgruppe. Die Baby-take-home-Rate pro Transfer lag mit 7,9% der über 40-jährigen deutlich unter der der 35- bis 39-jährigen mit 22,6%.

Die hohe Baby-take-home-Rate bezogen auf die Behandlungszyklen erklärte sich mit der höheren Anzahl an Behandlungszyklen der 35- bis 39-jährigen.

Analog zu dem Vergleich der unter 35-jährigen mit den 35- bis 39-jährigen sank die Eizellzahl von der Gruppe der 35- bis 39-jährigen zu den über 40-jährigen weiter ( $p < 0,0001$ ). Von den durchschnittlich 8,1 Eizellen der 35- bis 39-jährigen konnten den über 40-jährigen im Vergleich nur fünf Eizellen entnommen werden.

Der Vergleich der jüngsten mit der ältesten Kontrollgruppe ähnelte in den statistischen Ergebnissen dem Vergleich der 35- bis 39-jährigen mit den über 40-jährigen. Nur zeigte der Vergleich der unter 35-jährigen mit den über 40-jährigen deutlich stärkere Tendenzen zugunsten der unter 35-jährigen.

Mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit von  $p < 0,001$  wurden deutlich weniger Embryotransfers bei den Älteren durchgeführt.

Den über 40-jährigen wurden signifikant weniger Embryonen transferiert ( $p < 0,0001$ ), auch wenn die Zahlenwerte von 1,86 zu 1,93 nicht auffallend auseinander wichen. Hochsignifikant waren die Unterschiede in der klinischen Schwangerschafts- und Implantationsrate. Bei den unter 35-jährigen konnten mit 38,4% klinischer Schwangerschaften zu 14,3% der über 40-jährigen eindeutige Erfolge erzielt werden ( $p < 0,001$ ). Analog belief sich das Verhältnis der Prozentualwerte der Implantationsraten (21,8% zu 8,1%;  $p < 0,001$ ).

Die Abortrate der über 40-jährigen war auffällig hoch ( $p < 0,005$ ). Acht Aborte von 18 klinischen Schwangerschaften (44,4%) konnten beobachtet werden, während es bei den unter 35-jährigen 35 Aborten von 224 klinischen Schwangerschaften (15,6%) waren. Bei den Baby-take-home-Raten ergaben sich mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit von  $p < 0,001$  bessere Werte für die unter 35-jährigen. Mit einer Baby-take-home-Rate pro Transfer von 32,4% verlief die Behandlung eindeutig erfolgreicher als bei dem älteren Kollektiv mit 7,9%.

Die Eizellrate der über 40-jährigen ergab fünf Eizellen nach Punktion, während den unter 35-jährigen 9,8 Eizellen entnommen werden konnten.

Die ermittelten Zahlenwerte sind in Tabelle 14 dargestellt.

KONTROLLGRUPPE alle VV	p (< 35 versus 35-39)	p (35-39 versus > 40)	p (< 35 versus > 40)
Behandlungszyklen	-	-	-
Zyklen mit Transfer (ET)	p < 0,01	p < 0,001	p < 0,001
Embryonen / Transfer	n.s.	p < 0,0001	p < 0,0001
Schwangerschaften (positives HCG)	p < 0,001	p < 0,025	p < 0,001
Klinische Schwangerschaften	p < 0,001	p < 0,005	p < 0,001
Implantationsrate	p < 0,005	p < 0,005	p < 0,001
Aborte	n.s.	p < 0,025	p < 0,005
Baby-take-home- Rate/Zyklus	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001
Baby-take-home- Rate/Transfer	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001
Mittelwert der punktierten Eizellen	p < 0,0001	p < 0,0001	p < 0,0001
Standardabweichung der punktierten Eizellen	-	-	-
Median des Alters	-	-	-

Tabelle 14 Vergleich des gesamten Kontrollkollektivs ohne PKD innerhalb der verschiedenen Altersgruppen

### 3.4 Separater Vergleich der Polkörpergruppe mit der Kontrollgruppe anhand festgelegter Kriterien

Mit der Alterskategorie über 35 Jahren und mehr als zwei erfolglosen Vorversuchen wurde ein separater Vergleich der Patientenkollektive mit und ohne PKD mit einer 6-color-Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (6-FISH) durchgeführt. Anhand dieser Rahmenbedingungen wurden 75 Polkörperpatienten (Median des Alters der PKG: 39,1 Jahre) mit 126 Patienten der Kontrollgruppe (Median des Alters der KG: 38,1 Jahre) verglichen.

Der Vergleich barg vorerst keine statistischen Auffälligkeiten; prozentual tendierten die Ergebnisse in den Schwangerschaftsraten, der Implantations-, der Baby-take-home- und der Abort-Rate zugunsten des älteren Polkörperkollektivs (siehe Tabelle 15).

Eine Besonderheit ließ sich dennoch in der erreichten Implantationsrate von 14,4% nach PKD erkennen (Montag et al., 2005). Nicht der Vergleich mit der Bonner Kontrollgruppe sondern der mit den Ergebnissen der in Deutschland nicht zugelassenen PID zeigte Bemerkenswertes:

Nach einer unter analogen Voraussetzungen durchgeführten PID der Arbeitsgruppe um Munné konnte eine Implantationsrate von 14,3% dokumentiert werden (Munné et al., 2003). Trotz Untersuchung von acht bis elf Chromosomen mittels PID führte die Beurteilung von lediglich sechs Chromosomen bei PKD mit 14,4% zu vergleichbaren Ergebnissen.

KATEGORIE < 35 JAHRE; ≥ 2 VV	PKD-GRUPPE	KONTROLLGRUPPE	p ( $\chi^2$ -Test/2- Stichproben-t-Test)
Median des Alters	39.1	38.1	p < 0.01
Anzahl erfolgloser VV	3.87	3.97	n.s. (p = 0.8)
Behandlungszyklen	75	126	n.b.
Zyklen mit Transfer (ET)	62 (82.7%)	118 (93.7%)	n.b.
Embryonen / Transfer	1.68 (104/62)	1.88 (222/118)	p < 0.001
Schwangerschaften (positives HCG)	23 (SS/ET=37.1%)	27 (SS/ET=22.9%)	p < 0.05
Klinische Schwangerschaften	15 (KSS/ET=24.2%)	22 (KSS/ET=18.6%)	n.s.
Implantationsrate	<b>14.4% (15/104)</b>	10.8% (24/222)	n.s.
Aborte	3 (Aborte/KSS= 20.0%)	7 (Aborte/KSS=31.8%)	n.s.
Baby-take-home- Rate/Transfer	19.4% (12/62)	12.7% (15/118)	p = 0.13

Munné et al., 2003: Präimplantationsdiagnostik / 8-11 Chromosomen / Implantationsrate: 14.3%

Tabelle 15 Vergleich von Patienten über 35 Jahren und ≥ 2 VV mit und ohne PKD (Ergebnisse mit 6-color-FISH)

### 3.5 Polkörperdiagnostik-Zyklen in Abhängigkeit von Vor-Aborten

Die Zyklen der Polkörperpatientinnen wurden in Abhängigkeit der Vor-Aborte betrachtet. Relevanz hatte die Anzahl derjenigen Aborte, die vor dem aktuellen, in die Studie eingegangenen, Behandlungszyklus registriert wurde.

Die Patientinnen wurden nach Anzahl ihrer Vor-Aborte in drei Subgruppen eingeteilt. Zugeordnet wurde nach Vorhandensein von keinem Vor-Abort, einem Vor-Abort und mehr als einem Vor-Abort.

Des Weiteren erfolgte eine Unterteilung in die jeweiligen Alterklassen, wobei die Kategorien jünger als 35 Jahre, zwischen 35 und 39 Jahren und älter als 40 Jahre gewählt wurden.

Anhand dieser Kriterien erfolgte die statistische Auswertung der Prüfgrößen mit den in Abschnitt 2.6 beschriebenen Testverfahren.

Es wurden alle drei Gruppen in der jeweiligen Altersklasse miteinander verglichen (keine Vor-Aborte versus einen Vor-Abort, keine Vor-Aborte versus mehr als einen Vor-Abort, ein Vor-Abort versus mehr als einen Vor-Abort).

Um Rückschlüsse auf die Häufigkeiten der möglichen Sterilitätsursachen (primäre oder sekundäre Sterilität) zu ziehen, erfolgte eine zusätzliche Unterteilung in zwei weitere Subgruppen. Die Patienten ohne Vor-Aborte wurden nach vorangegangenen Schwangerschaften beurteilt, wobei eine Gruppierung in keine vorangegangenen Schwangerschaften und in mehr als eine vorangegangene Schwangerschaft stattfand. Nach Ermittlung der relativen und absoluten Zahlenwerte der Subgruppen wurden der Mittelwert und die Standardabweichungen der Eizellen errechnet. Weitere statistische Auswertungen blieben aus.

Ein analoger Vergleich innerhalb der Kontrollgruppe und anschließend mit den Ergebnissen der Polkörperpergruppe erfolgte nicht.

### **3.5.1 PKD-Zyklen aller Altersklassen in Abhängigkeit von Vor-Aborten**

Zunächst wurde das Kollektiv in seiner Gesamtheit in Abhängigkeit der Vor-Abortrate betrachtet.

Von den 291 Patientinnen, die eine PKD erhalten haben, hatten 177 Patientinnen keine Vor-Aborte vor dem aktuellen PKD-Zyklus. Bei 67 Patientinnen wurde ein Vor-Abort verzeichnet, während es bei 47 Patientinnen mehr als ein Vor-Abort war.

Bei der Betrachtung der Subgruppen ohne Vor-Aborte sowie keinen oder mehreren vorangegangenen Schwangerschaften fiel auf, dass deutlich mehr Patientinnen keine vorangegangene Schwangerschaft hatten. Von den 177 Patientinnen ohne Vor-Aborte waren 122 vorher nie schwanger, während bei 55 Patientinnen bereits eine oder

mehrere Schwangerschaften registriert wurden. Somit war die Zahl an primären Sterilitäten höher als die an sekundären.

Zwischen den verschiedenen Gruppen zeigten sich in der Anzahl der Zyklen mit Transfer keine statistischen Auffälligkeiten.

Mit 1,78 transferierten Embryonen der Patientengruppe ohne Vor-Aborte, 1,75 Embryonen der Gruppe mit genau einem Vor-Abort und den 1,74 transferierten Embryonen der Gruppe mit mehr als einem Vor-Abort ließ sich erwartungsgemäß kein signifikantes Ergebnis feststellen.

Erste Abweichungen zeigten sich in den Schwangerschaftsraten. Die unter Abschnitt 2.1 definierte Schwangerschaftsrate mit positivem HCG-Wert der Patientinnen unterschieden sich signifikant beim Vergleich der Gruppe ohne Vor-Aborte mit der Gruppe mit einem Vor-Abort ( $p < 0,05$ ). Die Patientinnen ohne Vor-Aborte wiesen eine deutlich niedrigere Schwangerschaftsrate auf (26,7%) als die Vergleichsgruppe mit 41%. Auswirkungen auf die Anzahl der klinischen Schwangerschaften konnte diese Rate nicht zeigen ( $p < 0,25$ ).

Beim weiteren Vergleich dieser beiden Subgruppen konnten keine signifikanten Unterschiede mehr festgestellt werden. Obwohl die Abortrate keine Auffälligkeiten zeigte, ließ sich ein Trend in den Baby-take-home-Raten zugunsten der Gruppe mit einem Vor-Abort deuten.

In der Zahl der punktierten Eizellen wurden keine statistischen Abweichungen deutlich. Trotz Vergleich von Polkörperpatientinnen aller Altersklassen wich das mittlere Alter der Gruppe ohne Vor-Aborte und der Gruppe mit einem Vor-Abort mit 38 Jahren nicht signifikant auseinander.

Die Schwangerschaftsraten der Gruppe ohne Vor-Aborte und der mit mehr als einem Vor-Abort waren unauffällig.

Bei diesen beiden Subgruppen ließen sich auch beim Vergleich der restlichen Prüfgrößen keine Signifikanzen feststellen.

Das Alter wich mit 38 Jahren bei der Gruppe ohne Vor-Aborte nicht signifikant von der Gruppe mit mehr als einem Vor-Abort und 39 Jahren ab.

Beim Betrachten der Subgruppe mit einem Vor-Abort und der mit mehr als einem Vor-Abort fiel die Schwangerschaftsrate mit positivem HCG-Wert erneut auf.

Mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit von  $p < 0,025$  zeigte wiederum die Gruppe mit nur einem Vor-Abort eine erheblich bessere Schwangerschaftsrate als die Vergleichsgruppe. Prozentual ließ sich das mit 41% versus 18,4% ausdrücken.

Auf die klinischen Schwangerschaften übte diese Rate keinen Einfluss aus, ebenso wenig auf die Implantations- und Abortrate.

Die Baby-take-home-Raten ließen dagegen signifikante Unterschiede zugunsten der Gruppe mit einem Vor-Abort erkennen. Die Baby-take-home-Rate pro Transfer zeigte mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit von  $p < 0,05$  und einem prozentualen Anteil von 24,6% der Gruppe mit einem Vor-Abort einen signifikanten Unterschied zu der Gruppe mit mehr als einem Vor-Abort. Letztgenannte wies mit einer Baby-take-home-Rate pro Transfer von 7,9% ein deutlich schlechteres Ergebnis auf.

Die Baby-take-home-Rate pro Behandlungszyklus fiel mit  $p < 0,025$  zugunsten der Gruppe mit einem Vor-Abort aus.

Im Alters- und Eizellanzahldurchschnitt waren keine signifikanten Unterschiede festzustellen.

Die detaillierten Daten können den folgenden Tabellen 16 bis 18 entnommen werden.



<b>PKD-GRUPPE alle ALTERSKLASSEN</b>	<b>0 Aborte</b>	<b>1 Abort</b>	<b>&gt; 1 Abort</b>
<b>Behandlungszyklen</b>	177	67	47
<b>Zyklen mit Transfer (ET)</b>	146 (82,5%)	61 (92,5%)	38 (80,9%)
<b>Embryonen / Transfer</b>	1,78 (260/146)	1,75 (107/61)	1,74 (66/38)
<b>Schwangerschaften (positives HCG)</b>	39 (SS/ET=26,7%)	25 (SS/ET=41%)	7 (SS/ET=18,4%)
<b>Klinische Schwangerschaften</b>	29 (KSS/ET=19,9%)	18 (KSS/ET=29,5%)	5 (KSS/ET=13,2%)
<b>Implantationsrate</b>	12,3% (32/260)	19,6% (21/107)	10,6% (7/66)
<b>Aborte</b>	5 (17,2%)	3 (Aborte/KSS=16,7%)	2 (Aborte/KSS=40%)
<b>Baby-take-home- Rate/Zyklus</b>	13% (23/177)	22,4% (15/67)	6,4% (3/47)
<b>Baby-take-home- Rate/Transfer</b>	15,8% (23/146)	24,6% (15/61)	7,9% (3/38)
<b>Mittelwert der punktierten Eizellen</b>	9,93	9,79	10,53
<b>Standardabweichung der punktierten Eizellen</b>	4,57	4,76	4,84
<b>Median des Alters</b>	38	38	39

**Tabelle 16 Vergleich aller Polkörperpatienten nach Anzahl der vorausgegangenen Aborte  
(0 Aborte; 1 Abort; > 1 Abort)**

<b>PKD-GRUPPE alle ALTERSKLASSEN</b>	<b>0 Aborte</b>	<b>0 Aborte mit 0 SS</b>	<b>0 Aborte mit &gt; 1 SS</b>
<b>Behandlungszyklen</b>	177	122	55
<b>Zyklen mit Transfer (ET)</b>	146 (82,5%)	95 (77,9%)	51 (92,7%)
<b>Embryonen / Transfer</b>	1,78 (260/146)	1,74 (165/95)	1,86 (95/51)
<b>Schwangerschaften (positives HCG)</b>	39 (SS/ET=26,7%)	27 (SS/ET=28,4%)	12 (SS/ET=23,5%)
<b>Klinische Schwangerschaften</b>	29 (KSS/ET=19,9%)	21 (KSS/ET=22,1%)	8 (KSS/ET=15,7%)
<b>Implantationsrate</b>	12,3% (32/260)	14,5% (24/165)	8,4% (8/95)
<b>Aborte</b>	5 (17,2%)	2 (Aborte/KSS=9,5%)	3 (Aborte/KSS=37,5)
<b>Baby-take-home- Rate/Zyklus</b>	13% (23/177)	15,6% (19/122)	7,3% (4/55)
<b>Baby-take-home- Rate/Transfer</b>	15,8% (23/146)	20% (19/95)	7,8% (4/51)
<b>Mittelwert der punktierten Eizellen</b>	9,93	9,93	9,93
<b>Standardabweichung der punktierten Eizellen</b>	4,57	4,99	3,54
<b>Median des Alters</b>	38	38	39

**Tabelle 17 Vergleich aller Polkörperpatienten ohne vorausgegangenem Abort, unterteilt nach vorherigen Schwangerschaften**

PKD-GRUPPE alle ALTERSKLASSEN	p (0 versus 1)	p (0 versus >1)	p (1 versus >1)
Behandlungszyklen	-	-	-
Zyklen mit Transfer (ET)	p < 0,1	n.s.	p < 0,25
Embryonen / Transfer	n.s.	n.s.	n.s.
Schwangerschaften (positives HCG)	p < 0,05	n.s.	p < 0,025
Klinische Schwangerschaften	p < 0,25	n.s.	p < 0,1
Implantationsrate	p < 0,1	n.s.	p < 0,25
Aborte	n.s.	p < 0,25	n.s.
Baby-take-home- Rate/Zyklus	p < 0,1	p < 0,25	p < 0,025
Baby-take-home- Rate/Transfer	p < 0,25	p < 0,25	p < 0,05
Mittelwert der punktierten Eizellen	n.s.	n.s.	n.s.
Standardabweichung der punktierten Eizellen	-	-	-
Median des Alters	n.s.	n.s.	n.s.

**Tabelle 18 Statistik des Vergleichs aller Polkörperpatienten nach Anzahl der vorausgegangenen Aborte (0 Aborte; 1 Abort; > 1 Abort)**

### **3.5.2 PKD-Zyklen der unter 35-jährigen in Abhängigkeit von Vor-Aborten**

In die Alterskategorie unter 35 Jahren fielen 55 Polkörperpatientinnen. 41 der Patienten hatten keine Vor-Aborte, acht hatten einen Vor-Abort und sechs mehr als einen Vor-Abort.

Von primärer Sterilität waren 35 Patientinnen unter 35 Jahren betroffen. Bei sechs Patientinnen ohne Vor-Aborte waren Schwangerschaften vorangegangen.

Aufgrund der niedrigen Zahlenwerte wurde keine tabellarische Auswertung vorgenommen, um weder einen positiven noch negativen Einfluss auf die Gesamtauswertung auszuüben.

### **3.5.3 PKD-Zyklen der 35- bis 39-jährigen in Abhängigkeit von Vor-Aborten**

134 Patientinnen zwischen 35 und 39 Jahren wurden in Abhängigkeit ihrer Vor-Aborte in die drei zu untersuchenden Subgruppen eingeteilt. 72 hatten keine Vor-Aborte vor dem aktuellen PKD-Zyklus, 20 hatten einen Vor-Abort und 22 Patientinnen hatten mehr als einen Vor-Abort.

Die Subgruppe ohne Vor-Aborte ließ sich weiter unterteilen. Bei 46 der 72 Patientinnen konnte keine vorangegangene Schwangerschaft festgestellt werden, 26 Patientinnen waren öfter als einmal schwanger.

Beim Vergleich der drei Subgruppen zeigten sich keine Unterschiede in der Zahl der Behandlungszyklen.

Unabhängig der Vor-Aborte zeigte die Anzahl transferierter Embryonen keine statistischen Schwankungen. Der Gruppe mit mehr als einem Vor-Abort wurden durchschnittlich 1,68 Embryonen transferiert, der Gruppe mit einem Vor-Abort im Schnitt 1,81 und der Gruppe ohne Vor-Aborte 1,83 Embryonen.

Der Vergleich der Gruppen ohne Vor-Aborte und mit einem Vor-Abort deutete in den restlichen Prüfgrößen ebenfalls auf keine signifikanten Ergebnisse hin. Obwohl die Gruppe mit einem Vor-Abort in den einzelnen Prüfgrößen prozentual besser abschnitt, wies lediglich die Baby-take-home-Rate pro Zyklus auf Trends zugunsten der Gruppe mit einem Vor-Abort hin ( $p < 0,25$ ).

Beim Vergleich der Schwangerschaftsraten der Gruppen ohne und mehr als einem Vor-Abort fielen die biochemische und die klinische Schwangerschaftsrate tendenziell zugunsten der Subgruppe ohne Vor-Abort aus.

Der Vergleich der Abortrate zwischen der Gruppe ohne Vor-Aborte und der Gruppe mit mehreren Aborten ließ sich aufgrund der zu niedrigen Anzahl an klinischen Schwangerschaften (2) bei der letztgenannten Gruppe nicht bestimmen.

Der Vergleich der Gruppen mit einem Vor-Abort und mehreren Vor-Aborten fiel überzeugender aus.

Während die Rate der Schwangerschaften mit positiven HCG-Werten beim Vergleich der Gruppe mit einem Vor-Abort mit der Gruppe mit mehr als einem Vor-Abort allenfalls eine leicht erhöhte Tendenz zugunsten der letztgenannten ( $p < 0,1$ ) zeigte, ließ die klinische Schwangerschaftsrate beim Vergleich dieser beiden Gruppen den signifikanten Unterschied dann deutlich werden. Mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit von  $p < 0,05$  hatte die Gruppe mit mehreren Vor-Aborten deutlich weniger Schwangerschaften zu verzeichnen als die Vergleichsgruppe mit einem Vor-Abort.

Die erhöhte Schwangerschaftsrate der Gruppe mit einem Abort mit 35,1% klinischen Schwangerschaften gegenüber der Gruppe mit mehreren Vor-Aborten mit 10,5% wirkte sich tendenziell positiv auf die Implantationsrate aus ( $p < 0,25$ ).

Die aktuelle Abort-Rate ließ sich nicht bestimmen, da Zahlenwerte wie zwei klinische Schwangerschaften bei der Gruppe mit mehreren Vor-Aborten statistisch zu niedrig waren, um Schlussfolgerungen zu treffen.

Die Baby-take-home-Raten fielen tendenziell zugunsten der Gruppe mit einem Vor-Abort aus ( $p < 0,1$ ;  $p < 0,25$ ), konnten jedoch statistisch wegen der niedrigen Fallzahlen nicht als Signifikanzen gedeutet werden.

Die Zahlen der punktierten Eizellen der drei Gruppen lagen zwischen 9,9 und 10,5 Eizellen und unterschieden sich nicht signifikant voneinander.

Der Altersdurchschnitt der Gruppe zwischen 35 und 39 Jahren betrug 37 Jahre bei der Gruppe ohne Vor-Aborte, 38 Jahre bei der Gruppe mit einem Vor-Abort und 36 Jahre bei der Gruppe mit mehreren Vor-Aborten. Signifikanzen wurden hierbei nicht deutlich.

Detaillierte Übersichten der Daten finden sich in den aufgeführten Tabellen 19 bis 21.

<b>PKD-GRUPPE 35-39 JAHRE</b>	<b>0 Aborte</b>	<b>1 Abort</b>	<b>&gt; 1 Abort</b>
<b>Behandlungszyklen</b>	72	40	22
<b>Zyklen mit Transfer (ET)</b>	63 (87,5%)	37 (92,5%)	19 (86,4%)
<b>Embryonen / Transfer</b>	1,83 (115/63)	1,81 (67/37)	1,68 (32/19)
<b>Schwangerschaften (positives HCG)</b>	23 (SS/ET=36,5%)	17 (SS/ET=45,9%)	4 (SS/ET=21,1%)
<b>Klinische Schwangerschaften</b>	18 (KSS/ET=28,6%)	13 (KSS/ET=35,1%)	2 (KSS/ET=10,5%)
<b>Implantationsrate</b>	17,4% (20/115)	22,4% (15/67)	9,4% (3/32)
<b>Aborte</b>	5 (Aborte/KSS=27,8%)	2 (Aborte/KSS=15,4%)	0
<b>Baby-take-home- Rate/Zyklus</b>	18,1% (13/72)	27,5% (11/40)	9,1% (2/22)
<b>Baby-take-home- Rate/Transfer</b>	20,6% (13/63)	29,7% (11/37)	10,5% (2/19)
<b>Mittelwert der punktierten Eizellen</b>	10,21	9,97	10,54
<b>Standardabweichung den punktierten Eizellen</b>	3,99	3,79	5,44
<b>Median des Alters</b>	37	38	36

**Tabelle 19 Vergleich der 35- bis 39-jährigen Polkörperpatienten nach Anzahl der vorausgegangenen Aborte (0 Aborte; 1 Abort; > 1 Abort)**

<b>PKD-GRUPPE 35-39 JAHRE</b>	<b>0 Aborte</b>	<b>0 Aborte mit 0 SS</b>	<b>0 Aborte mit &gt;1 SS</b>
<b>Behandlungszyklen</b>	72	46	26
<b>Zyklen mit Transfer (ET)</b>	63 (87,5%)	40 (87%)	23 (88,5%)
<b>Embryonen / Transfer</b>	1,83 (115/63)	1,8 (72/40)	1,87 (43/23)
<b>Schwangerschaften (positives HCG)</b>	23 (SS/ET=36,5%)	15 (SS/ET=37,5%)	8 (SS/ET=34,8%)
<b>Klinische Schwangerschaften</b>	18 (KSS/ET=28,6%)	12 (KSS/ET=30%)	6 (KSS/ET=26,1%)
<b>Implantationsrate</b>	17,4% (20/115)	19,4% (14/72)	14% (6/43)
<b>Aborte</b>	5 (Aborte/KSS=27,8%)	2 (Aborte/KSS=16,7%)	3 (Aborte/KSS=50%)
<b>Baby-take-home- Rate/Zyklus</b>	18,1% (13/72)	21,7% (10/46)	11,5% (3/26)
<b>Baby-take-home- Rate/Transfer</b>	20,6% (13/63)	25% (10/40)	13% (3/23)
<b>Mittelwert der punktierten Eizellen</b>	10,21	10,39	9,88
<b>Standardabweichung der punktierten Eizellen</b>	3,99	4,33	3,37
<b>Median des Alters</b>	37	37	37

**Tabelle 20 Vergleich der 35- bis 39-jährigen Patienten ohne vorausgegangenem Abort, unterteilt nach vorherigen Schwangerschaften**

PKD-GRUPPE 35-39 JAHRE	p (0 versus 1)	p (0 versus >1)	p (1 versus >1)
Behandlungszyklen	-	-	-
Zyklen mit Transfer (ET)	n.s.	n.s.	n.s.
Embryonen / Transfer	n.s.	n.s.	n.s.
Schwangerschaften (positives HCG)	n.s.	p < 0,25	p < 0,1
Klinische Schwangerschaften	n.s.	p < 0,25	p < 0,05
Implantationsrate	n.s.	n.s.	p < 0,25
Aborte	n.s.	n.b	n.b.
Baby-take-home- Rate/Zyklus	p < 0,25	n.s.	p < 0,1
Baby-take-home- Rate/Transfer	n.s.	n.s.	p < 0,25
Mittelwert der punktierten Eizellen	n.s.	n.s.	n.s.
Standardabweichung der punktierten Eizellen	-	-	-
Median des Alters	n.s.	n.s.	n.s.

**Tabelle 21 Statistik des Vergleichs der 35- bis 39-jährigen Polkörperpatienten nach Anzahl der vorausgegangenen Aborte (0 Aborte; 1 Abort; > 1 Abort)**

### 3.5.4 PKD-Zyklen der über 40-jährigen in Abhängigkeit von Vor-Aborten

Das mit über 40 Jahren älteste Kollektiv umfasste 102 Polkörperpatientinnen. 64 der Patientinnen hatten keine Aborte vor dem aktuellen Zyklus. Bei 41 dieser 64 Patienten konnte eine primäre Sterilität angenommen werden, die restlichen 23 wiesen mehrere vorangegangene Schwangerschaften auf. Je 19 Patienten hatten einen bzw. mehr als einen Vor-Abort.



In dieser Alterskategorie waren keine Unterschiede in der Zahl der Zyklen mit Transfer festzustellen.

Die Zahl der Embryonen pro Transfer zeigte beim Vergleich zwischen den einzelnen Gruppen keine Abweichungen voneinander. Mit minimal 1,65 Embryonen bei der Gruppe mit einem Vor-Abort und maximal 1,78 Embryonen der Gruppe ohne Vor-Aborte wurden keine signifikanten Ergebnisse bestimmt.

Die Schwangerschaftsraten verhielten sich unauffällig. Allenfalls tendierte die klinische Schwangerschaftsrate beim Vergleich der Gruppe ohne Vor-Aborte mit der Gruppe mit einem Vor-Abort leicht zugunsten der letzteren.

Erste Signifikanzen zeigten sich in den Implantationsraten. Mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit von  $p < 0,05$  fiel das Ergebnis mit 17,9% zu 5,6% besser für die Gruppe mit einem Vor-Abort aus.

Der Vergleich der Gruppe mit einem Vor-Abort mit der Gruppe mit mehreren Vor-Aborten zeigte dagegen für keine der Gruppen einen Vorteil.

Die Gruppe ohne Vor-Aborte, deren Implantationsrate verglichen mit der Gruppe mit einem Vor-Abort signifikant schlechter war, zeigte ähnliche Tendenzen beim Vergleich mit der Gruppe mit mehreren Vor-Aborten ( $p < 0,25$ ).

Die Raten der aus dem aktuellen Behandlungszyklus hervorgegangenen Aborte konnten statistisch nicht verglichen werden. Bei den Gruppen ohne Vor-Aborte wie auch einem Vor-Abort wurden keine Aborte verzeichnet, bei der Gruppe mit mehreren Aborten wurden zwei Aborte registriert. Da sich die Anzahl der klinischen Schwangerschaften bei allen drei Gruppen zwischen drei und fünf bewegte, ließ sich kein statistisch aussagekräftiges Ergebnis ermitteln.

Die Baby-take-home-Raten ließen keine Signifikanzen erkennen. Tendenzielle Unterschiede beim Vergleich der drei Gruppen richteten sich zugunsten der Gruppe mit einem Vor-Abort ( $p < 0,25$ ).

Das mit 41 Jahren durchschnittliche Alter aller drei Gruppen zeigte zwar eine Abnahme in der Eizellzahl im Vergleich zu den jüngeren Kollektiven. Die Zahl der Eizellen innerhalb der drei Gruppen mit der unterschiedlichen Anzahl an Vor-Aborten blieb jedoch konstant zwischen 8,4 und 9,1 Eizellen.

Die Daten sind in den nachfolgenden Tabellen 22 bis 24 dargestellt.

<b>PKD-GRUPPE ≥ 40 JAHRE</b>	<b>0 Aborte</b>	<b>1 Abort</b>	<b>&gt; 1 Abort</b>
<b>Behandlungszyklen</b>	64	19	19
<b>Zyklen mit Transfer (ET)</b>	50 (78,1%)	17 (89,5%)	15 (78,9%)
<b>Embryonen / Transfer</b>	1,78 (89/50)	1,65 (28/17)	1,73 (26/15)
<b>Schwangerschaften (positives HCG)</b>	9 (SS/ET=18%)	5 (SS/ET=29,4%)	3 (SS/ET=20%)
<b>Klinische Schwangerschaften</b>	5 (KSS/ET=10%)	4 (KSS/ET=23,5%)	3 (KSS/ET=20%)
<b>Implantationsrate</b>	5,6% (5/89)	17,9% (5/28)	15,4% (4/26)
<b>Aborte</b>	0	0	2 (Aborte/KSS=66,7)
<b>Baby-take-home- Rate/Zyklus</b>	7,8% (5/64)	21,1% (4/19)	5,3% (1/19)
<b>Baby-take-home- Rate/Transfer</b>	10% (5/50)	23,5% (4/17)	6,7% (1/15)
<b>Mittelwert der punktierten Eizellen</b>	9,06	8,47	9,16
<b>Standardabweichung der punktierten Eizellen</b>	4,55	5,98	3,85
<b>Median des Alters</b>	41	41	41

**Tabelle 22 Vergleich der über 40-jährigen Polkörperpatienten nach Anzahl der vorausgegangenen Aborte (0 Aborte; 1 Abort; > 1 Abort)**

<b>PKD-GRUPPE ≥ 40 JAHRE</b>	<b>0 Aborte</b>	<b>0 Aborte mit 0 SS</b>	<b>0 Aborte mit &gt;1 SS</b>
<b>Behandlungszyklen</b>	64	41	23
<b>Zyklen mit Transfer (ET)</b>	50 (78,1%)	28 (68,3%)	22 (95,7%)
<b>Embryonen / Transfer</b>	1,78 (89/50)	1,71 (48/28)	1,86 (41/22)
<b>Schwangerschaften (positives HCG)</b>	9 (SS/ET=18%)	6 (SS/ET=21,4%)	3 (SS/ET=13,6%)
<b>Klinische Schwangerschaften</b>	5 (KSS/ET=10%)	4 (KSS/ET=14,3%)	1 (KSS/ET=4,5%)
<b>Implantationsrate</b>	5,6% (5/89)	8,3% (4/48)	2,4% (1/41)
<b>Aborte</b>	0	0	0
<b>Baby-take-home- Rate/Zyklus</b>	7,8% (5/64)	9,8% (4/41)	4,3% (1/23)
<b>Baby-take-home- Rate/Transfer</b>	10% (5/50)	14,3% (4/28)	4,5% (1/22)
<b>Mittelwert der punktierten Eizellen</b>	9,06	8,9	9,38
<b>Standardabweichung der punktierten Eizellen</b>	4,55	5,25	2,99
<b>Median des Alters</b>	41	41	41

**Tabelle 23 Vergleich der über 40-jährigen Patienten ohne vorausgegangenem Abort, unterteilt nach vorherigen Schwangerschaften**

PKD-GRUPPE ≥ 40 JAHRE	p (0 versus 1)	p (0 versus >1)	p (1 versus >1)
Behandlungszyklen	-	-	-
Zyklen mit Transfer (ET)	n.s.	n.s.	n.s.
Embryonen / Transfer	n.s.	n.s.	n.s.
Schwangerschaften (positives HCG)	n.s.	n.s.	n.s.
Klinische Schwangerschaften	p < 0,25	n.s.	n.s.
Implantationsrate	p < 0,05	p < 0,25	n.s.
Aborte	n.b	n.b.	n.b.
Baby-take-home- Rate/Zyklus	p < 0,25	n.s.	p < 0,25
Baby-take-home- Rate/Transfer	p < 0,25	n.s.	p < 0,25
Mittelwert der punktierten Eizellen	n.s.	n.s.	n.s.
Standardabweichung der punktierten Eizellen	-	-	-
Median des Alters	n.s.	n.s.	n.s.

Tabelle 24 Statistik des Vergleichs der über 40-jährigen Polkörperpatienten nach Anzahl der vorausgegangenen Aborte (0 Aborte; 1 Abort; > 1 Abort)

### 3.6 Korrelation zwischen mütterlichem Alter und Eizellanzahl

Die Beziehung zwischen mütterlichem Alter und der Anzahl der nach Hormonstimulation punktierten Eizellen kann der Abbildung 7 entnommen werden.

Die Eizellanzahl weist eine direkte negative Abhängigkeit zu dem mütterlichen Alter auf. Jüngeren Frauen stehen signifikant mehr Eizellen zur Verfügung, die für eine anschließende assistierte Reproduktion genutzt werden können.

Verglichen mit jüngeren Patientinnen verfügen Frauen im höheren Alter über deutlich weniger Eizellen. In Hinblick auf eine nahende Menopause wird die Möglichkeit

auf eine erfolgreiche Schwangerschaft sowohl durch die erniedrigte Eizellanzahl als auch durch eine erhöhte Auftretenswahrscheinlichkeit für Aneuploidien der Eizellen limitiert (siehe auch Abbildung 3).

Die negative Korrelation zwischen mütterlichem Alter und Anzahl der Eizellen bzw. der höheren Aneuploidierate der Eizelle macht einen Einsatz der PKD bei Patientinnen im fortgeschrittenen Alter sinnvoll.

Die sinkende Wahrscheinlichkeit auf eine erfolgreiche Schwangerschaft bei abnehmender Eizellanzahl lässt sich durch Selektion geeigneterer Eizellen mittels PKD begrenzen.

### Korrelation Alter – Eizellanzahl

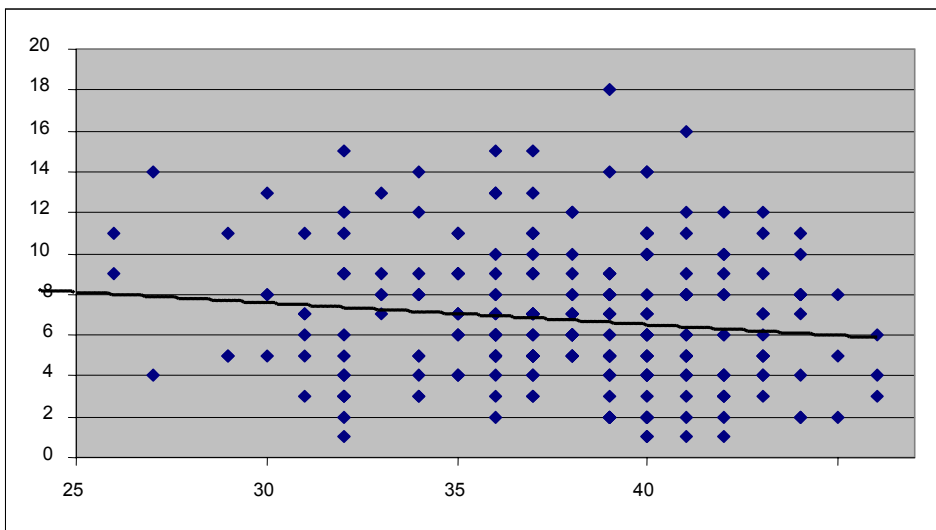


Abbildung 7 Abhängigkeit zwischen mütterlichem Alter und Anzahl der Eizellen

## 4 Diskussion

### 4.1 Polkörperdiagnostik und Präimplantationsdiagnostik - Methoden zur genetischen Diagnostik

Im Rahmen der künstlichen Befruchtung können Eizellen vor dem Transfer in die Gebärmutter auf chromosomale und genetische Veränderungen untersucht werden. Die Polkörperdiagnostik einerseits und die Präimplantationsdiagnostik am Embryo andererseits stellen derzeit die führenden Methoden zur genetischen Diagnostik dar.

Bei der Präimplantationsdiagnostik (PID) handelt es sich um eine Untersuchung am Embryo mit direkter Aussage zur genetischen Beschaffenheit des Embryos vor dem Transfer (Handyside et al., 1990).

Dabei kommt primär die Methode der Blastomerenbiopsie im totipotenten Zellstadium zur Anwendung. Die Alternative, in Form einer Blastozystenbiopsie im pluripotenten Stadium, ist zwar derzeit möglich, jedoch problematisch umzusetzen und nicht routinemäßig einsetzbar (Strowitzki, 2003; Veiga et al., 1997).

Nach Biopsie der Zellen kommen modifizierte PCR-Methoden und Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierungen (FISH) zur Anwendung.

Das Verfahren der Präimplantationsdiagnostik wurde 1990 entwickelt und wird derzeit weltweit in 40 bis 60 Zentren angeboten (Handyside et al., 1990).

Bei der Polkörperdiagnostik (PKD) handelt es sich um ein Verfahren, das eine indirekte Beurteilung des Chromosomensatzes der Eizelle durch Biopsie und Darstellung der Polkörper ermöglicht. Im Rahmen der assistierten Reproduktion stellt die PKD in Deutschland die einzige Möglichkeit zu einer indirekten Untersuchung der Eizellen dar (Montag et al., 2002). Eine Diagnostik am Embryo, wie sie bei der Präimplantationsdiagnostik durchgeführt wird, ist nach gesetzlichen Bestimmungen untersagt (EschG, 1990; Nationaler Ethikrat, 2003, 2004).

Die Methode der Polkörperbiopsie wurde 1990 in Chicago eingeführt und seit 1997 in Bonn weiterentwickelt (van der Ven et al., 2002; Verlinsky et al., 1990).

Nach Durchführung einer intracytoplasmatischen Spermieninjektion (ICSI) kann die Eröffnung der Zona pellucida der Eizelle zwecks Entnahme des Polkörpers auf verschiedene Weise erfolgen. Während sich die chemische Variante mit enzymatischer Ausdünnung der Zona pellucida wegen zu ungenauer Steuerbarkeit nicht durchsetzen konnte, werden derzeit die mechanische oder die laserassistierte Methode durchgeführt (Montag et al., 1998, 2003).

Letztere wurde von der Bonner Arbeitsgruppe 1997 entwickelt und wird seit Mai 2001 bei Kinderwunschpatienten in der Frauenklinik der Universität Bonn angewandt. Dieses Verfahren wird favorisiert, da es eine schnelle und atraumatische Entnahme der Polkörper unterstützt (Montag et al., 2004b).

Bei der in Chicago entwickelten und bevorzugten auf Zona-drilling-basierende Methode handelt es sich um eine mechanische Zonadisektion mittels einer Kapillare.

Die Bonner Erfahrungen belegen, dass die Methode der laserassistierten Biopsie im Vergleich zur mechanischen Eröffnung die Verletzungsgefahr der Eizelle sowie den Verlust der Polkörper senkt (siehe Abschnitt 4.9) (Montag et al., 2003).

Nach Entnahme erfolgen die Darstellung der Chromosomen 13, 16, 18, 21 und 22 im Polkörper mit einer 5-color-Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) und deren anschließende Beurteilung (Hassold et al., 1980, 1984; Montag et al., 2005). Da ein Screening von mehr Chromosomen in Form einer zweiten FISH-Runde in Deutschland, der Schweiz und Italien in dem gesetzlichen Rahmen zeitlich nicht realisiert werden kann, ist als Modifikation zu der 5-color-FISH-Methode eine 6-color-Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung entwickelt worden (EschG, 1990; Montag et al., 2005). Diese bietet die Möglichkeit, zu den fünf Chromosomen aus der 5-color-FISH zusätzlich ein weiteres Chromosom (z.B. X) zu beurteilen.

Alternativ zu den üblichen FISH-Methoden steht die „vergleichende genomische Hybridisierung“ (comparative genomic hybridisation, CGH) zur Verfügung. Die CGH ist eine Sonderform des „reverse painting“ (siehe Abschnitt 2.4.3). Als Screeningmethode bietet sie die Möglichkeit, im Rahmen der Polkörperdiagnostik alle Chromosomen des Genoms darzustellen und anschließend zu beurteilen (Wells et al., 1999). Da es sich bei der CGH um ein zeitlich aufwendiges Verfahren handelt, bestehend aus DNA-Extraktion, Amplifikation und Hybridisierung, steht es derzeit der PKD noch nicht routinemäßig zur Verfügung.

Vergleichend zeichnen sich die Methoden der Polkörperdiagnostik und der Präimplantationsdiagnostik durch folgende Eigenschaften aus:

Vorteile der PKD liegen seitens der Biopsie von extraembryonalen Zellen, somit der Schonung der Zellmasse des Embryos und der bedenkenlosen Einsatzmöglichkeit in Deutschland (EschG, 1990).

Die PID dagegen bedient sich der Methode der Biopsie von Embryonalzellen, was unter verschiedenen Gesichtspunkten nachteilig zu bewerten ist (Hüppe, 2003; Koch, 2003).

Indikationsbereiche einer PKD liegen bei maternalen numerischen und strukturellen Chromosomenabberationen, nur bedingt bei monogenen Erbkrankheiten, die eine PID zur Absicherung erfordern (Montag et al., 2003).

Die PID hingegen kommt in allen dieser drei Bereiche zum Einsatz und eröffnet zudem die Möglichkeiten, mütterliche wie auch väterliche Dispositionen aufzudecken (Gianaroli et al., 1997).

Im letztgenannten Punkt findet die PKD ihre Einschränkungen, da sie auf die Untersuchung des mütterlichen Genoms beschränkt ist.

## **4.2 Fragestellung der Arbeit**

Die retrospektive Studie beschäftigt sich mit der Herausarbeitung von Indikationsstellungen für eine Polkörperdiagnostik durch Vergleich zweier Patientenkollektive.

Die Auswertungen dieser Arbeit umfassen die Daten aller Patienten, die in einem Zeitraum zwischen Mai 2001 und Januar 2004 erhoben worden sind. Untersucht und verglichen wurden Patienten mit einer Polkörperdiagnostik mit einem restlichen Gesamtkontrollkollektiv ohne Polkörperdiagnostik hinsichtlich verschiedener Prüfgrößen (siehe Abschnitt 2.6).

Neben dem Schwerpunkt der Indikationen für eine PKD spielen die Fragen nach dem Einfluss des mütterlichen Alters, bereits vorausgegangenen Schwangerschaften und Aborten eine Rolle.



Die retrospektive Auswertung ist auch mit Hinblick auf die Ermöglichung einer zukünftig prospektiven Datenerfassung im Rahmen einer multizentrischen Studie erfolgt (van der Ven et al., 2004).

#### **4.3 Sammelauswertung des Vergleichs der gesamten Polkörpergruppe mit der Gesamtkontrollgruppe**

Der Vergleich des gesamten Polkörperpatientenkollektivs mit dem Gesamtpatientenkontrollkollektiv und deren Auswertung zeigt ein Mischkollektiv mit einer heterogenen Altersverteilung. Aufgrund der hohen Altersspanne beider Kollektive, begrenzt durch die jüngste Patientin mit 20 Jahren und die älteste Patientin mit 47 Jahren, wurde ein Altersdurchschnitt von 37,6 Jahren bei dem Polkörperkollektiv und ein Altersdurchschnitt von 34,2 Jahren bei dem Kontrollkollektiv ermittelt.

Eine Sammelauswertung über alle Patienten fällt deutlich zugunsten des Kontrollkollektivs aus, welches, verglichen mit den Polkörperpatientinnen, signifikante Ergebnisse in den Schwangerschafts-, Implantations- und Baby-take-home-Raten aufweist.

Doch um klare Aussagen treffen und eine Benachteiligung der Polkörpergruppe ausschließen zu können, darf der Einfluss der Prüfgröße „mütterliches Alter“ nicht unberücksichtigt bleiben. Die Differenz der Altersdurchschnitte beider Kollektive von ca. drei Jahren führt zu einem Vergleich einschließlich Bewertung zweier uneinheitlicher Stichproben. Mit dem höheren Altersdurchschnitt von 37,6 Jahren fallen die Polkörperpatientinnen biologisch wie statistisch in eine höhere Alterssubgruppe. Des Weiteren muss beachtet werden, dass in Bonn generell Patientinnen mit schlechterer Prognose (hohes mütterliches Alter, hohe Anzahl an Vorversuchen und Aborten) der PKD zugeführt werden.

Um einen objektiven Vergleich beider Kollektive anzustreben, ist daher eine Unterteilung und Beurteilung in altersspezifische Subgruppen obligat (gewählte Alterskategorien: jünger als 35 Jahre; zwischen 35 und 39 Jahren; älter als 40 Jahre).

Die Unterteilung der beiden Gesamtkollektive aller Altersklassen in die Subgruppen sortiert nach Anzahl der Vorversuche (null bis drei Vorversuche; mehr als vier Vorversuche) bestätigt die Auswertung der allgemeinen Betrachtung, wenn auch statistisch nicht so signifikant zugunsten der Kontrollgruppe. Aus dem obig genannten Grund ist sie allerdings nicht aussagekräftig.

#### **4.3.1 Vergleich der Patientenkollektive mit und ohne Polkörperdiagnostik unter 35 Jahren**

Nach Auswertung der Daten der Patientinnen unter 35 Jahren bestätigt sich zunächst der erste Eindruck, den der Vergleich der Gesamtkollektive erbracht hat. Verglichen mit der Polkörpergruppe können bei der Kontrollgruppe durch eine höhere Anzahl an Zyklen mit Transfer von mehr Embryonen höhere Schwangerschafts- und Baby-take-home-Raten erzielt werden. Ursächlich für die erhöhte Embryonenanzahl bei der Kontrollgruppe ist die nicht vorhandene Selektion der Embryonen vor dem Transfer, wie sie bei der PKD angestrebt wird.

Die Polkörperpatientinnen haben weniger Zyklen mit weniger Embryonen pro Transfer erhalten, resultierend daraus sind Schwangerschafts- und Baby-take-home-Raten niedriger ausgefallen.

Folglich bewirkt eine konstante Anzahl von Zyklen bei jungen Patientinnen unter 35 Jahren eine konstante Schwangerschaftsrate einschließlich der Baby-take-home-Rate. Unberücksichtigt bleiben bei der allgemeinen Betrachtung der beiden Kollektive eventuelle biologische Störfaktoren in dieser Altersgruppe. Diese stehen beim Vergleich der jeweiligen Kollektive untereinander in ihren Altersklassen zur Diskussion.

Betrachtet man allerdings die Ergebnisse in den einzelnen Vorversuchsgruppen, ergibt sich ein anderes Bild. Die Kontrollgruppe mit bis zu drei als auch mehr Vorversuchen erhielt deutlich mehr Zyklen mit Transfer von mehr Embryonen als die Polkörpergruppe. Obwohl anhand der erhöhten Schwangerschaftsraten Erfolge verzeichnet werden können, hat sich der vermehrte Transfer nicht positiv auf die Baby-take-home-Rate ausgewirkt.

Daraus lässt sich ableiten, dass sich eine erhöhte Transferrate sowie der Transfer deutlich mehrerer Embryonen bei den unter 35-jährigen, wie sie bei der Kontrollgruppe erfolgte, nicht zwangsläufig positiv auf die Schwangerschafts- bzw. Baby-take-home-Rate auswirken muss.

Nach Polkörperdiagnostik können signifikant weniger, aber dafür geeignetere Eizellen transferiert werden, ohne dass sich dies im Vergleich nachteilig auf die folgende Schwangerschafts- und Baby-take-home-Rate pro Transfer auswirken muss.

Dessen ungeachtet bleibt der Einsatz der PKD bei den unter 35-jährigen fraglich, da die jüngsten der Polkörperpatienten meist schwerwiegendere Fertilitäts-relevante Probleme aufweisen als sie mit der Polkörperdiagnostik erfasst werden könnten.

#### **4.3.2 Vergleich der Patientenkollektive mit und ohne Polkörperdiagnostik zwischen 35 und 39 Jahren**

Die mittlere Altersgruppe, festgelegt auf den Bereich 35 Jahre bis einschließlich 39 Jahre, beinhaltet zahlenmäßig das größte der drei Polkörperpatientenkollektive.

Statistisch sind den Patientinnen nach Polkörperdiagnostik auffällig weniger Embryonen transferiert worden, in den nachfolgenden Baby-take-home-Raten lassen sich aber im Vergleich zur Kontrollgruppe keine Unterschiede in den Raten erkennen.

Dies lässt positive Schlussfolgerungen zugunsten der Polkörperdiagnostik zu, dass weniger, aber speziell nach PKD ausgewählte Eizellen bzw. Embryonen bezüglich der Baby-take-home-Rate zum gleichen Ergebnis führen können. Theoretisch dürfte damit das Mehrlingsrisiko in der PKD-Gruppe geringer sein.

In den beiden Subgruppen, unterteilt nach Vorversuchen, lässt sich diese Schlussfolgerung nachvollziehen, wenn auch deutlicher bei der Gruppe mit mehr als vier Vorversuchen als bei der mit bis zu drei Vorversuchen.

Im Vergleich zu der allgemeinen Betrachtung fällt die steigende Abortrate mit steigender Vorversuchszahl innerhalb der jeweiligen Kollektive auf. Insbesondere bei der Kontrollgruppe steigt die Abortrate bei mehr als vier Vorversuchen um den Faktor 2,4, während sie bei den Polkörperpatienten im direkten Vergleich um den Faktor 1,3 steigt.

Das hieße, dass sich eine quantitative Erhöhung der Anzahl der transferierten Embryonen nach mehreren erfolglosen Vorversuchen nicht positiv auf die Baby-take-home-Rate auswirken muss, sondern eine Erhöhung der Abortrate nach sich ziehen kann.

#### **4.3.3 Vergleich der Patientenkollektive mit und ohne Polkörperdiagnostik über 40 Jahren**

Die Auswertung der Daten der ältesten Kollektive mit über 40 Jahren ist auf Basis der positiven Korrelation zwischen mütterlichem Alter und Aneuploidierate der Eizellen bedeutsam.

Obwohl die Statistiken der einzelnen Prüfgrößen nicht zugunsten eines der beiden Kollektive überzeugen, ist die prozentuale Verteilung der Ergebnisse auffällig und richtungsweisend. Während die Baby-take-home-Rate bei den Polkörperpatienten prozentual beinahe doppelt so hoch liegt wie bei dem Kontrollkollektiv, imponiert die um den Faktor 2,6 niedrigere Abortrate.

Mithilfe einer Powerkalkulation auf Basis dieser Zahlen lässt sich jedoch eindrucksvoll zeigen, dass ein gering größerer Stichprobenumfang an Patienten ausreicht, um signifikante Ergebnisse zu erzielen.

Während das Verhältnis von zwei Aborten pro 12 klinischen Schwangerschaften (KSS) der Polkörpergruppe zu acht Aborten pro 18 klinischen Schwangerschaften der Kontrollgruppe statistisch unauffällig ist, bewirkt eine Erhöhung der klinischen Schwangerschaften sowohl bei den Polkörperpatientinnen als auch bei der Kontrollgruppe um den Faktor 1,5 eine deutliche Signifikanz in der Abortrate mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit von  $p < 0,05$  zugunsten der PKD (3 Aborte / 18 KSS der Polkörpergruppe versus 12 Aborte / 27 KSS der Kontrollgruppe).

Ähnlich verhält es sich mit der Baby-take-home-Rate pro Transfer. Würde man die Stichprobenumfänge von 102 Patientinnen mit PKD und 159 Patientinnen ohne PKD auf rund 400 Patientinnen pro Kollektiv erhöhen, ergäbe sich bereits eine Fehlerwahrscheinlichkeit von  $p < 0,05$  zugunsten der PKD.

Die Unterteilung in Subgruppen bei den über 40-jährigen führt zu keinem anderen Ergebnis. Die Zahlenwerte sind zwar sehr gering, deren prozentuale Verteilung bestätigt aber die Aussage, die nach Betrachtung des allgemeinen Kollektivs ohne Unterteilung in Vorversuche getroffen wurde.

Da innerhalb dieser Altersgruppe der psychologische Faktor eine entscheidende Rolle spielt, ist eine Indikationsstellung zu einer PKD durchaus sinnvoll. Allein geringere Abortraten auch ohne erhöhte Schwangerschafts- und Implantationsraten würden vorerst ausreichen, eine psychische Mehrbelastung bei Frauen mit Kinderwunsch zu reduzieren.

#### **4.4 Sondervergleich der Polkörpergruppe mit der Kontrollgruppe anhand festgelegter Kriterien**

Der gesonderte Vergleich der Kollektive mit Patientinnen über 35 Jahren und mehr als zwei Vorversuchen birgt keine statistischen Auffälligkeiten, fällt prozentual aber zugunsten der Polkörperdiagnostik aus.

Die Besonderheit liegt in der erreichten Implantationsrate von 14,4% nach PKD mit Hilfe einer 6-color-Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) (Montag et al., 2005). Analog wurden unter gleichen Voraussetzungen mit einer Präimplantationsdiagnostik nach Untersuchung von acht bis elf Chromosomen eine Implantationsrate von 14,3% erzielt (Munné et al., 2003). Die Beurteilung von derzeit vorerst sechs Chromosomen mittels PKD führt somit zu einem vergleichbaren Ergebnis wie die Beurteilung von acht bis elf Chromosomen.

Dieses Ergebnis liefert eventuell den Hinweis, dass bei einer PID eine mögliche embryonale Beeinträchtigung durch die Biopsie vorliegt, da theoretisch nach Screening von acht bis elf Chromosomen höhere Implantationsraten zu erwarten wären.

## 4.5 Aborte

Innerhalb dieser retrospektiven Studie ist die Beurteilung der Abortraten bedeutsam. Diese stellen neben der Anzahl von erfolglosen Vorversuchen ein wichtiges Indikationskriterium einer PKD dar.

Das Gesamtpatientenkollektiv zeigt in den Abortraten keine Besonderheiten. In Hinblick auf die unterschiedlichen Altersdurchschnitte der zu vergleichenden Kollektive können jedoch keine Schlussfolgerungen gezogen werden. Relevanz hat die Betrachtung der Abortraten in den jeweiligen Altersklassen.

Die absoluten Zahlen der Abortraten bei dem jüngsten Kollektiv mit unter 35 Jahren sind im Vergleich unauffällig, aber seitens der Polkörperpatienten zu gering für eindeutige Aussagen. Das Patientenkollektiv mit Polkörperdiagnostik innerhalb dieser Altersklasse besteht zum Zeitpunkt der Studie aus 55 Patientinnen. Unterteilt in die Subgruppen nach Vorversuchen sinkt die Patientenzahl folglich so weit, dass keine klaren Schlussfolgerungen getroffen werden können.

Die Abortraten bei den 35- bis 39-jährigen Polkörperpatientinnen sind im Vergleich zu der Kontrollgruppe unauffällig, sowohl bei der allgemeinen Betrachtung als auch bei den Subgruppen.

Entscheidend ist die Veränderung der Abortraten innerhalb der einzelnen Kollektive in den verschiedenen Vorversuchssubgruppen. Mit Zunahme der Vorversuche auf mehr als vier Vorversuche steigt die Abortrate des Kontrollkollektivs um den Faktor 2,4.

Analog steigt die Abortrate der Polkörperpatientinnen dagegen um den Faktor 1,3.

Dem Kontrollkollektiv, welches bereits mehr als vier Vorversuche hat, sind signifikant mehr Embryonen pro Transfer eingesetzt worden. Davon unbeeinflusst zeigen sich die Baby-take-home-Raten. Resultierend ergibt sich die deutlich höhere Abortrate.

Durch die selektierte Auswahl qualitativ besserer Eizellen mittels einer PKD können die Abortraten bei steigender Vorversuchszahl der Patienten niedrig gehalten werden.

Somit kann den Patientinnen ein beachtlich psychologischer Vorteil geboten werden, indem das Abortrisiko nach mehreren erfolglosen Vorversuchen mit Hilfe der PKD gesenkt wird.

Die Abortraten des ältesten Kollektivs über 40 Jahren fallen bei der allgemeinen Auswertung wie bei der Auswertung der Subgruppe mit null bis drei Vorversuchen tendenziell zugunsten der Polkörperpatientinnen aus. Die Zahlenwerte mit einem Abort pro acht klinischen Schwangerschaften des Polkörperkollektivs zu sieben Aborten pro 16 klinischen Schwangerschaften der Kontrollgruppe fallen allerdings recht niedrig aus. Mit Hilfe einer Powerkalkulation lässt sich jedoch die Indikation zu einer PKD in dieser Altersgruppe begründen. Die Erhöhung der Anzahl klinischer Schwangerschaften bei den Polkörperpatientinnen um den Faktor 2 von acht klinischen Schwangerschaften auf 16 klinische Schwangerschaften würde zu einer Signifikanz in der Abortrate mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit von  $p < 0,05$  zugunsten der PKD führen.

Die Zahlenwerte der Kontrollgruppe bleiben bei dieser Kalkulation konstant.

Der psychologische Aspekt einer niedrigeren Abortrate ist bei den über 40-jährigen wahrscheinlich noch bedeutsamer als bei dem jüngeren Vergleichskollektiv, da die Chancen mit zunehmendem mütterlichem Alter auf eine erfolgreiche Schwangerschaft erheblich sinken.

#### **4.6 Eizellen**

Die Anzahl der punktierten Eizellen der Frauen in der Studie weist eine negative Korrelation mit zunehmendem mütterlichem Alter auf (siehe Abbildung 7).

Die Tatsache, dass den Polkörperpatientinnen fortwährend signifikant mehr Eizellen zur Verfügung stehen, hängt mit einer „aggressiveren“ Hormonstimulation im Rahmen der Vorbehandlung zur assistierten Reproduktion zusammen. Diese Hormonstimulation bietet den Polkörperpatientinnen im Vergleich zur Kontrollgruppe keinen statistischen Vorteil. Zwar lassen sich mehr Eizellen punktieren, ein höherer Anteil ist jedoch als unreif einzustufen und daher nicht zur Insemination geeignet.

## **4.7 Sammelauswertung der Vergleiche innerhalb der jeweiligen Kollektive**

Der separate Vergleich des Polkörperkollektivs und des Kontrollkollektivs in den unterschiedlichen Altersklassen führt zu einem aufschlussreichen Ergebnis.

### **4.7.1 Vergleich innerhalb des Polkörperkollektivs**

Bei Betrachtung der Polkörperpatienten in allen drei Altersklassen ist eine auffallende Konstanz in den Ergebnissen auszumachen.

In den beiden unteren Altersklassen (< 35 Jahre; 35-39 Jahre) zeigt die Baby-take-home-Rate Tendenzen zugunsten des älteren Kollektivs. Es wurden tendenziell mehr Zyklen mit Transfer von mehr Embryonen durchgeführt, was zu einer leicht erhöhten Baby-take-home-Rate geführt hat. In den Abortraten zeigen sich keine Differenzen. Ursächlich für das etwas schlechtere Ergebnis des jüngeren Kollektivs trotz PKD können unbeeinflussbare Faktoren wie idiopathische Sterilität sein.

Anhand der Daten zeigt sich, dass die Behandlung mit Hilfe der Polkörperdiagnostik zwischen den unter 35-jährigen und 35- bis 39-jährigen Patientinnen zu positiven, wenn auch nicht eindeutig signifikanten, Abweichungen in den Schwangerschafts- und Baby-take-home-Raten zugunsten des mittleren Alterskollektivs führt.

Die Auswertung des mittleren Polkörperkollektivs mit dem ältesten zeigt analog zu dem Vergleich mit dem jüngsten Kollektiv eine deutliche Tendenz zugunsten des mittleren Kollektivs. Während die Schwangerschafts- und Implantationsraten signifikant höher sind, lassen die Baby-take-home-Raten richtungsweisende Tendenzen erkennen.

Mögliche Ursachen sind nicht in einer erhöhten Abortrate zu suchen.

Ähnlich des obigen Vergleichs können bei der ältesten Gruppe andere Faktoren für das scheinbar schlechtere Ergebnis verantwortlich sein (idiopathische Sterilität, hohes Alter, andere Ursachen).



Die Durchführung einer Polkörperdiagnostik bei Patientinnen unter 35 Jahren und über 40 Jahren ließ keine Unterschiede anhand der verschiedenen Prüfgrößen erkennen. Lediglich die Eizellzahl zeigte im Vergleich eine Abnahme bei den über 40-jährigen.

Betrachtet man die drei Gruppen (<35 Jahre versus 35-39 Jahre; 35-39 Jahre versus  $\geq 40$  Jahre; <35 Jahre versus  $\geq 40$  Jahre) im Überblick, zeigen sich im Rahmen der Polkörperdiagnostik kaum statistisch signifikante Unterschiede der Prüfgrößen. Auffällig sind jedoch die kontinuierlichen Tendenzen zugunsten des mittleren Kollektivs.

Die Anzahl der Zyklen mit Transfer, die Zahl der transferierten Embryonen, die Schwangerschafts- und Implantationsraten sowie die Baby-take-home-Raten fallen bei dem mittleren Kollektiv konstant höher aus.

Die Abortraten lassen beim Vergleich aller drei Gruppen keine Schwankungen erkennen, was für eine Konstanz in der Methode der PKD spricht.

Die Zahl der Eizellen sinkt erwartungsgemäß mit zunehmendem Alter.

Somit stellen die Ergebnisse nach Durchführung der Polkörperdiagnostik in den unterschiedlichen Altersklassen ein einheitliches Bild dar, welches zugunsten der 35- bis 39-jährigen Patientinnen ausfällt.

Dies würde zu der Schlussfolgerung führen, dass Polkörperpatienten unter 35 Jahren neben detektierten chromosomalen Problemen weitere, mit der Polkörperdiagnostik nicht erfassbare, Fertilitäts-relevante Parameter aufweisen. Indessen ist die Ursache für die ungewollte Kinderlosigkeit bei den Patientinnen über 40 Jahren in ihrem biologisch höheren Alter begründet.

#### **4.7.2 Vergleich innerhalb des Kontrollkollektivs**

Die Auswertungen der Kontrollgruppen in den drei unterschiedlichen Alterklassen zeigten deutliche Ergebnisse.

Beim Vergleich des jüngsten mit dem mittleren Kontrollkollektivs erhielt das jüngere Kollektiv deutlich mehr Zyklen mit Transfer, eventuell bedingt durch die signifikant erhöhte Verfügbarkeit von Eizellen nach Punktion.

Zwar sind nicht mehr Embryonen eingesetzt worden, doch scheint sich die hohe Zykluszahl auf die Schwangerschafts- und Implantationsrate auszuwirken. Der nichtsignifikante Unterschied in den Abortraten und die hohe Baby-take-home-Rate pro Transfer zeigen, dass der Schwangerschaftsverlauf der unter 35-jährigen von anderweitigen Störfaktoren unbeeinflusst scheint.

Dieses gute Ergebnis des jüngsten Kollektivs kann allerdings nicht im direkten Vergleich zu dem jüngsten Polkörperkollektiv gesehen werden. Die Patienten unter 35 Jahren mit PKD unterliegen einer negativen Selektion, da es sich in der Regel um ehemalige Patienten der Kontrollgruppe ohne PKD handelt, die in ihren Kinderwunschbemühungen erfolglos geblieben sind.

Die älteste Kontrollgruppe mit über 40 Jahren zeigte verglichen mit den 35- bis 39-jährigen eine Verschlechterung in den Ergebnissen.

Trotz gleicher Hormonstimulation sind deutlich weniger Eizellen punktiert worden.

Demzufolge ist die Zahl an Embryotransfers gesunken.

Die niedrigere Anzahl der transferierten Embryonen lässt sich mit dem verminderten Angebot an Eizellen und der damit sinkenden Wahrscheinlichkeit auf eine erfolgreiche Implantation der Eizellen erklären.

Zusätzlich zu der geringeren Anzahl der durchgeführten Embryotransfers und der niedrigeren Zahl der transferierten Embryonen führt eine hohe Abortrate zu einem schlechteren Ergebnis der Baby-take-home-Rate der über 40-jährigen.

Bei den über 40-jährigen zeichnete sich ein deutlich schlechteres Ergebnis gegenüber den unter 35-jährigen ab. Mit weniger Transfers von weniger Embryonen sind weniger Schwangerschaften erzielt worden. Die niedrigere Implantationsrate und die sehr hohe Abortrate haben die Baby-take-home-Rate pro Transfer entsprechend niedrig ausfallen lassen. Die Abnahme der Eizellrate war altersbedingt zu erwarten, scheint jedoch die schlechten Ergebnisse bezüglich der Schwangerschaften und Baby-take-home-Raten zu verstärken.

Beim Betrachten der drei Vergleichsgruppen bestehend aus Patienten ohne Polkörperdiagnostik (<35 Jahre versus 35-39 Jahre; 35-39 Jahre versus  $\geq 40$  Jahre; <35 versus  $\geq 40$  Jahre) fallen die altersabhängigen signifikanten Unterschiede auf. Das jeweils ältere Vergleichskollektiv schneidet in fast allen Prüfgrößen schlechter ab. Auffällig sind die Vergleiche mit dem jüngsten Kollektiv. Die Schwangerschafts-, Implantations- und Baby-take-home-Raten sinken signifikant mit zunehmendem Alter. Die Abortrate spielt bei den jüngeren Patienten keine wesentliche Rolle. Signifikant höher wird diese erst in der Gruppe der über 40-jährigen, verglichen sowohl mit den 35- bis 39-jährigen als auch den unter 35-jährigen.

Erwartungsgemäß sinkt die Rate der punktierten Eizellen mit zunehmendem mütterlichem Alter analog zu den Polkörperpatienten und kann somit nicht alleinige Ursache für die schlechteren Schwangerschafts- und Baby-take-home-Raten der Kontrollgruppen sein.

Die erheblichen altersabhängigen Schwankungen der Kontrollgruppe der über 40-jährigen wirken sich nachteilig aus und sind hauptsächlich durch die hohen Abortraten bedingt.

#### **4.8 Sammelauswertung der PKD-Zyklen in Abhängigkeit von Vor-Aborten**

Der Schwerpunkt dieser Auswertung lag in Betrachtung der Abhängigkeit von Vor-Aborten zu der Höhe der Baby-take-home-Rate bei PKD-Patienten.

Relevant war die Zuordnung nach Vorhandensein von Aborten, die vor dem aktuellen, in die Studie eingegangenen, Behandlungszyklus registriert wurden (keine Vor-Aborte, einen Vor-Abort und mehr als einen Vor-Abort).

#### **4.8.1 Vergleich der PKD Zyklen aller Altersklassen in Abhängigkeit von Vor-Aborten**

Positiv fielen die Ergebnisse für die Subgruppe mit einem Vor-Abort beim Vergleich mit den anderen beiden Gruppen aus. Der Vergleich mit der Gruppe ohne Aborte zeigte signifikant höhere Schwangerschaftsraten mit HCG-Werten und wies deutliche Trends in der Baby-take-home-Rate zugunsten der Gruppe mit einem Vor-Abort auf.

Mit noch eindeutigeren Ergebnissen konnte der Vergleich mit der Gruppe mit mehr als einem Vor-Abort überzeugen. Trotz unauffälliger klinischer Schwangerschafts- und Abortrate zeigten sich Signifikanzen in den Baby-take-home-Raten zugunsten der Gruppe mit einem Vor-Abort.

Der Vergleich der Prüfgrößen der Gruppe ohne Vor-Aborte und der mit mehr als einem Vor-Abort verlief unauffällig.

Somit liegen Chancen für Patientinnen mit einem Vor-Abort auf eine erfolgreiche Behandlung mit PKD höher als für Patientinnen, die keinen oder mehr als einen Vor-Abort hatten.

Gründe hierfür lassen sich bei der Gruppe ohne Vor-Aborte in einer primären Sterilität finden, bei der auch die PKD nicht zum gewünschten Erfolg führt. Analog können den Patienten mit mehreren Vor-Aborten eine sekundäre Sterilität sowie diverse organische Gründe zugrunde liegen.

Trotz Vergleich von Polkörperpatientinnen aller Altersklasse waren die Patienten ohne bzw. mit einem Vor-Abort mit jeweils 38 Jahren nicht signifikant jünger als die Patienten mit mehreren Vor-Aborten, die einen Altersschnitt von 39 Jahren aufwiesen. Somit lässt diese Sammelauswertung auch ohne Unterteilung in altersspezifische Subgruppen schon allgemeingültige Aussagen zu.

#### **4.8.2 Vergleich der PKD-Zyklen der 35-jährigen in Abhängigkeit von Vor-Aborten**

Ein Stichprobenumfang von 55 Patientinnen mit weiteren Subgruppen zu je 41, acht und sechs Patientinnen ist für eine retrospektive Studie zu niedrig, um klare Aussagen treffen und Tendenzen vermuten zu können.

#### **4.8.3 Vergleich der PKD-Zyklen der 35- bis 39-jährigen in Abhängigkeit von Vor-Aborten**

Der Vergleich der drei Subgruppen zwischen 35 und 39 Jahren ließ die Gruppe mit mehr als einem Vor-Abort negativ herausragen. Insbesondere die Schwangerschaftsraten fielen sowohl beim Vergleich mit der Gruppe ohne als auch mit einem Vor-Abort deutlich schlechter für die Gruppe mit mehreren Voraborten aus. Speziell der Vergleich mit der Gruppe mit einem Vor-Abort ließ eine signifikante Abweichung zugunsten dieser aufzeigen.

Beim Betrachten der anderen Gruppen fiel auf, dass die Gruppe mit einem Vor-Abort die besten Ergebnisse in den einzelnen Prüfgrößen, vorzugsweise der klinischen Schwangerschaftsrate, verzeichnen konnte.

Währenddessen schnitt die Gruppe ohne Vor-Abort zwar tendenziell schlechter als die Gruppe mit einem Vor-Abort ab, jedoch stets besser als die Gruppe mit mehreren Vor-Aborten.

Analog der Sammelauswertung aller Altersklassen zeigt dieses Ergebnis, dass die Indikation einer PKD insbesondere bei Patientinnen mit einem Vor-Abort indiziert ist, während die Ursachen für die Sterilität der Patienten mit keinem Abort oder mehreren Aborten anderweitig zu suchen sind und nicht primär durch Einsatz der PKD umgangen werden können.

#### **4.8.4 Vergleich der PKD-Zyklen der über 40-jährigen in Abhängigkeit von Vor-Aborten**

Die Daten zeigten erneut einen positiven Trend für die Gruppe mit einem Vor-Abort verglichen mit den beiden anderen.

Beim Betrachten der Auswertung fiel auf, dass die Gruppe mit einem Vor-Abort analog die besten Ergebnisse in den einzelnen Prüfgrößen, diesmal speziell in der Implantationsrate und den Baby-take-home-Raten, erzielen konnte. Eindrücklicher allerdings waren die Ergebnisse des Vergleichs mit der Gruppe ohne Vor-Abort, während es bei der Auswertung des jüngeren Kollektivs (35 bis 39 Jahren) noch der Vergleich zu der Gruppe mit mehreren Vor-Aborten war.

Die Gruppe ohne Vorabort schnitt erneut tendenziell schlechter als die Gruppe mit einem Vor-Abort ab, konnte in den Baby-take-home-Raten aber bessere Ergebnisse vorweisen als die Gruppe mit mehreren Vor-Aborten, wobei zunächst die Schwangerschafts- und Implantationsraten ein gegensätzliches Bild vermuten ließen.

Somit lässt sich auch bei dem ältesten der Polkörperkollektive bestätigen, dass die optimale Indikation der PKD bei Patienten mit einem Vor-Abort gegeben ist.

#### **4.9 Grenzen und Möglichkeiten der Polkörperdiagnostik**

Die PKD stellt primär eine erfolgsversprechende Möglichkeit zur Erkennung von Chromosomenfehlverteilungen bei Frauen fortgeschrittenen mütterlichen Alters und Implantationsversagern dar.

Rückschlüsse auf mütterliche Fehlverteilungen durch Beurteilung der Polkörper auf numerische und strukturelle Chromosomenaberrationen sind möglich. Die Tatsache, dass der Genotyp des Polkörpers nicht identisch mit dem der Eizelle bzw. des Embryos ist, ist ein limitierender Faktor für die Diagnostik monogener Erbkrankheiten mittels PKD (Angell, 1994b; Egozcue, 1994).

Monogene Erbkrankheiten aufgrund von Rekombinationen während der Meiose (Crossing-over) sowie Allel-Dropouts sind nur unpräzise diagnostizierbar (Verlinsky et

al., 1994; Verlinsky und Kuliev, 1996). Eine zur Diagnoseabsicherung benötigte PID ist in Deutschland nicht zulässig (Montag et al., 2002).

Genetische Dispositionen väterlicherseits sowie in der frühen Embryonalentwicklung neu entstandene genetische Störungen können nicht erfasst werden.

Die Polkörperdiagnostik erfordert die künstliche Befruchtung durch intracytoplasmatische Spermieninjektion (ICSI) mit nachfolgendem Embryotransfer.

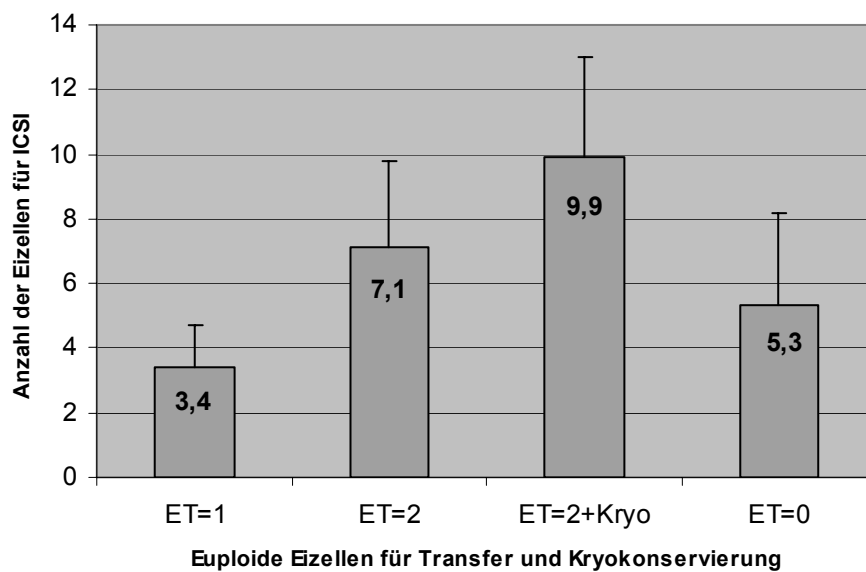
Die Kryokonservierung von Pronuclei erfährt nach PKD indes Einschränkungen. Bisher ist es nicht gelungen, nach Auftauen und erfolgreichem Embryotransfer eine klinische Schwangerschaft herbeizuführen.

Als kausaler Faktor wird die bleibende Öffnung nach Biopsie in der Zona pellucida angenommen, welche bei dem invasiven Verfahren (PKD/PID) entsteht (Montag, 2004; nach persönlicher Mitteilung).

Limitierender Faktor für eine optimale Ausübung der PKD ist die zur Verfügung stehende Anzahl von Eizellen insbesondere bei älteren Frauen. Um die frustrane Übertragung von nicht entwicklungsfähigen Eizellen zu verhindern, werden an der Frauenklinik der Universität Bonn für den Transfer von ein bis zwei euploiden Embryonen im Schnitt sechs bis acht Eizellen für die intracytoplasmatische Spermieninjektion benötigt (siehe Abbildung 8) (Montag und van der Ven, 2003).

Da es sich bei der PKD um ein technisch aufwändiges sowie zeit- und kostenintensives Verfahren handelt, kann sie zum gegenwärtigen Zeitpunkt in Deutschland nicht routinemäßig eingesetzt werden (Montag et al., 2004a).

### Wieviele Eizellen werden benötigt?



**Abbildung 8** Schematische Darstellung der optimalen Anzahl der euploiden Eizellen für Transfer und Kryokonservierung nach erfolgter ICSI

Ferner finden sich Grenzen der Diagnosemöglichkeiten der PKD in der auf eine bestimmte Chromosomenanzahl beschränkten FISH-Methode. Es könnten andere, nicht untersuchte Chromosomenstörungen der Mutter in der Eizelle vorhanden sein, die ursächlich für die Nicht-Implantation von Embryonen sind.

Im Jahr 2002 wurde die routinemäßig eingesetzte 5-FISH so modifiziert, dass anstatt der fünf Chromosomen ein sechstes, zusätzliches Chromosom analysiert werden konnte. Seitdem wird bei PKD die 6-FISH eingesetzt (Montag et al., 2005).

Folglich bietet die FISH-Methode Raum für Weiterentwicklung durch die Möglichkeit einer zukünftigen Hybridisierung gleich vieler Chromosomen wie bei einer PID.

Die Alternative in Form der „vergleichenden genomischen Hybridisierung“ (comparative genomic hybridisation, CGH) steht zwar als Screeningmethode zur Verfügung, ist aber aufgrund des hohen zeitlichen wie finanziellen Aufwands derzeit noch nicht für den Einsatz in der PKD geeignet. Als Sonderform des „reverse painting“ (siehe Abschnitt 2.4.3) bietet die CGH die Möglichkeit, mit Hilfe von DNA-Extraktion, Amplifikation und



Hybridisierung alle Chromosomen des Genoms darzustellen und anschließend zu beurteilen (Wells et al., 1999).

Die in Bonn erprobte und favorisierte Form der laserassistierten PKD hat keinen Einfluss auf die Befruchtung und Lebensfähigkeit des Embryos.

Im Zeitraum vom Mai 2001 bis Mai 2003 wurden an der Frauenklinik der Universität Bonn im Rahmen einer Studie 140 Behandlungszyklen mit laserassistierten Polkörperbiopsien durchgeführt und anschließend mit einer Kontrollgruppe ohne Polkörperdiagnostik verglichen (Montag et al., 2004b). Der Vergleich erbrachte eine Signifikanz in der Anzahl der Embryonen pro Transfer, die bei der Polkörpergruppe mit laserassistierter Biopsie deutlich niedriger war. Höhere Schwangerschafts-, Implantations- und Baby-take-home-Raten und niedrigere Abortraten zeigten einen Trend zugunsten der Polkörperpatientinnen.

Folglich führte der Transfer von signifikant weniger Embryonen nach laserassistierter Polkörperbiopsie zu vergleichbaren Ergebnissen wie der Transfer von mehreren Embryonen bei der Kontrollgruppe.

Insofern konnte die Studie trotz vorerst geringer Fallzahlen aufzeigen, dass der Einsatz des Diodenlasersystems in der Polkörperdiagnostik von der Ergebnisqualität gleichwertig und überdies von dem zeitlichen Aufwand effizienter ist (Montag et al., 2004b).

Die Frage nach dem Sicherheitsaspekt bzw. eventuellen biologischen Auswirkungen auf die kindliche Entwicklung nach Einsatz des Lasers lassen aufgrund der geringen Anzahl der lebend-geborenen Kinder noch keine endgültigen Aussagen zu.

Positiv zu vermerken ist, dass nach laserassistierter Polkörperbiopsie keine nennenswerten Gewichtsabweichungen der Kinder im Vergleich zu anderen Methoden im Rahmen der genetischen Diagnostik bzw. nach künstlicher Befruchtung ohne Diagnostik zu finden sind.

Der Median des Geburtsgewichts der Kinder ist in Tabelle 25 dargestellt.

Ferner haben pädiatrische Gutachten bezüglich des Auftretens von kindlichen Fehlbildungen nach Einsatz des Diodenlasers keine Auffälligkeiten belegen können.

Diese ersten Daten bestätigen somit, dass der Einsatz einer laserassistierten Polkörperbiopsie keinen unerwünschten Einfluss auf die Entwicklung der Kinder zu haben scheint.

<b>Median Geburtsgewicht (g)</b>	<b>laserassistierte PKD</b>	<b>Kontrollgruppe ohne PKD</b>	<b>DIF-Register</b>
<b>Einlinge</b>	3325 n = 20	3290 n = 30	3320 n = 7524

**Tabelle 25 Vergleich der Daten der nach laserassistierten PKD lebend-geborenen Kinder mit denen aus der Kontrollgruppe und DIF-Register**

## 5 Zusammenfassung

Die Polkörperdiagnostik (PKD) ist ein Verfahren, das im Rahmen einer Maßnahme der assistierten Reproduktion den indirekten Nachweis mütterlicher Chromosomenfehlverteilungen in der menschlichen Eizelle erlaubt. Durch Biopsie und anschließende Darstellung der Chromosomen und Chromatiden der Polkörper mit der Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) lassen sich Rückschlüsse auf die chromosomale Konstitution der Eizelle ziehen, ohne einen negativen Einfluss auf die weitere Entwicklung des Embryos ausüben zu müssen.

Grundlage dieser Studie war der Vergleich zweier Patientenkollektive der Frauenklinik der Universität Bonn, bei dem 291 Behandlungszyklen nach PKD mit 1266 Zyklen nach intracytoplasmatischer Spermieninjektion ohne Polkörperbiopsie gegenübergestellt wurden. Den unter 35-jährigen Patienten mit mehreren Vorversuchen wurden nach Polkörperdiagnostik signifikant weniger, aber dafür geeignetere Eizellen ( $p = 0,0059$ ;  $p = 0,0124$ ) transferiert, ohne dass sich dies im Vergleich nachteilig auf die folgende Schwangerschafts- und Baby-take-home-Rate pro Transfer auswirkte. Analog vermochte bei den 35- bis 39-jährigen eine quantitative Erhöhung der Anzahl der transferierten Embryonen ( $p = 0,0001$ ) ohne PKD nach mehreren erfolglosen Vorversuchen keinen positiven Effekt auf die Baby-take-home-Rate erzielen, sondern tendierte zusätzlich in einer Erhöhung der Abortrate. Die Erhöhung der Stichprobenumfänge bei den über 40-jährigen Patienten mit Hilfe einer Powerkalkulation um den Faktor 2 bewirkte eine deutliche Signifikanz in der Abortrate ( $p < 0,05$ ) zugunsten der PKD sowie in der Baby-take-home-Rate pro Transfer ( $p < 0,05$ ) und stellt somit eine deutliche Indikation dieser Altersklasse zu einer PKD dar.

In Hinblick auf den Einfluss der Vor-Aborte der Kollektive hatten die Patienten mit einem Vor-Abort die besten Ergebnisse in den einzelnen Prüfgrößen, im Alter zwischen 35 und 39 Jahren vorzugsweise in der klinischen Schwangerschaftsrate ( $p < 0,05$ ), im Alter über 40 entsprechend in der Implantationsrate ( $p < 0,05$ ) und den Baby-take-home-Raten ( $p < 0,25$ ). Die Datenlage der unter 35-jährigen war zu gering, um eine richtungsweisende Auswertung vorzunehmen.

Bei Betrachtung des gesamten Polkörperkollektivs zeigte sich eine durchgehende Konstanz in den unterschiedlichen Altersklassen; auffällig waren die

altersunabhängigen, sich nicht signifikant unterscheidenden Abortraten, die Signifikanzen in der klinischen Schwangerschaftsrate und Implantationsrate ( $p < 0,05$ ) sowie kontinuierliche Tendenzen zugunsten des mittleren Kollektivs (zwischen 35 und 39 Jahren) in der Baby-take-home-Rate ( $p < 0,1$ ).

Die drei Vergleichsgruppen bestehend aus Patienten ohne Polkörperdiagnostik zeigten dagegen erheblich altersabhängige Schwankungen zum Nachteil der über 40-jährigen, maßgeblich durch die hohen Abortraten ( $p < 0,005$ ;  $p < 0,025$ ) und daraus resultierenden erniedrigten Baby-take-home-Raten ( $p < 0,001$ ) bedingt.

Analog der Auswertungen dieser Studie bietet die PKD demnach eine Alternative zur Aneuploidietestung mittels PID dar, insbesondere bei Frauen höheren Alters (älter als 40 Jahre), bei Patienten mit einem Vor-Abort und mit mehreren erfolglosen Behandlungszyklen. Somit bietet sich der Einsatz einer PKD in Ländern an, in denen die Möglichkeit zur Durchführung einer invasiven Diagnostik wie die Präimplantationsdiagnostik aus rechtlichen Gründen untersagt ist.

Basierend auf der Grundlage dieser Ergebnisse können mit Hilfe einer prospektiven Datenerfassung des Patientenkollektivs der Frauenklinik der Universität Bonn zukünftig angestrebte, multizentrische Studien ermöglicht werden.

## 6 Literaturverzeichnis

1. Angell, RR. Polar body Analysis: Possible pitfalls in preimplantation diagnosis of chromosomal disorders based on polar body analysis. *Hum Reprod* 1994; 9: 181-182
2. Bonduelle M, Wilikens A, Buysse A, Van Assche E, Devroey P, Van Steirteghem AC, Liebaers I. A follow-up study of children born after intracytoplasmic sperm injection (ICSI) with epididymal and testicular spermatozoa and after replacement of cryopreserved embryos obtained after ICSI. *Hum Reprod* 1998a; 13, Suppl 1: 196-207
3. Bonduelle M, Joris H, Hofmans K, Liebaers I, Van Steirteghem A. Mental development of 201 ICSI children at 2 years of age. *Lancet* 1998b; 23: 1524-1525
4. Bonduelle M, Ponjaert I, Steirteghem AV, Derde MP, Devroey P, Liebaers I. Developmental outcome at 2 years of age for children born after ICSI compared with children born after IVF. *Hum Reprod* 2003; 18: 342-350
5. Breckwoldt M, Keck C. Störungen der Fruchtbarkeit. In: Pfeleiderer A, Breckwoldt M, Martius G, Hrsg. *Gynäkologie und Geburtshilfe: Sicher durch Studium und Praxis*. Stuttgart - New York: Thieme, 2001: 78-82
6. Deutsches IVF-Register 2003, [www.deutsches-ivf-register.de](http://www.deutsches-ivf-register.de); Bundesgeschäftsstelle Ärztekammer Schleswig-Holstein
7. Diedrich K, van der Ven H, Al Hasani S, Wildt L, Bellmann O, Krebs D. Effect of the spermatozoa quality on extracorporeal fertilization. *Fortschr Med* 1985; 103: 956-960
8. Diedrich K. Stand der Reproduktionsmedizin in Deutschland. *gpk, Reproduktionsmedizin* 2003; 3: 3-4
9. Egbase PE, al-Sharhan M, al-Mutawa M, al-Othman S, Grudzinskas JG. Mimicking the high levels of activity of a large in-vitro fertilization unit leads to early success at the commencement of an in-vitro fertilization and embryo transfer programme. *Hum Reprod* 1996; 11: 2127-2129
10. Egozcue J. Polar body analysis: Possible pitfalls in preconception diagnosis of single gene and chromosome disorders. *Hum Reprod* 1994; 9: 1208
11. Felberbaum RE. Behandlung der ungewollten Kinderlosigkeit in Deutschland: gute Erfolge, aber noch Optimierungspotential. *gpk, Reproduktionsmedizin* 2003; 3: 11-14
12. Frommel M. Ethische, verfassungsrechtliche und strafrechtliche Problematik. *gpk, Reproduktionsmedizin: Das Recht der Fortpflanzungsmedizin im 21. Jahrhundert* 2002; 18: 158-182

13. Gembruch U, Diedrich K, Al-Hasani S, Welker B, Wahode J, van der Ven H, Krebs D. Transvaginal, ultrasound-controlled follicle puncture. *Geburtshilfe Frauenheilkunde* 1988a; 48: 617-624
14. Gembruch U, Diedrich K, Welker B, Wahode J, van der Ven H, Al-Hasani S, Krebs D. Transvaginal sonographically guided oocyte retrieval for in-vitro fertilization. *Hum Reprod* 1988b; 3, Suppl 2; 59-63
15. Gesetz zum Schutz von Embryonen (Embryonenschutzgesetz - EschG) 1990. BGBl. I.S: 2746
16. Gianaroli L, Munne S, Magli MC, Ferraretti AP. Preimplantation genetic diagnosis of aneuploidy and male infertility. *International J of Andrology* 1997; 20: 31-34
17. Gianaroli L, Magli MC, Munne S, Fortini D, Ferraretti AP. Advantages of day 4 embryo transfer in patients undergoing preimplantation genetic diagnosis of aneuploidy. *J Assist Reprod Genet* 1999; 16: 170-175
18. Gloning KP, Brusis E. Invasive prenatal diagnosis: methods, perspectives, limits. *Gynakol Rundsch.* 1989; 29: 241-247
19. Griesinger G, Schultze-Mosgau A, Diedrich K. Polkörperdiagnostik aus reproduktionsmedizinischer Sicht. *Med Genetik* 2004; 4: 393-397
20. Gutiérrez-Mateo C, Wells D, Benet J, Sánchez-García JF, Bermúdez MG, Belil I, Egozcue J, Munné S, Navarro J. Reliability of comparative genomic hybridization to detect chromosome abnormalities in first polar bodies and metaphase II oocytes. *Hum Reprod* 2004; 19: 2118-2125
21. Handyside AH, Kontogianni EH, Hardy K, Winston RM. Pregnancies from biopsied human preimplantation embryos sexed by Y-specific DNA amplification. *Nature* 1990; 344: 768-770
22. Hardy K, Handyside AH. Biopsy of cleavage stage human embryos and diagnosis of single gene defects by DNA amplification. *Arch pathol Lab Med* 1992; 116: 388-392
23. Hassold T, Chen N, Funkhouser J, Jooss T, Manuel B, Matsuura J, Matsuyama A, Wilson C, Yamane JA, Jacobs PA. A cytogenetic study of 1000 spontaneous abortions. *Ann Hum Genet* 1980; 44 :151-178
24. Hassold T, Warburton D, Kline J, Stein Z. The relationship of maternal age and trisomy among trisomic spontaneous abortions. *Am J Hum Genet* 1984; 36: 1349-1356
25. Hassold T, Merrill M, Adkins K et al. Recombination and maternal age-dependent nondisjunction: molecular studies of trisomy 16. *Hum Genet* 1995 ; 57: 867-874

26. Hull MG, Fleming CF, Hughes AO, McDermott A. The age-related decline in female fecundity: a quantitative controlled study of implanting capacity and survival of individual embryos after in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1996; 65: 783-790
27. Hüppe H. Mensch von Anfang an: Menschenwürde wird nicht vom Staat verliehen. *gpk, Reproduktionsmedizin* 2003; 3: 5-7
28. Koch HG. Rechtlicher Status des In-vitro-Embryos: Maßnahmen zur Effizienzsteigerung bei medizinisch unterstützter Fortpflanzung aus rechtlicher und rechtsvergleichender Sicht. *gpk, Reproduktionsmedizin* 2003; 3: 27-32
29. Kuliev A, Cieslak J, Ilkevitch Y, Verlinsky Y. Chromosomal abnormalities in a series of 6733 human oocytes in preimplantation diagnosis for age-related aneuploidies. *Reprod Biomed Online* 2003; 6: 54-59
30. Kupka MS, Dorn C, Montag M, Felberbaum RE, van der Ven H, Kulczycki A, Friese K. Previous miscarriages influence IVF and intracytoplasmic sperm injection pregnancy outcome. *Reprod Biomed Online* 2004; 8: 349-357
31. Ludwig M, Diedrich K, Schwinger E. Preimplantation genetic diagnosis: the German situation. *Trends Genet* 2001; 17: 473-474
32. Montag M, van der Ven H. Grundlagen der In-vitro-Fertilisation und Embryonenkultivierung. *Reproduktionsmedizin: Das Recht der Fortpflanzungsmedizin im 21. Jahrhundert* 2002; 18: 147-153
33. Montag M, van der Ven H. mit „weniger“ mehr erreichen: Möglichkeit der assistierten Reproduktion zur Erhöhung der Schwangerschaftsrate und Verminderung der Mehrlingsrate. *gpk, Reproduktionsmedizin* 2003; 3: 15-17
34. Montag M, van der Ven K, Ved S, Schmutzler A, Prietl G, Krebs D, Peschka B, Schwanitz G, Albers P, Haidl G, van der Ven H. Success of intracytoplasmic sperm injection in couples with male and/or female chromosome aberrations. *Hum Reprod* 1997; 2: 2635-2640
35. Montag M, van der Ven K, Delacretaz G, Rink K, van der Ven H. Laser-assisted microdissection of the zona pellucida facilitates polar body biopsy. *Fertil Steril* 1998; 69: 539-542
36. Montag M, van der Ven H, German Pronuclear Morphology Study Group. Evaluation of pronuclear morphology as the only selection criterion for further embryo culture and transfer: results of a prospective multicentre study. *Hum Reprod* 2001; 16: 2384-2389
37. Montag M, van der Ven K, van der Ven H. Erste klinische Erfahrungen mit der Polkörperdiagnostik in Deutschland. *J Fertil Reprod* 2002; 4: 7-12

38. Montag M, van der Ven K, Dorn C, Rösing B, Kariger A, van der Ven H. Polkörperdiagnostik: Indikationen und Ergebnisse. *Gynäkologische Endokrinologie* 2003; 1: 159-163
39. Montag M, Isachenko E, van der Ven K, Dorn C, Isachenko V, van der Ven H. Technischer und zeitlicher Verlauf der Polkörperpräparation mit anschließender Aneuploidiediagnostik. *Med Genetik* 2004a; 4: 404-407
40. Montag M, van der Ven K, Dorn C, van der Ven H. Outcome of laser-assisted polar body biopsy and aneuploidy testing. *Reprod Biomed Online* 2004b; 9: 425-429
41. Montag M, Limbach N, Sabarstinski M, van der Ven K, Dorn C, van der Ven H. Polar body biopsy and aneuploidy testing by simultaneous FISH detection of 6 chromosomes using commercial probes. *Prenatal Diagnosis* 2005; in Druck
42. Munné S, Dailey T, Sultan KM, Grifo J, Cohen J: The use of first polar bodies for preimplantation diagnosis of aneuploidy. *Hum Reprod* 1995; 10: 1014-1020
43. Munné S, Morrison L, Fung J, Marquez C, Weier U, Bahce M, Sable D, Grundfeld L, Schoolcraft B, Scott R, Cohen J. Spontaneous abortions are reduced after preconception diagnosis of translocations. *J Assist Reprod Genet* 1998; 15: 290-296
44. Munne S, Sandalinas M, Escudero T, Velilla E, Walmsley R, Sadowy S, Cohen J, Sable D. Improved implantation after preimplantation genetic diagnosis of aneuploidy. *Reprod Biomed Online* 2003; 7: 91-97
45. Nationaler Ethikrat 2003. Genetische Diagnostik vor und während der Schwangerschaft. [www.ethikrat.org/stellungnahmen](http://www.ethikrat.org/stellungnahmen)
46. Nationaler Ethikrat 2004. Polkörperdiagnostik. [www.ethikrat.org/stellungnahmen](http://www.ethikrat.org/stellungnahmen)
47. Reiche K. Präimplantationsdiagnostik: Strenge Regelungen und Kontrollen erforderlich. *gpk, Reproduktionsmedizin* 2003; 3: 8-10
48. Saunders K, Spensley J, Munro J, Halasz G. Growth and physical outcome of children conceived by in vitro fertilization. *Pediatrics* 1996; 97: 688-692
49. Schröder AK, Diedrich K, Ludwig M. Wie geht es Kindern nach assistierter Reproduktion. *Gynäkologische Endokrinologie* 2003a; 1: 170-175
50. Schröder AK, Diedrich K, Ludwig M. Qualitätssichernde Maßnahmen und Präimplantations-Diagnostik: Eine kritische Auseinandersetzung. *gpk, Reproduktionsmedizin* 2003b; 3: 18-21
51. Schwinger E. Polkörperdiagnostik aus humangenetischer Sicht. *Med Genetik* 2004; 4: 391-392



52. Sherman SL, Peterson MB, Freeman SB et al. Nondisjunction of chromosome 21 in maternal meiosis 1: evidence for a maternal age-dependent mechanism involving reduced recombination. *Human Molecular Genetics* 1994; 3: 1529-1535
53. Strowitzki T. Möglichkeiten und Grenzen der Präimplantationsdiagnostik. *Gynäkologische Endokrinologie* 2003; 1: 164-169
54. Sutcliffe AG, Taylor B, Saunders K, Thornton S, Lieberman BA, Grudzinskas JG. Outcome in the second year of life after in-vitro fertilisation by intracytoplasmic sperm injection: a UK case-control study. *Lancet* 2001; 357: 2080-2084
55. Testart J, Frydman R, Feinstein MC, Thebault A, Roger M, Scholler R. Interpretation of plasma luteinizing hormone assay for the collection of mature oocytes from women: definition of a luteinizing hormone surge-initiating rise. *Fertil Steril* 1981; 36: 50-54
56. van der Ven H, van der Ven K, Montag M. Schwangerschaft nach Polkörperbiopsie und Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) der Chromosomen 13, 16, 18, 21 und 22. *Geb Fra* 2002; 62: 585-588
57. van der Ven H, Montag M, van der Ven K, Flimmers R, Schwinger E. Prospektiv randomisierte multizentrische Studie zum Nachweis des Vorteils einer Aneuploidie-Testung nach Polkörperbiopsie bei künstlicher Befruchtung. *Med Genetik* 2004; 4: 413-415
58. Veiga A, Sandalinas M, Benkhalifa M, Boada M, Carrera M, Santalo J, Barri PN, Menezo Y. Laser blastocyst biopsy for preimplantation diagnosis in the human. *Zygote* 1997; 5: 351-354
59. Verlinsky Y, Kuliev A. Preimplantation Polar Body Diagnosis. *Biochem Mol Med* 1996; 58: 13-17
60. Verlinsky Y, Ginsberg N, Lifchez A, Valle J, Moise J, Strom CM. Analysis of the first polar body: preconception genetic diagnosis. *Hum Reprod* 1990; 5: 826-829
61. Verlinsky Y, Kuliev A, Dyban A. Preconception diagnosis of single gene and chromosomal disorders. *Hum Reprod* 1994; 9: 182
62. Verlinsky Y, Cieslak J, Freidine J, Ivakhnenko V, Wolf G, Kovalinskaya L, White M, Lifchez A, Kaplan B, Moise J, Valle J, Ginsberg N, Strom C, Kuliev A. Polar body diagnosis of common aneuploidies by FISH. *J Assist Reprod Genet* 1996; 13: 157-162
63. Verlinsky Y, Cieslak J, Ivakhnenko V, Evsikov S, Wolf G, White M, Lifchez A, Kaplan B, Moise J, Valle J, Ginsberg N, Strom C, Kuliev A. Preimplantation diagnosis of common aneuploidies by the first -and second polar body FISH analysis. *J Assist Reprod Genet* 1998; 15: 285-289

64. Verlinsky Y, Cieslak J, Ivakhnenko V, Evsikov S, Wolf G, White M, Liefchez A, Kaplan B, Moise J, Valle J, Ginsberg N, Strom C, Kuliev A. Prevention of age-related aneuploidies by polar body testing of oocytes. *J Assist Reprod Genet* 1999; 16: 165-169
65. Wennerholm UB, Janson PO, Wennergren M, Kjellmer I. Pregnancy complications and short-term follow-up of infants born after in vitro fertilization and embryo transfer (IVF/ET). *Acta Obstet Gynecol Scand* 1991; 70: 565-573
66. Wells D, Sherlock JK, Handyside AH, Delhanty JD. Detailed chromosomal and molecular genetic analysis of single cells by whole genome amplification and comparative genomic hybridisation. *Nucleic Acids Res* 1999; 27: 1214-1218
67. Yovich JL, Parry TS, French NP, Graaug AA. Developmental assessment of twenty in vitro fertilization (IVF) infants at their first birthday. *J In Vitro Fert Embryo Transf* 1986; 3: 253-257

Aus den vorliegenden Literaturzitate bereits erschienene Publikation:

Montag M, Limbach N, Sabarstinski M, van der Ven K, Dorn C, van der Ven H. Polar body biopsy and aneuploidy testing by simultaneous FISH detection of 6 chromosomes using commercial probes. *Prenatal Diagnosis* 2005; in Druck

## 7 Abkürzungsverzeichnis

CGH = Comparative genomic hybridisation (vergleichende genomische Hybridisierung)

EschG= Embryonenschutzgesetz

ET = Embryotransfer

EU = Extrauterin gravidität

FISH = Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung

FSH = Follikelstimulierendes Hormon

GnRH= Gonadotropin-Releasing-Hormon

HCG = Humanes Choriongonadotropin

ICSI = Intracytoplasmatische Spermieninjektion

IVF = In-vitro-Fertilisation

KG = Kontrollgruppe

KSS = Klinische Schwangerschaft

LH = Luteinisierendes Hormon

NVK = Nukleolus-Vorläufer-Körperchen

PCR = Polymerase chain reaction (Polymerasekettenreaktion)

PID = Präimplantationsdiagnostik

PKD = Polkörperdiagnostik

PKG = Polkörpergruppe

PND = Pränataldiagnostik

SS = Schwangerschaft

VV = Vorversuche

## 8 Danksagung

Herrn Professor Dr. med. H. van der Ven danke ich für die Möglichkeit, an der von ihm geleiteten Abteilung der Frauenklinik der Universität Bonn eine anspruchsvolle Dissertation zu erstellen und für das in mich gesetzte Vertrauen.

Herrn PD Dr. Markus Montag danke ich für sein Interesse an der behandelten Fragestellung, die Überlassung des Themas und seine Betreuung. Sein Interesse an der Arbeit und seine freundliche Art sorgten dafür, dass die Doktorarbeit auch inhaltlich um wichtige Aspekte bereichert wurde.

Meiner Familie und meinen Freunden danke ich für die liebevolle Unterstützung, insbesondere meiner Mutter für das präzise und kompetente Korrekturlesen.