

**Verlauf der Serumspiegel des  
„Pregnancy associated plasma protein-A“  
im ersten Trimenon bei schwangeren Patientinnen nach  
Spontankonzeption sowie nach assistierter Reproduktion**

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

**Cora Liesa Thiel  
aus Siegburg**

**2013**

Angefertigt mit Genehmigung der  
Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. H. van der Ven
2. Gutachter: PD Dr. G. Fechner

Tag der Mündlichen Prüfung: 16.09.2013

Aus der Abteilung für gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin der Klinik für  
Frauenheilkunde und Geburtshilfe der Universität Bonn

Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. W. Kuhn

**Meinen Eltern gewidmet**



## Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>8</b>
<b>1. Einleitung.....</b>	<b>11</b>
1.1 PAPP-A: Aufbau und Struktur.....	11
1.2 PAPP-A: Synthesequellen und lokale Funktionen.....	12
1.3 PAPP-A: IGFBP-Protease.....	14
1.4 Regulation von PAPP-A .....	15
1.5 PAPP-A in der Schwangerschaft .....	16
1.6 Humanes Choriongonadotropin .....	17
1.7 Grundlagen und Techniken der Reproduktionsmedizin .....	18
1.7.1 Therapie und Reproduktionstechniken .....	18
1.8 Bedeutung von PAPP-A für das Erst-Trimester Screening .....	23
1.9 Fragestellung der Arbeit.....	25
<b>2. Material und Methoden.....</b>	<b>27</b>
2.1 Patientenkollektiv.....	27
2.2 PAPP-A Messung .....	28
2.2.1 Probengewinnung.....	28
2.2.2 Testverfahren.....	29
2.2.3 Testdurchführung .....	29
2.3 hCG Messung.....	30
2.3.1 Probengewinnung.....	30
2.3.2 Testverfahren.....	30
2.3.2 Testdurchführung .....	30
2.4 Statistische Analyse .....	31
2.4.1 Berechnung von MoM-Werten für PAPP-A und hCG .....	31
2.4.2 Berechnung gewichtskorrigierter MoM-Werte für PAPP-A und hCG.....	33
<b>3. Ergebnisse.....</b>	<b>35</b>
3.1 Das Patientenkollektiv .....	35
3.1.1 Klassifizierung des Patientenkollektivs .....	35

3.1.1.1 Schwangerschaftsverläufe.....	36
3.1.1.2 Sterilität, Altersverteilung, Nikotinkonsum und BMI.....	37
3.1.1.3 Nebenerkrankungen sowie Behandlungskomplikationen.....	38
3.2 Der PAPP-A-Serumspiegel zum Zeitpunkt der Ovulationsinduktion .....	38
3.2.1 PAPP-A bei unterschiedlicher folliculärer Stimulation.....	38
3.2.2 Der Östradiol-Serumspiegel bei unterschiedlicher folliculärer Stimulation.....	39
3.2.3 Korrelation zwischen dem PAPP-A- und Östradiol-Serumspiegel .....	39
3.2.4 PAPP-A in Abhängigkeit von Patientenalter und Schwangerschaftsausgang .....	40
3.2.5 PAPP-A in Abhängigkeit von Nebendiagnosen und Behandlungskomplikationen ...	41
3.3 Verlauf der PAPP-A-Serumspiegel in der Frühgravidität .....	41
3.3.1 PAPP-A-Serumspiegel in Abhängigkeit vom Gestationsalter.....	41
3.3.2 Vergleich der PAPP-A-Serumspiegel periovulatorisch und am 12.- 17. Tag p.c.....	42
3.3.3 PAPP-A-Spiegel im Schwangerschaftsverlauf bei unterschiedlichem Schwangerschaftsausgang.....	44
3.4 Die MoM-PAPP-A-Werte in Abhängigkeit zu ausgewählten Parametern.....	45
3.4.1 MoM-PAPP-A in Abhängigkeit vom Schwangerschaftsausgang .....	45
3.4.2 MoM-PAPP-A in Abhängigkeit vom Körpergewicht .....	46
3.4.3 MoM-PAPP-A in Abhängigkeit von Patientenalter und Sterilität.....	46
3.4.4 MoM-PAPP-A in Abhängigkeit von Embryonenanzahl und Transfertag .....	47
3.4.5 MoM-PAPP-A in Abhängigkeit von Konzeptionsmodus und Stimulationsstärke .....	48
3.4.6 MoM-PAPP-A in Abhängigkeit von Nebendiagnosen und Behandlungskomplikationen.....	48
3.5. Korrelation zwischen dem PAPP-A- und hCG-Serumspiegel p.c. ....	51
3.6 Verlauf der hCG-Serumspiegel in der Frühgravidität.....	51
3.6.1 Die MoM-hCG-Werte in Abhängigkeit vom Gestationsalter .....	51
3.7 Die MoM-hCG-Werte in Abhängigkeit zu ausgewählten Parametern .....	52
3.7.2 MoM-hCG in Abhängigkeit vom Schwangerschaftsausgang.....	52
3.7.3 MoM-hCG in Abhängigkeit vom Körpergewicht.....	53
3.7.4 MoM-hCG in Abhängigkeit von Patientenalter und Sterilität .....	54

3.7.5. MoM-hCG in Abhängigkeit von Embryonenanzahl und Transfertag .....	54
3.7.6 MoM-hCG in Abhängigkeit von Konzeptionsmodus und Stimulationsstärke .....	55
3.7.7 MoM-hCG in Abhängigkeit von Nebendiagnosen und Behandlungskomplikationen.....	55
<b>4. Diskussion .....</b>	<b>57</b>
4.1 Das Beobachtungskollektiv.....	57
4.2 Vergleich der PAPP-A-Serumspiegel periovulatorisch und p.c. ....	58
4.3 Verlauf der PAPP-A- und hCG-Serumspiegel in der Frühschwangerschaft .....	61
4.4 MoM-PAPP-A und -hCG in Abhängigkeit zu ausgewählten Parametern .....	63
4.4.1 Körpergewicht.....	63
4.4.2 Embryonenanzahl und Transfertag .....	64
4.4.3 Alter und Sterilität.....	64
4.4.4 Konzeptions- und Stimulationsmethode .....	65
4.4.6 Nebendiagnosen und Behandlungskomplikationen .....	67
<b>5. Zusammenfassung.....</b>	<b>70</b>
<b>6. Abbildungsverzeichnis.....</b>	<b>72</b>
<b>7. Tabellenverzeichnis.....</b>	<b>73</b>
<b>8. Literaturverzeichnis.....</b>	<b>74</b>
<b>9. Danksagung .....</b>	<b>90</b>

## Abkürzungsverzeichnis

Abb	Abbildung
AS	Aminosäuren
ASRM	American Society of Reproductive Medicine
β-hCG	beta-humanes Choriongonadotropin
BMI	Body-Mass-Index
BMP-15	Bone Morphogenetic Protein-15
BRZ	Bundesverband Reproduktionsmedizinischer Zentren
cAMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
COH	Controlled ovarian hyperstimulation
DIR	Deutsches IVF Register
ELISA	Enzyme linked immunsorbent assay
FF	Follikelflüssigkeit
FITSS	First Trimester Serum Screening
FPN	Frozen pronucleus
FSH	Follikelstimulierendes Hormon
GnRH	Gonadotropin-Releasing-Hormon
hCG	humanes Choriongonadotropin
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Schwefelsäure
HRP	Horseradish Peroxidase
ICSI	Intrazytoplasmatische Spermieninjektion
IGF	Insulin-like-Growth-Faktor
IGFBP	Insulin-like-Growth-Faktor-Binding-Protein
IL1-β	Interleukin 1-beta
i.m.	intramuskulär
INS	Intrauterine Insemination
IVF	In-vitro-Fertilisation

IU	International Unit
kDa	Kilodalton
L	Liter
LG	Laminin G-Like Protein
LH	Luteinisierendes Hormon
Ln	Logarithmus naturalis
LNR	Lin-12-Notch-repeats
mA	Mütterliches Alter
mL	Milliliter
MoM	Multiple of Median (Vielfaches des Medians)
mRNA	Messenger Ribonukleinsäure
NB	fetales Nasenbein
nm	Nanometer
NT	Nackentransparenz
OHSS	Ovarielles Hyperstimulationssyndrom
PAPP-A	Pregnancy associated Plasma Protein-A
p.c.	post conceptionem
PCOS	Polyzystisches Ovarsyndrom
p.m.	post menstruationem
pg	Pikogramm
pro-MBP	Proform des Eosinophil Major Basic Proteins
rFSH	rekombinantes Follikel stimulierendes Hormon
RLU	relativen Lichteinheiten
s.c.	subcutan
Semi-IQR	Semi-Interquartile Range
SSTp.c.	Schwangerschaftstag post conceptionem
SSW	Schwangerschaftswoche

Tab	Tabelle
TMB	Tetramethylbenzidin
TNF- $\alpha$	Tumornekrosefaktor-alpha
uFSH	urinäres Follikelstimulierendes Hormon
VZO	Verkehr zum Ovulationszeitpunkt
WHO	World Health Organization

## 1. Einleitung

Das Pregnancy associated plasma protein-A (PAPP-A) wurde erstmals im Jahre 1974 von Lin et al. (1974) in hohen Konzentrationen aus dem Blut von schwangeren Frauen isoliert und als ein Plasmaprotein der Plazenta identifiziert. Ende der 1990er Jahre zeigten Lawrence et al. (1999), dass PAPP-A als Insulin-like-Growth-Faktor (IGF) abhängige Insulin-like-Growth-Faktor-Binding-Protein-4 Protease (IGFBP-4) fungiert.

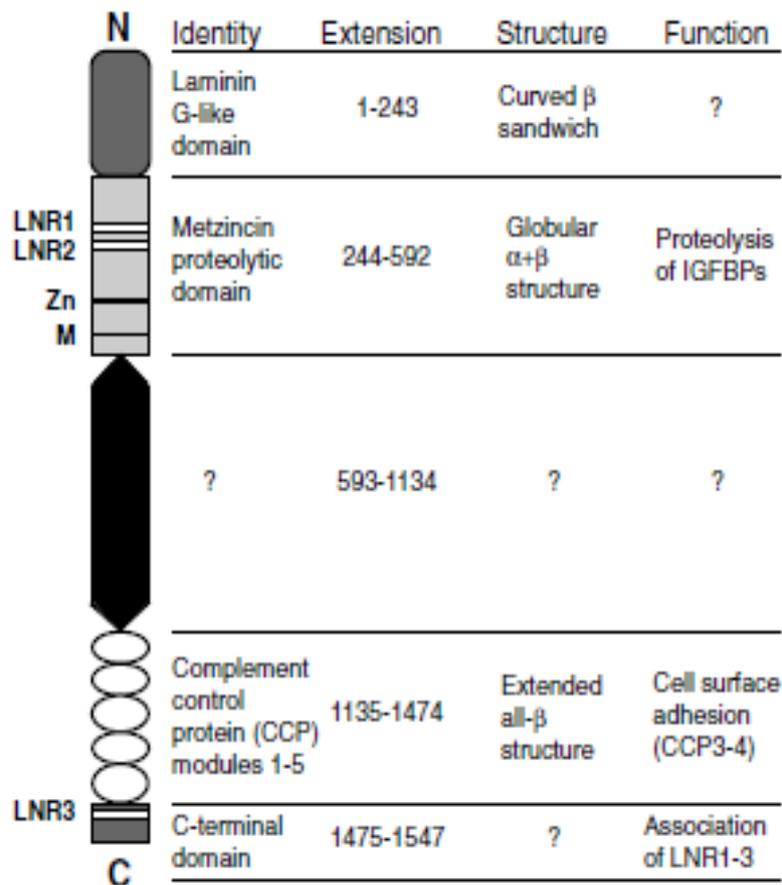
Seit den 1990er Jahren spielt PAPP-A eine essentielle Rolle als prognostischer Parameter in der Pränataldiagnostik zur Risikoabschätzung bestimmter Chromosomenaberrationen.

### 1.1 PAPP-A: Aufbau und Struktur

PAPP-A ist ein Polypeptid, dessen Gen auf Chromosom 9q33.1 lokalisiert ist (Silahtaroglu et al., 1993). Es handelt es sich um ein Dimer, das aus insgesamt vier identischen Polypeptidketten besteht, von denen jeweils zwei über Disulfidbrücken miteinander verbunden sind. PAPP-A setzt sich aus fünf Hauptdomänen zusammen:

Die N-terminale Domäne bestehend aus 243 Aminosäure-Resten ähnelt von seiner Struktur dem Laminin G-like Protein (LG). Das LG Modul wird für die Expression von PAPP-A benötigt, vermutlich um die benachbarte proteolytische Domäne zu stabilisieren (Boldt et al., 2006).

Die proteolytische Domäne besteht aus ~350 Aminosäuren (AS) und ist für die Spaltung von Insulin-like-Growth-Faktor-Binding-Proteins (IGFBPs) verantwortlich. Zwei strukturelle Besonderheiten der proteolytischen Domäne ermöglichen die Zuordnung zu der Familie der Metzincin-Metalloproteinasen. Dies ist zum einen eine elongierte Zinkbindungssequenz und zum anderen eine Methionin Windung (Kirstensen et al., 1994). PAPP-A ist erstes Mitglied der neuesten fünften Unterfamilie der Metzincin-Metalloproteinasen, den Pappalysinen (Boldt et al., 2001), zu der außerdem PAPP-A-2 und Ulilysin gehören. Innerhalb der proteolytischen Domäne von PAPP-A hat man zudem zwei der insgesamt drei Lin-12-Notch-repeats (LNR) von PAPP-A gefunden, die aus 30 AS bestehen und Calcium binden, das für den IGFBP Abbau von Bedeutung ist (Boldt et al., 2004). Struktur und Funktion, der 500 AS umfassenden zentralen Domäne, sind bislang unbekannt. Eine weitere Domäne wird durch fünf Complement control Protein Module gebildet und verleiht PAPP-A die Fähigkeit an Zelloberflächen zu binden (Boldt und Conover, 2007). Der kurze C-terminale Rest von PAPP-A besteht aus 70 AS und enthält wie die proteolytische Domäne ein weiteres, drittes LNR (Boldt und Conover, 2007).

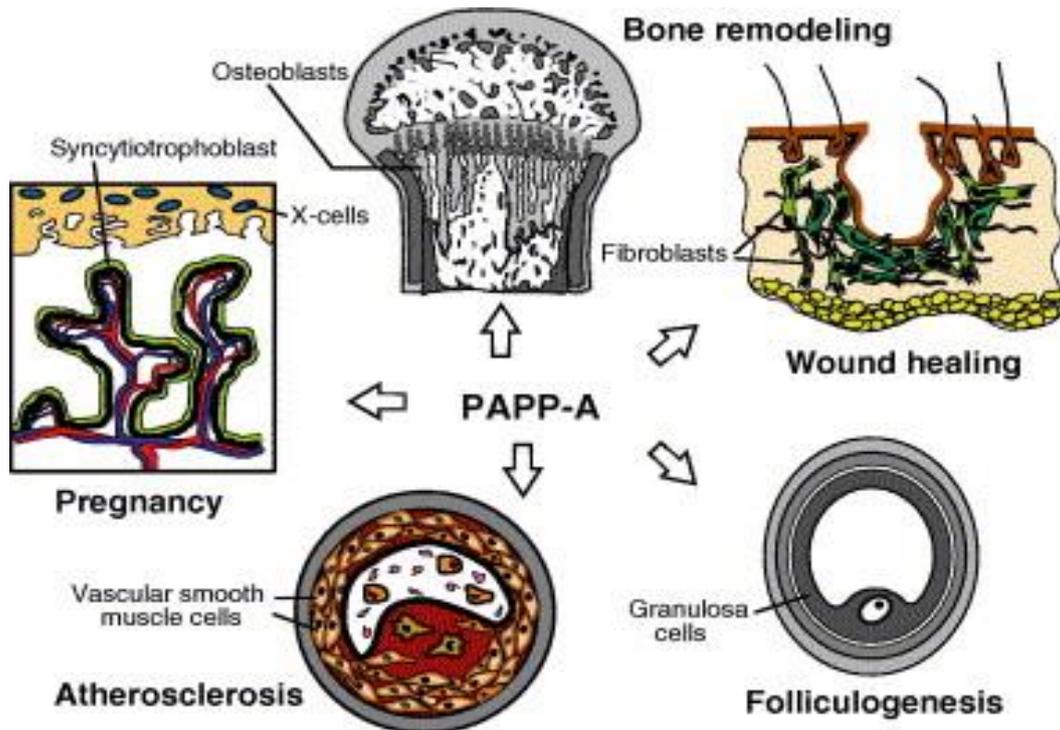


**Abb. 1: Schematische Darstellung des PAPP-A Polypeptids, unterteilt in fünf Domänen**  
(Boldt und Conover, 2007)

Zunächst wird PAPP-A als Monomer mit 200 kDa synthetisiert. Zwei dieser PAPP-A Monomere können über eine Disulfidbrücke zu einem aktiven PAPP-A Homodimer aus 400 kDa miteinander verbunden werden.

## 1.2 PAPP-A: Synthesequellen und lokale Funktionen

Pregnancy associated plasma protein-A (PAPP-A) kann in verschiedenen Zelltypen des menschlichen Körpers nachgewiesen werden und ist als IGFBP-4 Protease an unterschiedlichen physiologischen und pathologischen Prozessen beteiligt (Abb. 2).



**Abb. 2: Orte der PAPP-A Synthese beim Menschen**

Hauptsyntheseort für PAPP-A ist die Plazenta während der Schwangerschaft. PAPP-A wird von Osteoblasten synthetisiert und spielt eine bedeutende Rolle bei knöchernen Umbauprozessen. PAPP-A wird von den Granulosazellen sezerniert und ist in der Follikelflüssigkeit nachweisbar. Unter pathologischen Umständen spielt PAPP-A eine Rolle bei Arteriosklerose und Wundheilungsprozessen, wo es von Fibroblasten und glatten endothelialen Muskelzellen synthetisiert wird (Boldt und Conover, 2007).

PAPP-A wird in der Schwangerschaft in erheblichen Mengen von Trophoblasten und Deziduzellen gebildet (Giudice et al., 2002) und ist für die Fetalentwicklung erforderlich. Es konnte ebenfalls in der ovariellen Follikelflüssigkeit, in Granulosazellen (Conover et al., 1999; Conover et al., 2001), sowie in dezidualen endometrialen Stromazellen nachgewiesen werden (Giudice et al., 2002). Innerhalb des Ovars ist PAPP-A an der Regulation der Follikelreifung beteiligt. Erhöhte Konzentrationen von PAPP-A lassen sich in Östrogen-dominanten Follikeln nachweisen (Conover et al., 2001; Fortune et al., 2004; Hourvitz et al., 2002). Die höchsten PAPP-A-Werte wurden in späten, präovulatorischen Follikeln mit einem Gipfel kurz vor der Ovulation nachgewiesen (Westergaard et al., 1985). Ein Anstieg der PAPP-A-Konzentration innerhalb der Follikelflüssigkeit ist ein früher biochemischer Marker zur Detektierung des dominanten Follikels (Fortune et al., 2004). Auch Nyegaard et al. (2010) konnten anhand von PAPP-A-Knockout-Mäusen den wichtigen Einfluss von PAPP-A in der Modulation ovarieller Follikelreifung und

weiblicher Fertilität, durch die Kontrolle der Aktivität von lokal verfügbarem, ovariellen IGF nachweisen.

Neben der hohen PAPP-A Expression in Ovar und Plazenta, wird PAPP-A auch von Zellen außerhalb des Reproduktionsgewebes wie Osteoblasten, Fibroblasten und vaskulären glatten Muskelzellen sezerniert (Conover et al., 2004; Lawrence et al., 1999; Bayes-Genis et al., 2001). PAPP-A spielt eine bedeutende Rolle bei entzündlichen Vorgängen, Gewebsreparatur und -umbaumechanismen, wie Wundheilungsprozesse der Haut, Frakturheilungen und bei vaskulären Defekten (Abb. 2). Der Nachweis von PAPP-A in glatten endothelialen Muskelzellen steht im Zusammenhang mit der Entstehung instabiler arteriosklerotischer Plaques im Rahmen des akuten Koronarsyndroms (Bayes-Genis et al., 2001).

### **1.3 PAPP-A: IGFBP-Protease**

Die wesentliche Funktion des PAPP-A besteht in der Proteolyse von IGFBP-4 und IGFBP-5 (Laursen et al., 2001). IGFBPs (Insulin-like-Growth-Faktor-Binding-Proteins) sind lösliche Proteine, die IGF-I und IGF-II, mit hoher Affinität binden und dadurch deren biologische Aktivität modulieren (Hwa et al., 1999). Insgesamt konnten bis heute sechs IGFBPs (IGFBPs 1-6) mit ubiquitärem Vorkommen identifiziert werden (Jones und Clemmons, 1995). Im Ovar werden vier der sechs hochaffinen IGFBPs synthetisiert. Die Synthese von IGFBP-2, -4 und -5 findet in den Granulosazellen statt, während in den Thekazellen zusätzlich noch IGFBP-3 gebildet wird (Chamberlain und Spicer, 2001). Alle sechs IGFBPs konnten in unterschiedlichem Ausmaß in den dezidualen Stromazellen der Plazenta nachgewiesen werden. IGFBP-1 wird am häufigsten und IGFBP-4 am zweithäufigsten exprimiert (Han et al., 1996).

IGFBP-2, -5 und -6 haben eine höhere Affinität zu IGF-II, während IGFBP-1, -3 und -4 IGF-I und IGF-II mit etwa gleicher Affinität binden. Die Affinität der IGFs zu den IGFBPs ist dabei größer als die Affinität der IGFs zu ihren Rezeptoren (Clemmons, 1998), weshalb sie in biologischen Flüssigkeiten normalerweise an IGFBPs gebunden als IGFBP-IGF-Komplexe vorliegen. Dies führt zu einer Inaktivierung der IGFs (Boldt und Conover, 2007; Clemmons, 1998). In den Granulosazellen des Ovars, führt die Inaktivierung der IGFs durch IGFBP-IGF-Komplexbildung zu einer Reduktion der Mitoserate sowie zu einer Reduktion der Steroidbiosynthese (Mason et al., 1992). IGFBP-4 ist ein potenter Inhibitor der durch Follikelstimulierendes Hormon (FSH) induzierten Östrogenproduktion in menschlichen Granulosazellen (Mason et al., 1998). IGFBPs scheinen neben ihrer Funktion als IGF-Inhibitoren auch dafür verantwortlich zu sein, IGFs vor

einem schnellen Abbau zu schützen und eine lokale Konzentrationssteigerung zu ermöglichen. Außerdem spricht auch die enge Koexpression von IGF-II und IGFBP-4 für eine Interaktion, die über die ausschließliche Hemmung der IGFs durch IGFBPs hinaus geht (Ning et al., 2008).

Durch die Spaltung von IGFBP-4 und -5 durch PAPP-A, kommt es zu einem lokalen Anstieg der IGF Bioverfügbarkeit und zu einer Interaktion mit ihren Rezeptoren (Zhou et al., 2003). Die proteolytische Spaltung von IGFBP-4 durch PAPP-A ist IGF abhängig, wohingegen die Spaltung von IGFBP-5, IGF unabhängig erfolgt (Riviera und Fortune, 2003; Laursen et al., 2001). Entweder dient IGF als Co-Faktor für die Aktivierung von PAPP-A, oder es wird benötigt, damit IGFBP-4 IGF bindet und anschließend für PAPP-A als Substrat zur Verfügung steht (Laursen et al., 2001). Durch die proteolytische Spaltung von IGFBP-4 fördert PAPP-A die gonadotropinen Effekte auf den Follikel im Sinne des positiven Feedbackmechanismus (Adashi, 1998) und ist dadurch maßgeblich an der Regulation der Follikelreifung beteiligt (Fortune et al., 2004; Hourvitz et al., 2002). In der Plazenta, spielt die Regulation der IGF Bioverfügbarkeit eine bedeutende Rolle für die plazentare Entwicklung und die Steuerung plazentarer Funktionen (Sun et al., 2002).

#### **1.4 Regulation von PAPP-A**

Die Aktivität von PAPP-A wird durch verschiedene Faktoren reguliert, die Einfluss auf die Expression oder Aktivität von PAPP-A haben. In den Granulosazellen wird die Proteolyse des IGF-IGFBP-4-Komplexes durch PAPP-A von IGF stimuliert (Iwashita et al., 1998). Durch die Bindung von IGF an IGFBP-4 wird der Komplex über eine Konfigurationsänderung anfälliger für seinen Abbau. Die Regulation der PAPP-A Expression im Ovar wird gonadotropinabhängig durch FSH induziert (Matsui et al., 2004). Dadurch kann IGFBP-4 vermehrt abgebaut und IGF freigesetzt werden.

Auf der anderen Seite gibt es Substanzen, die an der indirekten Hemmung von PAPP-A beteiligt sind. Dazu gehören IGFBPs und das von den Oozyten sezernierte Bone Morphogenetic Protein-15 (BMP-15) (González-Fernández et al., 2010; Matsui et al., 2004). IGFBP hemmt die Aktivität von IGF und damit auch die Aktivität von FSH und führt so zu einer Suppression der PAPP-A Aktivität (Matsui et al., 2004). Ebenso hemmt BMP-15 die FSH induzierte Stimulation der PAPP-A Expression (Matsui et al., 2004; Moore und Shimasaki, 2005) und führt im Follikel zu einer Unterbrechung des positiven Feedbackmechanismus auf PAPP-A.

Ein direkter Inhibitor von PAPP-A ist die Proform des Eosinophil Major Basic Proteins (pro-MBP) (Overgaard et al., 2000). PAPP-A und pro-MBP werden während der Schwangerschaft in der Plazenta von unterschiedlichen Zelltypen synthetisiert (Bonno et al., 1994).

Die PAPP-A Synthese in der Plazenta kann durch cyclisches Adenosinmonophosphat (cAMP) (Hanning et al., 1996) und Progesteron (Bischof et al., 1986b) stimuliert werden. Durch Bildung des 2:2 heterotetrameren PAPP-A/pro-MBP-Komplexes von 500 kDa (Oxvig et al., 1994), kommt es zu einem vollständigen Funktionsverlust von PAPP-A (Overgaard et al., 2000; Boldt und Conover, 2007). In der Schwangerschaft liegen 99 % des PAPP-A in dieser und nur 1 % in seiner freien aktiven Form vor. Eventuell liegen auch 2:1 pro-MBP-Komplexe vor, in denen nur ein katalytisches Zentrum von PAPP-A gehemmt ist und das andere noch aktiv ist (Overgaard et al., 2000). In geringem Maße findet die Außerkraftsetzung der wachstumsfördernden PAPP-A Wirkung durch pro-MBP auch außerhalb der Schwangerschaft statt. Es wird vermutet, dass der PAPP-A/pro-MBP-Komplex unter bestimmten Umständen auch wieder gespalten wird, so dass PAPP-A gezielt zur Verfügung gestellt werden kann (Overgaard et al., 2000).

## **1.5 PAPP-A in der Schwangerschaft**

In der Schwangerschaft wird PAPP-A in großen Mengen von placentaren Trophoblasten- und Deziduazellen synthetisiert und anschließend in die maternale Zirkulation sezerniert. Die PAPP-A Synthese steigt im Laufe der Schwangerschaft auf ein Vielfaches an, so dass es zu einem exponentiellen Anstieg der PAPP-A-Konzentration im Serum kommt (Bischof et al., 1982; Westergaard et al., 1983). In der Plazenta führt die proteolytische Spaltung von IGFBP-4 durch PAPP-A zu einem lokalen Anstieg der IGF Bioverfügbarkeit (Sun et al., 2002). Sun et al. (2002) konnten nachweisen, dass die Proteolyse von IGFBP-4 zusätzlich durch eine an die Zellmembran der Trophoblasten gebundene PAPP-A Aktivität stattfindet, die sowohl IGF-II als auch Calcium abhängig ist und die lokale Bioverfügbarkeit von IGF an der maternalen-placentaren-Grenzfläche steigert. Dadurch wird die Interaktion von IGF mit Membranrezeptoren in unmittelbarer Nähe begünstigt. Durch IGF-II wird die Trophoblasteninvasion in die maternale Dezidua gefördert (Han et al., 1996). Desweiteren sind IGFs für die Differenzierung der Trophoblasten sowie deren Metabolismus verantwortlich. Sie regulieren die Steroidbiosynthese (Nestler und Williams, 1987; Nestler, 1990) durch Steigerung der FSH abhängigen Aromatisierung (Mason et al., 1994) sowie den Transport von Glucose und Aminosäuren in die Plazentazotten (Kniss et al., 1994).

PAPP-A hat eine spezifische Wirkung auf verschiedene fetale Gewebe: Über den Abbau von IGFBP-4 auf das Wachstum von Osteo- und Fibroblasten (Clemmons et al., 1998; Leung et al., 2006) sowie über den Abbau von IGFBP-2 auf das Leberwachstum (Leung et al., 2006). Eine positive Korrelation zwischen der Höhe des PAPP-A-Spiegels im ersten Trimenon und der Femurlänge sowie dem abdominellen Umfang im zweiten Trimenon, konnte gezeigt werden (Leung et al., 2006).

## **1.6 Humanes Choriongonadotropin**

Das humane Choriongonadotropin (hCG), ist ein Glykoprotein-Hormon bestehend aus einer  $\alpha$ - und einer  $\beta$ -Kette, die nicht kovalent miteinander verbunden sind. Die  $\alpha$ -Untereinheit des hCGs ist identisch mit den Glykoprotein-Hormonen der Hypophyse (Luteinisierendes Hormon: LH/Follikelstimulierendes Hormon: FSH) (Cole, 2009). Die  $\beta$ -Untereinheit, die auch als freies  $\beta$ -hCG bezeichnet wird, ist spezifisch für das hCG. hCG wird in der Frühschwangerschaft vom Trophoblasten sowie im weiteren Schwangerschaftsverlauf von der Plazenta synthetisiert und ist für die Aufrechterhaltung der Schwangerschaft verantwortlich. In den ersten Wochen wird es benötigt, um die Steroidbiosynthese des Corpus luteum zu unterstützen, bis diese von der fetoplazentaren Einheit übernommen werden kann. Desweiteren nimmt hCG eine wichtige Rolle in der Differenzierung des Trophoblasten sowie bei der Angiogenese der Spiralarterien ein (Cole, 2009). Reguläres hCG, hyperglykolisiertes hCG und hyperglykolisiertes freies  $\beta$ -hCG können sowohl im Plasma als auch im Urin von Frauen bei einer bestehenden Schwangerschaft nachgewiesen werden (Cole, 2009). Ein Schwangerschaftsnachweis per  $\beta$ -hCG Test aus dem Urin ist bereits ab dem 8. Tag nach Konzeption möglich (Stauber, 2005). hCG spielt neben PAPP-A eine bedeutende Rolle bei der Detektion bestimmter Chromosomenanomalien. Im ersten Trimester der Schwangerschaft steigt die hCG-Konzentration im Serum und im Urin exponentiell an, verdoppelt sich initial alle 48 h und erreicht den höchsten Wert in der 10. Schwangerschaftswoche post menstruationem (SSW p.m.) (Cole, 1997). Zwischen der 10. und 16. SSW p.m. sinkt die hCG-Konzentration auf ca. ein Fünftel der Peak Konzentration. Ab der 16. SSW p.m. bleibt dieser Konzentrationsbereich bis zur Geburt relativ konstant (Cole, 1997). Bei Spontanaborten und ektopen Schwangerschaften sind die hCG Spiegel deutlich reduziert (Cole, 1997).

## 1.7 Grundlagen und Techniken der Reproduktionsmedizin

Gemäß der Definition der American Society of Reproductive Medicine (ASRM) spricht man von Sterilität, wenn in einer Partnerschaft trotz regelmäßigem und ungeschütztem Geschlechtsverkehrs innerhalb eines Jahres keine Konzeption stattfindet (ASRM, 2004; Evers, 2002).

Die Sterilität kann man in eine primäre und sekundäre Form unterteilen. Eine primäre Sterilität liegt vor, wenn noch nie eine Schwangerschaft eingetreten ist. Von sekundärer Sterilität spricht man, wenn im Zustand nach Partus, Abort oder Extrauterin gravidität im oben genannten Zeitrahmen keine erneute Schwangerschaft eintritt.

In der Bundesrepublik Deutschland bleiben 10-15 % der Paare ungewollt kinderlos (Breckwoldt und Keck, 2008).

Nach Angaben des Bundesverband Reproduktionsmedizinischer Zentren (BRZ) Deutschland e.V. (2010) sind die Ursachen für eine Unfruchtbarkeit in etwa 25 % der Fälle auf die Frau und in 30 % der Fälle auf den Mann zurückzuführen. In etwa 40 % der Fälle lassen sich Störungen bei beiden Geschlechtern nachweisen. Der Sterilität liegen häufig multifaktoriell bedingte Fertilitätsstörungen zu Grunde.

Häufige Sterilitätsursachen der Frau sind endokrine Störungen, Follikelreifstörungen, Störungen der Ovulation, tubare Ursachen, Endometriose sowie Fehlbildungen der Gebärmutter. Unter den endokrinen Störungen sind v.a. Schilddrüsenerkrankungen, eine Hyperandrogenämie im Rahmen des Polyzystischen Ovarsyndroms (PCOS), eine Hyperprolaktinämie, das Klimakterium praecox sowie die Corpus-luteum-Insuffizienz von besonderer Relevanz. Das PCOS ist weltweit eine der häufigsten Ursachen für Anovulationen, Infertilität und Hyperandrogenämie.

Es tritt bei 5 bis 10 % der Frauen im reproduktionsfähigen Alter auf (Franks, 1995). Aus diesen Hormonstörungen resultieren häufig Follikelreifstörungen oder Störungen der Ovulation.

### 1.7.1 Therapie und Reproduktionstechniken

Vor Beginn einer Sterilitätstherapie sollte eine anamnestische und diagnostische Abklärung bei der Partner erfolgen. Bei der Frau wird primär ein Hormonstatus zum Ausschluss einer endokrinen Funktionsstörung durchgeführt.

Bei einer gestörten Ovarialfunktion sollten eine Optimierung der Rahmenbedingungen (Gewichtszunahme oder -abnahme, Stressreduktion, Änderung der Ernährungsgewohnheiten) sowie eine Normalisierung gestörter endokriner Systeme erfolgen (Diabetes mellitus, Hyperprolaktinämie, Hyperandrogenämie, Schilddrüsendysfunktion etc.) (Strowitzki, 2009).

Follikelreifstörungen, die auch nach Normalisierung der Rahmenbedingungen bestehen, können mit Hilfe einer Antiöstrogengabe therapiert werden (z.B. Clomifen oder Tamoxifen).

Für die Behandlung der Endometriose als Sterilitätsursache, kann je nach Schweregrad eine operative Sanierung in Betracht gezogen werden, sowie der Einsatz reproduktionsmedizinischer Verfahren zur Verbesserung der Schwangerschaftsrate (Malik und Vogt, 2009).

Die andrologische Sterilität wird ebenfalls ursachenbezogen therapiert. Desweiteren sollte eine Nikotinabstinenz beider Partner angestrebt werden, da zahlreiche Untersuchungen belegen, dass Nikotinabusus zu Subfertilität führen kann und die Erfolgsraten einer Sterilitätsbehandlung belastet (Graf, 2006).

### **Ovarielle Stimulation und Ovulationsinduktion**

Für eine ovarielle Stimulationsbehandlung gibt es vier Hauptindikationen (Graf, 2006):

- Die Behandlung einer ovariellen Dysfunktionen
- Zyklusoptimierung bei Patientinnen mit scheinbar normaler Ovarialfunktion
- Zyklusoptimierung im Zusammenhang mit einer geplanten intrauterinen Inseminationen
- Durchführung einer kontrollierten Überstimulation im Rahmen der In-vitro-Fertilisation oder der Intrazytoplasmatischen Spermieninjektion

Bevor eine ovarielle Stimulation durchgeführt wird, müssen eine endokrine Abklärung der Ovarialfunktion, der sonographische Ausschluss von Ovarialzysten sowie die Überprüfung auf suffizient abgeblutetes Endometrium erfolgen. Zudem sollte eine andrologische Untersuchung mit Spermogramm vorangegangen sein (Graf, 2006).

### **Durchführung der low-Dose FSH-Stimulation**

Um eine monofollikuläre Reifung zu erzielen werden ab dem 2. bis 3. Zyklustag zwischen 37,5 und 75 IE FSH pro Tag subcutan (s.c.) injiziert. Die Stimulationstherapie wird über 14 Tage in niedriger Dosierung aufrechterhalten.

Für die Behandlung stehen urinäres Follikelstimulierendes Hormon (uFSH) und gentechnisch hergestelltes rekombinantes FSH (rFSH) (Gonal-f<sup>®</sup>, Puregon<sup>®</sup>) zur Verfügung. Laut Daya und Gunby (2007) führt die ovarielle Stimulation im Rahmen der assistierten Reproduktion mit rFSH zu einem statistisch signifikanten Anstieg der klinischen Schwangerschaftsraten im Vergleich zu uFSH. Baker et al. (2009) hingegen konnten keine signifikanten Unterschiede bezüglich Oozytenanzahl, Schwangerschaftsausgang und Lebendgeburt rate feststellen.

Zwischen dem 5. und 8. Zyklustag erfolgt durch vaginale Sonographie die erste Kontrolle nach Stimulationsbeginn. Dadurch können die Follikelgröße und die Endometriumsdicke beurteilt werden. Zugleich werden der LH-, der Östradiol- und der Progesteronspiegel im Serum bestimmt. Abhängig vom Befund finden in 1-bis 3-tägigen Abständen Verlaufskontrollen statt. Bei Rekrutierung von maximal zwei Follikeln  $> 15$  mm und einem Leitfollikel mit einem Durchmesser von  $> 20$  mm sowie einem Östradiolspiegel von mindestens 50 pg/mL pro reifem Leitfollikel erfolgt die Ovulationsauslösung mit 5000 IU rekombinantem hCG (Ovitrelle<sup>®</sup>). Die Paare werden nach der Ovulationsauslösung zum Spontanverkehr angehalten oder es erfolgt eine intrauterine Insemination.

In Abhängigkeit von der ovariellen Reaktion kann eine Steigerung der applizierten FSH-Dosis erfolgen. Bei normaler Reaktion auf die Gonadotropingabe ist eine Größenzunahme der Follikel von 1,5 bis 2 mm pro Tag zu erwarten. Mit der Ovulation ist 36-42 Stunden nach der hCG-Gabe zu rechnen.

Die sich anschließende Lutealphase wird durch die Gabe von Progesteron (Utrogest<sup>®</sup>) unterstützt, um die Chance der Implantation und Frühschwangerschaft zu erhöhen.

## **Kontrollierte ovarielle Hyperstimulation (COH)**

### **GnRH-Agonisten Protokoll**

Das Gonadotropin-Releasing-Hormon (GnRH) wird vom Hypothalamus synthetisiert und pulsatil in den Pfortaderkreislauf der Hypophyse sezerniert, wodurch die Synthese und Sekretion von Gonadotropinen (LH/FSH) in der Hypophyse stimuliert wird. Die kontinuierliche Applikation von GnRH im Rahmen der COH führt zur reversiblen Inhibition der Gonadotropinsekretion. Das bedeutet, dass GnRH-Agonisten nach einem anfänglichen Anstieg der Gonadotropine (Flare-up-Effekt) durch Entleerung der hypophysären Speicher und einem transienten Anstieg der Rezeptorzahl eine Suppression der Gonadotropinsekretion durch Desensitivierung der Hypophyse bewirken (Felberbaum et al., 1998). Dies geschieht zum einen durch Hemmung der zellulären Signaltransduktionswege, woraufhin die Hypophysenzellen gegenüber nativem GnRH und GnRH-Agonisten refraktär werden, zum anderen nimmt die GnRH-Rezeptordichte ab (Conn und Crowley, 1991). Der Abnahme der Rezeptordichte (Downregulation) liegt eine Internalisierung der Rezeptoren zu Grunde. Auf die verminderte Gonadotropinproduktion und -sekretion folgt eine Suppression der ovariellen Steroidbiosynthese. Die Follikelreifung bleibt aus und der Östrogenspiegel sinkt auf postmenopausale Werte (Gordon et al., 1993).

Die Applikation des GnRH-Agonisten erfolgt 1 x täglich subcutan, intranasal oder durch die einmalige intramuskuläre (i.m.) Injektion eines Depotpräparats. Üblicherweise erfolgt die Agonistengabe am 21. Zyklustag. 10-14 Tage nach Verabreichung kommt es zum Abbluten des Endometriums. Innerhalb der ersten drei Tage des beginnenden Stimulationszyklus kann mit der täglichen intramuskulären Injektion der Gonadotropine begonnen werden. Ab dem 9. Zyklustag wird durch tägliche Follikulometrie und Bestimmung des Serumöstradiolspiegels die ovarielle Stimulation überwacht. Die tägliche Dosisanpassung erfolgt jetzt individuell (Küpker et al., 1998). Die Ovulationsinduktion erfolgt mit 10.000 IU hCG i.m., wenn sich in der Follikulometrie ein Leitfollikel, nach Möglichkeit mehrere Follikel mit einem Durchmesser von > 20 mm darstellen und der Östradiolwert pro Follikel > 17 mm eine Konzentration von ca. 300-400 pg/mL erreicht hat (Felberbaum et al., 1998). Die transvaginalsonographisch gesteuerte Follikelpunktion erfolgt 36 Stunden nach hCG Gabe. Die ovarielle Stimulation mit GnRH-Agonisten bedarf einer Unterstützung in der Lutealphase (Felberbaum et al., 1998). Die ovarielle Progesteronsynthese ist aufgrund der durch GnRH-Analoga induzierten Suppression zu gering, um eine regelrechte Implantation zu ermöglichen. Deshalb erfolgt ein hormoneller Lutealsupport mit Progesteron (Utrogest<sup>®</sup>).

### **Reproduktionstechniken**

Zu den verschiedenen Fertilisationsmethoden gehören die In-vitro-Fertilisation (IVF), die Intrazytoplasmatische Spermieninjektion (ICSI), der Transfer von zuvor im Vorkernstadium kryokonservierten Eizellen (FPN), die intrauterine Insemination (INS) sowie der Verkehr zum Ovulationszeitpunkt (VZO).

#### **In-vitro-Fertilisation (IVF)**

Hauptindikation für eine IVF ist die tubare Sterilität, relative Indikation eine idiopathische Sterilität. Gelegentlich kann eine IVF auch ein Ausweg sein, wenn Patientinnen mit therapieresistentem PCOS auf die Stimulation mit zahlreichen dominanten Follikeln reagieren (Neulen und Neises, 2007).

In den IVF-Protokollen können durch kontrollierte ovarielle Hyperstimulation bis zu zehn sprungreife Follikel rekrutiert werden. 34-36 Stunden nach Ovulationsinduktion mit 10.000 IU hCG erfolgt die sonographisch gesteuerte, transvaginale Follikelpunktion.

Die Oozyten werden in ein Nährmedium übertagen und durch Zugabe von progressiv motilen Spermien In-vitro fertilisiert. Im Pronukleusstadium können die befruchteten Eizellen, die nicht

transferiert wurden, kryokonserviert werden und in späteren Zyklen in den Uterus eingesetzt werden.

Zwei bis drei Tage später können bis zu drei Embryonen im 4-oder 8-Zell-Stadium mittels eines speziellen Katheters transzervikal in den Uterus rücktransferiert werden (Bundesministerium der Justiz, 2010). Bei Frauen unter dem 38. Lebensjahr sollten im Allgemeinen nicht mehr als 2 Embryonen transferiert werden, da sonst das Risiko von Mehrlingsschwangerschaften und einer damit verbundenen Risikoschwangerschaft erhöht ist (Neulen und Neises, 2007).

### **Intrazytoplasmatische Spermieninjektion (ICSI)**

Die Fertilisation mittels Intrazytoplasmatischer Spermieninjektion ist indiziert bei hochgradiger männlicher Subfertilität mit stark eingeschränkten Spermioogrammparametern, insbesondere bei pathologischer Spermienmorphologie. In diesem Fall, ist eine alleinige IVF meist erfolglos, da es selten zum Durchbrechen der Zona pellucida mit Befruchtung der Eizelle kommt. Im Unterschied zur IVF werden einzelne Spermatozoon mit einer Mikropipette direkt in das Zytoplasma der Oozyte injiziert. Die Spermien können sowohl aus dem Ejakulat als auch aus einer testikulären oder epididymalen Spermien Extraktion gewonnen werden (Neulen und Neises, 2007). Die Chance für den Eintritt einer Schwangerschaft ist altersabhängig (Deutsches IVF Register, 2009).

### **FPN-Kryokonservierung**

Bei der Kryokonservierung werden befruchtete Eizellen aus früheren IVF- oder ICSI-Behandlungen im Vorkernstadium bei ca.  $-196^{\circ}\text{C}$  eingefroren und zu einem späteren Zeitpunkt in die Gebärmutter eingebracht. Mit dieser Methode können Eizellen, Spermien, die imprägnierte Eizelle im Vorkernstadium und auch befruchtete Eizellen bis zum Blastozystenstadium aufbewahrt werden. Das dominierende Argument für die Anwendung der Kryokonservierung ist die Tatsache, dass durch eine einzige hormonelle Stimulationsbehandlung die Gewinnung einer beträchtlichen Anzahl von Eizellen zu erreichen ist. Allerdings ist festzustellen, dass bei Verwendung von zuvor kryokonservierten Eizellen im Rahmen der assistierten Reproduktion nicht dieselbe Erfolgsrate zu verzeichnen ist, wie bei Verwendung von so genanntem nativem, zuvor nicht eingefrorenen Eizellen (Rütz, 2007).

### **Insemination (INS)**

Die Indikation für diese Therapie stellt die moderate andrologische Subfertilität mit mildem Oligo-Astheno-Teratozoospermie-Syndrom, Parvispermie sowie ein negativer Sims-Huhner-Test wie bei fehlender zervikaler Sekretion dar.

Voraussetzung ist eine physiologisch uneingeschränkte Tubenfunktion. Bei der Insemination werden aufgearbeitete Spermien durch einen Katheter direkt in den Zervikalkanal (intrazervikale Insemination) oder bis in den Uterus (intrauterine Insemination) eingebracht (Breckwoldt und Keck, 2008). Es können sowohl frische, als auch kryokonservierte Spermien für die Insemination verwendet werden. Bei zu schlechter Spermienqualität können auch Spermien aus einer Samenbank für den Eingriff inseminiert werden (heterologe Insemination). Die Erfolgsrate der Insemination liegt bei 15-20 % (Breckwoldt und Keck, 2008).

### **Verkehr zum Ovulationszeitpunkt (VZO)**

Bei diesem Verfahren handelt es sich um ein Zyklusmonitoring, mit dessen Hilfe die fruchtbaren Tage innerhalb des weiblichen Zyklus bestimmt werden können. Dieses Verfahren kommt in Betracht, wenn die Durchgängigkeit der weiblichen Eileiter gesichert ist und die Spermienqualität des Mannes im Normbereich liegt. Die Follikelreifung wird mittels Ultraschalluntersuchungen überwacht. Parallel dazu werden die Hormone Östradiol und LH im Blut untersucht. Erreicht der Follikel eine optimale Größe bei entsprechenden Hormonwerten, wird der Eisprung durch eine Hormongabe (hCG) ausgelöst. Am Tag der Auslösung und am Folgetag ist der optimale Zeitpunkt für den Geschlechtsverkehr.

## **1.8 Bedeutung von PAPP-A für das Erst-Trimester Screening**

Seit den 1990er Jahren spielt PAPP-A eine essentielle Rolle als prognostischer Parameter im Rahmen des First-Trimester-Serum-Screenings bei Schwangeren (FITSS). Das FITSS ist eine nicht invasive Pränataldiagnostik in der 11-13<sup>+6</sup> Schwangerschaftswoche (SSW) zur Risikoabschätzung einer Chromosomenaberration, speziell der Trisomie 21 (Wald et al., 1999).

Die Untersuchung setzt sich zusammen aus der Analyse zweier biochemischer Parameter aus dem mütterlichen Serum, dem PAPP-A und dem freien  $\beta$ -hCG, dem maternalen Alter, sowie der Ausmessung der fetalen Nackentransparenz mittels Ultraschall.

Die Kombination dieser Parameter ermöglicht eine Detektionsrate betroffener Feten von 85-90 % (Nicolaidis und von Kaisenberg, 2004; Nicolaidis, 2011).

Eine wesentliche Komponente des biochemischen Screenings ist jedoch eine genaue Datierung der Schwangerschaft durch Ultraschall, da andernfalls die Detektionsrate um etwa 10 % verringert ist (Nicolaidis und von Kaisenberg, 2004).

Der maternale PAPP-A-Serumspiegel steigt normalerweise im Laufe der Schwangerschaft an und ist bei Trisomie 21 Schwangerschaften erniedrigt. Laut Wald et al. (2003) ist die PAPP-A Bestimmung im maternalen Serum nach Vollendung der 10. SSW am aussagekräftigsten. Die Konzentration an freiem  $\beta$ -hCG im maternalen Serum fällt nach initialem exponentiellem Anstieg bis zur 10. SSW p.m. (Cole, 1997) normalerweise im Verlauf der Schwangerschaft ab. Bei Trisomie 21 Schwangerschaften ist das freie  $\beta$ -hCG hingegen erhöht. Für ein vorgegebenes Schwangerschaftsalter repräsentieren sowohl der  $\beta$ -hCG- als auch der PAPP-A-Serumspiegel Prognoseparameter, die zusammen mit dem aus dem mütterlichen Alter resultierenden a priori Risiko für das Vorliegen einer Trisomie 21 die Berechnung eines neuen Gesamtrisikos möglich machen. Je höher der Spiegel des  $\beta$ -hCGs und je niedriger der des PAPP-As, desto höher ist das Trisomie 21 Risiko (Nicolaidis und von Kaisenberg, 2004). Bei einer Trisomie 13, 18 und bei Triploidie können beide Serumparameter erniedrigt vorliegen (Spencer et al., 2000; Spencer et al., 2002).

#### Methoden des Trisomie 21 Screenings [Detektionsrate %]

- mütterliches Alter (mA) [30 %]
- mA und mütterliche Serumbiochemie von 15–18 SSW [50–70 %]
- mA und fetale Nackentransparenz (NT) von 11–13<sup>+6</sup> SSW [70–80 %]
- mA, fetale NT, mütterliches freies  $\beta$ -hCG und PAPP-A von 11–13<sup>+6</sup> SSW [85–90 %]
- mA und fetale NT und fetales Nasenbein (NB) von 11–13<sup>+6</sup> SSW [90 %]
- mA, fetale NT und NB, mütterliches freies  $\beta$ -hCG und PAPP-A von 11–13<sup>+6</sup> SSW [95 %]

(Nicolaidis und von Kaisenberg, 2004)

Neben einem erhöhten Risiko für eine Chromosomenaberration sind niedrige maternale PAPP-A- und  $\beta$ -hCG-Serumkonzentrationen assoziiert mit einer intrauterinen Wachstumsretardierung, Frühgeburtlichkeit, niedrigem Geburtsgewicht und einem erhöhten Fehlgeburtsrisiko (Marttala et al., 2010; Salvig et al., 2010; Yaron et al., 2002). Desweiteren wurden Studien publiziert die zeigen, dass PAPP-A im ersten Trimenon ebenfalls als prädiktiver Marker zur Risikobeurteilung

einer Präeklampsie herangezogen werden kann (Wortelboer et al., 2010; Akolekar et al., 2008; Kirkegaard et al., 2010).

Retrospektiv durchgeführte Studien belegen, dass bei einer durch assistierte Reproduktion entstandenen Schwangerschaft die Serummarker PAPP-A und  $\beta$ -hCG im Vergleich zu natürlich entstandenen Schwangerschaften signifikante Unterschiede aufzeigen können (Tul und Novak-Antolic, 2006). Die Analyse des Serum-PAPP-A bei Schwangeren nach assistierter Reproduktion durch In-vitro-Fertilisation oder durch Intrazytoplasmatische Spermieninjektion zeigte im Vergleich zu Schwangeren nach Spontankonzeption deutlich niedrigere PAPP-A-Konzentrationen (Amor et al., 2009; Bender et al., 2010; Ghisoni et al., 2003; Gjerris et al., 2009). Die  $\beta$ -hCG-Konzentrationen unterschieden sich laut Gjerris et al. (2009) zwischen den beiden Vergleichsgruppen nicht signifikant. Bender et al. (2010) konnten eine signifikant höhere Konzentration für  $\beta$ -hCG nach assistierter Reproduktion gegenüber spontaner Konzeption nachweisen. Die Messung der Nackentransparenz scheint dagegen durch die Methode der Konzeption nicht beeinflusst zu werden. Im Rahmen des First-Trimester-Serum-Screenings können Veränderungen der Serumspiegel, nach assistierter Reproduktion zu einer erhöhten falsch-positiv Rate in Bezug auf eine Chromosomenabberation führen (Amor et al., 2009; Ghisoni et al., 2003).

## **1.9 Fragestellung der Arbeit**

Obwohl die Messung des PAPP-A im mütterlichen Serum zwischen der 12. und 14. SSW bereits seit Ende der 1990er Jahre einen bedeutenden Stellenwert für die Risikoabschätzung einer Chromosomenabberation des Embryos eingenommen hat, liegen bis zum jetzigen Zeitpunkt noch keine größeren Studien vor, die PAPP-A im maternalen Serum kurz nach Eintritt der Konzeption und im Verlauf der Frühschwangerschaft untersuchen.

Ziel dieser Arbeit war, die Serumspiegel des PAPP-A periovulatorisch sowie im Verlauf der Frühgravidität zwischen dem 12. und 52. Tag post conceptionem (p.c.) zu erfassen und anhand dessen eine Verlaufskurve zu erstellen.

Zunächst stellte sich uns die Frage, ob eine PAPP-A-Konzentration im Serum der Patientinnen bereits periovulatorisch nachweisbar ist. Und wenn ja, wie verhält sich die periovulatorische PAPP-A-Konzentration im Vergleich zu den PAPP-A-Spiegeln, die nach Konzeption im Serum gemessen werden?

Da reproduktionsmedizinische Verfahren in unserer Gesellschaft zunehmend mehr an Bedeutung gewinnen, bestand unser Interesse darin, mögliche Unterschiede im Verlauf des Schwangerschaftsparameters PAPP-A zwischen „spontanen“ (INS/VZO) und durch assistierte Reproduktionstechniken entstandenen Schwangerschaften (IVF/ICS/FPN) aufzuzeigen.

Daneben sollte der Einfluss anderer Parameter, wie Alter, Body-Mass-Index (BMI), Anzahl transferierter Embryonen und deren Transfertag, Östradiol-Serumspiegel, Nikotinabusus sowie der Einfluss gynäkologischer und internistischer Erkrankungen auf die PAPP-A-Serumspiegel analysiert werden.

Der Schwangerschaftsparameter hCG, dessen Verlauf im Serum während der Schwangerschaft bereits gut untersucht ist, diente in der vorliegenden Arbeit als Vergleichsparameter zum PAPP-A, um die Validität unseres Beobachtungskollektivs zu dokumentieren.

## 2. Material und Methoden

### 2.1 Patientenkollektiv

Das vorliegende Patientenkollektiv erfasst 103 Patientinnen, die im Zeitraum von Januar 2007 bis März 2010 auf Grund eines unerfüllten Kinderwunsches die Fertilitätssprechstunde der Abteilung für Endokrinologie und Reproduktionsmedizin der Universitäts-Frauenklinik Bonn aufsuchten und im Rahmen der anschließenden Therapie durch Spontankonzeption oder durch assistierte Reproduktion schwanger wurden. Zu den eingesetzten therapeutischen Maßnahmen zählten die Intrazytoplasmatische Spermieninjektion (ICSI), die In-vitro-Fertilisation (IVF), der Embryotransfer von zuvor im Vorkernstadium kryokonservierten Eizellen (FPN), die Insemination (INS) des Spermias in den weiblichen Genitaltrakt sowie der Verkehr zum Ovulationszeitpunkt (VZO). Das Patientenkollektiv wurde anhand des Konzeptionsmodus und der Stimulationsintensität in fünf Gruppen aufgeteilt:

- **Gruppe 1:** 23 Patientinnen, die ohne vorherige Stimulation entweder durch Spontankonzeption nach VZO (n=10) oder durch Insemination (n=13) schwanger wurden.
- **Gruppe 2:** 18 Patientinnen, die mit Hilfe einer begleitenden low-Dose Stimulation entweder durch VZO (n=16) oder INS (n=2) konzipierten. Die monofollikuläre low-Dose Stimulation erfolgte mittels rekombinantem FSH (Gonal-f<sup>®</sup>, Puregon<sup>®</sup>).
- **Gruppe 3:** 8 Patientinnen, die ohne vorherige Stimulation durch den Embryotransfer von zuvor im Vorkernstadium kryokonservierten Eizellen (FPN) im Spontanzyklus schwanger wurden.
- **Gruppe 4:** 11 Patientinnen, die nach einem Endometriumsaufbau mit Östradiolvalerat (Progynova<sup>®</sup>) und anschließendem Transfer von zuvor im Vorkernstadium kryokonservierten Eizellen (FPN) schwanger wurden.
- **Gruppe 5:** 43 Patientinnen, die nach multifollikulärer Stimulation im Agonisten-Protokoll (Gonal-f<sup>®</sup>, Puregon<sup>®</sup>, Menogon<sup>®</sup>) entweder durch ICSI (n=36) oder IVF (=7) schwanger wurden. Es wurden ausschließlich Patientinnen erfasst, die in einem GnRH-Agonisten-Protokoll (Deca s.c., Deca depot, Enantone oder Synarela) zur „Downregulation“ der Hypophysenfunktion behandelt wurden.

Die Feststellung der Schwangerschaft der Patientinnen erfolgt über die quantitative Bestimmung des  $\beta$ -hCG im Serum am ~14. Tag nach dem Embryotransfer. Zudem wurde der Schwangerschaftsverlauf sonographisch überwacht.

Alle Patientinnen erreichten entsprechend den Richtlinien des Deutschen IVF Registers hCG-Werte über 100 IU/l und entwickelten eine nachweisbare Chorionhöhle, die als Beginn einer klinischen Schwangerschaft angesehen wird (Deutsches IVF Register, 2009).

Patientinnen mit biochemischer Schwangerschaft, habituellen Aborten (> 3 Aborte), Gemini sowie alle Patientinnen, die im derzeitigen Zyklus Clomifen erhalten haben, wurden bei der Datenerhebung nicht berücksichtigt.

Für die Datenauswertung wurden ausgewählte gynäkologische und internistische Nebendiagnosen bzw. Sterilitätsfaktoren des Patientenkollektivs erfasst, die für die Fertilitätstherapie relevant sind. Mit eingeschlossen wurden Schilddrüsenerkrankungen, das Polyzystische Ovarsyndrom (PCOS), Endometriose, Amenorrhoe, sowie die Hyperprolaktinämie. Desweiteren wurde das Ovarielle Hyperstimulationssyndrom (OHSS) als Behandlungskomplikation im Rahmen der Kontrollierten ovariellen Hyperstimulation in die Datenanalyse mit einbezogen.

Weitere Daten über den Status der Patientinnen bilden die Sterilität (primär oder sekundär), Aborte, ein möglicher Nikotinabusus, das Alter sowie Größe und Gewicht, die zur Errechnung des BMI herangezogen wurden. Schwangerschaftsspezifische Daten, wie die  $\beta$ -hCG-Serumkonzentration, die Östradiol-Serumkonzentration sowie die Anzahl transferierter Embryonen und deren Transfertag wurden tabellarisch zusammengetragen.

Der Verlauf der Graviditäten wurde bis zur 9. Schwangerschaftswoche in der Sprechstunde der Ambulanz für Endokrinologie und Reproduktionsmedizin der Frauenklinik verfolgt.

## **2.2 PAPP-A Messung**

### **2.2.1 Probengewinnung**

Den Patientinnen wurden insgesamt vier Blutproben entnommen. Die erste Blutentnahme erfolgte vor Schwangerschaftseintritt, periovulatorisch bzw. vor der Ovulationsinduktion mit hCG. Drei weitere Blutentnahmen erfolgten routinemäßig an Tag 15, 25 und 35 der Schwangerschaft. Die Schwankungen um diese drei Zeitpunkte betragen mehrere Tage, da die Termine der Kontrolluntersuchungen nicht immer eingehalten wurden.

Nach Abnahme wurden die Blutproben zur Serumgewinnung zentrifugiert. Das gewonnene Serum wurde unter  $-20^{\circ}\text{C}$  in Aliquots gelagert. Für die Bestimmung der PAPP-A-Konzentrationen im Serum der Patientinnen wurden die tiefgefrorenen Serumproben langsam bei Raumtemperatur aufgetaut und im Folgenden direkt gemessen.

### **2.2.2 Testverfahren**

Die Messung der PAPP-A-Konzentration wurde mit dem ACTIVE<sup>®</sup> cPAPP-A ELISA Kit der Firma Diagnostic Systems Laboratories, Inc. durchgeführt. Bei diesem Test handelt es sich um einen nicht-kompetitiven Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von Pregnancy associated Plasma Protein-A.

Bei diesem Testverfahren erfolgt der Nachweis von PAPP-A in einer mit Anti-PAPP-A-Antikörpern beschichteten 96-Well-Mikrotiterplatte. PAPP-A wird aus der Probe durch die immobilisierten Anti-PAPP-A-Antikörper herausgefangen. Die Quantifizierung des gebundenen PAPP-A erfolgt durch Bindung von Nachweis-Antikörpern, die gegen ein zweites Epitop auf dem PAPP-A Molekül gerichtet sind. Als Marker auf den Nachweis-Antikörpern wird die Horseradish Peroxidase (HRP) verwendet, die Tetramethylbenzidine (TMB) als Substrat verwendet und eine Farbreaktion katalysiert.

### **2.2.3 Testdurchführung**

Die Serumproben, die Kontrollproben und die Kalibratoren wurden in eine mit Anti-PAPP-A-Antikörpern beschichtete 96-Well-Mikrotiterplatte pipettiert und anschließend zwei Stunden bei Raumtemperatur ( $\sim 25^{\circ}\text{C}$ ) inkubiert. Ein Waschprozess mit Waschpuffer folgte, um nicht gebundene Bestandteile der Probe zu entfernen. Anschließend wurde in jedes Well Enzymkonjugat, bestehend aus Anti-PAPP-A-Nachweis-Antikörpern markiert mit HRP, gegeben und für weitere 60 Minuten inkubiert.

In einem zweiten Waschschrift wurde nicht gebundenes Enzymkonjugat entfernt. Anschließend wurde als Enzymsubstrat TMB + Peroxid zugefügt, das katalysiert durch das gebundene Enzymkonjugat zu einem blauen Farbstoff reagierte. Nach einer 8-12 minütigen Inkubation wurde die Reaktion durch Zugabe einer Stopplösung ( $\text{H}_2\text{SO}_4$  Lösung) beendet. Die Absorption des Reaktionsgemischs bei 450 nm wurde mit einem ELISA Reader gemessen. Die gemessene Absorption ist direkt proportional zu den PAPP-A-Konzentrationen der Proben. Für die exakte Konzentrationsbestimmung der Proben ist das Erstellen einer Kalibrationskurve notwendig.

Dafür wurden in jedem Testansatz parallel zu den Proben 7 Standardproben mit bekannter PAPP-A-Konzentration gemessen.

Aus den in den Standardproben gemessenen Extinktionswerten wurde eine Kalibrationskurve berechnet, aus der die PAPP-A-Konzentrationen der Patientenproben über Interpolation ermittelt wurden.

## **2.3 hCG Messung**

### **2.3.1 Probengewinnung**

Die Bestimmung der hCG-Konzentrationen im Serum der Patientinnen erfolgte analog zu der des PAPP-A anhand von vier Serumproben zu definierten Zeiträumen (siehe 2.2.1). Die tiefgefrorenen Serumproben wurden bei Raumtemperatur langsam aufgetaut und im Folgenden direkt gemessen.

### **2.3.2 Testverfahren**

Das humane Choriongonadotropin (hCG) wurde mit dem ARCHITECT<sup>®</sup> Total  $\beta$ -hCG der Firma Abbott gemessen. Es handelt sich ebenfalls um ein immunometrisches Mess-Prinzip. Die Fänger-Antikörper, die das nachzuweisende hCG aus der Probe herausfangen, sind auf der Oberfläche von Mikropartikeln immobilisiert. Die Quantifizierung des herausgefangenen hCGs erfolgt über Bindung von Acridinium markierten Nachweis-Antikörpern.

### **2.3.2 Testdurchführung**

Die Testdurchführung erfolgte in zwei Schritten. Im ersten Schritt wurde die Probe zusammen mit einer Suspension antikörperbeschichteter Mikropartikel inkubiert, so dass das hCG der Serumprobe an die immobilisierten Anti-hCG-Antikörper (Fänger-Antikörper) binden kann. Im Anschluss wurden die Mikropartikel gewaschen, um alle ungebundenen Bestandteile der Probe zu entfernen. Nach dem Waschen wurden die Mikropartikel in einem zweiten Schritt mit Acridinium markierten Anti-hCG-Antikörpern (Nachweis-Antikörper) inkubiert. In einem zweiten Waschschrift wurden die nicht gebundenen Nachweis-Antikörper entfernt. Anschließend wurde eine Trigger- und eine Pre-Trigger-Lösung hinzugefügt, um eine Chemilumineszenzreaktion mit dem gebundenen Acridinium auszulösen. Die entstandene Chemilumineszenz wurde in relativen Lichteinheiten (RLU) gemessen. Die hCG-Konzentration der jeweiligen Probe ist zu diesen

RLUs direkt proportional. Nach einer Kalibration des Tests durch Messung mehrerer Kalibratorproben mit bekannter hCG-Konzentration wurden die hCG-Konzentrationen der unbekanntenen Proben aus den jeweiligen RLUs über die Kalibrationsparameter errechnet. Diese RLUs sind direkt proportional zur  $\beta$ -hCG-Konzentration der jeweiligen Probe.

Laut Angaben des Herstellers liegt die Sensitivität des ARCHITECT<sup>®</sup> Total  $\beta$ -hCG Test bei  $< 1,2$  mIU/mL (Abbott Laboratories, 2010). Die gesamte Testdurchführung wurde automatisiert auf dem Immunoanalyser ARCHITECT durchgeführt.

## 2.4 Statistische Analyse

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Programm SPSS 20.0 für Windows (Version 20.0; SPSS Inc., Chicago, USA). Die Gegenüberstellung der verschiedenen Stimulationsgruppen sowie die Untersuchung auf Unterschiede zwischen den anderen Parametern innerhalb des Patientenkollektivs erfolgten mit dem nicht-parametrischen Mann-Whitney-U-Test (für zwei Stichproben) oder dem Kruskal-Wallis-Test (für mehr als zwei Stichproben). Der Vergleich der periovulatorischen PAPP-A-Serumkonzentrationen mit den PAPP-A-Serumspiegeln um den ~15.Tag p.c. erfolgte mit dem nicht-parametrischen Wilcoxon-Test für zwei verbundene Stichproben.

Die weitere analytische Statistik zur Untersuchung bestehender Zusammenhänge zwischen den einzelnen Parametern erfolgte durch bivariate Korrelationsanalyse, wobei jeweils der Korrelationskoeffizient  $r$  nach Spearman und der  $p$ -Wert (zweiseitige Signifikanz) bestimmt wurden. Grafisch wurden die Korrelationen in Streudiagrammen dargestellt. Zur Interpretation statistischer Tests wurde das Signifikanzniveau wie folgt festgelegt: ab einem  $p$ -Wert von  $\leq 0,05$  liegt statistische Signifikanz vor;  $p \leq 0,01$  gilt als stark signifikant und  $p \leq 0,001$  als hoch signifikant.

### 2.4.1 Berechnung von MoM-Werten für PAPP-A und hCG

Um die PAPP-A-Serumkonzentrationen sowie die  $\beta$ -hCG Spiegel im Verlauf der Frühschwangerschaft bei unterschiedlichem Gestationsalter miteinander vergleichen zu können, wurden die Messwerte ab dem 12. bis zum 52. Tag nach Konzeption entsprechend dem Schwangerschaftsalter gruppiert und anschließend die Mediane für die einzelnen Gruppen berechnet. Anschließend wurde aus diesen gemessenen Medianen über eine Regressionsanalyse der theoretische mediane Verlauf der PAPP-A- und  $\beta$ -hCG-Konzentrationen ermittelt. Für PAPP-A sind die Ergebnisse exemplarisch in Tab. 1 dargestellt.

**Tab. 1: Über gewichtete Regression errechnete PAPP-A Mediane**

Schwangerschaftstag	Anzahl [n]	Gemessene Mediane PAPP-A [mIU/L]	Über Regression errechnete Mediane PAPP-A[mIU/L]
12	1	0.75	0.61
13	4	1.82	0.73
14	69	0.88	0.88
15	14	1.08	1.06
16	4	1.18	1.28
17	2	1.29	1.54
18	1	1.53	1.86
19	1	2.88	2.25
20	2	2.57	2.71
22	1	2.84	3.94
23	7	3.7	4.74
24	15	3.99	5.72
25	28	5.84	6.90
26	20	7.15	8.31
27	15	13.4	10.02
28	4	14.2	12.09
29	4	6.26	14.57
30	1	4.39	17.57
31	5	26.44	21.18
32	4	31.65	25.53
33	5	36.4	30.78
34	15	67.82	37.11
35	22	45.82	44.75
36	16	50.63	53.95
37	7	72.14	65.04
38	2	133.92	78.41
39	3	189.4	94.54
40	4	77.6	113.98
41	1	88.91	137.41
42	1	60.98	165.67
52	1	112.66	1074.92
<b>Gesamt</b>	<b>279</b>	5.84	6.90

Für die Regressionsanalyse wurden folgende Anpassungsfunktionen verwendet:

$$\text{Ln (PAPP-A)} = a + b \times \text{SSTp.c.}$$

$$\text{Ln (hCG)} = a \times \text{SSTp.c.}^{**3} + b \times \text{SSTp.c.}^{**2} + c \times \text{SSTp.c.} + d$$

**SSTp.c. = Schwangerschaftstag post conceptionem**

Um die gemessenen PAPP-A- und hCG-Konzentrationen p.c. in Relation zu den errechneten Medianen am jeweiligen Schwangerschaftstag zu setzen, wurden jeweils entsprechende Multiple of Median-Werte (MoM) über folgende Gleichung berechnet:

$$\text{MoM} = \text{Messwert}_{(\text{SSTp.c.})} / \text{theoretisch erwarteter Median}_{(\text{SSTp.c.})}$$

**Messwert**  $_{(\text{SSTp.c.})}$  = in der jeweiligen Probe gemessener Wert

**theoretisch erwarteter Median**  $_{(\text{SSTp.c.})}$  = am jeweiligen Schwangerschaftstag erwarteter Median

Die MoM-Werte sind unabhängig vom Schwangerschaftsalter und erlauben so eine einheitliche Beurteilung der Messwerte im Schwangerschaftsverlauf. Für das PAPP-A und das hCG erfolgte die Berechnung der MoM-Werte bei allen Proben ab dem 12. Tag p.c. über die gesamte untersuchte Schwangerschaftsperiode.

#### **2.4.2 Berechnung gewichtskorrigierter MoM-Werte für PAPP-A und hCG**

Da sich bei der Auswertung der MoM-PAPP-A-Werte in Abhängigkeit vom Körpergewicht (s. 3.4.2) zeigte, dass die MoM-PAPP-A-Werte mit zunehmendem Körpergewicht signifikant niedriger sind ( $p \leq 0,001$ ), wurden entsprechende gewichtskorrigierte MoM-Werte errechnet, um eine Vergleichbarkeit der MoM-Werte auch bei unterschiedlichem Körpergewicht sicherzustellen.

Für die Berechnung gewichtskorrigierter MoM-Werte wurde das Patientenkollektiv in 12 Gewichtsklassen, zwischen  $< 50$  kg bis  $> 100$  kg eingeteilt. Im Anschluss wurden die einzelnen MoM-PAPP-A- und MoM-hCG-Werte nach Gewichtsklasse gruppiert und der mediane MoM-Wert für jede Gewichtsklasse berechnet. Für PAPP-A sind die Ergebnisse exemplarisch in Tab. 2 dargestellt.

**Tab. 2: Gewichtskorrigierte MoM-PAPP-A Mediane**

<b>Gruppe</b>	<b>Anzahl (n)</b>	<b>Gewicht [kg]</b>	<b>Median MoM-PAPP-A</b>	<b>Gewichtskorrigierter MoM-PAPP-A Median</b>
1	6	<50	2.22	1.25
2	24	50-55	0.95	1.20
3	44	55-60	1.11	1.15
4	62	60-65	1.01	1.10
5	49	65-70	1.28	1.05
6	20	70-75	0.85	1.00
7	20	75-80	1.05	0.95
8	19	80-85	0.77	0.90
9	12	85-90	0.61	0.85
10	6	90-95	0.60	0.79
11	5	95-100	1.43	0.74
12	1	>100	0.63	0.64
<b>Gesamt</b>	268			

Über gewichtete Regression errechnet.

Aus den berechneten Medianen wurde im Folgenden über eine Regressionsanalyse der theoretische mediane Verlauf der MoM-Werte in Abhängigkeit von Körpergewicht ermittelt. Bei der Regressionsanalyse wurden folgende Anpassungsfunktionen benutzt:

$$\text{MoM-Wert} = \text{Körpergewicht} \times a + b$$

Mit Hilfe der Regressionsparameter wurde anschließend für jeden MoM-Wert ein entsprechender gewichtskorrigierter Wert nach folgender Formel berechnet:

$$\text{MoM-PAPP-A}_{\text{gewichtskorrigiert}} = \text{MoM-PAPP-A} / (\text{Körpergewicht} \times a + b)$$

$$\text{MoM-hCG}_{\text{gewichtskorrigiert}} = \text{MoM-hCG} / (\text{Körpergewicht} \times a + b)$$

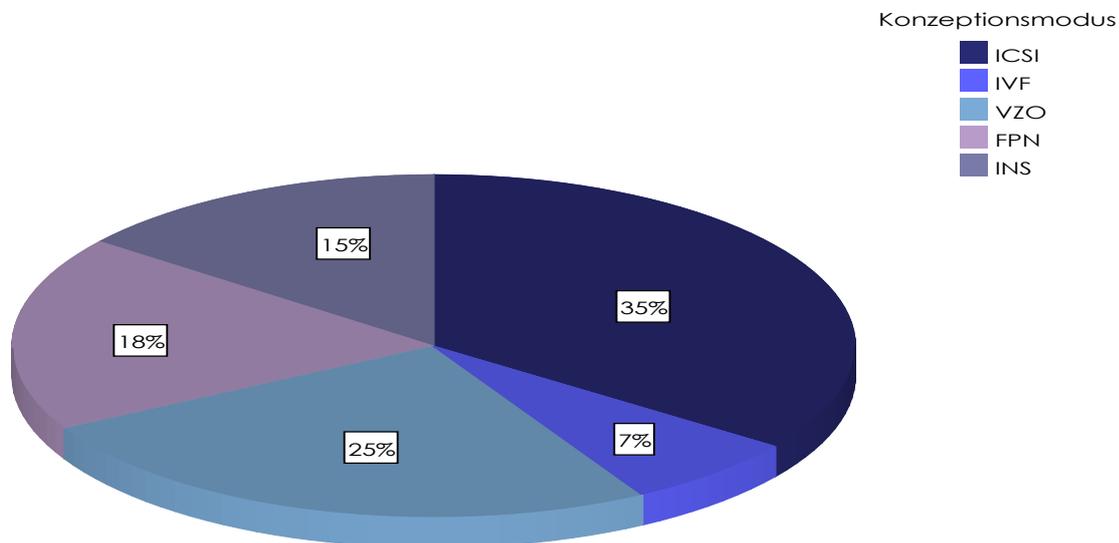
### 3. Ergebnisse

#### 3.1 Das Patientenkollektiv

##### 3.1.1 Klassifizierung des Patientenkollektivs

Um den Verlauf der PAPP-A-Konzentration vor Eintritt der Schwangerschaft bis zur Frühschwangerschaft zu verfolgen, wurden 382 Serumproben aus 103 angehenden Schwangerschaften mit unterschiedlichem Konzeptionsmodus analysiert. Davon wurden 279 Serumproben nach Konzeption und 103 Serumproben periovulatorisch vor Schwangerschaftseintritt untersucht. Alle Schwangerschaften sind im Zeitraum von Januar 2007 bis März 2010 im Rahmen einer Fertilitätstherapie an der Universitäts-Frauenklinik Bonn zustande gekommen.

Das Patientenkollektiv kann in Abhängigkeit vom Konzeptionsmodus wie folgt unterteilt werden: 35 % (n=36) der Frauen wurden durch Intrazytoplasmatische Spermieninjektion (ICSI), 7 % (n=7) durch In-vitro-Fertilisation (IVF), 25 % (n=26) durch Verkehr zum Ovulationszeitpunkt (VZO), 18 % (n=19) durch Embryotransfer mit zuvor im Vorkernstadium kryokonservierten Eizellen (FPN) und 15 % (n=15) durch Insemination (INS) schwanger (Abb. 3).



**Abb. 3: Prozentuale Aufteilung des Patientenkollektivs nach Konzeptionsmodus**

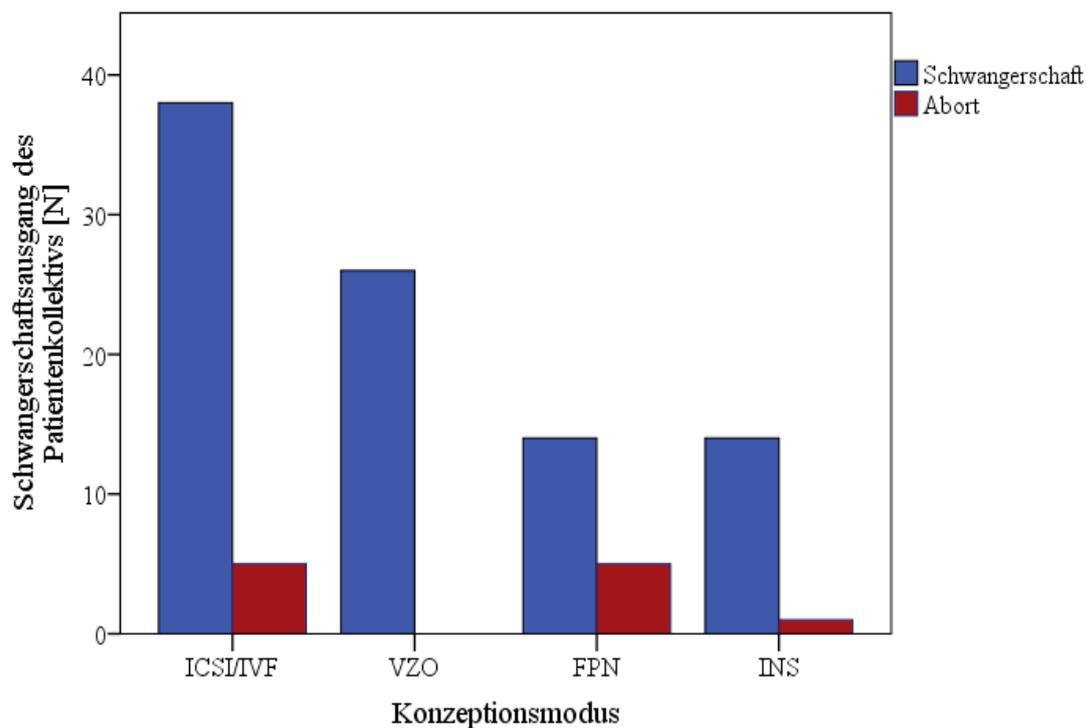
In Abhängigkeit von der Stimulationsstärke bei unterschiedlichem Konzeptionsmodus, wurde das Beobachtungskollektiv in fünf Subgruppen unterteilt (Tab. 3).

**Tab. 3: Unterteilung des Kollektivs nach Stimulationsstärke und Konzeptionsmodus**

VZO/INS [n] Ohne Stimulation	FPN [n] Ohne Stimulation	FPN [n] Östradiolvalerat	VZO/INS [n] Leichte Stimulation	ICSI/IVF [n] Hyperstimulation
22 % [n=23]	8 % [n=8]	11 % [n=11]	17 % [n=18]	42 % [n=43]

### 3.1.1.1 Schwangerschaftsverläufe

Innerhalb des Patientenkollektivs kam es bei 11 Schwangeren zu einem Abort. In 10 Fällen fand der Abort vor der 12. Schwangerschaftswoche (SSW) statt und bei einer Patientin nach der 12. SSW. Die Abortprävalenz des Beobachtungskollektivs variiert nach Konzeptionsmodus (Abb.4).



**Abb. 4: Schwangerschaftsausgang in Abhängigkeit vom Konzeptionsmodus**

Die Abbildung stellt alle Schwangerschaften (dunkelblau) und Aborte (rot) in Abhängigkeit vom Konzeptionsmodus in absoluten Zahlen dar.

Prozentual fanden die meisten Aborte nach einer ICSI/IVF Behandlung (45 %, n=5) oder nach dem Transfer von zuvor im Vorkernstadium kryokonservierten Eizellen (FPN) statt (45 %, n=5).

Bei Patientinnen, die durch Verkehr zum Ovulationszeitpunkt konzipierten, traten keine Aborte auf.

### 3.1.1.2 Sterilität, Altersverteilung, Nikotinkonsum und BMI

Um Unterschiede innerhalb des Beobachtungskollektivs herauszuarbeiten, wurden mehrere Parameter hinsichtlich ihrer Verteilung und Ausprägung in den einzelnen Konzeptionsgruppen ausgewertet (Tab. 4).

**Tab. 4: Charakterisierung des Patientenkollektivs aufgeteilt nach Konzeptionsmodus**

Konzeptionsmodus	Gesamtkollektiv	ICSI/IVF	VZO	FPN	INS
<b>Patientinnen [n]</b>	103	43	26	19	15
<b>Alter (Median Jahre)*</b>	33	33	29	35	34
<b>Sterilität [n] (%)</b>					
- primär	70 (68)	35 (81)	17 (65)	8 (42)	10 (67)
- sekundär	33 (32)	8 (19)	9 (35)	11 (58)	5 (33)
<b>Nikotin [n] (%)</b>					
- Raucher	17 (17)	5 (12)	5 (19)	4 (22)	3 (20,0)
- Nichtraucher	85 (83)	38 (88)	21 (81)	14 (78)	12 (80,0)
<b>BMI (Median kg/m<sup>2</sup>)** [n]</b>	23 [97]	23 [40]	25 [25]	23 [17]	23 [15]

Darstellung der Parameter: Alter, Sterilität, Nikotin und BMI in Abhängigkeit vom Konzeptionsmodus (ICSI/IVF, VZO, INS, FPN). Es bestanden signifikante Unterschiede zwischen den Konzeptionsmodi für die Parameter \*Alter,  $p \leq 0,001$  und \*\*BMI,  $p = 0,010$ .

Das Alter der Patientinnen lag zum Zeitpunkt der Konzeption zwischen 20 und 41 Jahren (Median 33 Jahre). 23 % ( $n=24$ ) der Patientinnen waren jünger als 30, 52 % ( $n=53$ ) zwischen 30 und 35 Jahren und 25 % ( $n=26$ ) der Patientinnen waren zwischen 36 und 41 Jahren alt. Dabei waren die Patientinnen der VZO Gruppe mit einem medianen Alter von 29 Jahren ( $n=26$ ) signifikant jünger als Patientinnen der ICSI/IVF, FPN und INS Gruppe ( $p \leq 0,001$ ). Abortpatientinnen (Median 35 Jahre,  $n=11$ ) waren insgesamt signifikant älter, als Patientinnen mit intakter Schwangerschaft (Median 33 Jahre,  $n=92$ ;  $p=0,004$ ).

Hinsichtlich Sterilität bzw. Nikotinabusus war die Verteilung in den einzelnen Gruppen nicht signifikant unterschiedlich.

Der mediane BMI des Patientenkollektivs lag bei 23,2. Der Anteil an normalgewichtigen Patientinnen (BMI: 18,5-25) lag bei 63 % (n=64). 2 % (n=2) waren untergewichtig (BMI < 18,5), 19 % (n=20) waren übergewichtig (BMI: 25-30) und 11 % (n=11) der Patientinnen waren adipös mit einem BMI > 30. Der BMI unterschied sich zwischen den vier Konzeptionsgruppen signifikant (p=0,010).

### **3.1.1.3 Nebenerkrankungen sowie Behandlungskomplikationen**

Im Rahmen der gynäkologischen Diagnostik konnte innerhalb des Gesamtkollektivs bei 21 % (n=21) der Frauen ein Polyzystisches Ovarsyndrom und bei 12 % (n=12) eine Endometriose diagnostiziert werden. 13 % (n=13) der Patientinnen gaben eine Oligomenorrhoe in vorherigen Zyklen an. Dysmenorrhoen wurden bei 19 % (n=19) der Patientinnen beschrieben und bei 11 % (n=11) lag eine sekundäre Amenorrhoe vor. Eine Hyperprolaktinämie kam mit 3 % (n=3) sehr selten vor. Die internistische Anamnese ergab, dass bei 26 % (n=27) der Schwangeren eine Hypothyreose vorlag. 5 % (n=5) der Patientinnen litten an einer Hyperthyreose und 69 % (n=70) des Beobachtungskollektivs befanden sich in einer euthyreoten Stoffwechsellage.

Bei 5 % (n=5) kam es während der hormonellen Stimulationsbehandlung zu einem Ovariellen Hyperstimulationssyndrom (OHSS). Das OHSS trat ausschließlich bei Patientinnen nach Stimulation im Agonistenprotokoll bei ICSI Behandlungszyklen auf.

## **3.2 Der PAPP-A-Serumspiegel zum Zeitpunkt der Ovulationsinduktion**

### **3.2.1 PAPP-A bei unterschiedlicher folliculärer Stimulation**

Die erste Bestimmung der PAPP-A-Serumkonzentration erfolgte bei jeder Patientin periovulatorisch zum Zeitpunkt der Ovulationsinduktion mit hCG (siehe 1.7.1). Da die Follikelreifung je nach Konzeptionsmodus unterschiedlich lange Zeitintervalle benötigt, konnte kein einheitlicher Zyklustag zur Messung des PAPP-A-Serumspiegels festgelegt werden. Insgesamt konnte bei 85 % (n=78) der Patientinnen mit erfolgreich verlaufender Schwangerschaft eine PAPP-A-Serumkonzentration vor Eintritt der Schwangerschaft nachgewiesen werden.

Die sich anschließenden Auswertungen erfolgten, wenn nicht anders beschrieben, nur für intakt verlaufende Schwangerschaften, die nicht in einem Abort endeten.

In Tab. 5 sind die medianen PAPP-A-Serumkonzentrationen in Abhängigkeit von der Stimulationsstärke dargestellt. ICSI und IVF Patienten hatten bei multifollikulärer Stimulation im Ver-

gleich zu den beiden anderen Stimulationsgruppen die niedrigste mediane PAPP-A-Serumkonzentration, wobei der Unterschied nicht signifikant war. Die FPN-Patientinnen wurden aufgrund der geringen Fallzahl nicht in den statistischen Vergleich mit einbezogen.

**Tab. 5: PAPP-A-Serumspiegel in Abhängigkeit von der Stimulationsstärke**

PAPP-A (mIU/L)	VZO/INS: keine Stimulation	VZO/INS: Low-Dose Stimulation	IVF/ICSI: Hyperstimulation
Anzahl (n)	22	18	38
Median	0,95	1,17	0,86
Semi-IQR	0,61	0,53	0,50

Die medianen PAPP-A-Werte unterschieden sich in Abhängigkeit von der Stimulationsstärke nicht signifikant,  $p=0,374$ . Semi-IQR=[75.-25.-Perzentile/2].

### 3.2.2 Der Östradiol-Serumspiegel bei unterschiedlicher folliculärer Stimulation

In Tab. 6 sind die medianen Östradiol-Serumspiegel bei unterschiedlicher Stimulationsstärke dargestellt. Hochstimulierte IVF und ICSI Patientinnen hatten zum Zeitpunkt der Ovulationsinduktion signifikant ( $p \leq 0,001$ ) höhere Östradiol-Serumspiegel, als Patientinnen deren Schwangerschaft ohne oder mit Hilfe einer low-Dose Stimulation zustande gekommen ist. Die FPN-Patientinnen wurden aufgrund der geringen Fallzahl nicht in den statistischen Vergleich mit einbezogen.

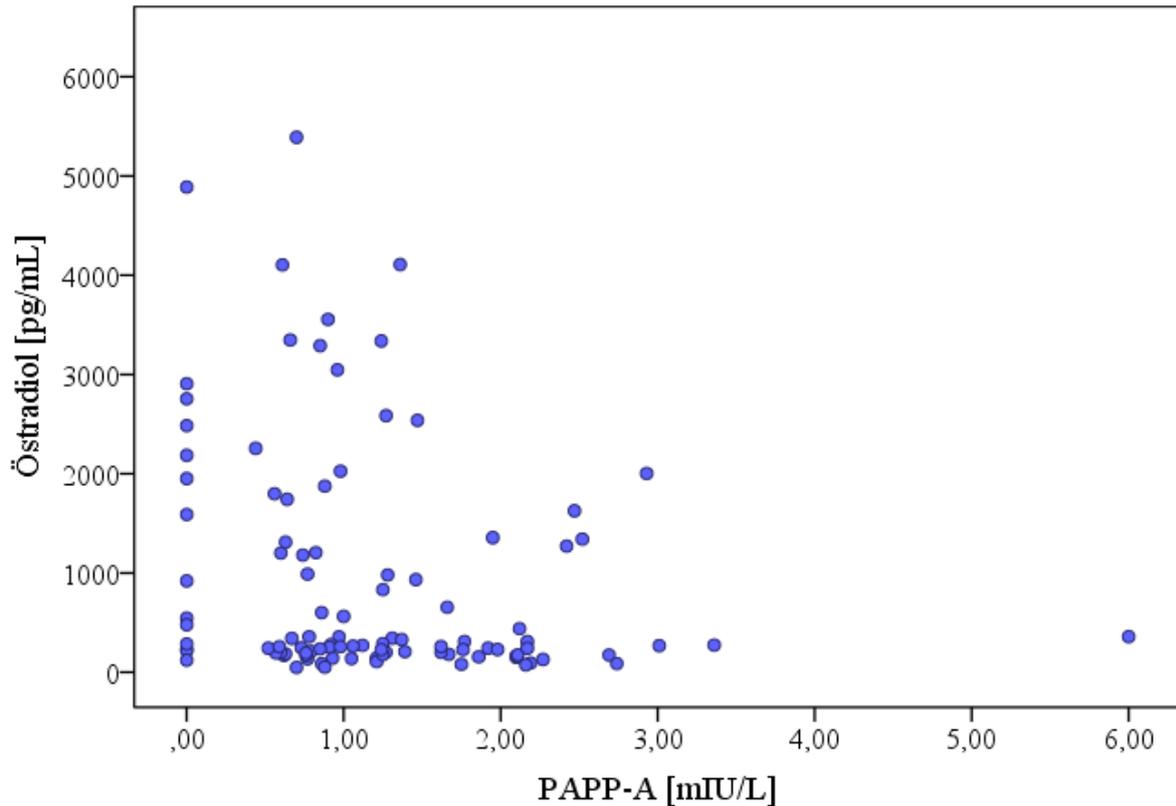
**Tab. 6: Östradiol-Serumspiegel in Abhängigkeit von der Stimulationsstärke**

Östradiol (pg/mL)	VZO/INS: keine Stimulation	VZO/INS: Low-Dose Stimulation	IVF/ICSI: Hyperstimulation
Anzahl (n)	22	18	38
Median	224	232	1799
Semi-IQR	42	58	873

Die medianen Östradiol-Serumkonzentrationen unterschieden sich in Abhängigkeit von der Stimulationsstärke signifikant,  $p \leq 0,001$ . Semi-IQR=[75.-25.-Perzentile/2].

### 3.2.3 Korrelation zwischen dem PAPP-A- und Östradiol-Serumspiegel

Zum Zeitpunkt der Ovulationsinduktion besteht zwischen der PAPP-A- und der Östradiol-Serumkonzentration eine negative, schwach signifikante Korrelation ( $r=-0,244$ ,  $p=0,020$ ). Mit zunehmendem Östradiol-Serumspiegel nimmt die PAPP-A-Serumkonzentration ab (Abb. 5).



**Abb. 5: Korrelation der perioovulatorischen PAPP-A- und Östradiol-Serumspiegel**

### 3.2.4 PAPP-A in Abhängigkeit von Patientenalter und Schwangerschaftsausgang

Tab. 7 zeigt die perioovulatorischen PAPP-A-Serumspiegel in Abhängigkeit von den Parametern Patientenalter und Schwangerschaftsausgang.

**Tab. 7: PAPP-A in Abhängigkeit von Patientenalter und Schwangerschaftsausgang**

Alter [Jahre]	< 30	30-35	36-41
Anzahl (n)	22	49	21
Median PAPP-A (mIU/L)	0,89	1,21	1,06
Semi-IQR	0,28	0,66	0,50
Schwangerschaftsausgang	Schwangerschaft	Abort	
Anzahl (n)	92	11	
Median PAPP-A (mIU/L)	0,98	0,86	
Semi-IQR	0,52	0,70	

Die medianen PAPP-A-Werte unterschieden sich in Abhängigkeit vom Patientenalter,  $p=0,467$  und vom Schwangerschaftsausgang,  $p=0,962$  nicht signifikant. Semi-IQR=[75.-25.-Perzentile/2].

Zwischen den perioovulatorischen PAPP-A-Konzentrationen und den drei verschiedenen Altersgruppen (< 30/30-35/36-41 Jahre) konnte keine signifikante Abhängigkeit gezeigt werden. Ebenso ließ sich zwischen Schwangerschaften, die in einem Abort endeten und intakt verlaufenden Schwangerschaften kein signifikanter Unterschied in der perioovulatorischen PAPP-A-Serumkonzentration nachweisen.

### 3.2.5 PAPP-A in Abhängigkeit von Nebendiagnosen und Behandlungskomplikationen

Die Auswertung der perioovulatorischen PAPP-A-Serumspiegel in Abhängigkeit von Nebendiagnosen der Patientinnen erfolgte für die in Tab. 8 aufgeführten Erkrankungen. Die perioovulatorischen PAPP-A-Serumspiegel wiesen keine signifikanten Unterschiede zwischen den von einzelnen Erkrankungen betroffenen Patientinnen und den gesunden Probandinnen auf.

4 % der Patientinnen entwickelten während der Stimulationsbehandlung im Agonistenprotokoll (ICSI/IVF) ein Ovarielles Hyperstimulationssyndrom (OHSS). Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied in der Höhe des PAPP-A-Serumspiegels zwischen Erkrankten und dem übrigen gesunden Patientenkollektiv (Tab. 8).

**Tab. 8: PAPP-A in Abhängigkeit von Nebendiagnosen und Behandlungskomplikationen**

Erkrankung	Prävalenz (n/91)	Medianes PAPP-A (mIU/L) [Semi-IQR]		Signifikanz (p)
		Erkrankte	Kontrolle	
PCOS	20/91	0,95 [0,36]	0,98 [0,60]	0,483
Endometriose	10/91	1,41 [0,67]	0,96 [0,51]	0,137
Hypothyreose	24/91	0,77 [0,57]	1,09 [0,50]	0,066
Nikotinabusus	17/91	1,12 [0,80]	0,97 [0,52]	0,811
OHSS	4/91	0,76 [0,77]	0,98 [0,52]	0,483

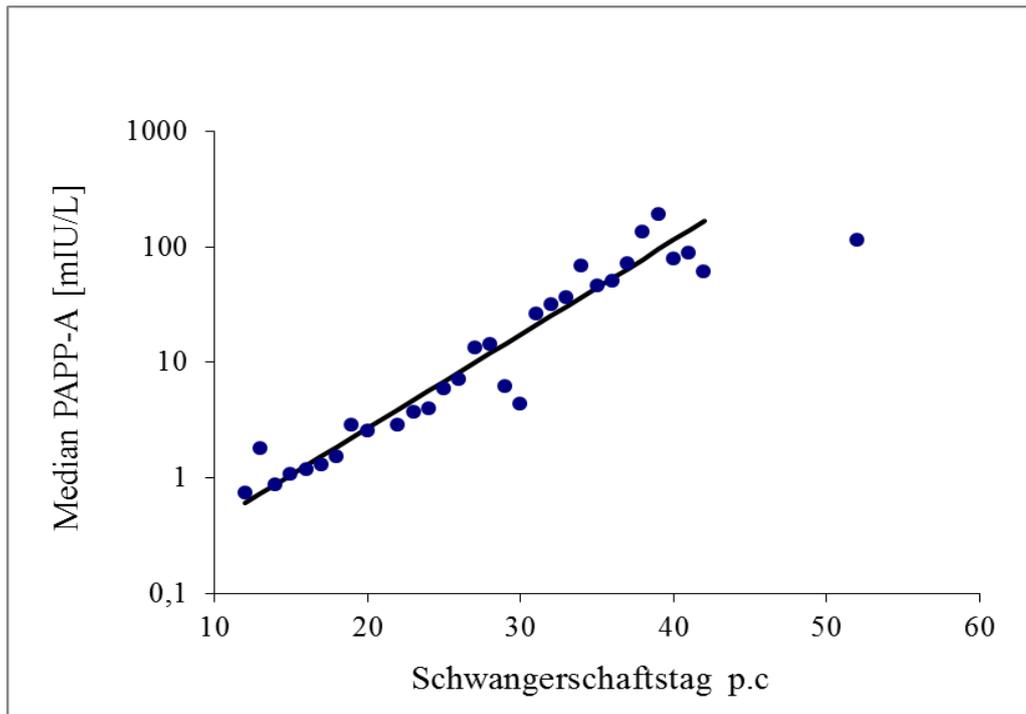
Die medianen PAPP-A-Werte unterschieden sich in Abhängigkeit von Nebendiagnosen und Behandlungskomplikationen (OHSS) nicht signifikant. Semi-IQR=[75-25.-Perzentile/2].

## 3.3 Verlauf der PAPP-A-Serumspiegel in der Frühgravidität

### 3.3.1 PAPP-A-Serumspiegel in Abhängigkeit vom Gestationsalter

In Abb. 6 ist der Verlauf der PAPP-A-Serumkonzentration vom 12. bis zum 52. Tag p.c. dargestellt. Aus den einzelnen Messwerten wurden die Mediane ermittelt und gruppiert nach

Schwangerschaftstag p.c. grafisch dargestellt. Anschließend wurde aus diesen gemessenen Medianen über eine Regressionsanalyse der theoretische mediane Verlauf der PAPP-A-Konzentrationen ermittelt (siehe 2.4.1). Die mediane PAPP-A-Konzentration steigt mit zunehmendem Schwangerschaftsalter exponentiell an. Zwischen der PAPP-A-Serumkonzentration und dem Schwangerschaftstag p.c. besteht eine positive, hoch-signifikante Korrelation ( $r=0,982$ ,  $p\leq 0,001$ ).



#### Abb. 6: PAPP-A Messwerte in der Frühgravidität

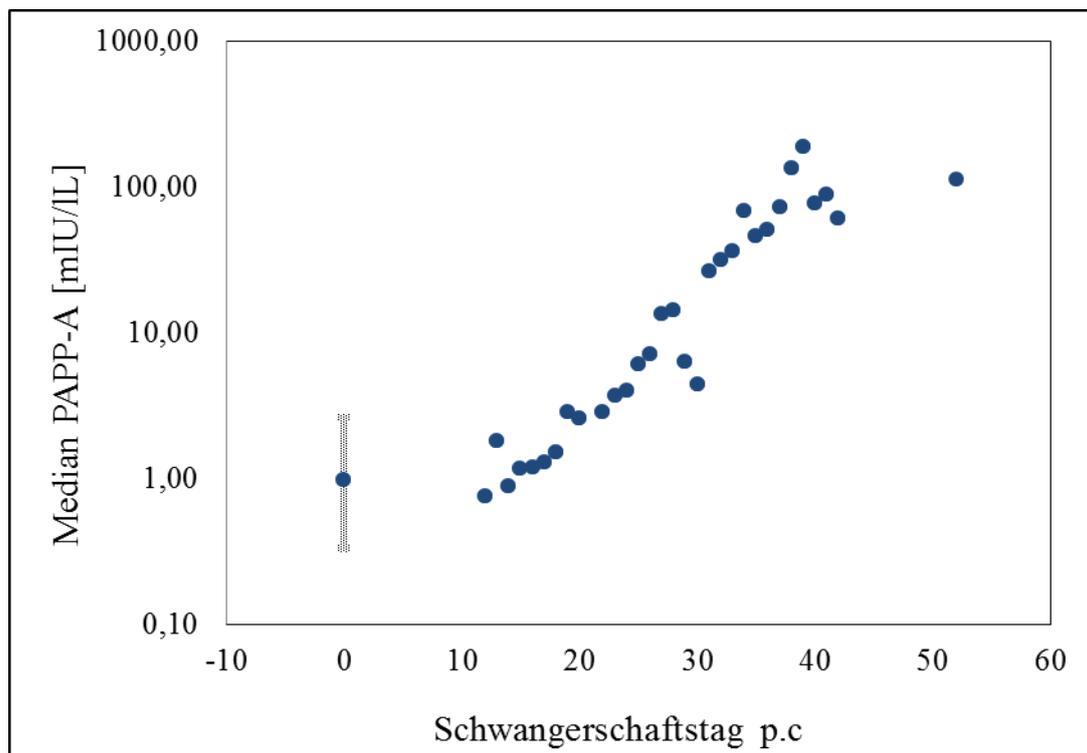
Darstellung der medianen PAPP-A-Konzentrationen zwischen dem 12. und 52. Schwangerschaftstag p.c. mit entsprechender gewichteter Regressionsgeraden.

#### 3.3.2 Vergleich der PAPP-A-Serumspiegel periovulatorisch und am 12.- 17. Tag p.c.

Der Vergleich der PAPP-A-Messwerte vor Ovulationsinduktion mit den PAPP-A-Serumkonzentrationen 12-17 Tage nach Konzeption bei allen Schwangerschaften ohne Frühaborte zeigte bei paarweisem Vergleich keine signifikanten Unterschiede ( $p=0,076$ ). Die mediane PAPP-A-Konzentration vor Schwangerschaftseintritt betrug 1,02 mIU/L, und nach der Konzeption im Median 0,97 mIU/L. Auch wenn der Unterschied zwischen den Serumkonzentrationen nicht signifikant war, wiesen 45 von 84 eingeschlossenen Patientenseren nach Konzeption überraschenderweise niedrigere PAPP-A-Serumspiegel auf als zuvor.

Betrachtet man die PAPP-A-Serumkonzentrationen separat in jeder Konzeptionsgruppe für Schwangerschaften ohne Frühaborte, so zeigte sich ein uneinheitliches Bild. Die PAPP-A-Spiegel stiegen zum 12.-17. Tag nach Konzeption innerhalb der ICSI/IVF (0,88 vs. 0,98 mIU/L) und FPN (1,67 vs. 1,74 mIU/L) Zyklen marginal an. Alle anderen Patientinnen zeigten niedrigere oder gleich bleibende PAPP-A-Serumwerte im Vergleich zu den vorherigen Konzentrationen (VZO 0,98 vs. 0,58 bzw. INS 0,85 vs. 0,85 mIU/L). Dabei erreichten die Unterschiede keine Signifikanz.

Abb. 7 stellt den PAPP-A Verlauf der gesamten Untersuchungsperiode dar wobei am 0. Schwangerschaftstag p.c. alle 103 perioovulatorischen PAPP-A-Messwerte dargestellt sind, während für die späteren Zeitpunkte im Schwangerschaftsverlauf (12.-52. Tag p.c.) die Mediane der einzelnen Schwangerschaftstage abgebildet sind. Es wird deutlich, dass die PAPP-A Mediane erst ab dem 20. Tag p.c. oberhalb des Streubereichs der PAPP-A-Konzentration vor Schwangerschaftseintritt liegen.



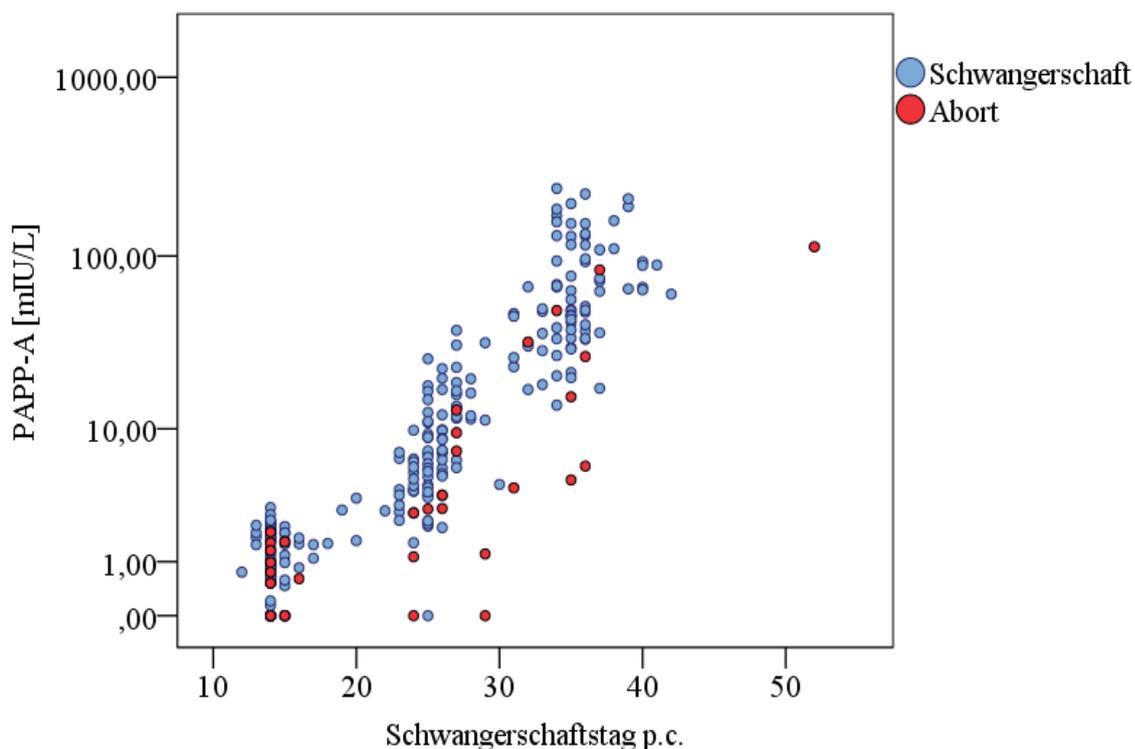
**Abb. 7: Verlauf des PAPP-A periovulatorisch und in der Frühgravidität**

Darstellung der periovulatorischen PAPP-A-Messwerte (0. Schwangerschaftstag p.c.) und PAPP-A Mediane während der Frühschwangerschaft bis zum 52. Tag p.c.

Auch für Schwangerschaften, die in einem Abort endeten ( $n=10$ ), war die PAPP-A-Konzentration 12-17 Tage nach Konzeption im Median niedriger (0,87 mIU/L) als zum Zeitpunkt der Ovulationsinduktion (0,90 mIU/L), ohne jedoch das Signifikanzniveau ganz zu erreichen ( $p=0,051$ ). Sieben der zehn Patientinnen hatten am 12.-17. p.c. eine niedrigere PAPP-A-Konzentration als vor Schwangerschaftseintritt.

### 3.3.3 PAPP-A-Spiegel im Schwangerschaftsverlauf bei unterschiedlichem Schwangerschaftsausgang

In Abb. 8 ist der Verlauf der PAPP-A-Serumkonzentrationen in Abhängigkeit vom Schwangerschaftstag p.c. unterteilt nach dem Ausgang der Schwangerschaften grafisch dargestellt. Es ist in beiden Fällen ein Anstieg der PAPP-A-Serumspiegel in der Frühgravidität unabhängig vom Schwangerschaftsausgang (Schwangerschaft/Abort) erkennbar. Mit zunehmendem Schwangerschaftsalter steigt der PAPP-A-Spiegel bei Abortpatientinnen jedoch weniger stark an.



**Abb. 8: PAPP-A Messwerte p.c. unterteilt nach Schwangerschaftsausgang**

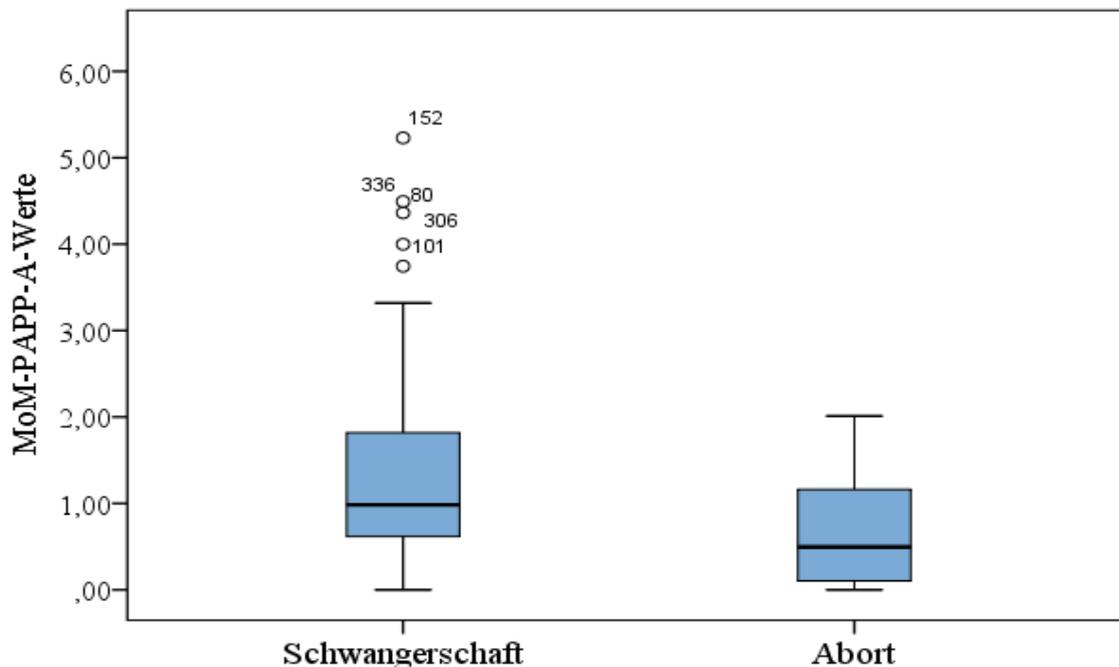
PAPP-A-Serumspiegel unterteilt nach Schwangerschaftsausgang in Abhängigkeit vom Schwangerschaftstag p.c. (blaue Punkte: Schwangerschaft/ rote Punkte: Abort)

### 3.4 Die MoM-PAPP-A-Werte in Abhängigkeit zu ausgewählten Parametern

Die sich anschließende statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe der errechneten MoM-PAPP-A-Werte (siehe 2.4.1) um eine Vergleichbarkeit der maternalen PAPP-A-Serumspiegel bei unterschiedlichem Schwangerschaftsalter zu ermöglichen. Desweiteren erfolgte eine gewichtsadaptierte Korrektur der MoM-PAPP-A-Werte (siehe 2.4.2, Tab.2), da unsere Analyse ergab, dass die MoM-PAPP-A-Werte mit zunehmendem Körpergewicht abnehmen (s. 3.4.2). So kann eine Vergleichbarkeit der MoM-Werte auch bei unterschiedlichem Körpergewicht sichergestellt werden. Die Auswertungen erfolgten, wenn nicht anders beschrieben, nur für Schwangerschaften ohne Frühaborte.

#### 3.4.1 MoM-PAPP-A in Abhängigkeit vom Schwangerschaftsausgang

Die Mediane der MoM von PAPP-A in den Gruppen mit intakter Schwangerschaft bzw. mit Abort sind in Abb. 9 gegenüber gestellt. Patientinnen, deren Schwangerschaft in einem Abort endete, hatten bereits in der Frühgravidität signifikant niedrigere MoM-PAPP-A-Werte ( $p \leq 0,001$ ) als Patientinnen, deren Schwangerschaft ohne Frühabort verlief (Median MoM 0,49 vs. 0,98;  $p \leq 0,001$ ).



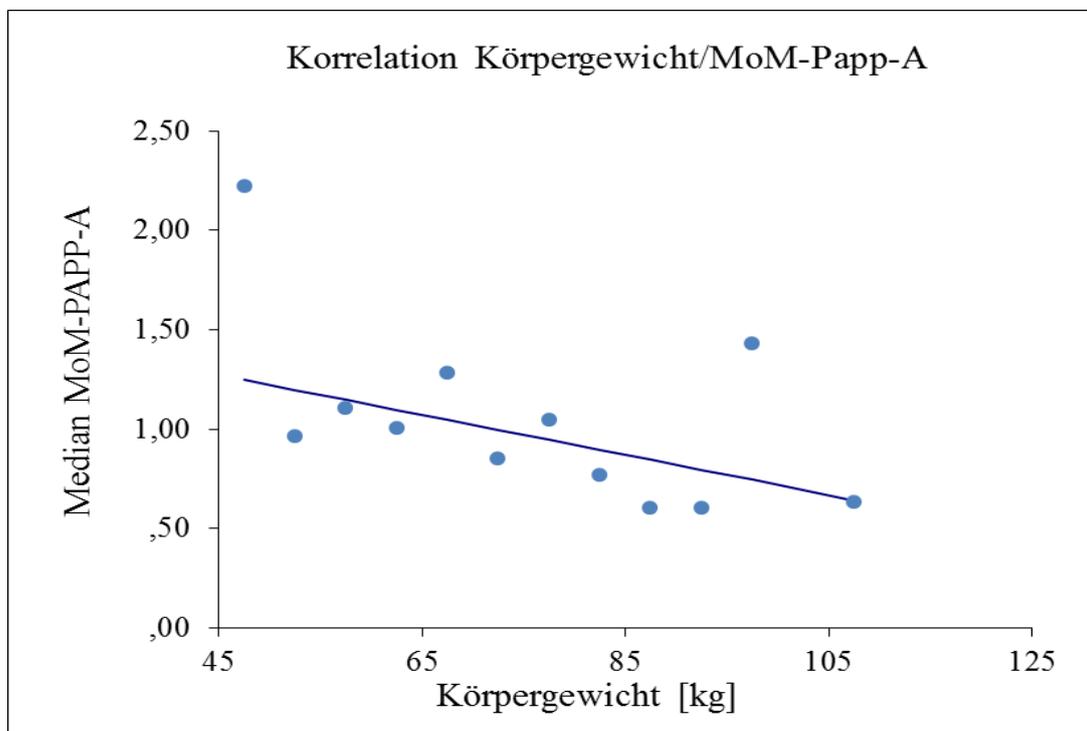
**Abb. 9: MoM-PAPPA-Werte in Abhängigkeit vom Schwangerschaftsausgang.**

Die medianen MoM-PAPP-A-Werte sind für die Gruppen Abort und Schwangerschaft als Box-plots dargestellt. Ausreißer sind als Kreise gekennzeichnet.

### 3.4.2 MoM-PAPP-A in Abhängigkeit vom Körpergewicht

Abb. 10 stellt die medianen MoM-PAPP-A Werte in Abhängigkeit zum Körpergewicht dar. Dafür wurde das gesamte Patientenkollektiv in 12 Gewichtsklassen (< 50 kg bis > 100 kg) eingeteilt, die einzelnen MoM-PAPP-A-Werte nach Gewichtsklasse gruppiert und der mediane MoM-Wert für jede Gewichtsklasse berechnet (siehe 2.4.2).

Zwischen dem Körpergewicht und den MoM-PAPP-A-Werten besteht eine negative Korrelation auf hoch signifikantem Niveau ( $r=-0,270$ ;  $p\leq 0,001$ ). Mit zunehmendem Gewicht und größerem Verteilungsvolumen nimmt die PAPP-A-Konzentration ab (Abb. 10). Das Signifikanzniveau bleibt auch erhalten, wenn der herausfallende Wert in der ersten Gewichtsguppe (< 50 kg) nicht berücksichtigt wird ( $r=-0,217$ ;  $p\leq 0,001$ ).



#### Abb. 10: MoM-PAPP-A-Werte in Abhängigkeit vom Körpergewicht

Darstellung der medianen MoM-PAPP-A-Werte in Abhängigkeit vom Körpergewicht mit entsprechender Regressionsgeraden.

### 3.4.3 MoM-PAPP-A in Abhängigkeit von Patientenalter und Sterilität

Die medianen MoM-PAPP-A-Werte unterscheiden sich in Abhängigkeit vom Alter (<30/30-35/36-41) und von der Art der Sterilität (primär/sekundär) nicht signifikant (Tab. 9).

**Tab. 9: MoM-PAPP-A in Abhängigkeit von Patientenalter und Sterilität**

<b>Alter [Jahre]</b>	<b>&lt; 30</b>	<b>30-35</b>	<b>36-41</b>
<b>Anzahl (n)</b>	22	49	21
<b>Median MoM-PAPP-A</b>	0,88	0,98	1,07
<b>Semi-IQR</b>	0,38	0,62	0,70
<b>Sterilität</b>	<b>primär</b>	<b>sekundär</b>	
<b>Anzahl (n)</b>	64	28	
<b>Median MoM-PAPP-A</b>	0,95	1,02	
<b>Semi-IQR</b>	0,58	0,63	

Die medianen MoM-PAPP-A-Werte unterschieden sich hinsichtlich des Alters,  $p=0,373$  und der Sterilität,  $p=0,992$  nicht signifikant. Semi-IQR=[75.-25.-Perzentile/2].

### 3.4.4 MoM-PAPP-A in Abhängigkeit von Embryonenanzahl und Transfertag

Der Transfer von einem oder zwei Embryonen führt zu keinem signifikanten Unterschied der MoM-PAPP-A-Werte bei IVF/ICSI und FPN. Es war lediglich ein Trend zu abnehmenden MoM-PAPP-A-Werten nach dem Transfer von zwei Embryonen erkennbar (Tab. 10).

Der Embryotransfer des Beobachtungskollektivs erfolgt zwischen dem zweiten und vierten Tag nach Ovulationsinduktion. Von insgesamt 52 Patientinnen (ICSI/IVF/FPN) mit Embryotransfer lagen nur bei 44 Patientinnen sichere Angaben zum Tag des Transfers vor. Unterschiede im Transfertag führten nicht zu signifikanten Differenzen der MoM-PAPP-A-Werte (Tab. 10).

**Tab. 10: MoM-PAPP-A-Werte in Abhängigkeit von Embryonenanzahl und Transfertag**

<b>Anzahl transferierter Embryonen (n)</b>		<b>1</b>	<b>2</b>
<b>Anzahl (n)</b>		5	47
<b>Median MoM-PAPP-A</b>		1,02	0,93
<b>Semi-IQR</b>		0,59	0,57
<b>Transfertag der Embryonen</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
<b>Anzahl (n)</b>	18	20	6
<b>Median MoM-PAPP-A</b>	0,92	0,96	0,94
<b>Semi-IQR</b>	0,57	0,64	0,51

Die medianen MoM-PAPP-A-Werte unterschieden sich hinsichtlich der Anzahl,  $p=0,622$  und dem Transfertag der Embryonen,  $p=0,956$  nicht signifikant. Semi-IQR=[75.-25.-Perzentile/2].

### 3.4.5 MoM-PAPP-A in Abhängigkeit von Konzeptionsmodus und Stimulationsstärke

Zwischen den vier verschiedenen Konzeptionsgruppen (ICS/IVF, FPN, VZO, INS) wurden keine signifikante Unterschiede in der Höhe der MoM-PAPP-A-Werte deutlich. Es ergaben sich ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zwischen den MoM-PAPP-A-Werten bei verschiedenen Stimulationsstärken, wobei Schwangerschaften, die ohne Stimulationsbehandlung zustande gekommen waren, die höchsten medianen MoM-PAPP-A-Werte aufweisen (Tab. 11).

Die FPN-Patientinnen wurden aufgrund der geringen Fallzahl nicht in den statistischen Vergleich mit einbezogen.

**Tab. 11: MoM-PAPP-A-Werte in Abhängigkeit von der Stimulationsstärke**

<b>Median MoM-PAPP-A</b>	<b>VZO/INS: keine Stimulation</b>	<b>VZO/INS: Low-Dose Stimulation</b>	<b>IVF/ICSI: Hyperstimulation</b>
<b>Anzahl (n)</b>	22	18	38
<b>Median</b>	1,21	0,91	0,93
<b>Semi-IQR</b>	0,67	0,42	0,51

Die medianen MoM-PAPP-A-Werte unterschieden sich in Abhängigkeit von der Stimulationsstärke nicht signifikant,  $p=0,064$ . Semi-IQR=[75.-25.-Perzentile/2].

### 3.4.6 MoM-PAPP-A in Abhängigkeit von Nebendiagnosen und Behandlungskomplikationen

Die Auswertung der MoM-PAPP-A-Werte in Abhängigkeit von Nebendiagnosen erfolgte für die in Tab. 12 aufgeführten Erkrankungen. In der vorliegenden Studie haben 50 % der an PCOS Erkrankten einen BMI > 25, so dass insbesondere für diese Patientinnen, die Berechnung gewichtskorrigierter MoM-PAPP-A-Werte von besonderer Bedeutung ist. So kann eine von den niedrigeren PAPP-A-Serumspiegeln bei adipösen Patientinnen, unabhängige Auswertung erfolgen.

Die statistischen Auswertungen ergaben für Patientinnen, die an einem PCOS ( $p=0,001$ ) erkrankt sind sowie für Patientinnen mit Nikotinabusus ( $p=0,045$ ) signifikant niedrigere MoM-PAPP-A-Werte (Tab. 12).

**Tab. 12: MoM-PAPP-A-Werte in Abhängigkeit von Nebendiagnosen**

Erkrankung	Prävalenz (n/91)	Median MoM-PAPP-A [Semi-IQR]		Signifikanz (p)
		Erkrankte	Kontrolle	
PCOS	20/91	0,77 [0,35]	1,03 [0,62]	* 0,001
Endometriose	10/91	1,02 [0,80]	0,98 [0,58]	0,599
Hypothyreose	24/91	0,92 [0,57]	0,98 [0,60]	0,517
Nikotinabusus	17/91	0,82 [0,37]	1,02 [0,62]	** 0,045

Die medianen MoM-PAPP-A-Werte unterschieden sich für Patientinnen, die an einem PCOS (\*p=0,001) erkrankt sind sowie für Patientinnen mit Nikotinabusus (\*\*p=0,045) signifikant. Semi-IQR=[75-25.-Perzentile/2].

Für das PCOS und den Nikotinabusus sind in den Tab. 13 und 14 die Auswertungen in Abhängigkeit von der Stimulationsstärke dargestellt. In allen Stimulationsgruppen weisen die an PCOS Erkrankten erniedrigte MoM-PAPP-A-Werte im Vergleich zu ihrer gesunden Kontrollgruppe auf, wobei allerdings nur in der Gruppe der hochstimulierten IVF/ICSI Patientinnen das Signifikanzniveau erreicht wurde (p=0,008) (Tab. 13).

Auch für die Raucherinnen konnte eine signifikante Abnahme der PAPP-A-MoMs nur für die hochstimulierten IVF/ICSI Patientinnen nachgewiesen werden (p=0,002) (Tab.14).

**Tab. 13: MoM-PAPP-A-Werte bei PCOS unterteilt nach Stimulationsstärke**

PCOS	Prävalenz (n/78)	Median MoM-PAPP-A [Semi-IQR]		Signifikanz (p)
		Erkrankte	Kontrolle	
VZO/INS Keine Stimulation	6/22	0,85 [0,38]	1,58 [0,79]	0,069
VZO/INS Low-Dose Stimulation	9/18	0,76 [0,39]	0,99 [0,42]	0,126
ICSI/IVF Hyperstimulation	4/38	0,45 [0,32]	0,94 [0,53]	* 0,008

Die medianen MoM-PAPP-A-Werte unterschieden sich für an PCOS erkrankte Patientinnen im Vergleich zur Kontrollgruppe unter hochdosierter Stimulation (ICSI/IVF) signifikant, \*p=0,008. Semi-IQR=[75-25.-Perzentile/2].

Wie bereits am Gesamtkollektiv beobachtet, lagen sowohl in den Gruppen der Erkrankten/Betroffenen als auch in den jeweiligen Kontrollgruppen die MoM-PAPP-A-Werte bei Patientinnen unter hoher Stimulation niedriger als bei den nicht stimulierten Patientinnen, wobei für die

Rauchergruppe das Signifikanzniveau überschritten wurde (PCOS:  $p=0,083$ , kein PCOS:  $p=0,061$ ; Raucher:  $p=0,013$ , Nicht-Raucher:  $p=0,059$ ).

**Tab. 14: MoM-PAPP-A-Werte bei Nikotinabusus unterteilt nach Stimulationsstärke**

Nikotinabusus	Prävalenz (n/78)	Median MoM-PAPP-A [Semi-IQR]		Signifikanz (p)
		Erkrankte	Kontrolle	
<b>VZO/INS Keine Stimulation</b>	3/22	0,75 [0,58]	1,24 [0,67]	0,233
<b>VZO/INS Low-Dose Stimulation</b>	5/18	0,96 [0,30]	0,87 [0,47]	0,401
<b>ICSI/IVF Hyperstimulation</b>	5/38	0,53 [0,26]	0,99 [0,53]	*0,002

Die medianen MoM-PAPP-A-Werte unterschieden sich für Raucherinnen im Vergleich zu Nicht-Raucherinnen unter hochdosierter Stimulation (ICSI/IVF) signifikant,  $*p=0,002$ . Semi-IQR=[75.-25.-Perzentile/2].

Patientinnen, die während der Stimulationsbehandlung (ICSI/IVF) ein Ovarielles Hyperstimulationssyndrom (OHSS) entwickelten, zeigten in Hinblick auf die MoM-PAPP-A-Werte im Vergleich zu nicht erkrankten ICSI/IVF Probandinnen keine signifikanten Unterschiede (Tab. 15).

**Tab. 15: MoM-PAPP-A-Werte in Abhängigkeit von Behandlungskomplikationen**

Komplikation	Prävalenz (n/91)	Median MoM-PAPP-A [Semi-IQR]		Signifikanz (p)
		Erkrankte	Kontrolle	
<b>OHSS</b>	4/38	0,91 [0,33]	0,92 [0,55]	0,974

Die medianen MoM-PAPP-A-Werte unterschieden sich in Abhängigkeit vom Auftreten eines OHSS bei hochstimulierten ICSI/IVF Patientinnen nicht signifikant,  $p=0,974$ . Semi-IQR=[75.-25.-Perzentile/2].

### 3.5. Korrelation zwischen dem PAPP-A- und hCG-Serumspiegel p.c.

Der Vergleich der Schwangerschaftsparameter hCG und PAPP-A zeigte ab einer hCG-Serumkonzentration von über 5000 IU/L eine enge positive Korrelation zwischen den beiden Parametern. Bei hCG-Spiegeln unter 5000 IU/L war kein Zusammenhang mehr zu beobachten (Abb. 11).

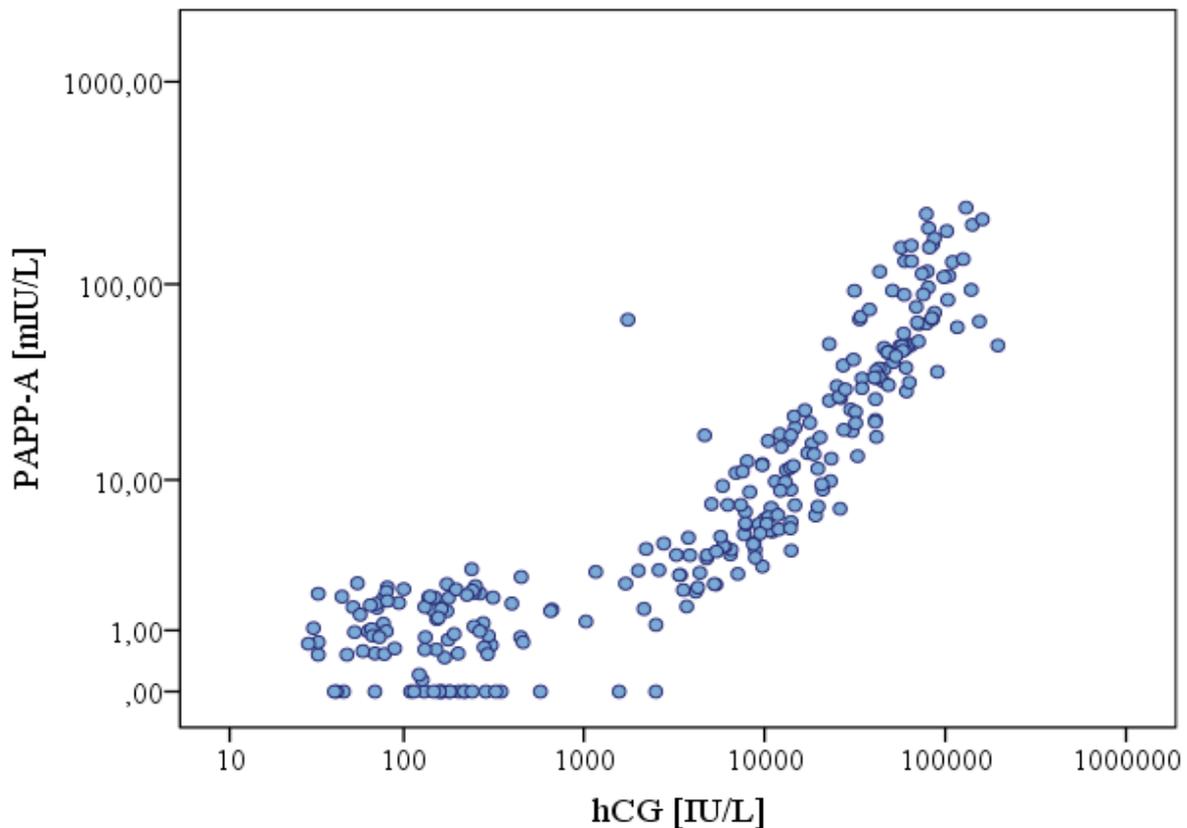
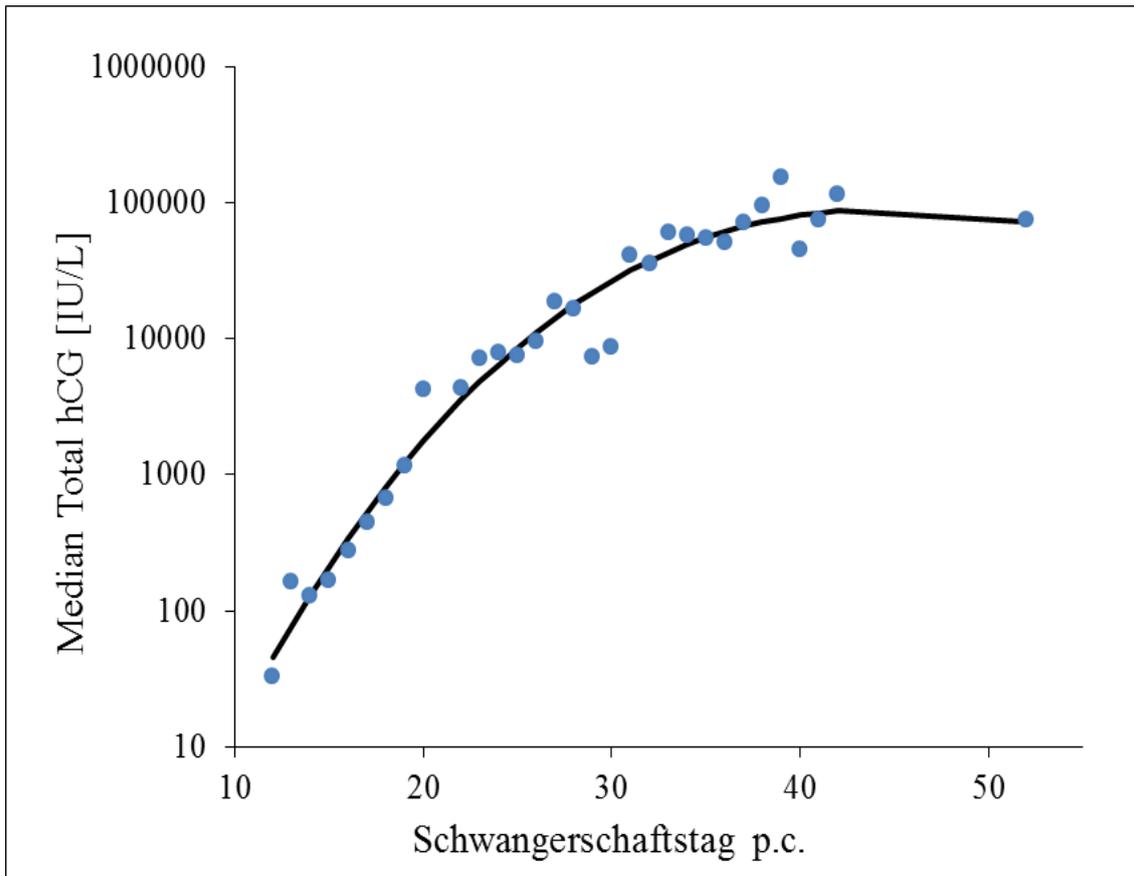


Abb. 11: Korrelation zwischen dem PAPP-A- und hCG-Serumspiegel p.c.

### 3.6 Verlauf der hCG-Serumspiegel in der Frühgravidität

#### 3.6.1 Die MoM-hCG-Werte in Abhängigkeit vom Gestationsalter

In Abb. 12 ist der Verlauf der maternalen hCG-Serumkonzentration vom 12. Bis zum 52. Tag p.c. dargestellt. Aus den einzelnen Messwerten wurden die Mediane ermittelt und gruppiert nach Schwangerschaftstag grafisch dargestellt. Aus diesen gemessenen Medianen wurde anschließend über eine Regressionsanalyse der theoretische mediane Verlauf der hCG-Spiegel in der Frühschwangerschaft ermittelt (siehe 2.4.1).



**Abb. 12: hCG-Konzentration im Verlauf der Frühgravidität**

Darstellung der medianen hCG-Serumkonzentrationen zwischen dem 12. und 52. Schwangerschaftstag p.c. mit eingeschlossener exponentieller Regressionskurve.

### 3.7 Die MoM-hCG-Werte in Abhängigkeit zu ausgewählten Parametern

Die sich anschließende statistische Auswertung für den Parameter hCG erfolgte wie für das PAPP-A mit Hilfe der errechneten und gewichtskorrigierten MoM-Werte (siehe 2.4.1, 2.4.2). Die Analysen beziehen sich, wenn nicht anders beschrieben, nur auf Schwangerschaften ohne Frühaborte.

#### 3.7.2 MoM-hCG in Abhängigkeit vom Schwangerschaftsausgang

Die Mediane der MoM-hCG-Werte in den Gruppen mit intakter Schwangerschaft bzw. Abort unterschieden sich signifikant ( $p \leq 0,001$ ). Die MoM-hCG-Werte sind bei Abortpatientinnen stark erniedrigt (Tab. 16).

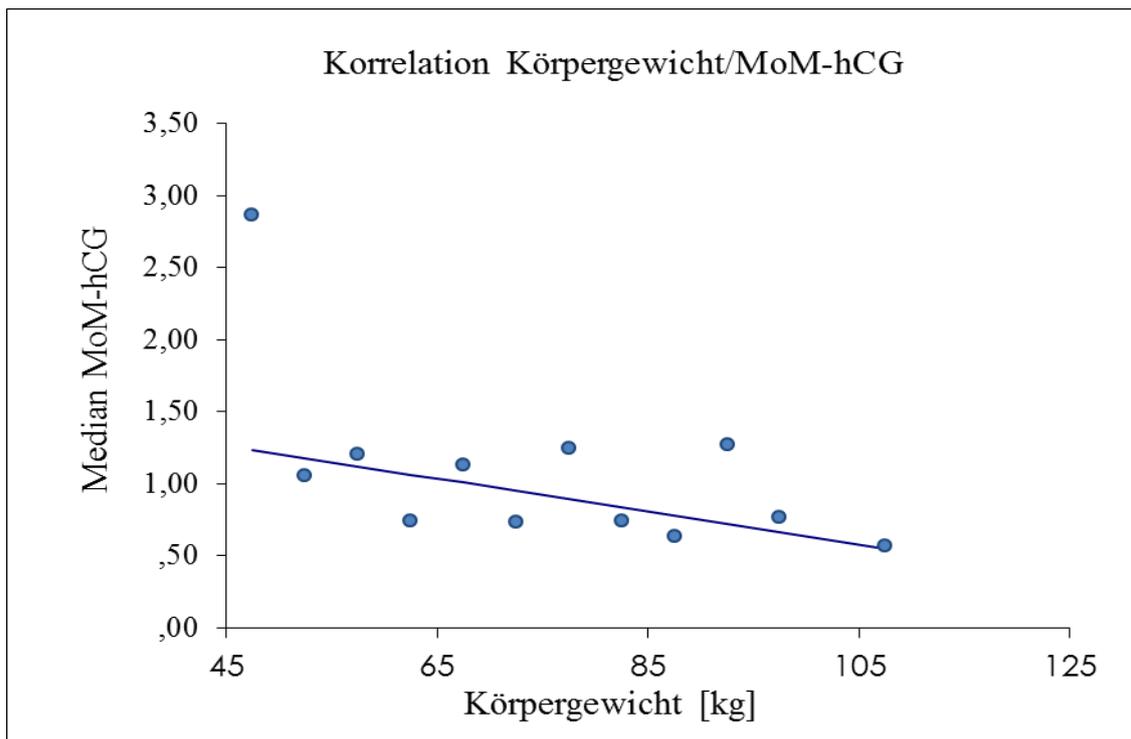
**Tab. 16: MoM-hCG-Werte in Abhängigkeit vom Schwangerschaftsausgang**

Schwangerschaftsausgang	Schwangerschaft	Abort
Anzahl (n)	92	11
Median MoM-hCG	1,00	0,48
Semi-IQR	0,39	0,48

Die medianen MoM-hCG-Werte unterschieden sich in Abhängigkeit vom Schwangerschaftsausgang signifikant,  $p \leq 0,001$ . Semi-IQR=[75-25.-Perzentile/2].

### 3.7.3 MoM-hCG in Abhängigkeit vom Körpergewicht

Zwischen dem Körpergewicht und den MoM-hCG-Werten aller Schwangerschaften besteht eine negative hoch signifikante Korrelation ( $r = -0,313$ ,  $p \leq 0,001$ ). Die MoM-hCG-Werte nehmen mit zunehmendem Körpergewicht ab (Abb.13). Das Signifikanzniveau bleibt auch erhalten, wenn der herausfallende Wert in der ersten Gewichtsgruppe (< 50 kg) nicht berücksichtigt wird ( $r = -0,263$ ;  $p \leq 0,001$ ).

**Abb. 13: MoM-hCG-Werte in Abhängigkeit vom Körpergewicht**

Darstellung der medianen MoM-hCG-Werte in Abhängigkeit vom Körpergewicht mit entsprechender Regressionsgeraden.

### 3.7.4 MoM-hCG in Abhängigkeit von Patientenalter und Sterilität

Die medianen MoM-hCG-Werte unterschieden sich in Abhängigkeit von Alter und Sterilität nicht signifikant (Tab. 17).

**Tab. 17: MoM-hCG-Werte in Abhängigkeit von Patientenalter und Sterilität**

<b>Alter [Jahre]</b>	<b>&lt; 30</b>	<b>30-35</b>	<b>36-41</b>
<b>Anzahl (n)</b>	22	49	21
<b>Median MoM-hCG</b>	1,00	0,97	1,09
<b>Semi-IQR</b>	0,49	0,35	0,48
<b>Sterilität</b>	<b>primär</b>	<b>sekundär</b>	
<b>Anzahl (n)</b>	64	28	
<b>Median MoM-hCG</b>	1,02	0,98	
<b>Semi-IQR</b>	0,40	0,40	

Die medianen MoM-hCG-Werte unterschieden sich in Abhängigkeit vom Alter,  $p=0,970$  und der Sterilität,  $p=0,406$  nicht signifikant. Semi-IQR=[75-25.-Perzentile/2].

### 3.7.5. MoM-hCG in Abhängigkeit von Embryonenanzahl und Transfertag

Der Transfer von einem oder zwei Embryonen bei IVF/ICSI und FPN sowie der Tag des Transfers führten zu keinen signifikanten Veränderungen der MoM-hCG-Werte (Tab. 18).

**Tab. 18: MoM-hCG-Werte in Abhängigkeit von Embryonenanzahl und Transfertag**

<b>Anzahl transferierter Embryonen (n)</b>		<b>1</b>	<b>2</b>
<b>Anzahl (n)</b>		5	47
<b>Median MoM-hCG</b>		0,64	0,92
<b>Semi-IQR</b>		0,45	0,27
<b>Transfertag der Embryonen</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
<b>Anzahl (n)</b>	18	20	6
<b>Median MoM-hCG</b>	0,96	0,90	0,76
<b>Semi-IQR</b>	0,30	0,46	0,37

Die medianen MoM-hCG-Werte unterschieden sich in Abhängigkeit von der Anzahl,  $p=0,105$  und dem Transfertag der Embryonen,  $p=0,285$  nicht signifikant. Semi-IQR=[75-25.-Perzentile/2].

### 3.7.6 MoM-hCG in Abhängigkeit von Konzeptionsmodus und Stimulationsstärke

Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den MoM-hCG-Werten der vier verschiedenen Konzeptionsgruppen (ICS/IVF, FPN, VZO, INS).

Zwischen den drei Stimulationsgruppen (Keine-, low-Dose-, hohe hormonelle Stimulation) wurden hingegen signifikante Unterschiede deutlich ( $p=0,001$ ). Im Vergleich zu nicht und low-Dose stimulierten Patientinnen (VZO/INS) sind die MoM-hCG-Werte bei IVF/ICSI Patientinnen unter Hyperstimulation signifikant niedriger (Tab. 19).

Die FPN-Patientinnen wurden aufgrund der geringen Fallzahl nicht in den statistischen Vergleich mit einbezogen.

**Tab. 19: MoM-hCG-Werte in Abhängigkeit von der Stimulationsstärke**

Median MoM-hCG	VZO/INS: keine Stimulation	VZO/INS: Low-Dose Stimulation	IVF/ICSI: Hyperstimulation
Anzahl (n)	22	18	38
Median	1,24	1,04	0,85
Semi-IQR	0,47	0,53	0,26

Die medianen MoM-hCG-Werte unterschieden sich in Abhängigkeit von der Stimulationsstärke signifikant,  $p=0,001$ . Semi-IQR=[75.-25.-Perzentile/2].

### 3.7.7 MoM-hCG in Abhängigkeit von Nebendiagnosen und Behandlungskomplikationen

Die Auswertung der MoM-hCG-Werte in Abhängigkeit von Nebendiagnosen erfolgte für die in Tab. 20 aufgeführten Erkrankungen. Die MoM-hCG-Werte waren bei Raucherinnen signifikant niedriger als bei der Kontrollgruppe (Tab. 20).

**Tab. 20: MoM-hCG-Werte in Abhängigkeit von Nebendiagnosen**

Erkrankung	Prävalenz (n/91)	Median MoM-hCG [Semi-IQR]		Signifikanz (p)
		Erkrankte	Kontrolle	
PCOS	20/91	1,10 [0,38]	0,99 [0,40]	0,848
Endometriose	10/91	1,18 [0,73]	0,99 [0,38]	0,235
Hypothyreose	24/91	1,04 [0,40]	0,98 [0,38]	0,164
Nikotinabusus	17/91	0,75 [0,30]	1,05 [0,42]	* 0,003

Die medianen MoM-hCG-Werte unterschieden sich bei Raucherinnen signifikant von Nicht-Raucherinnen,  $*p=0,003$ . Semi-IQR=[75-25.-Perzentile/2].

Für Nikotinabusus erfolgte anschließend eine separate Auswertung in Abhängigkeit von der Stimulationsstärke, um zu verifizieren, ob die Signifikanz durch die Stimulationsbehandlung bedingt ist (Tab. 21).

Die am Gesamtkollektiv beobachteten niedrigeren MoM-hCG-Werte bei Raucherinnen, zeigte sich nach Unterteilung entsprechend der Stimulationsstärke nur noch in der Gruppe der hochstimulierten IVF/ICSI Patientinnen.

**Tab. 21: MoM-hCG-Werte bei Nikotinabusus unterteilt nach Stimulationsstärke**

Nikotinabusus	Prävalenz (n/78)	Median MoM-hCG [Semi-IQR]		Signifikanz (p)
		Erkrankte	Kontrolle	
<b>VZO/INS Keine Stimulation</b>	3/22	0,85 [0,42]	1,25 [0,64]	0,239
<b>VZO/INS Leichte Stimulation</b>	5/18	0,89 [0,35]	1,11 [0,51]	0,204
<b>ICSI/IVF Hyperstimulation</b>	5/38	0,68 [0,15]	0,93 [0,30]	* 0,007

Die medianen MoM-hCG-Werte unterschieden sich für Raucherinnen im Vergleich zu Nicht-Raucherinnen unter hochdosierter Stimulation (ICSI/IVF) signifikant, \*p=0,007. Semi-IQR=[75-25.-Perzentile/2].

Patientinnen, die während der Stimulationsbehandlung ein Ovarielles Hyperstimulationssyndrom (OHSS) entwickelten, zeigten in Hinblick auf die MoM-hCG-Werte im Vergleich zu nicht betroffenen ICSI/IVF Probandinnen keine signifikanten Unterschiede (Tab. 22).

**Tab. 22: MoM-hCG-Werte und Behandlungskomplikationen**

Komplikation	Prävalenz (n/91)	Median MoM-hCG [Semi-IQR]		Signifikanz (p)
		Erkrankte	Kontrolle	
<b>OHSS</b>	4/38	0,81 [0,22]	0,87 [0,28]	0,608

Die medianen MoM-hCG-Werte unterschieden sich in Abhängigkeit vom Auftreten eines OHSS bei hochstimulierten ICSI/IVF Patientinnen nicht signifikant, p=0,608. Semi-IQR=[75-25.-Perzentile/2].

## 4. Diskussion

### 4.1 Das Beobachtungskollektiv

Das mediane Alter der Patientinnen in unserem Beobachtungskollektiv lag ohne Berücksichtigung der Parität bei 33 Jahren. Das durchschnittliche Alter der Mutter bei Geburt ihrer lebendgeborenen Kinder liegt in der deutschen Gesamtbevölkerung bei 30,4 Jahren (Statistisches Bundesamt, 2009). Das höhere Alter des Patientenkollektivs im Vergleich zum bundesweiten Durchschnitt lässt sich aus dem tendenziell erst spät einsetzenden Kinderwunsch (Katzorke et al., 2008), der oft langen Behandlungsgeschichte der Paare sowie Problemen bei der Finanzierung der Konzeptionstherapien erklären (von Otte, 2007). Patientinnen, die durch ICSI/IVF und FPN Behandlungszyklen konzipierten waren signifikant älter als die Beobachtungsgruppe die durch VZO und INS schwanger wurden. Da VZO und die Insemination im Vergleich zu den anderen Behandlungsformen, die weitaus weniger invasive Maßnahme darstellt, wird sie bei jungen Patientinnen oft bevorzugt angewandt. Dies erklärt das signifikant jüngere Alter dieser Patientinnen.

Desweiteren ergab unsere Datenanalyse, dass Schwangere, die im Verlauf der Untersuchungsperiode einen Abort erlitten, signifikant älter waren als Patientinnen mit intaktem Schwangerschaftsverlauf. Mit steigendem maternalen Alter, kommt es zur Abnahme der weiblichen Fruchtbarkeit. Diese geht einher mit einer zunehmend schlechteren Eizellqualität (Chromosomenanomalien, funktionelle- und morphologische Anomalien) und führt vermutlich neben hormonellen Veränderungen sowie über Veränderungen am Uterus (Battaglia et al., 1996; Rowe, 2006) zu einer erhöhten Abortprävalenz.

Die Zunahme der Adipositas stellt zunehmend ein Problem im Rahmen der Fertilitätsbehandlung dar. Obwohl der mediane BMI in unserem Patientenkollektiv bei 23,2 und damit im oberen Normbereich lag, waren 19 % der Patientinnen übergewichtig und 11 % der Patientinnen mit einem BMI > 30 adipös (WHO, 2006). Die Mechanismen, über die Übergewicht eine Subfertilität verursacht oder exazerbiert sind vielseitig und teils noch nicht eindeutig geklärt (Pandey et al., 2010; Gesink et al., 2007).

Haslam und James (2005) gehen davon aus, dass es durch das Übergewicht über eine Störung der Hypothalamus-Hypophysenachse zu irregulären oder anovulatorischen Zyklen kommen kann.

Dies stellt eine mögliche Erklärung dar, warum VZO Patientinnen mit einem medianen BMI von 24,9 erst durch überwachte Zyklusmonitorung die gewünschte Konzeption durch Verkehr zum Ovulationszeitpunkt erreichen.

## **4.2 Vergleich der PAPP-A-Serumspiegel periovulatorisch und p.c.**

Das Ziel der vorliegenden Arbeit bestand darin, PAPP-A mit einem sensitiven Testverfahren bereits vor Eintritt der Schwangerschaft zum Zeitpunkt der Ovulationsinduktion mit hCG in den Seren der Patientinnen nachzuweisen und zu beurteilen, inwieweit sich die PAPP-A-Serumspiegel nach Konzeption bei unterschiedlichen Konzeptionsmodi unter verschiedenen Stimulationsstärken verändern.

Die vorliegenden Messergebnisse stellen sehr frühe Messungen des Serummarkers PAPP-A dar. Neben kleineren Studien von Bischof (1989) und Bersinger et al. (1986), die jedoch weniger spezifische Testverfahren verwendeten, liegen kaum vergleichende Studien zu dieser Thematik vor.

Durch unsere Auswertungen konnten wir zeigen, dass PAPP-A bei 85 % der Patientinnen bereits periovulatorisch im Serum nachweisbar ist.

Einige Studien belegen, dass PAPP-A sowohl in der ovariellen Follikelflüssigkeit als auch in den Granulosazellen des menschlichen Ovars nachweisbar ist und dort maßgeblich an der hormonellen Regulation der Follikelreifung, der Selektion des dominanten Follikels sowie an der Regulation des Luteinisierungsprozess beteiligt ist (Conover et al., 2001; Mazerbourg et al., 2003; Spicer, 2004; Rhoton-Vlasak et al., 2003). Die Studien verdeutlichen, dass sich die PAPP-A-Spiegel im Follikel während des Zyklusverlaufs entsprechend verändern.

Inwieweit sich diese Dynamik auch in einer Veränderung der PAPP-A-Serumkonzentration widerspiegelt, wurde durch Bischof et al. (1986a) und Bersinger et al. (1995) untersucht. Zum einen konnten sie zeigen, dass PAPP-A während des Zyklus von nicht schwangeren Frauen nur in sehr geringen Konzentrationen nachweisbar ist, zum anderen, dass sich die PAPP-A-Serumkonzentration im Zyklusverlauf nicht signifikant verändert.

Eine Studie von Moos et al. (2009) untersuchte, inwieweit ein Zusammenhang zwischen der PAPP-A-Konzentration in der Follikelflüssigkeit (FF) und dem PAPP-A-Serumspiegel besteht und wie der Transport von PAPP-A entlang der Blut/Follikel Schranke erfolgt. Sie konnten nachweisen, dass PAPP-A aufgrund seiner Molekülgröße die Blut/Follikel Schranke nicht passieren kann. Ein Anstieg der PAPP-A-Konzentration in der FF sollte demnach nicht zu erhöhten

Serumspiegeln führen. Desweiteren konnten sie zeigen, dass bei Patientinnen, die sich einer IVF Behandlung unterzogen haben, zum Zeitpunkt der Oozyten Gewinnung keine Korrelation zwischen der PAPP-A-Konzentration in der FF und der aus dem Serum besteht.

Demzufolge müssen neben dem folliculären Ursprung andere Synthesquellen für die von uns gemessenen perioovulatorischen PAPP-A-Serumkonzentrationen im Vordergrund stehen.

Neben der hohen PAPP-A-Expression in Ovar und Plazenta, wird PAPP-A auch von endometrialen Stromazellen (Giudice et al., 2002) und von Zellen außerhalb des Reproduktionsgewebes wie Osteoblasten, Fibroblasten und vaskulären glatten Muskelzellen sezerniert (Conover et al., 2004; Lawrence et al., 1999; Bayes-Genis et al., 2001). PAPP-A spielt eine bedeutende Rolle bei der Gewebsreparatur und bei Umbaumechanismen, wie Wundheilungsprozesse der Haut, Frakturheilung und bei vaskulären Defekten. Es ist jedoch unbekannt, ob diese Zellen das PAPP-A nur lokal produzieren oder auch in nennenswerter Konzentration an die Zirkulation abgeben. Stulc et al. (2003) konnten zeigen, dass Patienten mit einer Hypercholesterinämie, ohne klinische Zeichen einer Arteriosklerose deutlich höhere PAPP-A-Werte aufweisen als ihre Kontrollgruppe. Möglicherweise sind die in unserem Patientenkollektiv perioovulatorisch nachgewiesenen PAPP-A-Werte, bei einem Anteil von ~30 % übergewichtigen bis adipösen Patientinnen ein Indikator für eine bestehende Hypercholesterinämie.

Im Verlauf unserer Auswertung verglichen wir die im Serum gemessenen perioovulatorischen PAPP-A-Konzentrationen mit den PAPP-A-Spiegeln 12-17 Tage nach Konzeption. Da PAPP-A während der Schwangerschaft von Trophoblasten und Deziduazellen gebildet wird (Giudice et al., 2002) und für die Fetalentwicklung erforderlich ist, erwarteten wir im Vergleich zu den perioovulatorischen Messungen einen deutlichen Anstieg der PAPP-A-Serumspiegel nach Konzeption. Unsere Analyse ergab jedoch keine signifikanten Unterschiede. Wider Erwarten wiesen 45 von 84 ausgewerteten Seren von angehenden Schwangerschaften perioovulatorisch tendenziell höhere PAPP-A-Serumspiegel auf als nach Konzeption.

Diese Beobachtung lässt vermuten, dass die PAPP-A Syntheskapazität des Trophoblasten zu diesem frühen Zeitpunkt noch zu gering ist, um zu einem Anstieg der PAPP-A-Serumspiegel zu führen. Das nach Konzeption im Serum gemessene PAPP-A, ist demnach noch kein Synthesprodukt der Trophoblasten, sondern entstammt wie das midzyklische PAPP-A anderen, uns nicht bekannten Quellen. Eine weitere mögliche Ursache für die nur langsam ansteigenden bzw. gleich bleibenden PAPP-A-Serumspiegel p.c. könnte die Maskierung von Antikörperbindungsstellen

sein, die durch Komplexbildung mit pro-MBP in der Schwangerschaft verursacht wird. Das in dieser Arbeit verwendete Testverfahren, ist jedoch in der Lage sowohl freies als auch an pro-MBP gebundenes PAPP-A zu detektieren.

Im weiteren Interesse unserer Untersuchung standen der Einfluss der Stimulationsstärke (keine-, low-Dose-, hohe hormonelle Stimulation) sowie der Einfluss von Östradiol auf die Höhe des PAPP-A-Serumspiegels. Wie erwartet hatten hochstimulierte Patientinnen (IVF/ICSI) innerhalb der drei Vergleichsgruppen entsprechend ihrem multifollikulären Wachstum die höchsten Östradiol-Serumspiegel. Die periovulatorischen PAPP-A-Spiegel waren bei diesen Patientinnen dagegen am niedrigsten, wobei der Unterschied nicht das Signifikanzniveau erreichte.

Da durch FSH die PAPP-A Synthese in Granulosazellen von Rindern und Ratten (Matsui et al., 2004) und die PAPP-A mRNA Expression von Mäusen (Hourvitz et al., 2002) stimuliert wird, ist ein Anstieg der PAPP-A Level im Follikel parallel zum steigenden Östradiolspiegel bei externer FSH Stimulation zu erwarten. Insofern deuten die niedrigen PAPP-A-Spiegel im Serum bei den hochstimulierten Patientinnen darauf hin, dass das periovulatorisch gemessene PAPP-A nicht follikulären Ursprungs ist.

Die Tatsache, dass sich zwischen den Serumkonzentrationen von PAPP-A und Östradiol eine negative Korrelation nachweisen ließ, stimmt gut mit der Beobachtung überein, dass bei den hochstimulierten Patientinnen niedrige PAPP-A-Spiegel gefunden wurden. Möglicherweise verursacht der erhöhte Östradiol-Serumspiegel bei ICSI und IVF Zyklen einen Abfall der PAPP-A-Serumwerte zur Mitte des Zyklus. Welche Mechanismen nun tatsächlich die PAPP-A-Serumkonzentration im Zyklus beeinflussen, bleibt allerdings unklar.

Ein Trend zu abnehmenden Serumspiegeln von PAPP-A bei zunehmendem maternalem Alter war in unseren Messungen nicht erkennbar. Es ist bekannt, dass die Fruchtbarkeit der Frau mit zunehmendem Alter signifikant abnimmt (Faddy et al., 1992). Eine abnehmende Eizellanzahl und -qualität sowie hormonell bedingte ovarielle Dysfunktionen, vermindern die Wahrscheinlichkeit, dass eine Schwangerschaft eintritt, sowohl mit als auch ohne Fertilitätsbehandlung (Faddy et al., 1992, Fretts et al., 2010, Rowe, 2006).

Eine altersabhängige Abnahme der Eizell-/Follikelanzahl würde den PAPP-A-Serumspiegel nur dann beeinflussen, wenn das PAPP-A aus den Follikeln stammen würde. Insofern bestätigt die

fehlende Altersabhängigkeit des Serum-PAPP-A die Vermutung, dass es nicht folliculären Ursprungs ist.

Die Auswertungen ausgewählter Nebendiagnosen, die in Verbindung mit einer eingeschränkten Fertilität stehen, ergaben in Bezug auf die Höhe des perioovulatorischen PAPP-A-Serumspiegels zwischen gesunden und erkrankten Probandinnen keine signifikanten Differenzen. Die Tatsache, dass weder bei den an Polyzystischem Ovarsyndrom (PCOS) erkrankten Patientinnen noch bei den Patientinnen mit Ovariellen Hyperstimulationssyndrom (OHSS), bei denen die Zahl an persistierenden Follikeln gegenüber Gesunden erhöht ist, erhöhte PAPP-A-Spiegel im Serum gefunden wurden, bestätigt weiterhin, dass eine Veränderung der PAPP-A-Konzentrationen in der Follikelflüssigkeit nicht zu einer Beeinflussung der PAPP-A-Serumspiegel führt.

### **4.3 Verlauf der PAPP-A- und hCG-Serumspiegel in der Frühschwangerschaft**

Die Auswertung der PAPP-A-Serumspiegel im Verlauf der Frühgravidität ergab einen exponentiellen Anstieg mit zunehmendem Schwangerschaftsalter, wie er bereits von Fialová und Malbohan (2002) beschrieben wurde. Während der Schwangerschaft steigt die PAPP-A-Serumkonzentration im Rahmen der Plazentaentwicklung um den Faktor 150 an (Fialová und Malbohan, 2002) und erreicht ihren Höhepunkt im dritten Trimenon (Guibourdenche et al., 2003).

Ein signifikanter schwangerschaftsbedingter Anstieg zeigte sich erst ab dem 20. Tag p.c. Diese Beobachtung lässt sich durch die physiologische Entwicklung der Plazenta erklären. Zwischen dem 5. und 6. Tag nach Konzeption kommt es zur Implantation des Embryoblasten durch Invasion des Trophoblasten in die Uterusschleimhaut (Rohe und Lütjen-Drécoll, 2000). Durch die rasche Proliferation des Trophoblasten entsteht der stoffwechselaktive Synzytiotrophoblast. Vermutlich geht die Proliferation des Synzytiotrophoblasten mit einer gesteigerten Kapazität der PAPP-A Synthese einher, die um den 20. Tag p.c. durch einen signifikanten Anstieg der PAPP-A-Konzentration im Serum deutlich wird. Der exponentielle Anstieg der PAPP-A-Serumkonzentration im Schwangerschaftsverlauf lässt sich dadurch erklären, dass PAPP-A im Rahmen der Plazentaentwicklung neben dem Trophoblasten auch zunehmend von dezidualen endometrialen Stromazellen synthetisiert und an die maternale Zirkulation sezerniert wird (Giudice et al., 2002). Sahraravand et al. (2011) kamen zu einem ähnlichen Ergebnis und konnten zeigen, dass die PAPP-A Sekretion eng mit der Größe der Plazenta korreliert.

Wie bereits in anderen Studien gezeigt, konnten auch wir einen exponentiellen Anstieg der hCG-Serumkonzentration mit zunehmendem Schwangerschaftsalter nachweisen (Cole, 1997; Lenton et al., 1982). Zwischen den Serumspiegeln der beiden Parameter PAPP-A und hCG ergab sich eine positive signifikante Korrelation, übereinstimmend mit den Ergebnissen von Fernández-Alonso et al. (2011). Die Korrelation besteht allerdings erst ab einer hCG-Serumkonzentration von 5000 IU/L. Vermutlich ist bei hCG-Werten unterhalb dieser Serumkonzentration die PAPP-A Synthese noch zu gering um den Serumspiegel zu beeinflussen. Aus der hCG-Kurve ergibt sich, dass bei einer Serumkonzentration von 5000 IU/L etwa der 20. Tag p.c. erreicht ist. Erst ab diesem Zeitpunkt beginnt das PAPP-A im Serum schwangerschaftsbedingt anzusteigen.

In Hinblick auf den Schwangerschaftsausgang ergab die Analyse der Daten signifikante Unterschiede sowohl für die MoM-PAPP-A als auch für die MoM-hCG-Werte. Schwangerschaften, die in einem Abort endeten wiesen bereits in der Frühgravidität signifikant niedrigere Messwerte beider Parameter auf. Im Verlauf der Schwangerschaft kam es bei diesen Patientinnen zwar zu einem Anstieg der PAPP-A-Serumkonzentration, dieser fiel jedoch deutlich geringer aus als bei intakten Schwangerschaften. Spencer et al. (2006) beobachteten ebenfalls, dass Schwangerschaften mit reduzierten MoM-PAPP-A- und -hCG-Werten bei zunehmender fetaler Nackentransparenz häufiger in einem Abort endeten.

Die Wahrscheinlichkeit einen Abort zu erleiden steigt mit zunehmendem maternalem Alter und Gewicht, vorangegangenen Aborten, niedrigen PAPP-A-Serumspiegeln, bei Nikotinabusus und bei Verabreichung ovulationsinduzierender Medikamente (Akolekar et al., 2011).

Vermutlich sind die signifikant niedrigeren PAPP-A-Serumkonzentrationen bei Abortschwangerschaften und der deutlich geringere Anstieg der Serumspiegel im Schwangerschaftsverlauf, Ausdruck einer verminderten Synthesekapazität und Funktionsfähigkeit des Trophoblasten bzw. der Plazenta. Niedrige PAPP-A-Konzentrationen führen zu einem Rückgang, der durch IGF vermittelten Aufnahme von Glucose und Aminosäuren in die Trophoblasten sowie dadurch zu einer eingeschränkten Invasion in die maternale Dezidua (Giudice et al., 2002; Smith et al., 2002; Wang et al., 2009). Desweiteren führen niedrige PAPP-A-Serumspiegel zu einer Reduktion von plazentarem ungebunden IGF-I und IGF-II, welche bedeutend sind für die Regulation des fetalen Wachstums (Ning et al., 2008). Demnach führen reduzierte PAPP-A-Serumspiegel zu schlechteren Implantationsbedingungen des Keimes und in dessen Konsequenz vermutlich auch zu einer

Beeinträchtigung der Plazentaentwicklung sowie über die Reduktion von freiem IGF zu einer Störung des fetalen Wachstums.

Diese Vermutungen stimmen gut mit den Beobachtungen von Odibo et al. (2011) überein, die im Rahmen des First Trimester Serum Screenings (FITSS) zeigen konnten, dass niedrige PAPP-A-Serumspiegel in Schwangerschaften mit Präeklampsie und fetaler Wachstumsretardierung häufig mit einer abnormalen Plazentamorphometrie bei Geburt assoziiert sind. Dugoff et al. (2004) beschreiben ergänzend, dass niedrige PAPP-A-Serumspiegel signifikant häufiger mit einer Plazentaablösung einhergehen. Dugoff et al. (2004) und Kirkegaard et al. (2010) konnten für Schwangerschaften mit niedrigen PAPP-A-Serumspiegeln ein signifikant höheres Risiko für Fehlgeburten, Frühgeburten, geringes Geburtsgewicht und Präeklampsie nachweisen.

Für den Schwangerschaftsmarker hCG konnten wir in Anlehnung an vorherige Studien signifikant niedrigere MoM-hCG-Werte bei Abortschwangerschaften nachweisen (Chi et al., 2010; Osmanağaoğlu et al., 2010). Zwischen der 5. und 13. SSW gilt der hCG-Serumspiegel als nützlicher prognostischer Marker zur Detektion von Spontanaborten (Osmanağaoğlu et al. 2010).

## **4.4 MoM-PAPP-A und -hCG in Abhängigkeit zu ausgewählten Parametern**

### **4.4.1 Körpergewicht**

Unsere Analyse zeigte eine negative Korrelation zwischen dem Körpergewicht und den MoM-Werten beider Parameter (PAPP-A, hCG) auf hoch signifikantem Niveau ( $p \leq 0,001$ ).

Sahota et al. (2009) konnten ebenfalls eine negative Korrelation zwischen dem Körpergewicht und den MoM-hCG-Werten nachweisen. Dass Frauen mit einem höheren Körpergewicht niedrigere MoM-Werte aufweisen, ist vermutlich durch ein größeres Verteilungsvolumen für die von der Plazenta sezernierten Produkte zu erklären. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch Krantz et al. (2005), die eine Reduktion der MoM-Werte beider Parameter bei zunehmendem Körpergewicht beobachteten.

Da die MoM-PAPP-A- und MoM-hCG-Werte zur Risikoabschätzung von Chromosomenabberationen (Trisomie 13, 18, 21) im Rahmen des FITSSs herangezogen werden, sollte für beide Parameter bei übergewichtigen und adipösen Patientinnen eine gewichtsadaptierte Korrektur der MoM-Werte erfolgen. Dadurch kann man einer fehlerhaften Risikoberechnung für eine mögliche

Chromosomenaberration entgegenwirken und eine erhöhte falsch-positiv Rate vermeiden (Merz et al., 2011).

#### **4.4.2 Embryonenanzahl und Transfertag**

Es wurden ein bis zwei Embryonen, die sich bei IVF/ICSI Patientinnen in nativem und bei FPN-Patientinnen in zuvor kryokonserviertem Zustand befanden, zwei bis vier Tage nach Ovulationsinduktion retransferiert. Man könnte annehmen, dass je früher der Transfer stattfindet, desto eher kommt es zur Implantation des Embryoblasten, welcher mit einem frühzeitigen Anstieg der MoM-PAPP-A-Werte einhergeht. Unsere Auswertungen in Hinblick auf die Anzahl transferierter Embryonen und den Tag des Embryotransfers bei ICSI/IVF und FPN Patientinnen ergaben weder für die MoM-PAPP-A-noch für die MoM-hCG-Werte signifikante Unterschiede.

Bender et al. (2010) konnten ebenfalls keine signifikanten Unterschiede der PAPP-A-Serumspiegel in Abhängigkeit von der Anzahl transferierter Embryonen bei IVF und ICSI Patientinnen nachweisen. Für den Marker hCG konnten Poikkeus et al. (2002) gleichermaßen keine signifikanten Unterschiede der MoM-Werte nach dem Transfer von einem oder zwei Embryonen beobachten. Tul und Novak-Antolic (2006) hingegen konnten zeigen, dass die MoM-PAPP-A-Werte mit der Anzahl retransferierter Embryonen bei stimulierten IVF Patientinnen weiter abnimmt. Welcher Pathomechanismus hinter diesem Ergebnis steht bleibt jedoch unklar.

#### **4.4.3 Alter und Sterilität**

In unseren Messungen waren keine signifikanten Änderungen beider Serummarker mit zunehmendem maternalem Alter erkennbar. Dies spricht für eine annähernd gleich hohe Syntheseleistung der Trophoblasten unabhängig vom mütterlichen Alter. Kommt es zum Eintreten einer Schwangerschaft, deren Wahrscheinlichkeit auf Grund einer verminderten ovariellen Reserve, einer herabgesetzten Qualität der Oozyten sowie hormonellen Veränderungen mit zunehmendem maternalem Alter sinkt (Faddy et al., 1992, Fretts et al., 2010, Rowe, 2006), scheint das Alter keinen großen Einfluss auf die Qualität der Implantation und frühen Versorgung des Embryo zu haben. Zu gegensätzlichen Ergebnissen kamen hingegen Hsu et al. (1999), die nachweisen konnten, dass Frauen im fortgeschrittenen Alter eine signifikant niedrigere Embryonenteilungs- und Implantationsrate hatten.

Die Auswertung der MoM-Werte in Abhängigkeit von einer primären oder sekundären Sterilität der Patientinnen erbrachte weder für den Marker PAPP-A noch für das hCG signifikante Diffe-

renzen. Vorausgegangene Schwangerschaften haben demzufolge keinen Einfluss auf die Syntheseleistung der Trophoblasten bei einer erneuten Schwangerschaft.

#### **4.4.4 Konzeptions- und Stimulationsmethode**

Die Datenanalyse der vorliegenden Studie ergab keine signifikanten Unterschiede der MoM-PAPP-A- sowie der MoM-hCG-Werte in Abhängigkeit vom Konzeptionsmodus. Demnach scheint die Art der Befruchtung keinerlei Auswirkungen auf die MoM-Werte der beiden analysierten Parameter zu haben. Weitaus wichtiger ist der Einfluss der Stimulationsstärke auf die Höhe der MoM-PAPP-A- und -hCG-Werte, die im Rahmen des FITSSs von besonderer Relevanz sind.

Unsere Datenauswertung, die zwischen der 5. und 9. Schwangerschaftswoche (SSW) erfolgte, zeigte eine deutliche Reduktion der MoM-PAPP-A-Werte bereits nach low-Dose Stimulation sowie nach Kontrollierter ovarieller Hyperstimulation (COH) bei ICSI und IVF Schwangerschaften im Vergleich zu Spontankonzeptionen (VZO/INS), jedoch ohne das Signifikanzniveau zu erreichen.

Die im Rahmen der assistierten Reproduktion entstehenden Auswirkungen der Stimulationsstärke auf die Höhe der MoM-PAPP-A-Werte wurden in zahlreichen Studien untersucht. So konnten in Anlehnung an unsere Ergebnisse einige Studien, die zwischen der 12. und 14. (SSW) durchgeführt wurden, signifikant niedrigere MoM-PAPP-A-Werte bei ICSI und IVF Schwangerschaften nach multifollikulärer Stimulation im Vergleich zu Spontanschwangerschaften nachweisen (Amor et al., 2009; Anckaert et al., 2008; Bender et al., 2010; Bersinger et al., 2004; Gjerris et al. 2009; Hui et al., 2005; Matilainen et al., 2011; Tul und Novak-Antolic, 2006).

Amor et al. (2009) begründen die Reduktion der MoM-PAPP-Werte nach ICSI und IVF Zyklen durch die exogene Hormonbehandlung, ohne Erläuterung eines erklärenden Pathomechanismus. Haouzi et al. (2009) und Liu et al. (2008) konnten nachweisen, dass die hohen Konzentrationen an Östradiol und Progesteron durch die ovarielle Stimulation, zu einer veränderten Genexpression des Endometriums führen, die mit einem negativem Einfluss auf die endometriale Rezeptivität einhergeht. Paulson et al. (1990a) beschreiben ebenfalls eine verminderte endometriale Rezeptivität nach COH, mit negativem Einfluss auf die Implantation des Embryos (Paulson et al., 1990b).

Vermutlich sind die reduzierten MoM-PAPP-Werte nach COH auch in unserem Patientenkollektiv auf eine nachteilig beeinflusste Implantation des Embryos und einer möglicherweise daraus resultierenden verminderten Syntheseleistung des Synzytotrophoblasten zurückzuführen.

Im Rahmen des First Trimester Serum Screenings stellen erniedrigte MoM-PAPP-A-Werte ein erhöhtes Risiko für eine Trisomie 21 (Down-Syndrom) dar. Insofern würde man erwarten, dass niedrige MoM-PAPP-A-Werte, die in IVF und ICSI Zyklen durch eine hochdosierte hormonelle Stimulation verursacht werden können, zu einer fehlerhaften Risikobeurteilung für eine Chromosomenaberration und dadurch zu einer erhöhten falsch positiv-Rate für Down-Syndrom führen können.

Die Studienlage zu diesem Thema ist uneindeutig. So konnte die Studie von Matilainen et al. (2011) und Tul und Novak-Antolic (2006) im Gegensatz zu Amor et al. (2009) keine signifikant erhöhte falsch positiv-Rate für Down-Syndrom nach assistierter Reproduktion (ICSI, IVF) feststellen.

Unsere Auswertung zeigte, dass bei IVF/ICSI Patientinnen auch die hCG-Spiegel erniedrigt sind und zwar auf signifikantem Niveau. Möglicherweise wird dadurch das Down-Syndrom Risiko falsch zu niedrig bewertet. Die beiden Effekte könnten sich also aufheben, so dass es im Ganzen nicht zu einer Fehlbeurteilung des Risikos kommt.

Signifikant niedrigere hCG-Serumkonzentrationen unter hochdosierter hormoneller Stimulation wurden auch von Poikkeus et al. (2002) nachgewiesen. Sie konnten zeigen, dass die hCG-Serumkonzentrationen bei ICSI Schwangerschaften niedriger waren als bei IVF und FPN Schwangerschaften. ICSI Schwangerschaften, die in Kombination mit einem männlichen Infertilitätsfaktor zustande kamen, zeigten eine weitere Reduktion der hCG-Serumspiegel (Poikkeus et al., 2002). Auch Gold et al. (2000) beschrieben niedrigere hCG-Serumspiegel nach ICSI im Vergleich zu IVF Schwangerschaften. Die Erklärung dafür ist unklar. Denn obwohl aus IVF gewonnene Embryonen im Vergleich zu Embryonen aus ICSI-Zyklen eine bessere Morphologie und Teilungsrate besitzen, die entscheidend sind für das Implantationsverhalten, zeigen die Embryonen beider Verfahren eine ähnliche Implantationsfähigkeit (Hsu et al., 1999). Die von uns gemessenen niedrigeren MoM-hCG-Werte unter COH lassen sich in Anlehnung an Poikkeus et al. (2002) vermutlich durch den in unserem Patientenkollektiv weitaus größeren Anteil an ICSI, im Vergleich zu IVF Schwangerschaften erklären.

Andere Studien hingegen fanden eine signifikante Erhöhung (Bersinger et al., 2004; Ghisoni et al., 2003; Hui et al., 2005) oder keine Veränderungen der MoM-hCG-Werte nach ICSI und IVF Behandlungen im Vergleich zu Spontankonzeptionen (Anckaert et al., 2008; Gjerris et al., 2009; Wøjdemann et al., 2001). Die Ursachen für die Unterschiede der hCG-Serumkonzentrationen sind unklar und scheinen sehr komplex zu sein. Multiple Corpora lutea, mehrere Implantationsstellen oder die medikamentöse Behandlung im Rahmen der Fertilitätstherapie stellen mögliche erklärende Faktoren da (Weisz und Rodeck, 2006). Eine funktionelle Verzögerung der fetalen und plazentaren Entwicklung und/oder unbekannte zugrunde liegende Pathologien, die zu metabolischen Veränderungen führen sowie das höhere Risiko für Schwangerschaftskomplikationen, die mit der assistierten Reproduktion einhergehen, können eine Veränderung der hCG-Serumkonzentration verursachen (Maymon und Shulman, 2004).

#### **4.4.6 Nebendiagnosen und Behandlungskomplikationen**

Die Datenauswertung ausgewählter, die Fertilität beeinflussender Nebenerkrankungen ergab für an PCOS erkrankte Patientinnen in allen Stimulationsgruppen im Vergleich zu gesunden Probandinnen niedrigere MoM-PAPP-A-Werte. Es wurde jedoch nur in der Gruppe der hochstimulierten IVF/ICSI Patientinnen das Signifikanzniveau erreicht.

Zhong und Chen (2010) kamen in ihrer Studie zu ähnlichen Ergebnissen und konnten zeigen, dass es bei PCOS Patientinnen nach COH zu einem Anstieg der IGF-II und IGFBP-4 Serumspiegel und zu einem Abfall der PAPP-A-Serumkonzentration im Vergleich zu gesunden normoovulatorischen Frauen kommt.

Wodurch die niedrigen MoM-PAPP-A-Werte bei PCOS Patientinnen in der Frühgravidität bedingt sind, kann bis zum jetzigen Zeitpunkt nicht eindeutig geklärt werden. González-Fernández et al. (2010; 2011) konnten zeigen, dass es beim PCOS zu lokalen Veränderung der PAPP-A Expression innerhalb des Follikels kommt. So zeigen PCOS Patientinnen im Gegensatz zu infertilen Frauen mit gesunder Ovarialfunktion einen gestörten BMP-15–KL1/KL2 Feedbackmechanismus zwischen Oozyte und Granulosa Zellen, der mit einer gestörten Follikulogenese einhergeht. Die Untersuchungsergebnisse von González-Fernández (2011), lassen vermuten, dass es bei PCOS Patientinnen auch in anderen Geweben des Reproduktionstraktes, vermutlich auch in der Plazenta, zu einer veränderten Expression von PAPP-A bzw. PAPP-A relevanter Gene kommt. Dafür spricht die Tatsache, dass alle an PCOS erkrankten Patientinnen unabhängig von der Stimulationsstärke erniedrigte MoM-PAPP-A-Werte aufweisen. Aufgrund der ohnehin bestehenden

hormonellen Dysbalance bei PCOS Patientinnen ist insofern auch unter COH eine deutlich stärkere Beeinflussung der MoM-PAPP-A-Werte im Vergleich zu nicht erkrankten hochstimulierten Patientinnen zu erwarten. Vermutlich scheint die hochdosierte hormonelle Stimulation bei PCOS Patientinnen die PAPP-A Syntheseleistung der Trophoblasten deutlich stärker zu beeinflussen als dies bei hochstimulierten Probandinnen ohne ovarielle Dysfunktion der Fall ist.

Es sind jedoch weitere Studien nötig um herauszufinden, durch welchen Pathomechanismus die maternalen PAPP-A-Serumspiegel bei PCOS in der Frühgravidität beeinflusst werden.

Desweiteren ergab unsere Datenanalyse signifikant niedrigere MoM-PAPP-A und MoM-hCG-Werte für Raucherinnen im Vergleich zu Nicht-Raucherinnen. Nach Unterteilung entsprechend der Stimulationsstärke konnte eine signifikante Abnahme der MoM-PAPP-A und hCG-Werte nur für die hochstimulierten IVF/ICSI Patientinnen nachgewiesen werden.

Zhang et al. (2011) sowie Ardawi et al. (2007) konnten ebenfalls reduzierte MoM-PAPP-A und MoM-hCG-Werte bei Raucherinnen im Vergleich zu Nicht-Raucherinnen nachweisen. Durch welchen Mechanismus Rauchen zur Reduktion der MoM-PAPP-A und -hCG-Werte führt, ist bislang noch nicht geklärt. Womöglich führt die Bleibelastung durch das Zigarettenrauchen zu einer negativen Beeinflussung der transplazentaren Übertragung von Mikronährstoffen und führt bei gleichzeitig erniedrigten PAPP-A-Werten zu einer negativen Beeinflussung des fetalen Wachstums und der fetalen Entwicklung (Chelchowska et al., 2008). Desweiteren scheint die durch hochdosierte Stimulation bedingte Reduktion beider Parameter durch Nikotinabusus noch verstärkt zu werden.

Für Patientinnen, die an Endometriose erkrankt sind sowie für Patientinnen mit Hypothyreose konnten wir im Vergleich zur Kontrollgruppe, weder für die MoM-PAPP-A- noch für die MoM-hCG-Werte signifikante Unterschiede nachweisen.

Da bei Patientinnen mit Hypothyreose vor einer Fertilitätsbehandlung eine Substitutionstherapie erfolgt, bis eine euthyreote Stoffwechsellage vorliegt, ist eine Veränderung der MoM-PAPP-A und -hCG-Werte bei vorangehender Hypothyreose auch nicht zu erwarten.

Bei der Endometriose findet sich ein dem Endometrium sehr ähnliches Gewebe auch außerhalb des Uterus. Da PAPP-A auch von endometrialen Stromazellen exprimiert wird (Giudice et al., 2002) könnte man annehmen, dass es bei vorliegender Endometriose zu einem Anstieg der

PAPP-A Serumspiegel kommt. So konnten Arici et al. (2003) sowie Bersinger et al. (2006) nachweisen, dass die PAPP-A-Konzentration in der Peritonealflüssigkeit bei Endometriose Patientinnen signifikant höher ist als bei gesunden Probandinnen, mit einem Maximum in der sekretorischen Phase des Zyklus. Desweiteren konnten sie zeigen, dass die PAPP-A-Konzentration in der Peritonealflüssigkeit mit dem Schweregrad der Endometriose korreliert (Arici et al., 2003; Bersinger et al., 2006). Eine Korrelation zwischen der PAPP-A-Serumkonzentration und dem Krankheitsbild der Endometriose scheint jedoch nicht zu bestehen, da sich in unserem Patientenkollektiv keine signifikanten Unterschiede der MoM-PAPP-A-Werte zwischen Gesunden und Erkrankten nachweisen ließen. Entweder liegt es an der geringen Fallzahl der Endometriose Patientinnen oder PAPP-A wird nur lokal vermehrt sezerniert und führt dadurch nicht zu einem Anstieg im Serum.

Als primäres embryonales Produkt ist hCG ein wichtiger Mediator für die Entwicklung des Synzytiotrophoblasten, für mitogenetisches Wachstum und Differenzierung des Endometriums. Es ist an der Modulation der uterinen Morphologie, der Genexpression und an der Koordination der Signaltransduktion zwischen dem Endometrium beteiligt (Banerjee und Fazleabas, 2011). Banerjee und Fazleabas (2011) konnten zeigen, dass hCG-Rezeptoren in verschiedenen extragonadalen Geweben exprimiert werden und Endometriose mit einer veränderten Antwort auf hCG assoziiert ist. Möglicherweise sind die leicht erhöhten MoM-hCG-Werte Resultat einer veränderten Signaltransduktionskette bei Endometriose, die mit einer vermehrten hCG Synthese einhergeht und somit die leicht erhöhten MoM-hCG-Werte bei Endometriose Patientinnen im Vergleich zur Kontrollgruppe erklären.

Für Patientinnen, bei denen es im Rahmen der Stimulationsbehandlung zu einem Ovariellen Hyperstimulationssyndrom (OHSS) kam, konnten wir keine signifikanten Differenzen der MoM-PAPP-A- und MoM-hCG-Werten im Vergleich zu nicht Betroffenen nachweisen. Das OHSS ist häufig durch eine erhöhte Anzahl persistierender Follikel gekennzeichnet. Die pathologische Antwort auf die hormonelle Stimulation, die zum OHSS führt steht laut Rezábek et al. (2009) in keinem Zusammenhang zu der im Serum oder in der FF gemessenen PAPP-A-Konzentration. Des Weiteren konnten sie keine Korrelation zwischen der Anzahl der Follikel und der PAPP-A-Serumkonzentration nachweisen, da PAPP-A die Blut/Follikel Schranke nicht in signifikanter Menge passiert. Demnach ist eine Veränderung der MoM-PAPP-A-Werte auch nicht zu erwarten.

## 5. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden retrospektiv die Daten und Serumproben von 103 Patientinnen der Fertilitätssprechstunde der Universitäts-Frauenklinik Bonn von 2007 bis zum Frühjahr 2010 bezüglich der Pregnancy associated Plasma Protein-A-Serumspiegel (PAPP-A) im Schwangerschaftsverlauf bei unterschiedlicher Stimulationsstärke und in Hinblick auf mögliche beeinflussende Parameter hin analysiert.

Ziel dieser Arbeit war es den Verlauf der PAPP-A-Serumkonzentration zum Zeitpunkt der Ovulationsinduktion bis zum 52. Schwangerschaftstag nach Konzeption zu untersuchen und mögliche Unterschiede zwischen den Stimulationsstärken (ohne -, low-Dose-, hohe hormonelle Stimulation) herauszuarbeiten.

Der Parameter humanes Choriongonadotropin (hCG), dessen Verlauf im Serum während der Schwangerschaft bereits gut untersucht ist, diente in der vorliegenden Arbeit als Vergleichsparameter zum PAPP-A, um die Validität unseres Beobachtungskollektivs zu dokumentieren.

Die Messung von PAPP-A aus den Serum-Reihen (~15./~25./~35. Tag p.c.) der Patientinnen erfolgte durch einen neuen, hochsensitiven Immunoassay, der im Gegensatz zu früheren Testsystemen auch freies PAPP-A bestimmt.

Insgesamt konnten wir bei 85 % der Patientinnen zum Zeitpunkt der Ovulationsinduktion eine PAPP-A-Serumkonzentration nachweisen. Verglichen mit den PAPP-A-Serumspiegeln 12-17 Tage nach Konzeption, zeigte sich kein signifikanter Unterschied. Zwischen den PAPP-A- und Östradiol-Serumspiegeln ergab sich eine negative Korrelation auf signifikantem Niveau. Die periovulatorischen Östradiol-Serumspiegel unterschieden sich in Abhängigkeit von der Stimulationsstärke signifikant.

Im Verlauf der Frühschwangerschaft waren ein exponentieller Anstieg der PAPP-A- sowie ein exponentieller Anstieg des hCG-Serumspiegel zu beobachten. Ab einer hCG- Konzentration von über 5000 IU/L wurde eine enge positive Korrelation zum PAPP-A-Serumspiegel deutlich.

Die Multiple of Median-Werte (MoM) beider Parameter waren bei Abortschwangerschaften signifikant niedriger. Ebenso zeigten sich in Abhängigkeit von der Stimulationsstärke für beide Parameter niedrigere MoM-Werte unter hochdosierter hormoneller Stimulation, jedoch konnte nur für das hCG das Signifikanzniveau erreicht werden.

Die Auswertung fertilitätsbeeinflussender Nebendiagnosen zeigte sowohl für PAPP-A als auch für hCG signifikant niedrigere MoM-Werte bei Raucherinnen.

Bei Patientinnen mit Polyzystischem Ovarsyndrom (PCOS) wurden signifikant niedrigere MoM-PAPP-A-Werte deutlich. Signifikante Veränderungen der MoM-PAPP-A und MoM-hCG-Werte in Abhängigkeit zu anderen von uns untersuchten Parametern (Anzahl transferierter Embryonen, Tag des Transfers, Alter, Sterilität, Ovarielles Hyperstimulationssyndrom) konnten wir nicht beobachten.

Unsere Analyse zeigte eine negative Korrelation zwischen dem Körpergewicht und den MoM-Werten beider Parameter auf signifikantem Niveau.

Die Ergebnisse dieser Studie verdeutlichen, dass es unter hochdosierter Stimulation zu einer deutlichen Beeinflussung der PAPP-A- und hCG-Serumspiegel kommt. Neben der direkten Wirkung von FSH kommen als Ursachen dafür Veränderungen der Östradiol-Serumkonzentration sowie eine negative Beeinflussung der embryonalen Implantation oder der endometrialen Rezeptivität in Frage. Inwieweit andere Mechanismen die Serumspiegel beider Parameter beeinflussen muss in weiteren Studien verifiziert werden. Neben der Stimulationsbehandlung scheinen auch Nebendiagnosen wie das PCOS, Endometriose oder Nikotinabusus den PAPP-A und hCG-Serumspiegel nicht unerheblich zu beeinflussen. Durch welchen Pathomechanismus dies bedingt ist, bleibt bislang jedoch unklar. Es sollte bedacht werden, dass erniedrigte PAPP-Serumwerte, die nicht durch die Schwangerschaft bedingt sind (z.B. nach hormoneller Stimulationsbehandlung oder bei bestehendem PCOS), im Rahmen des First Trimester Serum Screenings (FITSS) die Risikoberechnung für eine mögliche Chromosomenaberration negativ beeinflussen können.

## 6. Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Schematische Darstellung des PAPP-A Polypeptids, unterteilt in fünf Domänen .....	12
Abb. 2: Orte der PAPP-A Synthese beim Menschen .....	13
Abb. 3: Prozentuale Aufteilung des Patientenkollektivs nach Konzeptionsmodus .....	35
Abb. 4: Schwangerschaftsausgang in Abhängigkeit vom Konzeptionsmodus .....	36
Abb. 5: Korrelation der periovulatorischen PAPP-A- und Östradiol-Serumspiegel .....	40
Abb. 6: PAPP-A Messwerte in der Frühgravidität .....	42
Abb. 7: Verlauf des PAPP-A periovulatorisch und in der Frühgravidität .....	43
Abb. 8: PAPP-A Messwerte p.c. unterteilt nach Schwangerschaftsausgang .....	44
Abb. 9: MoM-PAPPA-Werte in Abhängigkeit vom Schwangerschaftsausgang .....	45
Abb. 10: MoM-PAPP-A-Werte in Abhängigkeit vom Körpergewicht .....	46
Abb. 11: Korrelation zwischen dem PAPP-A- und hCG-Serumspiegel p.c. ....	51
Abb. 12: hCG-Konzentration im Verlauf der Frühgravidität .....	52
Abb. 13: MoM-hCG-Werte in Abhängigkeit vom Körpergewicht .....	53

## 7. Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Über gewichtete Regression errechnete PAPP-A Mediane .....	32
Tab. 2: Gewichtskorrigierte MoM-PAPP-A Mediane .....	34
Tab. 3: Unterteilung des Kollektivs nach Stimulationsstärke und Konzeptionsmodus .....	36
Tab. 4: Charakterisierung des Patientenkollektivs aufgeteilt nach Konzeptionsmodus .....	37
Tab. 5: PAPP-A-Serumspiegel in Abhängigkeit von der Stimulationsstärke.....	39
Tab. 6: Östradiol-Serumspiegel in Abhängigkeit von der Stimulationsstärke.....	39
Tab. 7: PAPP-A in Abhängigkeit von Patientenalter und Schwangerschaftsausgang.....	40
Tab. 8: PAPP-A in Abhängigkeit von Nebendiagnosen und Behandlungskomplikationen .....	41
Tab. 9: MoM-PAPP-A in Abhängigkeit von Patientenalter und Sterilität.....	47
Tab. 10: MoM-PAPP-A-Werte in Abhängigkeit von Embryonenanzahl und Transfertag.....	47
Tab. 11: MoM-PAPP-A-Werte in Abhängigkeit von der Stimulationsstärke .....	48
Tab. 12: MoM-PAPP-A-Werte in Abhängigkeit von Nebendiagnosen.....	49
Tab. 13: MoM-PAPP-A-Werte bei PCOS unterteilt nach Stimulationsstärke .....	49
Tab. 14: MoM-PAPP-A-Werte bei Nikotinabusus unterteilt nach Stimulationsstärke .....	50
Tab. 15: MoM-PAPP-A-Werte in Abhängigkeit von Behandlungskomplikationen .....	50
Tab. 16: MoM-hCG-Werte in Abhängigkeit vom Schwangerschaftsausgang .....	53
Tab. 17: MoM-hCG-Werte in Abhängigkeit von Patientenalter und Sterilität.....	54
Tab. 18: MoM-hCG-Werte in Abhängigkeit von Embryonenanzahl und Transfertag.....	54
Tab. 19: MoM-hCG-Werte in Abhängigkeit von der Stimulationsstärke.....	55
Tab. 20: MoM-hCG-Werte in Abhängigkeit von Nebendiagnosen.....	55
Tab. 21: MoM-hCG-Werte bei Nikotinabusus unterteilt nach Stimulationsstärke.....	56
Tab. 22: MoM-hCG-Werte und Behandlungskomplikationen .....	56

## 8. Literaturverzeichnis

Abbott Laboratories, 2010: ARCHITECT System Total  $\beta$ -hCG. [http://www.ilexmedical.com/files/PDF/TotalBhCG\\_ARC.pdf](http://www.ilexmedical.com/files/PDF/TotalBhCG_ARC.pdf) (Zugriffsdatum: 21.11.2011)

Adashi AY. The IGF family and Folliculogenesis. *Journal of Reproductive Immunology* 1998; 39: 13-19

Akolekar R, Zaragoza E, Poon LC, Pepes S, Nicolaides KH. Maternal serum placental growth factor at 11 + 0 to 13 + 6 weeks of gestation in the prediction of pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2008; 32: 732-739

Akolekar R, Bower S, Flack N, Bilardo CM, Nicolaides KH. Prediction of miscarriage and stillbirth at 11-13 weeks and the contribution of chorionic villus sampling. *Prenat Diagn* 2011; 31: 38-45

Amor DJ, Xu JX, Halliday JL, Francis I, Healy DL, Breheny S, Baker HW, Jaques AM. Pregnancies conceived using assisted reproductive technologies (ART) have low levels of pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) leading to a high rate of false-positive results in first trimester screening for Down syndrome. *Hum Reprod* 2009; 24: 1330-1338

Anckaert E, Schiettecatte J, Sleurs E, Devroey P, Smits J. First trimester screening for Down's syndrome after assisted reproductive technology: non-male factor infertility is associated with elevated free beta-human chorionic gonadotropin levels at 10-14 weeks of gestation. *Fertil Steril* 2008; 90: 1206-1210

Ardawi MS, Nasrat HA, Rouzi AA, Qari MH, Al-Qahtani MH, Abuzenadah AM. Maternal serum free-beta-chorionic gonadotrophin, pregnancy-associated plasma protein-A and fetal nuchal translucency thickness at 10-13<sup>(+6)</sup> weeks in relation to co-variables in pregnant Saudi women. *Prenat Diagn* 2007; 27: 303-311

Arici A, Matalliotakis I, Goumenou A, Koumantakis G, Fragouli Y, Mahutte NG. Increased pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) concentrations in peritoneal fluid of women with endometriosis. *Am J Reprod Immunol* 2003; 49: 70-74

Baker VL, Fujimoto VY, Kettel LM, Adamson GD, Hoehler F, Jones CE, Soules MR. Clinical efficacy of highly purified urinary FSH versus recombinant FSH in volunteers undergoing controlled ovarian stimulation for in vitro fertilization: a randomized, multicenter, investigator-blind trial. *Fertil Steril* 2009; 91: 1005-1011

Banerjee P, Fazleabas AT. Extragonadal actions of chorionic gonadotropin. *Rev Endocr Metab Disord* 2011; 12: 323-332

Battaglia DE, Goodwin P, Klein NA, Soules MR. Influence of maternal age on meiotic spindle assembly in oocytes from naturally cycling women. *Hum Reprod*. 1996; 11: 2217-2222

Bayes-Genis A, Conover CA, Overgaard MT, Bailey KR, Christiansen M, Holmes DR Jr, Virmani R, Oxvig C, Schwartz RS. Pregnancy-associated plasma protein A as a marker of acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2001; 345: 1022-1029

Bender F, Hecken J, Reinsberg J, Berg C, van der Ven H, Gembruch U, Geipel A. Altered first-trimester screening markers after IVF/ICSI: no relationship with small-for-gestational-age and number of embryos transferred. *Reprod Biomed Online* 2010; 20: 516-522

Bersinger NA, Gerrie LM, Luke G, Klopper A. Serum concentration of pregnancy specific and pregnancy-associated proteins in early gestation. *Arch Gynecol*. 1986; 237: 221-228

Bersinger NA, Brandenberger AW, Birkhäuser MH. Endometrial and placental protein markers and ovarian steroids in serum during in-vitro fertilization cycles. *Hum Reprod* 1995; 10: 2149-2154

Bersinger NA, Wunder D, Vanderlick F, Chanson A, Pescia G, Janecek P, Boillat E, Birkhäuser MH. Maternal serum levels of placental proteins after in vitro fertilisation and their implications for prenatal screening. *Prenat Diagn* 2004; 24: 471-477

Bersinger NA, von Roten S, Wunder DM, Raio L, Dreher E, Mueller MD. PAPP-A and osteoprotegerin, together with interleukin-8 and RANTES, are elevated in the peritoneal fluid of women with endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 2006; 195: 103-108

Bischof P, Duberg S, Herrmann W, Sizonenko PC. Amniotic fluid and plasma concentrations of pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) throughout pregnancy: comparison with other fetoplacental products. *Br J Obstet Gynaecol.* 1982; 89: 358-363

Bischof P, Herrmann WL, Sizonenko PC. Pulsatile secretion of pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) in non-pregnant women. *Br J Obstet Gynaecol* 1986; 93: 600-605

Bischof P, Sizonenko MT, Herrmann WL. Trophoblastic and decidual response to RU486: effects on human chorionic gonadotrophin, human placental lactogen, prolactin and pregnancy-associated plasma protein-A production in vitro. *Hum Reprod* 1986; 1: 3-6

Bischof P. Three pregnancy proteins (PP12, PP14, and PAPP-A): their biological and clinical relevance. *Am J Perinatol.* 1989; 6: 110-116

Boldt HB, Overgaard MT, Laursen LS, Weyer K, Sottrup-Jensen L, Oxvig C. Mutational analysis of the proteolytic domain of pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A): classification as a metzincin. *Biochem J* 2001; 358: 359-367

Boldt HB, Kjaer-Sorensen K, Overgaard MT, Weyer K, Poulsen CB, Sottrup-Jensen L, Conover CA, Giudice LC. The Lin-12-notch repeats of pregnancy-associated plasma protein-A bind calcium and determine its proteolytic specificity. *J Biol Chem* 2004; 279: 38525-38531

Boldt HB, Glerup S, Overgaard MT, Sottrup-Jensen L, Oxvig C. Definition, expression, and characterization of a protein domain in the N-terminus of pregnancy-associated plasma protein-A distantly related to the family of laminin G-like modules. *Protein Expr Purif* 2006; 48: 261-273

Boldt HB, Conover CA. Pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A): a local regulator of IGF bioavailability through cleavage of IGFBPs. *Growth Horm IGF Res* 2007; 17: 10-18

Bonno M, Oxvig C, Kephart GM, Wagner JM, Kristensen T, Sottrup-Jensen L, Gleich GJ. Localization of pregnancy-associated plasma protein-A and colocalization of pregnancy-associated plasma protein-A messenger ribonucleic acid and eosinophil granule major basic protein messenger ribonucleic acid in placenta. *Lab Invest* 1994; 71: 560-566

Breckwoldt M, Keck C. Störungen der Fruchtbarkeit. In: Breckwoldt M, Kaufmann M, Pfeiderer A, Hrsg. *Gynäkologie und Geburtshilfe.* Stuttgart: Thieme Verlag, 2008: 84-100

Bundesministerium der Justiz, 2010: Gesetz zum Schutz von Embryonen. <http://bundesrecht.juris.de/eschg/BJNR027460990.html> (Zugriffsdatum: 12.10.2010)

Bundesverband Reproduktionsmedizinischer Zentren Deutschland e.V, 2010: Ungewollte Kinderlosigkeit. <http://www.repromed.de/grundlagen.html> (Zugriffsdatum: 13.09.2010)

Chamberlain CS, Spicer LJ. Hormonal control of ovarian cell production of insulin-like growth factor binding proteins. *Mol Cell Endocrinol* 2001; 182: 69-81

Chelchowska M, Gajewska J, Ambroszkiewicz J, Laskowska-Klita T, Bulska EJ, Leibschang J, Szymański M, Barciszewski J. The influence of lead on concentration of the pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A) in pregnant women smoking tobacco-preliminary study. *Przegl Lek* 2008; 65: 470-473

Chi H, Qiao J, Li H, Liu P, Ma C. Double measurements of serum HCG concentration and its ratio may predict IVF outcome. *Reprod Biomed Online* 2010; 20: 504-509

Clemmons DR. Role of insulin-like growth factor binding proteins in controlling IGF actions. *Mol Cell Endocrinol* 1998; 140: 19-24

Cole LA. Immunoassay of human chorionic gonadotropin, its free subunits, and metabolites. *Clin Chem* 1997; 43: 2233-2243

Cole LA. New discoveries on the biology and detection of human chorionic gonadotropin. *Reprod Biol Endocrinol* 2009; 7: 8

Conn PM, Crowley WF Jr. Gonadotropin-releasing hormone and its analogues. *N Engl J Med* 1991; 324: 93-103

Conover CA, Bale LK, Overgaard MT, Johnstone EW, Laursen UH, Füchtbauer EM, Oxvig C, van Deursen J. Metalloproteinase pregnancy-associated plasma protein A is a critical growth regulatory factor during fetal development. *Development* 2004; 131: 1187-1194

Conover CA, Faessen GF, Ilg KE, Chandrasekher YA, Christiansen M, Overgaard MT, Oxvig C, Giudice LC. Pregnancy-associated plasma protein-a is the insulin-like growth factor binding protein-4 protease secreted by human ovarian granulosa cells and is a marker of dominant follicle selection and the corpus luteum. *Endocrinology* 2001; 142: 2155

Conover CA, Oxvig C, Overgaard MT, Christiansen M, Giudice LC. Evidence that the insulin-like growth factor binding protein-4 protease in human ovarian follicular fluid is pregnancy associated plasma protein-A. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 4742–4745

Daya S, Gunby J. WITHDRAWN: Recombinant versus urinary follicle stimulating hormone for ovarian stimulation in assisted reproduction cycles. *Cochrane Database Syst Rev* 2007; 18: CD002810

Deutsches IVF Register e.V. DIR Jahrbuch 2009 Modifizierter Nachdruck. *J Reproduktionsmed Endokrinol* 2010; 7: 470-497

Dugoff L, Hobbins JC, Malone FD, Porter TF, Luthy D, Comstock CH, Hankins G, Berkowitz RL, Merkatz I, Craigo SD, Timor-Tritsch IE, Carr SR, Wolfe HM, Vidaver J, D'Alton ME. First-trimester maternal serum PAPP-A and free-beta subunit human chorionic gonadotropin concentrations and nuchal translucency are associated with obstetric complications: a population-based screening study (the FASTER Trial). *Am J Obstet Gynecol*. 2004; 191: 1446-1451

Evers J. Female subfertility. *Lancet* 2002; 360: 151–159

Faddy MJ, Gosden RG, Gougeon A, Richardson SJ, Nelson JF. Accelerated disappearance of ovarian follicles in mid-life: implications for forecasting menopause. *Hum Reprod* 1992; 7: 1342-1346

Felberbaum R, Ortmann O, Weiss J, Dietrich K. Entwicklung und Anwendung der GnRH-Analoga in der Sterilitätstherapie. In: Dietrich K, Hrsg. *Weibliche Sterilität: Ursachen, Diagnostik, Therapie*. Berlin-Heidelberg: Springer Verlag, 1998: 127-142

Fernández-Alonso AM, Valdera-Simbrón CJ, Fiol-Ruiz G, Rodríguez-Sánchez F, Chedraui P, Pérez-López FR. First trimester serum levels of 25-hydroxyvitamin D, free  $\beta$ -human chorionic gonadotropin, and pregnancy-associated plasma protein A in Spanish women. *Gynecol Endocrinol* 2011; 27: 1061–1064

Fialova L, Malbohan IM. Pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A): theoretical and clinical aspects. *Bratisl Lek Listy* 2002; 103: 194-205

Fortune JE, Rivera GM, Yang MY. Follicular development: the role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. *Anim Reprod Sci* 2004; 82-83: 109-126

Franks S. Polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 1995; 333: 853-861

Fretts RC, Wilkins-Haug L, Barss VA, 2010: Effect of advanced age on fertility and pregnancy in women. [http://www.uptodate.com/contents/effect-of-advanced-age-on-fertility-and-pregnancy-in-women?source=search\\_result&search=Effect+of+advanced+age+on+fertility+and+pregnancy+in+women.&selectedTitle=1%7E150](http://www.uptodate.com/contents/effect-of-advanced-age-on-fertility-and-pregnancy-in-women?source=search_result&search=Effect+of+advanced+age+on+fertility+and+pregnancy+in+women.&selectedTitle=1%7E150) (Zugriffsdatum: 10.10. 2010)

Gesink Law DC, Macle hose RF, Longnecker MP. Obesity and time to pregnancy. *Hum Reprod* 2007; 22: 414-420

Ghisoni L, Ferrazzi E, Castagna C, Levi Setti PE, Masini AC, Pigni A. Prenatal diagnosis after ART success: the role of early combined screening tests in counselling pregnant patients. *Placenta* 2003; 24: 99-103

Giudice LC, Conover CA, Bale L, Faessen GH, Ilg K, Sun I, Imani B, Suen L-F, Irwin JC, Christiansen M, Overgaard MT, Oxvig C. Identification and regulation of the IGFBP-4 protease and its physiologic inhibitor in human trophoblasts and endometrial stroma: evidence for paracrine regulation of IGF-II bioavailability in the placental bed during human implantation. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 2359–2366

Gjerris AC, Loft A, Pinborg A, Christiansen M, Tabor A. First-trimester screening markers are altered in pregnancies conceived after IVF/ICSI. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2009; 33: 8-17

Gold RS, Azem F, Yovel I, Wagman I, Amit A, Lessing JB. Does ICSI affect early serum beta-HCG in pregnancies achieved after IVF? *Hum Reprod.* 2000; 15: 1221-1224

González-Fernández R, Peña O, Hernández J, Martín-Vasallo P, Palumbo A, Avila J. FSH receptor, KL1/2, P450, and PAPP genes in granulosa-lutein cells from in vitro fertilization patients show a different expression pattern depending on the infertility diagnosis. *Fertil Steril* 2010; 94: 99-104

González-Fernández R, Peña Ó, Hernández J, Martín-Vasallo P, Palumbo A, Ávila J. Patients with endometriosis and patients with poor ovarian reserve have abnormal follicle-stimulating hormone receptor signaling pathways. *Fertil Steril* 2011; 95: 2373-2378

Gordon K, Irianni F, Hodgen GD. Management of pituitary gonadal function via gonadotrophin releasing hormone (GnRH) antagonists, including ovulation induction by co-administration of either gonadotrophins or pulsatile GnRH. *Hum Reprod* 1993; 8: 204-209

Graf M. Reproduktionsmedizin. In: Baltzer J, Friese K, Graf M, Wolff F, Hrsg. *Praxis der Gynäkologie und Geburtshilfe: Das komplette Praxiswissen in einem Band*, Stuttgart: Thieme Verlag, 2006: 392-394

Guibourdenche J, Frendo JL, Pidoux G, Bertin G, Luton D, Muller F, Porquet D, Evain-Brion D. Expression of pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) during human villous trophoblast differentiation in vitro. *Placenta* 2003; 24: 532-539

Han VK, Bassett N, Walton J, Challis JR. The expression of insulin-like growth factor (IGF) and IGF-binding protein (IGFBP) genes in the human placenta and membranes: evidence for IGF-IGFBP interactions at the feto-maternal interface. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 2680-2693

Haouzi D, Mahmoud K, Fourar M, Bendhaou K, Dechaud H, De Vos J, Rème T, Dewailly D, Hamamah S. Identification of new biomarkers of human endometrial receptivity in the natural cycle. *Hum Reprod* 2009; 24:198-205

Haslam DW, James WP. Obesity. *Lancet* 2005; 366: 1197-1209

Hourvitz A, Kuwahara A, Hennebold JD, Tavares AB, Negishi H, Lee TH, Erickson GF, Adashi EY. The regulated expression of the pregnancy-associated plasma protein-A in the rodent ovary: a proposed role in the development of dominant follicles and of corpora lutea. *Endocrinology* 2002; 143: 1833-1844

Hsu MI, Mayer J, Aronshon M, Lanzendorf S, Muasher S, Kolm P, Oehninger S. Embryo implantation in in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection: impact of cleavage status, morphology grade, and number of embryos transferred. *Fertil Steril* 1999; 72: 679-685

Hui PW, Lam YH, Tang MH, NG EH, Yeung WS, Ho PC. Maternal serum pregnancy-associated plasma protein-A and free beta-human chorionic gonadotrophin in pregnancies conceived with fresh and frozen-thawed embryos from in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection. *Prenat Diagn* 2005; 25: 390-393

Hwa V, Oh Y, Rosenfeld RG. The insulin-like growth factor binding protein (IGFBP) superfamily. *Endocr Rev* 1999; 20: 761-787

Iwashita M, Kudo, Y, Takeda Y. Effects of follicle stimulating hormone and insulin-like growth factors on proteolysis of insulin-like growth factor binding protein-4 in human granulosa cells. *Mol Hum Reprod* 1998; 4: 401-405

Jones J, Clemmons D. Insulin-Like Growth Factors and Their Binding Proteins: Biological Actions. *Endocr Rev* 1995; 16: 3-34

Katzorke T, Rickert-Föhring M, Bielfeld P, Kolodziej FB. Weibliche und männliche Fertilitätsstörungen und Risiken der assistierten Fertilisation. In: Fritze J, Merhoff F, Hrsg. Die ärztliche Begutachtung: Rechtsfragen, Funktionsprüfungen, Beurteilungen. Heidelberg: Steinkopff Verlag, 2008: 533-547

Kirkegaard I, Ulbjerg N, Oxvig C. Biology of pregnancy-associated plasma protein-A in relation to prenatal diagnostics: an overview. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2010; 89: 1118-1125

Kirstensen T, Oxvig C, Sand O, Moller HNP, Sottrup-Jensen L. Amino acid sequence of human pregnancy associated plasma protein-A derives from cloned cDNA. *Biochemistry* 1994; 33: 159-163

Kniss DA, Shubert PJ, Zimmerman PD, Landon MB, Gabbe SG. Insulin-like growth factors: their regulation of glucose and amino acid transport in placental trophoblasts isolated from first-trimester chorionic villi. *J Reprod Med* 1994; 39: 249-256

Krantz DA, Hallahan TW, Macri VJ, Macri JN. Maternal weight and ethnic adjustment within a first-trimester Down syndrome and trisomy 18 screening program. *Prenat Diagn* 2005; 25: 635-640

Küpker W, Al-Hasani S, Diedrich K. Moderne Techniken der assistierten Reproduktionsmedizin. In: Bender HG, Diedrich K, Künzel W, Hrsg. Endokrinologie und Reproduktionsmedizin III. München-Wien-Baltimore: Urban und Schwarzenberg Verlag, 1998: 284-299

Laursen LS, Overgaard MT, Søe R, Boldt HB, Sottrup-Jensen L, Giudice LC, Conover CA, Oxvig C. Pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) cleaves insulin-like growth factor binding protein (IGFBP)-5 independent of IGF: implications for the mechanism of IGFBP-4 proteolysis by PAPP-A. *FEBS Lett* 2001; 504: 36-40

Lawrence JB, Oxvig C, Overgaard MT, Sottrup-Jensen L, Gleich GJ, Hays LG, Yates JR 3rd, Conover CA. The insulin-like growth factor (IGF)-dependent IGF binding protein-4 protease secreted by human fibroblasts is pregnancy-associated plasma protein-A. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 3149-3153

Lenton EA, Neal LM, Sulaiman R. Plasma concentrations of human chorionic gonadotropin from the time of implantation until the second week of pregnancy. *Fertil Steril* 1982; 37: 773-778

Leung TY, Chan LW, Leung TN, Fung TY, Sahota DS, Lau TK. First-trimester maternal serum levels of placental hormones are independent predictors of second-trimester fetal growth parameters. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2006; 27: 156-161

Lin T, Halbert S, Kiefer D, Spellacy W, Gall S. Characterisation of four human pregnancy associated plasma proteins. *Am J Obstet Gynecol* 1974; 118: 223-236

Liu Y, Lee KF, Ng EH, Yeung WS, Ho PC. Gene expression profiling of human peri-implantation endometria between natural and stimulated cycles. *Fertil Steril* 2008; 90: 2152-2164

Malik E, Vogt J. Endometriose. In: Leidenberger F, Strowitzki, Ortmann O, „Hrsg“. *Klinische Endokrinologie für Frauenärzte*. Heidelberg: Springer Verlag, 2009: 562-575

Marttala J, Peuhkurinen S, Laitinen P, Gissler M, Nieminen P, Ryyanen M. Low maternal PAPP-A is associated with small-for-gestational age newborns and stillbirths. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2010; 89: 1226-1228

Mason HD, Willis D, Holly JMP, Cwyfan-Hughes SC, Seppala M, Franks S. Inhibitory effects of insulin-like growth factor binding proteins on steroidogenesis by human granulosa cells in culture. *Mol Cell Endocrinol* 1992; 89: R1-R4

Mason HD, Willis DS, Holly JM, Franks S. Insulin preincubation enhances insulin-like growth factor-II (IGF-II) action on steroidogenesis in human granulosa cells. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 78:1265-1267

Mason HD, Cwyfan-Hughes S, Holly JM, Franks S. Potent inhibition of human ovarian steroidogenesis by insulin-like growth factor binding protein-4 (IGFBP-4). *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 284-287

Matilainen M, Peuhkurinen S, Laitinen P, Jarvela I, Morin-Papunen L, Ryyanen M. In combined first-trimester Down syndrome screening, the false-positive rate is not higher in pregnancies conceived after assisted reproduction compared with spontaneous pregnancies. *Fertil Steril* 2011; 95: 378-381

Matsui M, Sonntag B, Hwang SS, Byerly T, Hourvitz A, Adashi EY, Shimasaki S, Erickson GF. Pregnancy-associated plasma protein-a production in rat granulosa cells: stimulation by follicle-stimulating hormone and inhibition by the oocyte-derived bone morphogenetic protein-15. *Endocrinology* 2004; 145: 3686-3695

Maymon R, Shulman A. Integrated first- and second-trimester Down syndrome screening test among unaffected IVF pregnancies. *Prenat Diagn* 2004; 24: 125-129

Mazerbourg S, Bondy CA, Zhou J, Monget P. The insulin-like growth factor system: a key determinant role in the growth and selection of ovarian follicles? a comparative species study. *Reprod Domest Anim* 2003; 38: 247-258

Merz E, Thode C, Eiben B, Faber R, Hackelöer BJ, Huesgen G, Pruggmaier M, Wellek S. Individualized correction for maternal weight in calculating the risk of chromosomal abnormalities with first-trimester screening data. *Ultraschall Med* 2011; 32: 33-39

Moore RK, Shimasaki S. Molecular biology and physiological role of the oocyte factor, BMP-15. *Mol Cell Endocrinol* 2005; 234: 67-73

Moos J, Filova V, Pavelkova J, Moosova M, Peknicova J, Rezabek K. Follicular fluid and serum levels of inhibin A and pregnancy-associated plasma protein A in patients undergoing IVF. *Fertil Steril* 2009; 91: 1739-1744

Nestler JE, Williams T. Modulation of aromatase and P450 cholesterol side-chain cleavage enzyme activities of human placental cytotrophoblasts by insulin and insulin-like growth factor I. *Endocrinology* 1987; 121: 1845–1852

Nestler JE. Insulin-like growth factor II is a potent inhibitor of the aromatase activity of human placental cytotrophoblasts. *Endocrinology* 1990; 127: 2064–2070

Neulen J, Neises M. Infertilität und Sterilität - Reproduktionsmedizin. In: Kiechle M, Hrsg. *Gynäkologie und Geburtshilfe*. München: Urban und Fischer Verlag, 2007: 199-217

Nicolaides KH, von Kaisenberg CS. Die Ultraschalluntersuchung von 11–13<sup>+6</sup> Schwangerschaftswochen. Fetal Medicine Foundation, London, 2004

Nicolaides KH. Screening for fetal aneuploidies at 11 to 13 weeks. *Prenat Diagn* 2011; 31: 7-15

Ning Y, Schuller AG, Conover CA, Pintar JE. Insulin-like growth factor (IGF) binding protein-4 is both a positive and negative regulator of IGF activity in vivo. *Mol Endocrinol* 2008; 22: 1213-1225

Nyegaard M, Overgaard MT, Su YQ, Hamilton AE, Kwintkiewicz J, Hsieh M, Nayak NR, ContiM, Conover CA, Giudice LC. Lack of functional pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) compromises mouse ovarian steroidogenesis and female fertility. *Biol Reprod* 2010; 82: 1129-1138

Odibo AO, Zhong Y, Longtine M, Tuuli M, Odibo L, Cahill AG, Macones GA, Nelson DM. First-trimester serum analytes, biophysical tests and the association with pathological morphometry in the placenta of pregnancies with preeclampsia and fetal growth restriction. *Placenta* 2011; 32: 333-338

Osmanağaoğlu MA, Erdoğan I, Eminağaoğlu S, Karahan SC, Ozgün S, Can G, Bozkaya H. The diagnostic value of beta-human chorionic gonadotropin, progesterone, CA125 in the prediction of abortions. *J Obstet Gynaecol* 2010; 30: 288-293

Overgaard MT, Haaning J, Boldt HB, Olsen IM, Laursen LS, Christiansen M, Gleich GJ, Sottrup-Jensen L, Conover CA, Oxvig C. Expression of recombinant human pregnancy-associated plasma protein-A and identification of the proform of eosinophil major basic protein as its physiological inhibitor. *J Biol Chem* 2000; 275: 31128-31133

Oxvig C., Sand O, Kristensen L, Sottrup-Jensen L. Isolation and characterisation of circulating complex between human pregnancy-associated plasma protein-A and proform of eosinophil major basic protein. *Biochim Biophys Acta* 1994; 1201: 415-423

Pandey S, Pandey S, Maheshwari A, Bhattacharya S. The impact of female obesity on the outcome of fertility treatment. *J Hum Reprod Sci* 2010; 3: 62-67

Paulson RJ, Sauer MV, Lobo RA. Embryo implantation after human in vitro fertilization: importance of endometrial receptivity. *Fertil Steril* 1990; 53: 870-874

Paulson RJ, Sauer MV, Lobo RA. Factors affecting embryo implantation after human in vitro fertilization: a hypothesis. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 163: 2020-2023

Poikkeus P, Hiilesmaa V, Tiitinen A. Serum HCG 12 days after embryo transfer in predicting pregnancy outcome. *Hum Reprod* 2002; 17: 1901-1905

Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Endometriosis and infertility. *Fertil Steril* 2004; 81: 1441-1446

Rezábek K, Moosová M, Pavelková J, Moos J, Filová V. Follicular fluid and serum concentrations of PAPP-A in OHSS risk group of women undergoing IVF stimulation. *Ceska Gynekol* 2009; 74: 80-84

Rhoton-Vlasak A, Gleich GJ, Bischof P, Chegini N. Localization and cellular distribution of pregnancy-associated plasma protein-a and major basic protein in human ovary and corpora lutea throughout the menstrual cycle. *Fertil Steril* 2003; 79: 1149-1153

Rivera GM, Fortune JE. Selection of the dominant follicle and insulin-like growth factor (IGF) binding proteins: evidence that pregnancy-associated plasma protein-A contributes to proteolysis of IGF-binding protein 5 in bovine follicular fluid. *Endocrinology* 2003; 144: 437-446

Rohe JW, Lütjen-Drécoll E. Implantation des Keimes, Plazentaentwicklung. In: Rohe JW, Lütjen-Drécoll E, Hrsg. Funktionelle Zytologie. Stuttgart: Schattauer Verlag, 2000: 383-385

Rowe T. Fertility and a woman's age. *J Reprod Med* 2006; 5: 157-163

Rütz E. Medizinische Grundlagen-Terminologie und Typologie. In: Rütz E, Hrsg. Heterologe Insemination-Die rechtliche Stellung des Samenspenders: Lösungsansätze zur rechtlichen Handhabung. Berlin: Springer Verlag, 2007: 5-15

Sahota DS, Leung TY, Fung TY, Chan LW, Law LW, Lau TK. Medians and correction factors for biochemical and ultrasound markers in Chinese women undergoing first-trimester screening for trisomy 21. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2009; 33: 387-393

Sahraravand M, Järvelä IY, Laitinen P, Tekay AH, Ryyänen M. The secretion of PAPP-A, ADAM12, and PP13 correlates with the size of the placenta for the first month of pregnancy. *Placenta* 2011; 32: 999-1003

Salvig JD, Kirkegaard I, Winding TN, Henriksen TB, Tørring N, Uldbjerg N. Low PAPP-A in the first trimester is associated with reduced fetal growth rate prior to gestational week 20. *Prenat Diagn* 2010; 30: 503-508

Silahtaroglu AN, Tümer Z, Kristensen T, Sottrup-Jensen L, Tommerup N. Assignment of the human gene for pregnancy-associated plasma protein A (PAPPA) to 9q33.1 by fluorescence in situ hybridization to mitotic and meiotic chromosomes. *Cytogenet Cell Genet* 1993; 62: 214-216

Smith GC, Stenhouse EJ, Crossley JA, Aitken DA, Cameron AD, Connor JM. Early pregnancy levels of pregnancy-associated plasma protein a and the risk of intrauterine growth restriction, premature birth, preeclampsia, and stillbirth. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 1762-1767

Spencer K, Ong C, Skentou H, Liao AW, Nicolaides H. Screening for trisomy 13 by fetal nuchal translucency and maternal serum free beta-hCG and PAPP-A at 10–14 weeks of gestation. *Prenat Diagn* 2000; 20: 411-416

Spencer K, Nicolaides KH. A first trimester trisomy 13/trisomy 18 risk algorithm combining fetal nuchal translucency thickness, maternal serum free beta-hCG and PAPP-A. *Prenat Diagn* 2002; 22: 877-879

Spencer K, Cowans NJ, Avgidou K, Nicolaidis KH. First-trimester ultrasound and biochemical markers of aneuploidy and the prediction of impending fetal death. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2006; 28: 637-643

Spicer LJ. Proteolytic degradation of insulin-like growth factor binding proteins by ovarian follicles: a control mechanism for selection of dominant follicles. *Biol Reprod* 2004; 70: 1223-1230

Statistisches Bundesamt Deutschland, 2009: Durchschnittliches Alter der Mutter bei der Geburt ihrer lebendgeborenen Kinder in Deutschland.

<http://www.destatis.de/jetspeed/portal/cms/Sites/destatis/Internet/DE/Content/Statistiken/Bevoelkerung/GeburtenSterbefaelle/Tabellen/Content75/GeburtenMutteralter,templateId=renderPrint.ppt> (Zugriffsdatum: 25.04.2011)

Stauber M. Untersuchungen in der Schwangerschaft. In: Stauber M, Weyerstahl T, Hrsg. *Duale Reihe, Gynäkologie*. Stuttgart: Thieme Verlag, 2005: 515

Strowitzki T. Praktisches Vorgehen bei gestörter Ovarfunktion und damit assoziierten Phänomenen. In: Leidenberger F, Strowitzki, Ortmann O, Hrsg. *Klinische Endokrinologie für Frauenärzte*. Heidelberg: Springer Verlag, 2009: 635-687

Stulc T, Malbohan I, Malík J, Fialová L, Soukupová J, Ceska R. Increased levels of pregnancy-associated plasma protein-A in patients with hypercholesterolemia: the effect of atorvastatin treatment. *Am Heart J* 2003; 146: 1060-1063

Sun IY, Overgaard MT, Oxvig C, Giudice LC. Pregnancy-associated plasma protein A proteolytic activity is associated with the human placental trophoblast cell membrane. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 5235-5240

Tul N, Novak-Antolic Z. Serum PAPP-A levels at 10-14 weeks of gestation are altered in women after assisted conception. *Prenat Diagn* 2006; 26: 1206-1211

von Otte S. Neue Entwicklungen in der Reproduktionsmedizin. *CME Prakt Fortbild Gynäkol Geburtsmed Endocrinol* 2007; 3: 16-25

Wald NJ, Watts HC, Hackshaw AK. Integrated screening for Down's syndrome based on tests performed during the first and second trimesters. *N Engl J Med* 1999; 341: 461-467

Wald NJ, Rodeck C, Hackshaw AK, Walters J, Chitty L, Mackinson AM. First and second trimester antenatal screening for Down's syndrome: the results of the Serum, Urine and Ultrasound Screening Study (SURUSS). *J Med Screen* 2003; 10: 56-104

Wang J, Qiu Q, Haider M, Bell M, Gruslin A, Christians JK. Expression of pregnancy-associated plasma protein A2 during pregnancy in human and mouse. *J Endocrinol* 2009; 202: 337-345

Weisz B, Rodeck CH. An update on antenatal screening for Down's syndrome and specific implications for assisted reproduction pregnancies. *Hum Reprod Update* 2006; 12: 513-518

Westergaard JG, Teisner B, Grudzinskas JG. Serum PAPP-A in normal pregnancy: relationship to fetal and maternal characteristics. *Arch Gynecol* 1983; 233: 211-215

Westergaard L, Sinosich MJ, Grudzinskas JG, Bolton T, McNatty KP, Saunders DM, Teisner B, Westergaard J. Pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) in preovulatory, nonovulatory healthy, and atretic human ovarian follicles during the natural cycle. *Ann N Y Acad Sci* 1985; 442: 205-211

Wøjdemann KR, Larsen SO, Shalmi A, Sundberg K, Christiansen M, Tabor A. First trimester screening for Down syndrome and assisted reproduction: no basis for concern. *Prenat Diagn* 2001; 21: 563-565

World Health Organization, 2006: BMI Classification. [http://apps.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro\\_3.html](http://apps.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro_3.html) (Zugriffsdatum: 27.11.2011)

Wortelboer E, Koster M, Cuckle H, Stoutenbeek P, Schielen P, Visser G. First-trimester placental protein 13 and placental growth factor: markers for identification of women destined to develop early-onset pre-eclampsia. *BJOG* 2010; 117: 1384-1349

Yaron Y, Heifetz S, Ochshorn Y, Lehavi O, Orr-Urtreger A. Decreased first trimester PAPP-A is a predictor of adverse pregnancy outcome. *Prenat Diagn* 2002; 22: 778-782

Zhang J, Lambert-Messerlian G, Palomaki GE, Canick JA. Impact of smoking on maternal serum markers and prenatal screening in the first and second trimesters. *Prenat Diagn* 2011; 31: 583-588

Zhong G, Chen B. Serum and follicular fluid levels of IGF-II, IGF-binding protein-4 and pregnancy-associated plasma protein-A in controlled ovarian hyperstimulation cycle between polycystic ovarian syndrome (PCOS) and non-PCOS women. *Gynecol Endocrinol* 2011; 27: 86-90

Zhou R, Diehl D, Hoeflich A, Lahm H, Wolf E. IGF-binding protein-4: biochemical characteristics and functional consequences. *J Endocrinol* 2003; 178: 177-193

## **9. Danksagung**

An erster Stelle möchte ich mich ganz herzlich bei meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. H. van der Ven für die Bereitstellung des Themas und die abschließende Begutachtung dieser Arbeit bedanken.

Ein ganz herzlicher Dank gilt meinem Betreuer Herrn Dr. med. Frank Bender für die wertvolle Unterstützung und die umfangreichen Hilfestellungen und seine vielen kreativen Anregungen.

Weiterhin bedanke ich mich bei Herrn Dr. Jochen Reinsberg, für die hervorragende Betreuung im Labor, den großen Zeiteinsatz, die stetigen Anregungen, die er mir beim Bearbeiten dieses Themas gab und für die Hilfestellungen bei der statistischen Bearbeitung.

Vielen Dank den Mitarbeitern der Universitäts-Frauenklinik Bonn, die mir Einblick in ihre Unterlagen gewährt haben.

Dr. med. Christian von der Gathen danke ich für die aufmunternden Zusprüche bei Motivations-tiefen und dafür, dass er immer ein offenes Ohr bei Problemen hatte.

Desweiteren bedanke ich mich bei meinen Freunden, vor allem bei Nadine Horak, die mich durch ihren Glauben an mein Können, während der Anfertigung dieser Arbeit stets begleitete.

Zuletzt gilt mein liebevoller Dank meinen Eltern und meinen Geschwistern, die mich durch ihre Liebe und ihr Vertrauen in mich unterstützten.