

Aus der Frauenklinik und Poliklinik
der Universität Würzburg
Direktor: Prof. Dr. med. J. Dietl

Einfluß immunologischer Mechanismen bei der Implantation von Embryonen
und deren therapeutischer Nutzen im Rahmen des IVF-Programms

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät
der
Bayerischen Julius-Maximilians-Universität zu Würzburg
vorgelegt von
Veronika Piger
aus München

Würzburg, April 2001

Referent: Prof. Dr. med. W. Würfel

Korreferent: Prof. Dr. med J. Dietl

Dekan: Prof. Dr. med. V. ter Meulen

Tag der mündlichen Prüfung: 07.01.2002

Die Promovendin ist Ärztin

INHALTSVERZEICHNIS

1. Einleitung	1
2. Material und Methoden	4
2.1 Patientenkollektiv	4
2.1.1 Alter	4
2.1.2 Weibliche Diagnose	4
2.1.3 Vorgeschichte	5
2.2 Diagnostik	7
2.2.1 Spermogrammbeefunde	7
2.2.2 Gegenüberstellung von gynäkologischer Diagnose und Spermogrammbeefund	8
2.3 Immuntherapie	9
2.3.1 Immunologische Diagnostik	9
2.3.2 Immunisierung	10
2.3.3 Erythrozyten-Antikörper-Rosetten-Inhibitions-Test (EAI-Test)	10
2.4 In-vitro-Fertilisation (IVF)	11
2.4.1 Zyklusstimulation	11
2.4.2 In-vitro-Fertilisation und Embryotransfer (IVF/ET)	13
2.5 Statistische Auswertung	14
3. Ergebnisse	15
3.1 Therapiezyklen vor Immunisierungsbehandlung	15
3.1.1 Korrelation mit der Anamnese	16
3.1.2 Korrelation mit der gynäkologischen Diagnose	17
3.2 Immunisierung	18
3.2.1 Korrelation mit der Diagnose	19
3.3 Erfolg der Behandlung	21
3.3.1 Schwangerschaften nach Immunisierungsbehandlung	21
3.3.2 Korrelation mit den Schwangerschaften vor Immunisierungsbehandlung	22
3.3.3 Verlauf der Schwangerschaftsrate nach Immunisierungsbehandlung	23
3.3.4 Gegenüberstellung der Schwangerschaftsverläufe vor und nach Immunisierung	24

4.	Diskussion	25
4.1	Diskussion der Ergebnisse im Einzelnen	25
4.1.1	Einfluß auf die Schwangerschaftsrate	26
4.1.1	Einfluß auf die Schwangerschaftsverläufe	27
4.1.3	Beeinflussung durch patientenbezogene Parameter	28
4.2	Immunisierungstherapie	29
4.3	Hypothesen für das immunologisch begründete Abortgeschehen	32
4.3.1	Zytotoxische antipaternale Antikörper	33
4.3.2	Blockierende Faktoren	37
4.3.3	HLA-Sharing	39
4.3.3.1	HLA-Sharing bei CHA-Patientinnen	39
4.3.3.2	HLA-Sharing bei IVF-Patientinnen mit wdh., frustranen IVF-Behandlungzyklen	40
4.4	Immunisierungsbehandlung bei IVF-Patientinnen	41
5.	Zusammenfassung	43
6.	Tabellenanhang	45
7.	Literaturverzeichnis	56

Danksagungen

Lebenslauf

1. Einleitung

Seit der Geburt des ersten Kindes Louise Joy Brown in Bristol, das durch P.C. Steptoe und R.G. Edwards mittels In-vitro-Fertilisation (IVF) gezeugt wurde, hat sich diese Methode als Möglichkeit etabliert, kinderlosen Paaren zu einem eigenen Kind zu verhelfen. War es 1978 nur eine Oozyte, die man mittels Laparoskopie im Spontanzyklus entnahm, so haben sich die Methoden seither entscheidend weiterentwickelt.

Die Zyklen werden üblicherweise hormonell stimuliert, mehrere Eizellen durch transvaginale, ultraschallkontrollierte Follikel-Punktion gewonnen und in aller Regel mehrere Präimplantationsembryonen transferiert.

Aufgrund der extrakorporalen Fertilisation und des folgenden intrauterinen oder intratubaren Embryotransfer läßt sich eine genaue Zuordnung zwischen der Zahl der transferierten Embryonen, ihrer Morphologie und der daraus entstandenen Schwangerschaften bzw. Implantationen, d.h. Fruchtanlagen, treffen. Das bedeutet, daß sich die Implantationsrate eines jeden einzelnen, transferierten Embryos ziemlich exakt feststellen läßt.

Das Spektrum der Indikationen für die extrakorporale Befruchtung hat sich sehr erweitert. Wurde sie am Anfang hauptsächlich zur Behandlung der tubaren Sterilität eingesetzt, so stellt heute die männliche Subfertilität einen großen Anteil der Indikationen dar. Desweiteren kann sie bei sterilen Endometriose-Patientinnen angezeigt sein, sowie bei immunologischer und idiopathischer Sterilität (vgl. Sozialgesetzbuch V, SGB V).

Nach einem Transfer von drei Präimplantationsembryonen ist mit einer durchschnittlichen Schwangerschaftsrate von 20 bis 25% pro Zyklus zu rechnen. An guten Zentren beträgt die sog. kumulative Schwangerschaftsrate nach drei bis vier IVF-Zyklen zwischen 60-70% (Deutsches IVF-Register; DIR). Unter Berücksichtigung der Mehrlingsanlage, errechnet sich eine Implantationsrate des IVF-Embryos von ca. 10%, während man beim natürlich gezeugten, humanen Embryo von 15-20% ausgeht. Diese Zahlenangaben gelten natürlich nur, wenn Faktoren, die z.B. die Eizellqualität beeinträchtigen (z.B. das PCO-Syndrom) vorher erkannt und saniert worden sind.

Es wird schon lange beobachtet, daß es trotz des hohen Standards, den man heute in der IVF-Behandlung erreicht hat, bestimmte Patientinnen bzw. Paare gibt, bei denen es nach der Durchführung von drei oder mehr Behandlungszyklen unter optimalen Bedingungen und mit einem Transfer von mehr als sechs Embryonen insgesamt nicht zum Eintritt einer Schwangerschaft kommt.

Dies läßt vermuten, daß bei bestimmten Patientinnen Probleme in der Implantationsphase vorliegen. Diese könnten entweder darin bestehen, daß sich ein Embryo gar nicht implantiert oder, daß er kurz nach der Implantation wieder abstirbt. Hieraus ergäbe sich eine Ähnlichkeit zum klinischen Abortgeschehen.

Heute weiß man, daß dem klinischen Abortgeschehen in 60 bis 70% Chromosomenaberrationen zu Grunde liegen; in den übrigen Fällen wird hauptsächlich eine immunologische Ursache angenommen. Es liegt daher nahe, die Ursache wiederholter frustraner IVF-Behandlungen - in Übertragung der Verhältnisse auf das klinische Abortgeschehen - auch im immunologischen Bereich zu suchen.

Seit längerem gibt es ein immunologisches Behandlungskonzept für chronisch habituelle Aborte (CHA), das von der Gruppe um E. Westphal am Immunologischen Institut an der Universität Kiel favorisiert und durchgeführt wird. Dieses Konzept gilt in der Literatur immer noch als sehr umstritten, zum einen aus theoretischen und methodischen Gründen, zum anderen, weil die Genese der CHA sehr heterogen ist - und damit auch die Definition von Vergleichskollektiven.

Demgegenüber ist die Technik der IVF ein relativ klares, in den einzelnen Schritten stets überprüfbares Modell, bei dem eventuelle Störfaktoren zudem gut eliminierbar sind. Hiernach ist es möglich, relativ homogene Patientenkollektive zu definieren, wobei sogar Vergleiche auf den wichtigen Ebenen der Eizellqualität, Fertilisation, Embryonenqualität usw. möglich sind.

Nimmt man nun an, daß das Ausbleiben einer Schwangerschaft nach mehreren einwandfreien IVF-Behandlungszyklen hauptsächlich immunologisch begründet ist, ist es eigentlich nur schlüssig, das Behandlungskonzept der Kieler Arbeitsgruppe, das bislang nur auf CHA angewendet wurde, auf die betreffenden IVF-Patientinnen zu übertragen.

Die Fragen mit denen sich diese Untersuchung befaßt, bestehen darin, ob es tatsächlich immunologische Gründe gibt, die zu einem Versagen wiederholter IVF-Behandlung führen können und ob man diese Probleme durch das Kieler Konzept, das bisher nur bei CHA Patientinnen Anwendung fand, therapeutisch angehen kann. Zugleich soll damit auch die generelle Wertigkeit des Kieler Konzepts evaluiert werden, zumal es in seiner Anwendung auf das (heterogene) CHA-Kollektiv bis heute - wie bereits erwähnt - in der Literatur umstritten ist.

Bezüglich immunologischer Ursachen beim klinischen Abortgeschehen stehen im wesentlichen zwei Hauptthesen bzw. -erklärungsmodelle in der Diskussion: Die eine wird von der Arbeitsgruppe um W.P. Faulk vertreten und die andere von der Gruppe um A.E. Beer.

Faulk vertritt die Ansicht, daß die Bildung von blockierenden Antikörpern, der entscheidende mütterliche Schutzmechanismus zur Aufrechterhaltung einer Schwangerschaft ist. Den Ausgangspunkt für das Signal, das die Bildung dieser Antikörper anregt, sieht er in einem Antigen-System. Dieses Antigen-System ist sowohl auf der Membran des Trophoblasten, als auch auf Lymphozyten zu finden und wird deswegen TLX-System genannt (=Trophoblast-Lymphozyten kreuzreagierende Antigene).

Es weist, Faulk zufolge, eine enge Assoziation zum HLA-System auf. Bei zu großer Übereinstimmung im HLA-System, wie dies bei Paaren mit CHA häufig der Fall sein soll, unterbleibt die Induktion dieser schützenden Antikörper und es kommt zur Abstoßung des fremden Embryonalgewebes.

Beer hingegen sieht die Ursache in einem immunologischen Hemmechanismus auf Seiten des Uterus, welcher das Erkennen des Fremdsignals verhindert, das für einen ausreichenden Schutzmechanismus notwendig wäre. Die Ursache für die unzureichende Immunantwort sieht er in Suppressor-Lymphozyten, die bei CHA-Patientinnen gehäuft in den ableitenden Lymphwegen des Uterus zu finden sind.

Für beide Theorien fehlt bis heute der letztendliche Beweis. Auf sie stützt sich jedoch die Entwicklung einer immunologischen Theorie für das chronisch habituelle Abortgeschehen und damit wohl auch für die Infertilität.

In der vorliegenden Untersuchung wurden 100 Patientinnen, die in ihrer Vorgeschichte bereits mehrere frustrane IVF-Behandlungszyklen zu verzeichnen hatten, einer Diagnostik am Immunologischen Institut der Universität Kiel unterzogen. Eine anschließende Immunisierung erfolgte aufgrund der dortigen Indikationsstellung. Die Immunisierung wurde vermittels intrakutaner Applikation von Lymphozyten ihres Partners oder, bei zu hoher Übereinstimmung im HLA-System, mit denen eines geeigneten Fremdspenders, durchgeführt.

Die so vorbehandelten Patientinnen unterzogen sich anschließend einer erneuten IVF-Behandlung. Verglichen werden die Schwangerschaftsraten und -verläufe vor und nach Immunisierungsbehandlung.

2. Material und Methoden

2.1. Patientenkollektiv

Es handelt sich um 100 sterile Ehepaare, die sich im Zeitraum von 1987 bis 1995 wegen ungewollter Kinderlosigkeit in der Wilhelm-Krüssmann-Klinik in München vorstellten.

Alle diese Patientinnen durchliefen das IVF-Programm.

2.1.1 Alter

Das Kollektiv umfaßt Patientinnen zwischen 22 und 42 Jahren (s. Tabelle 1). Der Durchschnitt lag zum Beginn der Behandlung bei 32 Jahren, mit einer Streubreite von 4,2 Jahren.

	Alter			
	MW	ST	Min.	Max.
Alle Patientinnen	31.960	4.166	22	42

Tabelle 1: Alter der Patientinnen. MW=Mittelwert, ST=Streuung, Min.=kleinster Wert, Max.=größter Wert

2.1.2 Weibliche Diagnosen

Bei den Patientinnen wurden vier gynäkologische Diagnosen unterschieden:

Normalbefund, idiopathische, tubare und ovarielle Sterilität.

Die Unterscheidung Normalbefund und idiopathische Sterilität wurde deshalb getroffen, um deutlich zu machen, daß bei den Patientinnen mit Normalbefund die Sterilitätsursache auf Seiten des Partners lag, also eine männliche Subfertilität vorlag.

Bei den Paaren mit idiopathischer Sterilität hingegen, konnte keine Ursache für die ungewollte Kinderlosigkeit des Paares gefunden werden, sowohl bei der Patientin, als auch bei ihrem Partner wurden Normalbefunde erhoben.

Bei über der Hälfte des Kollektivs wurde eine tubare Sterilität festgestellt (s. Tabelle 2). Hierunter ist eine nicht vorhandene oder zumindest mangelnde Tubendurchgängigkeit zu verstehen.

Unter ovarieller Sterilität sind Eizellreifungsstörungen, Spätovulationen mit Corpus luteum-Insuffizienzen zu verstehen.

Somit ergibt sich die folgende Verteilung hinsichtlich der gynäkologischen Diagnosen der Patientinnen:

Gynäkologische Diagnose	Anzahl	%
Normalbefund	13	13 %
idiopathische Sterilität	19	19 %
tubare Sterilität	63	63 %
ovarielle Ursache	5	5 %

Tabelle 2: Gynäkologische Diagnose.

2.1.3 Vorgeschichte

In der Anamnese der Patientinnen wurde besonderer Wert auf gynäkologische Voroperationen, vorausgegangene Aborte und Extrauteringraviditäten, sowie auf bereits stattgefundene Behandlungsversuche assistierter Reproduktionstechniken (ART) gelegt.

Die erfaßten gynäkologischen Voroperationen umfaßten die Sanierung von Endometriose-herden, Myomenukleationen, Tubektomien, Ovariectomien und mikrochirurgische Refertilisierungen.

Voroperationen	n	%
keine	64	64 %
Endometriosesanierung	8	8 %
Myomenukleation	3	3 %
Tubektomie	16	16 %
Ovariectomie	2	2 %
Sterilitätsoperation	7	7 %

Tabelle 3: Voroperationen.

Die vorausgegangenen Schwangerschaften bestanden in Aborten und Extrauteringraviditäten.

vorausgegangene Schwangerschaften	n	%
frühere Aborte oder Totgeburten		
nein	81	81 %
ja	19	19 %
frühere EUG		
nein	74	74 %
ja	26	26 %

Tabelle 4: vorausgegangene Schwangerschaften.

Unter dem Oberbegriff ART sind alle vorausgegangenen Behandlungen durch IUI (intrauterine Insemination), GIFT (intratubarer Gametentransfer), IVF (In-vitro Fertilisation) und IVF/ ICSI (intrazytoplasmatische Spermatozoeninjektion) zusammengefaßt. Diese fanden zumeist an anderen Zentren statt.

Assistierte Reproduktionstechniken	n	%
IUI		
nein	83	83 %
ja, ohne Schwangerschaft	17	17 %
ja, mit SS und Abort	0	-
IVF		
nein	72	72 %
ja, ohne Schwangerschaft	25	25 %
ja, mit SS und Abort	3	3 %
IVF/ICSI		
nein	98	98 %
ja, ohne Schwangerschaft	2	2 %
ja, mit SS und Abort	0	-
GIFT		
nein	96	96 %
ja, ohne Schwangerschaft	4	4 %
ja, mit SS und Abort	0	-

Tabelle 5: Assistierte Reproduktionstechniken.

Bei der IUI werden nach der Aufbereitung (sog. „swim-up“ zur Konzentration gut beweglicher und unbeweglichen Spermatozoen und zur Trennung von Seminalplasma) die Spermatozoen vermittels eines dünnen Katheters ins obere Drittel des Cavum uteri eingebracht. Der günstigste Zeitpunkt für die IUI wird durch Ultraschallüberwachung des Follikelwachstums (Follikulometrie) und ggf. Ovulationsauslösung (HCG) ermittelt.

GIFT (gamete intrafallopian transfer): Hierbei werden Spermatozoen und Oozyten in die Eileiter eingebracht. Dies erfolgt durch einen speziellen Transferkatheter, der in den Fimbrien-trichter pelviskopisch transabdominal oder transvaginal unter Ultraschallkontrolle eingeführt werden kann. Der Gametentransfer erfolgt jeweils mit ein bis zwei Eizellen und ca. 100 000 Spermatozoen pro Eizelle.

Die In-vitro Fertilisation wird in Abschnitt 2.4 näher erläutert.

Das Verfahren der intrazytoplasmatischen Spermatozoeninjektion (ICSI) wurde erstmals zur Behandlung schwerster andrologischer Subfertilität von einer belgischen Arbeitsgruppe 1992 vorgestellt. Die ICSI-Technik wird im Rahmen der IVF ergänzend durchgeführt. Es wird - im Gegensatz zur konventionellen IVF-Behandlung - nur eine einzige Samenzelle benötigt. Diese Samenzelle wird direkt in das Ooplasma injiziert. Vor dem Embryotransfer erfolgt auch hier in der Regel eine Kulturdauer von 48 Stunden.

2.2 Diagnostik

In einem sog. „Probezyklus“ erfolgte ein genaues Zyklusmonitoring mit Follikulometrie, Bestimmung der periovulatorischen Östradiol- und Progesteronspiegel, sowie der Lutealphasenfunktion (mehrfach Progesteron und Östradiol in der Lutealphase). Bevor die Behandlung begann, wurde, neben einer gründlichen gynäkologischen Untersuchung, in aller Regel eine Abklärung des Peritonealsitus durchgeführt, z.B. HSG (Hysterosalpingographie), PSK (Pelviskopie).

2.2.1 SpermioGrammbefunde

Von den Ehemännern wurde zumindest ein SpermioGramm gefordert, ggf. mit weiterer urologischer Abklärung.

Zur Verdeutlichung sind an dieser Stelle die Normwerte des SpermioGramms, wie sie von der WHO definiert worden sind, aufgeführt:

Ejakulationsvolumen	2,5-6 ml
Spermiendichte	>20 Mio/ml
Motilität	A: >20% schnell progressiv beweglich B: >20% langsam progressiv beweglich C: unzulänglich beweglich D: unbeweglich < 20% Motilitätsverlust 2 Stunden nach Gewinnung
Morphologie	> 60% Normalformen

Tabelle 6: Normwerte des SpermioGramms gemäß WHO-Definition

In unserem Kollektiv wurden bei den Partnern der Patientinnen die folgenden Befunde erhoben: Normozoospermie, Oligo-Asthenoteratozoospermie (OAT-Syndrom) und isolierte, aber sehr ausgeprägte Asthenozoospermie.

Beim OAT-Syndrom sind alle 3 genannten Parameter des SpermioGRAMMS betroffen. Das bedeutet, daß sowohl die Werte für Spermiedichte, als auch von Motilität und Morphologie unterhalb der Normwerte liegen.

Bei der Asthenozoospermie handelt es sich um eine Abnahme der Motilität der Spermien. Sie wurde - wie schon erwähnt - dann gesondert aufgeführt, wenn diese isoliert und besonders ausgeprägt auftrat.

SpermioGRAMMBefunde	Anzahl	%
Normozoospermie	80	80 %
OAT-Syndrom	15	15 %
Asthenozoospermie	5	5 %

Tabelle 7: SpermioGRAMMBefunde.

2.2.2 Gegenüberstellung von gynäkologischer Diagnose und SpermioGRAMMBefund

Die Patientinnen, deren Ehemänner eine Normozoospermie aufwiesen, gehörten mit 68,8% zum größten Teil dem Hauptkollektiv mit der Diagnose einer tubaren Sterilität an.

Wiesen die SpermioGRAMME pathologische Befunde (Asthenozoospermie oder OAT-Syndrom) auf, fand sich zu 60% ein Normalbefund bei den Frauen.

	SpermioGRAMM			
	NZ in %	OAT in %	Ast. in %	p
Gynäkologische Diagnose				
Normalbefund	1.3 %	60.0 %	60.0 %	0.0000002 ***
idiopathische Sterilität	23.8 %	-	-	
tubare Sterilität	68.8 %	40.0 %	40.0 %	
ovarielle Ursache	6.3 %	-	-	

Tabelle 8: Befund. NZ=Normozoospermie, OAT=Oligo-Asthenoteratozoospermie, Ast.=Asthenozoospermie, p aus dem exakten Chi-Quadrat-Test nach Mehta und Patel

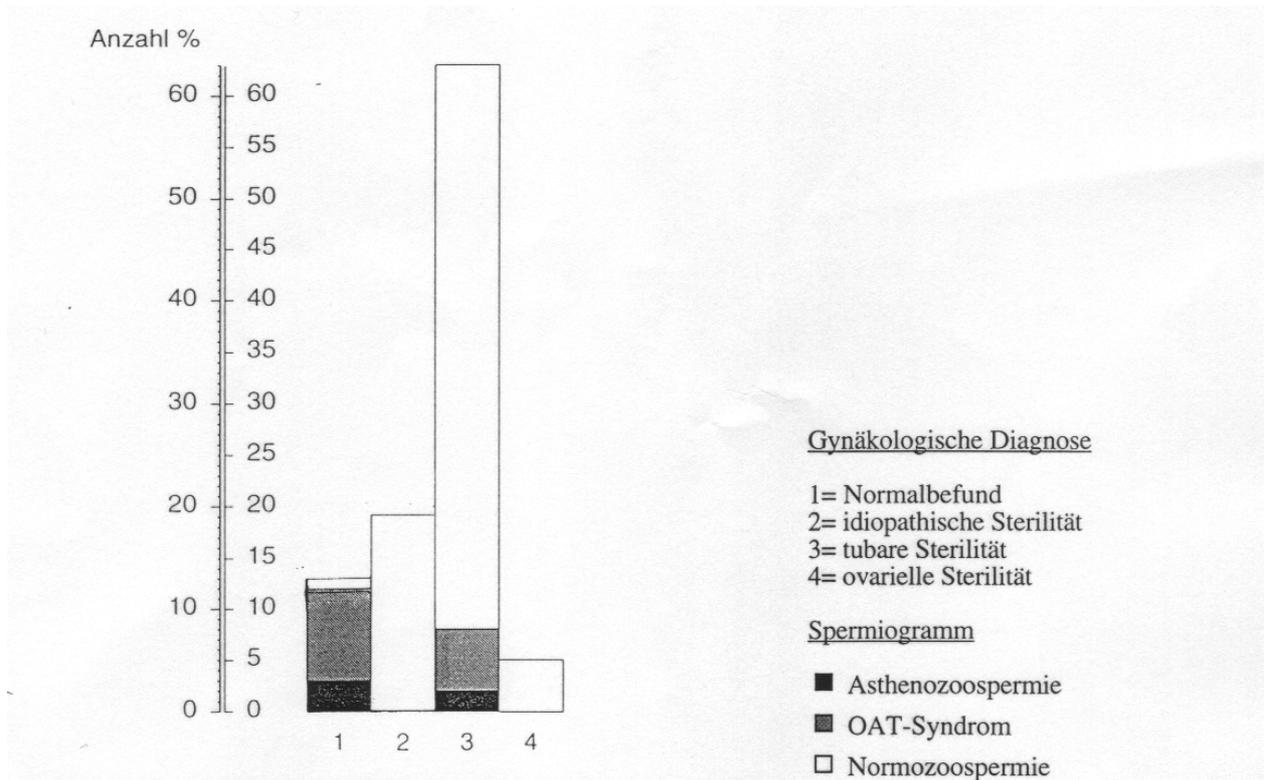


Abb. 1: Gynäkologische Diagnose / Spermogramm

Abbildung 1 stellt die Zusammenhänge zwischen der gynäkologischen Diagnose und dem Spermogrammbefund, wie in Tabelle 8 aufgeführt, noch einmal dar.

Die vier Säulen stellen die gynäkologischen Diagnosen der Patientinnen dar: Die erste den Normalbefund, die zweite die idiopathische Sterilität, die dritte die tubare und die vierte die ovarielle Sterilität.

2.3 Immuntherapie

2.3.1 Immunologische Diagnostik

Zur Diagnostik wurden zunächst von beiden Partnern 6-8 ml Vollblut ohne Zusatz zur Serumgewinnung, sowie 6-8 ml Vollblut mit Zusatz von 2-3 Tropfen Heparin ans Immunologische Institut an der Universitätsklinik in Kiel eingesandt. Hier fand auch die spätere Immunisierungsbehandlung statt.

Bei beiden Partnern wurden die HLA-A, -B, -C-Ag bestimmt. Außerdem wurden im Serum der Patientin zytotoxische Antikörper gegen HLA-Antigene des Partners gesucht.

2.3.2 Immunisierung

Für die intrakutane Immunisierungsbehandlung wurden aus 40-50 ml frisch entnommenem Vollblut des Partners im Durchschnitt 4×10^7 ml Lymphozyten gewonnen. Diese wurden der Ehefrau intrakutan in die Volarseite des Unterarms injiziert.

Wurde bei der HLA-Bestimmung eine zu große Übereinstimmung der Partner festgestellt, wurde für die Immunisierung von den Kollegen am Institut ein Fremdspender vorgeschlagen, der in den wichtigsten Blutgruppenmerkmalen mit der Patientin übereinstimmte.

Ca. 4 Wochen nach der Behandlung wurden 8-10 ml Vollblut der Patientin, sowie 20 ml Heparinblut des Partners oder ggf. des Fremdspenders zum Nachweis sog. „schützender Antikörper“ im Serum der Patientin an das Immunologische Institut eingesandt. Der Nachweis erfolgte mittels Erythrozyten-Antikörper-Rosetten-Inhibitionstest (EAI-Test) (s. 2.3.3).

Bei positivem Testergebnis (s. 2.3.3) wurde je nach Höhe des Ak-Titers ein ausreichender Schutz angenommen oder ggf. eine Auffrischung nach Eintritt einer Schwangerschaft empfohlen.

Fiel der Test negativ aus, wurde die Immunisierung mit einem geeigneten Fremdspender durchgeführt. War die Immunisierung bereits mit Lymphozyten eines Fremdspenders erfolgt, so wurde ein zweiter Fremdspender ausgewählt. Der Erfolg wurde wieder durch EAI-Test überprüft.

2.3.3 Erythrozyten-Antikörper-Rosetten-Inhibitions-Test (EAI-Test)

Der EAI-Test wurde von Power et al. 1985 zum Nachweis von sog. Blockierenden Antikörpern (BF) eingeführt. In dieser Studie wurde er modifiziert nach Westphal angewandt.

Beim EAI-Test werden Rinder-Erythrozyten (RE) mit Kaninchen-anti-RE-Antikörpern versetzt. Nach Inkubation mit B-Lymphozyten bilden diese Antikörper Rosetten. Dies geschieht, indem der Fc-Anteil der auf den RE gebundenen AK an die B-Lymphozyten vermittelt deren Fc-Rezeptor gebunden wird. Die Ablesung erfolgt im Fluoreszenzmikroskop nach Färbung mit Acridin-Orange-Lösung. Diese Lösung färbt die B-Lymphozyten hellgrün, RE bleiben ungefärbt.

Ein B-Lymphozyt weist eine Rosette auf, wenn mindestens drei RE angelagert sind. Es werden insgesamt 100 B-Lymphozyten ausgezählt und der Anteil der rosettierenden B-Lymphozyten bestimmt. In den Negativ-Kontrollen finden sich zwischen 25 und 50 Rosetten, da nicht alle B-Zellen rosettieren.

Wird ein Anteil der rosettierenden Zellen von weniger als 80% im Patienten-Serum im Vergleich zur zugehörigen Negativ-Kontrolle festgestellt, so gilt das Testergebnis als positiv. Dies entspricht einer Inhibition der Rosettenbildung von 20%.

2.4. In-Vitro-Fertilisation (IVF)

2.4.1 Zyklusstimulation

Es wurden im Wesentlichen zwei verschiedene Regimes angewandt:

1. Stimulation mit Gonadotropinen nach vorheriger Niederregulation („Down-Regulation“) mit einem GnRH (Gonadotropin-Releasing-Hormon)-Analogon.
2. Stimulation mit Clomifencitrat(CC), alleine oder in Kombination mit Gonadotropinen (ohne Niederregulation).

Zyklusstimulierungen	Anzahl	%
Deca., HMG/FSH, HCG		
keine	13	13 %
1	33	33 %
2	20	20 %
3	8	8 %
4	13	13 %
5	8	8 %
6	1	1 %
7	1	1 %
8	2	2 %
9	1	1 %
CC, HMG/FSH, HCG		
keine	22	22 %
1	36	36 %
2	24	24 %
3	11	11 %
4	2	2 %
5	2	2 %
6	2	2 %
7	1	1 %
Sonderformen		
keine	68	68 %
1	25	25 %
2	5	5 %
4	2	2 %

Tabelle 9: Zyklusstimulierung. Deca=Decapeptyl[®], CC=Clomifencitrat

Decapeptyl^R ist der Handelsname eines Gonadotropin-Releasing-Hormon (Gn-RH)-Analogons. Es führt, wie die anderen Analoga, zunächst zu einem Andocken an den hypophysären GnRH-Rezeptor. Dadurch kommt es zu einer initialen Freisetzung von FSH und LH („Flare-up-Effekt“). Danach bindet es aber wesentlich länger an den Rezeptor als genuines GnRH, was einer funktionellen Blockade gleichkommt. Insofern sind die Analoga eigentlich „FSH/LH-Sekretions-Blocker“.

HMG ist das humane Menopausengonadotropin, das aus dem Harn menopausaler Frauen gewonnen wird und sowohl LH als auch FSH enthält. FSH ist das reine follikelstimulierende Hormon, das entweder aus HMG extrahiert oder mittlerweile auch gentechnologisch hergestellt wird (rec-FSH).

Bei CC (z.B. Dynceric^R) handelt es sich um Antiöstrogen, das u.a. durch Unterbindung der negativen Feedback-Hemmung der Östrogene auf den Hypothalamus letztendlich eine vermehrte Sekretion von FSH und LH induziert.

Zur Ovulationsauslösung wurden bei beiden Regimes 5000-10000 IE HCG appliziert. HCG ist dem LH - das physiologischerweise die Ovulation auslöst - sehr ähnlich. Reines LH ist bislang noch nicht verfügbar.

Ein kleiner Teil der Patientinnen wurde nicht mit einer dieser beiden Kombinationen behandelt. Diese Stimulationen wurden unter dem Begriff „Sonderformen“ zusammengefaßt. Sie beinhalten die alleinige Stimulation durch HMG oder FSH und Spontanzyklen. Diese Zusammenfassung erfolgte wegen der zu geringen Fallzahl.

2.4.2 In-vitro-Fertilisation und Embryotransfer (IVF/ET)

Die Kontrolle der Stimulation erfolgte mittels sonographischer Follikulometrie und der Bestimmung von Östradiol und Progesteron im Serum der Patientinnen.

Bei einer Follikelgröße um die 20 mm, dies korreliert mit Östradiolwerten von etwa 200-300 pg/ml pro Follikel, erfolgte die Auslösung der Ovulation mittels Injektion von 5000-10000 IE HCG.

35-36 Stunden nach HCG-Verabreichung wurden die Follikel transvaginal und unter Ultraschallkontrolle punktiert.

Anschließend erfolgte die Kultivierung in einem standardisierten Medium. Etwa vier Stunden nach Gewinnung der Oozyten erfolgt die Insemination mit den aufbereiteten Spermien des Ehemannes (ca. 100.000 motile Spermien pro Oozyte).

Sechzehn bis achtzehn Stunden nach Insemination wurden die Eizellen auf Vorkerne untersucht. Gemäß dem deutschen Embryonenschutzgesetz vom 1.1.1991 wurden so viele Vorkernstadien, wie vom Ehepaar Embryonen gewünscht (maximal drei) weiterkultiviert. Die überschüssigen Eizellen wurden verworfen oder kryokonserviert (Entscheid entsprechend den Wünschen des Ehepaares).

Nach einer Kulturdauer von 48 Stunden wurden die Embryonen im 4-8 Zellstadium transferiert. Hierzu wurden die Embryonen mittels eines transzervikal eingebrachtem Embryotransferkatheter im Cavum uteri plaziert. Pro Zyklus wurden bis zu 3 Präimplantationsembryonen transferiert.

14 Tage nach Embryotransfer wurde der β -HCG- und Progesteron-Spiegel bestimmt. Die Verifizierung der Implantation erfolgte regelhaft 21 Tage nach Embryotransfer durch Sonographie.

2.5. Statistische Auswertung

Der Chi-Quadrat-Test eignet sich am besten für zwei nominale, also klassifizierte Variablen ohne natürliche Reihenfolge, wie z.B. Diagnose. Das Ergebnis besteht aus einer Kreuztabelle der Anzahlen, zu denen noch die Prozentangaben berechnet werden, und aus der Testgröße mit ihrer Signifikanz.

Für geringe Erwartungswerte bei maximal 100 Probanden wendet man statt des Chi-Quadrat-Testes den exakten Test von Mehta und Patel an.

Den U-Test von Mann und Whitney verwendet man, wenn man die Beziehung zwischen einem Meßwert und einer klassifizierten Variablen testen will. Er prüft, ob die Variablen in zwei Gruppen gleich sind. Das Ergebnis besteht aus der Angabe der getesteten Variablen, den Mittelwerten und Streuungen der Meßwerte in den beiden Klassen, sowie der Testgröße U mit ihrem p-Wert.

Mit dem Test der Korrelation überprüft man die Abhängigkeit zweier Variablen voneinander. Das Ergebnis umfaßt die Anzahl, den Mittelwert, die Streuung und die Standardabweichung des Mittelwertes.

Unter einfacher Varianzanalyse ist eine Erweiterung des t-Tests zu verstehen. Sie wird angewandt, wenn es sich um mehr als zwei Gruppen, mehr als zwei Variablen oder um beides handelt.

Durch Quantile führt man eine Grundauszählung durch, die es einem ermöglicht, noch einmal Fehler zu finden.

Mittelwerte und Test auf Ausreißer: Bei diesem Test werden die Mittelwerte ermittelt, und zwar unter der Angabe von Werten, die zu weit von diesen entfernt liegen und deswegen bei der Ermittlung nicht berücksichtigt werden.

Bei der Konfigurationsfrequenzanalyse analysiert man, ob drei oder mehr klassifizierte Variablen miteinander zusammenhängen und erhält anschließend eine Liste aller Kombinationen von Werten, die bei den Variablen vorkommen.

Beim Wilcoxon-Test untersucht man, ob zwei Meßwerte gleich sind, die nacheinander beim selben Probanden erhoben wurden. Man erhält die Anzahl, die beiden Mittelwerte und die Streuungen aus der Testgröße mit ihrem p-Wert.

3. Ergebnisse

3.1 Therapiezyklen vor Immunisierungsbehandlung

Im ersten Teil der Ergebnisse werden die Therapiezyklen vor der Immunisierungsbehandlung näher ausgeführt. Insbesondere werden die Schwangerschaften und deren Verläufe angeführt, sowie eine Gegenüberstellung mit der Vorgeschichte und der gynäkologischen Diagnose der Patientinnen vorgenommen.

Zunächst werden in den folgenden Tabellen die Anzahl der vollständig durchgeführten IVF-Zyklen mit Embryotransfer vor dem Einsatz der Immunisierung, sowie die hierbei eingetretenen Schwangerschaften und deren Verläufe dargestellt.

Bei 22% der Patientinnen wurde die Immunisierung sofort durchgeführt, da anamnestisch bereits frustrane IVF-Behandlungen angegeben wurden, also solche, die nicht zu einer Schwangerschaft geführt oder im Abort geendet hatten. Beim größten Teil der Patientinnen waren diese IVF-Behandlungen an unserer Klinik durchgeführt worden. Insofern erfolgte die Indikationsstellung zu Diagnostik und Therapie in Kiel erst dann, wenn mehrere IVF-Behandlungen erfolglos, d.h. ohne Geburt eines Kindes (von Kindern) durchgeführt worden waren.

Bei einem weiteren Teil der Patientinnen waren an einem auswärtigen Zentrum bereits ein oder zwei frustrane IVF-Behandlungen durchgeführt worden. Dementsprechend führten wir noch eine oder zwei an unserer Klinik durch, bevor wir die Indikation zur Untersuchung in Kiel stellten.

Therapiezyklen vor Immunisierung	Anzahl	%
keine	22	22 %
1	14	14 %
2	13	13 %
3	25	25 %
4	19	19 %
5	5	5 %
6	2	2 %

Tabelle 10: Therapiezyklen vor Immunisierung

Vor der Immunisierungsbehandlung kam es bei 19% der Patientinnen durch IVF-Behandlung an unserem Hause zum Eintritt einer Schwangerschaft, bei den übrigen 81% kam es nicht dazu.

Schwangerschaften vor Immunisierung	Anzahl	%
keine	81	81 %
1	19	19 %

Tabelle 11: Schwangerschaften vor Immunisierung

Von diesen vorausgegangenen Schwangerschaften wurde keine einzige augetragen. Sie endeten ausnahmslos im Abort bzw. - in kleinerer Zahl - in einer EUG.

Verlauf dieser Schwangerschaft	Anzahl	%
Abort	17	89.5 %
EUG	2	10.5 %

Tabelle 12: Verlauf der Schwangerschaften vor Immunisierung.

3.1.1 Korrelation mit der Anamnese

In Tabelle 13 werden die Therapiezyklen vor Immunisierungsbehandlung mit der Anamnese der Patientinnen verglichen. Waren bereits Versuche von ART außerhalb unseres Hauses in der Anamnese der Patientin zu verzeichnen, so wurde die Immunisierung bereits nach im Durchschnitt 1,5 IVF-Behandlungszyklen durchgeführt, sonst wurde länger zugewartet. Bei vorausgegangener Schwangerschaft in der Anamnese (beendet als Abort oder EUG) wurde im Durchschnitt am längsten bis zur Immunisierungsbehandlung gewartet, nämlich 1,85 Zyklen. Dies macht das p in der Tabelle deutlich, das Signifikanzen berechnet.

	Vorgeschichte								
	Operationen			ART			Fehlgeschlagene Schwangerschaften		
	MW	ST	p	MW	ST	p	MW	ST	p
Zyklen vor I.									
Anzahl der Zyklen	2.28	1.61	0.81	1.50	1.71	.00001 ***	1.85	1.70	0.034*
Anzahl der SS	0.19	0.53	0.37	0.14	0.41	0.083	0.18	0.39	0.63
Verlauf der SS	1.00	0.00	0.45	1.00	0.00	0.45	1.29	0.49	0.067

Tabelle 13: Zyklen vor Immunisierung/Vorgeschichte. MW=Mittelwert, ST=Streuung, I.=Immunisierung, SS=Schwangerschaft, p aus dem exakten Chi-Quadrat-Test nach Mehta und Patel, Operationen: Endometriosesanierung, Myomenukleation, Tubektomie, Ovarrektomie, Sterilitätsoperation; ART: IUI, IVF, IVF/ICSI, GIFT; Fehlgeschlagene Schwangerschaften=Aborte, Totgeburten, EUG

3.1.2 Korrelation mit der gynäkologischen Diagnose

In Tabelle 14 wird den Zyklen vor Immunisierungsbehandlung die Diagnose der Patientinnen gegenübergestellt.

Es läßt sich feststellen, daß bei Patientinnen mit der Diagnose einer tubaren Sterilität durchschnittlich mehr Zyklen vor Immunisierung durchgeführt wurden als bei den anderen Diagnosen.

	Diagnose								
	Normalbefund		idiopath. St.		tubare St.		ovarielle St.		p
	MW	ST	MW	ST	MW	ST	MW	ST	
Zyklen vor I.									
Anzahl der Zyklen	1.58	1.44	1.55	1.39	2.76	1.73	1.20	1.30	0.0049**
Anzahl der SS	0.33	0.65	0.05	0.22	0.29	0.58	0.20	0.45	0.34
Verlauf der SS	1.00	0.00	-	-	1.07	0.27	-	-	0.64

Tabelle 14: Zyklen vor Immunisierungsbehandlung/Diagnose. I.=Immunisierung, idiopath. St.=idiopathische Sterilität, SS=Schwangerschaft, MW=Mittelwert, ST=Streuung

3.2 Immunisierung

Bei der Immunisierung sind zwei Vorgehensweisen zu unterscheiden:

Die Immunisierung mit Partnerlymphozyten und die Immunisierung mit Fremdlymphozyten, d.h. mit Lymphozyten eines Drittspenders, also nicht des eigenen Partners.

Die Indikation hierzu wurde bereits im Kapitel „Material und Methoden“ erläutert. Bei 75% der Patientinnen wurden die Lymphozyten des Partners verwendet und bei 25% die eines Fremdsponders.

Desweiteren wird in Tabelle 15 die Anzahl der verwendeten Lymphozyten angegeben. Hierbei wurden zur Übersichtlichkeit, auch für spätere Vergleiche, vier Gruppen gebildet: ≤ 10 Mio., ≤ 20 Mio. (10-20 Mio.), ≤ 40 Mio. (20-40 Mio.) und ≤ 80 Mio. (40-80 Mio.).

Der zweite Abschnitt von Tabelle 15 betrifft die sog. Auffrischung. Unter der Auffrischung ist eine Zweitimmunisierung zu verstehen. Diese fand nur bei einem Viertel (25) der Patientinnen statt.

Die Auffrischung wurde zu zwei unterschiedlichen Zeitpunkten durchgeführt:

Vor dem Eintritt einer Schwangerschaft, gleich nach der ersten Immunisierungsbehandlung, nämlich dann, wenn nach den Untersuchungsergebnissen in Kiel kein sog. „ausreichender Schutz“ bestand. Genaueres hierzu siehe Kapitel „Material und Methoden“.

Der zweite Zeitpunkt lag während einer Schwangerschaft etwa zwischen der 10.-12. SSW.

Bei einem kleinen Anteil der Paare fand eine zweite „Auffrischung“ statt. Dies sei hier zur Vollständigkeit mit angegeben, konnte aber bei den späteren statistischen Berechnungen wegen zu geringer Fallzahl nicht berücksichtigt werden.

	Anzahl	%
Immunsisierung mit		
Partnerlymphozyten	75	75.0 %
Fremdlymphozyten	25	25.0 %
Anzahl der Immunsierungslymphozyten		
<= 10 Mio.	23	25.3 %
<= 20 Mio.	19	20.9 %
<= 40 Mio.	30	33.0 %
<= 80 Mio.	19	20.9 %
Auffrischung erfolgt		
nein	75	75.0 %
ja, vor der SS	17	17.0 %
ja, während der SS	8	8.0 %
Auffrischung mit		
Partnerlymphozyten	13	52.0 %
Fremdlymphozyten	11	44.0 %
Fremdlymphozyten (2.)	1	4.0 %
Anzahl der Immunsierungslymphozyten		
<= 10 Mio.	0	-
<= 20 Mio.	9	37.5 %
<= 40 Mio.	7	29.2 %
<= 80 Mio.	8	33.3 %
2. Auffrischung erfolgt		
nein	96	96.0 %
ja, vor der SS	3	3.0 %
ja, während der SS	1	1.0 %
2. Auffrischung mit		
Partnerlymphozyten	2	50.0 %
Fremdlymphozyten	2	50.0 %
Anzahl der Immunsierungslymphozyten		
<= 10 Mio.	1	25.0 %
<= 20 Mio.	0	-
<= 40 Mio.	2	50.0 %
<= 80 Mio.	1	25.0 %

Tabelle 15: Immunsisierung und Auffrischung. SS=Schwangerschaft

3.2.1 Korrelation mit der Diagnose

In Tabelle 16 und 17 werden der Immunisierungsbehandlung jeweils die gynäkologische Diagnose und der Spermiogrammbefund gegenübergestellt.

Die Verteilung bei der Verwendung von Partner- und Fremdlingmphyozyten entspricht der Verteilung im Gesamtkollektiv von zwei Dritteln zu einem Drittel, wie es in Tabelle 15 aufgeführt wurde. Es sind keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Verteilung der Diagnosen zu verzeichnen, wie p in Tabelle 16 deutlich hervor hebt.

Der größte prozentuale Anteil an „Auffrischungen“ findet sich bei den Patientinnen mit Normalbefund (entsprechend männlicher Subfertilität).

Bei den Spermioogrammen läßt sich kein signifikanter Unterschied in der prozentualen Verteilung feststellen, s. p in Tabelle 17.

	Weibliche Diagnose							p	
	Normalbefund		idiopath. St.		tubare St.		ovarielle St.		
	n	%	n	%	n	%	n		%
Immunisierung mit									
Partnerlymphozyten	8	72.7 %	15	75.0 %	49	77.8 %	3	60.0 %	0.80
Fremdlingmphyozyten	3	27.3 %	5	25.0 %	14	22.2 %	2	40.0 %	
Anzahl der Immunisierungs- lymphozyten									
<=10 Mio.	4	44.4 %	6	30.0 %	11	19.0 %	2	50.0 %	0.96
<=25 Mio.	1	11.1 %	5	25.0 %	21	36.2 %	0	-	
<=40 Mio.	2	22.2 %	5	25.0 %	14	24.1 %	1	25.0 %	
<=80 Mio.	2	22.2 %	4	20.0 %	12	20.7 %	1	25.0 %	
Auffrischung erfolgt									
nein	7	58.3 %	16	80.0 %	49	77.8 %	3	60.0 %	0.25
ja, vor der SS	4	33.3 %	4	20.0 %	8	12.7 %	1	20.0 %	
ja, während der SS	1	8.3 %	0	-	6	9.5 %	1	20.0 %	
Auffrischung mit									
Partnerlymphozyten	2	40.0 %	2	50.0 %	8	57.1 %	1	50.0 %	0.92
Fremdlingmphyozyten	3	60.0 %	2	50.0 %	6	42.9 %	1	50.0 %	
Anzahl der Immunisierungs- lymphozyten									
<=10 Mio.	0	-	0	-	0	-	0	-	0.58
<=25 Mio.	1	20.0 %	1	25.0 %	8	61.5 %	1	50.0 %	
<=40 Mio.	2	40.0 %	1	25.0 %	2	15.4 %	0	-	
<=80 Mio.	2	40.0 %	2	50.0 %	3	23.1 %	1	50.0 %	

Tabelle 16: Immunisierung und Auffrischung/weibliche Diagnose. SS=Schwangerschaft, idiopath. St.=idiopathische Sterilität

	Spermiogramm						p
	Normozoosp.		OAT		Asthenozoosp		
	n	%	n	%	n	%	
Immunsisierung mit							
Partnerlymphozyten	62	78.5 %	10	66.7 %	3	60.0 %	0.33
Fremdlymphozyten	17	21.5 %	5	33.3 %	2	40.0 %	
Anzahl der Immunsierungslymphozyten							
<=10 Mio.	17	23.3 %	5	38.5 %	1	20.0 %	0.73
<=25 Mio.	24	32.9 %	2	15.4 %	1	20.0 %	
<=40 Mio.	18	24.7 %	3	23.1 %	1	20.0 %	
<=80 Mio.	14	19.2 %	3	23.1 %	2	40.0 %	
Auffrischung erfolgt							
nein	61	76.3 %	11	73.3 %	3	60.0 %	0.61
ja, vor der SS	12	15.0 %	3	20.0 %	2	40.0 %	
ja, während der SS	7	8.8 %	1	6.7 %	0	-	
Auffrischung mit							
Partnerlymphozyten	10	52.6 %	3	75.0 %	0	-	0.33
Fremdlymphozyten	9	47.4 %	1	25.0 %	2	100 %	
Anzahl der Immunsierungslymphozyten							
<=10 Mio.	0	-	0	-	0	-	0.42
<=25 Mio.	9	50.0 %	2	50.0 %	0	-	
<=40 Mio.	3	16.7 %	1	25.0 %	1	50.0 %	
<=80 Mio.	6	33.3 %	1	25.0 %	1	50.0 %	

Tabelle 17: Immunsisierung und Auffrischung/Spermiogramm. p aus dem exakten Chi-Quadrat-Test nach Mehta und Patel, SS=Schwangerschaft, Normozoosp.=Normozoospermie, OAT=Oligoasthenoteratozoospermie, Asthenozoosp.=Asthenozoospermie

3.3 Erfolg der Behandlung

3.3.1 Schwangerschaften nach Immunisierungsbehandlung

Nach Immunisierungsbehandlung kam es bei 53% der Patientinnen zum Eintritt einer Schwangerschaft (s. Tabelle 18). Kam es zum Eintritt einer zweiten oder sogar dritten Schwangerschaft, so bedeutet das immer, daß die vorangegangenen im Abort geendet hatten. Es kam im Kollektiv nicht zu einem zweiten oder dritten Kind.

Anzahl der SS nach Immunisierung	Anzahl	%
keine	47	47.0 %
1	46	46.0 %
2	6	6.0 %
3	1	1.0 %

Tabelle 18: Anzahl der Schwangerschaften vor Immunisierung.
SS=Schwangerschaft

In Tabelle 19 wird die Anzahl der Zyklen angegeben, die zwischen Immunisierung und eingetretener Schwangerschaft lagen. Hierbei handelt es sich um vollständige IVF-Zyklen, also immer mit Embryotransfer.

Anzahl der Zyklen zwischen I. und SS	Anzahl	%
1	38	71.7 %
2	11	20.0 %
3	1	1.9 %
4	2	3.8 %
5	1	1.9 %

Tabelle 19: Anzahl der Zyklen zwischen Immunisierung und Schwangerschaft.
SS=Schwangerschaft, I.=Immunisierung

Die Schwangerschaft trat in über 70% bereits im ersten Zyklus nach der Immunisierung ein, in 20% erst im zweiten Zyklus und in einem geringen Anteil waren bis zu fünf Zyklen durchgeführt worden.

3.3.2 Korrelation mit den Schwangerschaften vor Immunisierungsbehandlung

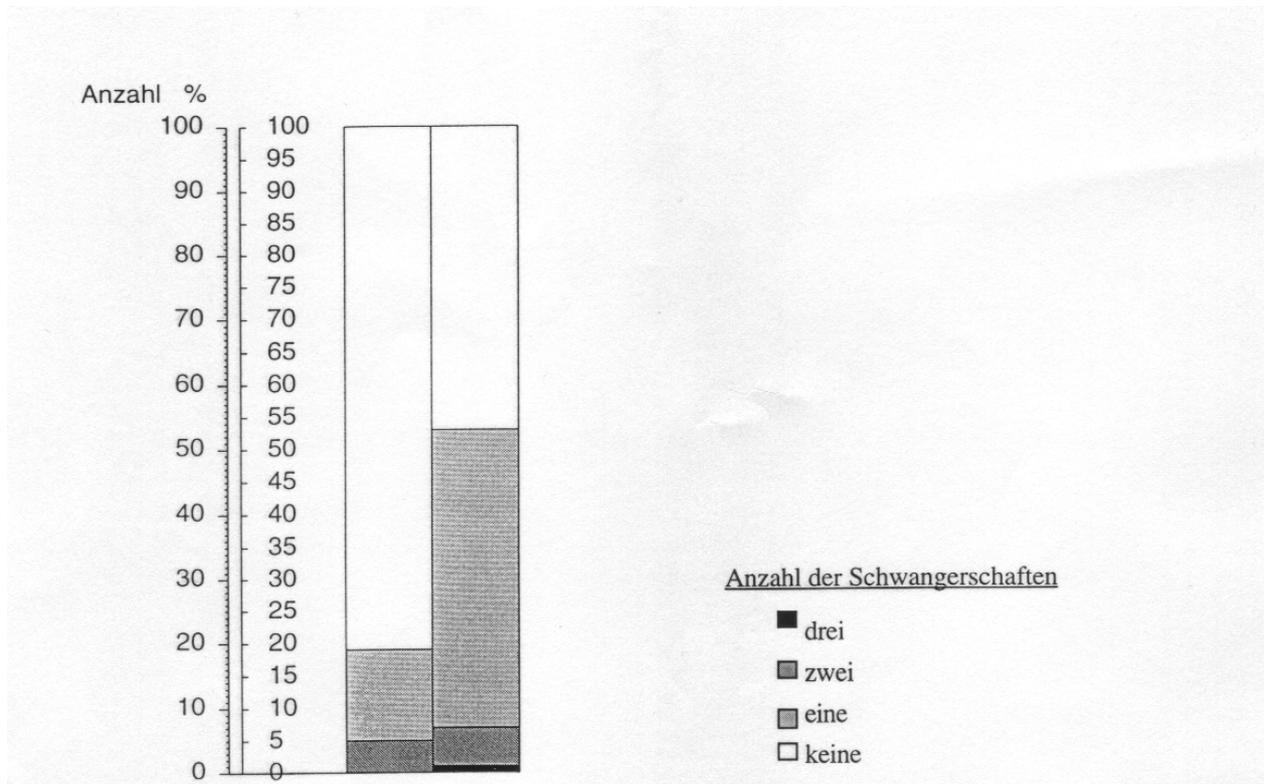


Abb. 2: Anzahl der Schwangerschaften vor Immunisierung / Anzahl der Schwangerschaften nach Immunisierung

Abbildung 2 stellt die Gesamtzahl der Schwangerschaften, die bereits vor der Immunisierungsbehandlung eingetreten waren, derjenigen nach Immunisierung gegenüber. Hierbei stellt die erste Säule die Schwangerschaften vor und die zweite die nach Immunisierung dar. Wie in Tabelle 12 und 18 zu sehen, kam es vor der Immunisierungsbehandlung in 19% zum Eintritt einer Schwangerschaft, von denen jedoch keine ausgetragen werden konnte (s. 3.6.4). Nach Immunisierungsbehandlung kam es in 53% zu einer Schwangerschaft.

3.3.3 Verlauf der Schwangerschaften nach Immunisierungsbehandlung

	Anzahl	%
Verlauf der 1. SS nach Immunisierung		
intakte Schwangerschaft	18	34.0 %
Geburt	17	32.1 %
Abort	14	26.4 %
EUG	4	7.6 %
Verlauf der 2. SS nach Immunisierung		
intakte Schwangerschaft	3	42.7 %
Geburt	2	28.6 %
Abort	2	28.6 %
Verlauf der 3. SS nach Immunisierung		
intakte Schwangerschaft	1	100.0 %

Tabelle 20: Verlauf der Schwangerschaften nach Immunisierung. SS=Schwangerschaft, I.=Immunisierung

Nach Immunisierung wurden folgende Schwangerschaftsverläufe erfasst:

Intakte Schwangerschaft, Geburt, Abort und EUG.

Anteilig entfallen jeweils ein Drittel auf die beiden Erstgenannten und ein Drittel auf die nicht erfolgreichen Verläufe (Abort und EUG).

Als intakte Schwangerschaft ist definiert worden, wenn eine Schwangerschaft zum Zeitpunkt der Auswertung mindestens bis zur 12. SSW fortgeschritten war und ihre Intaktheit mittels Ultraschall bestätigt worden war. Es handelt sich um Schwangerschaften, die zum Zeitpunkt der Auswertung noch nicht ausgetragen waren und deren Ausgang somit noch nicht bekannt war.

3.3.4 Gegenüberstellung der Schwangerschaftsverläufe vor und nach Immunisierung

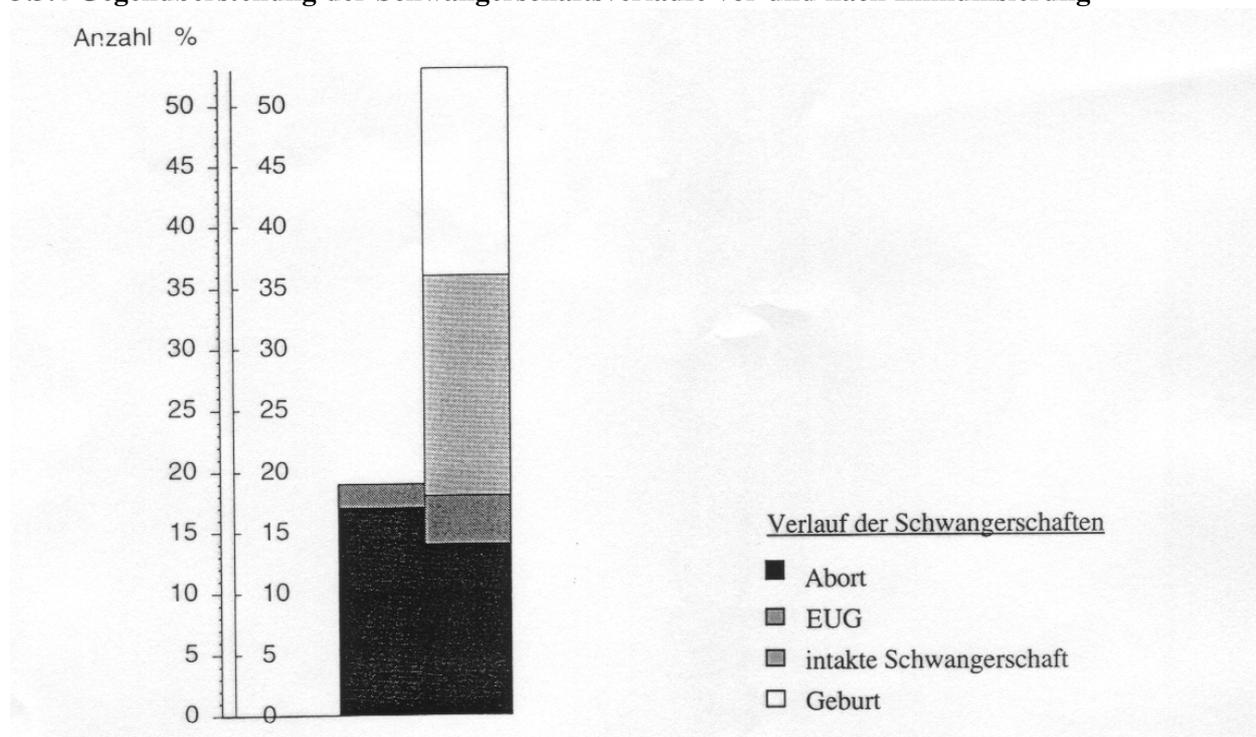


Abb. 3: Verlauf der Schwangerschaften

Abbildung 3 veranschaulicht den Verlauf der Schwangerschaften vor und nach Immunisierungsbehandlung, wobei die erste Säule den Verlauf vor und die zweite nach Immunisierung zeigt.

Wie schon in Tabelle 12 dargestellt, endete die Mehrzahl der Schwangerschaften vor der Immunisierungsbehandlung mit einem Abort und ein kleinerer Anteil in einer EUG. Keine der Schwangerschaften vor Immunisierungsbehandlung wurde ausgetragen.

Nach Immunisierungsbehandlung endete ein Drittel als Abort oder EUG. Die übrigen zwei Drittel endeten mit der Geburt eines lebenden Kindes. Der Unterschied „intakte Schwangerschaft“ und „Geburt“ ergibt sich dadurch, daß zum Zeitpunkt der Datenerhebung noch nicht alle Patientinnen entbunden hatten.

4. Diskussion

4.1 Diskussion der Ergebnisse im Einzelnen

Wie bereits in der Einleitung erwähnt, wurde die Immunisierungsbehandlung anfangs nur zur Behandlung von chronisch habituellen Abortiererinne(n) (CHA) angewandt. Die positiven Erfahrungen, die bei der Behandlung von CHA-Patientinnen durch die intrakutane Applikation von Lymphozyten gemacht werden konnten, gaben Anlaß dazu, diese Behandlungsform auf Patientinnen mit frustranen IVF-Behandlungszyklen zu übertragen.

Der Grundgedanke hierbei war die Annahme, daß für eine erfolgreiche Schwangerschaft bzw. bereits für die Implantation eines Embryos, eine Reaktion des mütterlichen Immunsystems erfolgen müsse. Eine Reaktion des mütterlichen Organismus auf das Allotransplantat Fet. Der Begriff Allotransplantat wird in diesem Zusammenhang in Anlehnung an die Transplantationsmedizin benutzt, um deutlich zu machen, daß es sich beim Feten um für die Mutter fremdes Gewebe handelt und man, wie bei der Transplantation die Abstoßung befürchten muß. Um präziser zu sein, müßte man von Haploallotransplantat sprechen, da es sich beim Feten nur zur Hälfte um, für die Mutter, fremdes Gewebe handelt, da es vom Kindsvater stammt.

Die Frage ist, warum der Fet nicht vom mütterlichen Immunsystem als fremd erkannt wird und als Reaktion darauf abgestoßen wird. Oder, wenn er als fremd erkannt wird, welche Mechanismen im mütterlichen Organismus dafür sorgen, daß er nicht abgestoßen wird, sondern gegenüber dem eigenen Immunsystem geschützt wird.

Desweiteren, wenn es diese „Schutzmechanismen“ gibt, warum sie dann nur bei einigen Frauen funktionieren und bei anderen wiederum nicht?

Daraus ergibt sich die Frage, ob man das Immunsystem dieser Frauen nicht dahingehend stimulieren könnte, daß diese „Schutzmechanismen“ in Kraft gesetzt würden und man damit Patientinnen mit wiederholten frustranen IVF-Behandlungszyklen, deren Ursache im immunologischen Bereich vermutet wird, doch noch zu einem Kind verhelfen könnte.

Diese Überlegung liegt der Immunisierungsbehandlung zu Grunde und bildet den Inhalt der vorliegenden Studie:

Profitieren Patientinnen mit wiederholten, frustranen IVF-Behandlungszyklen von der Immunisierungsbehandlung? Profitieren im Sinne von vermehrtem Eintritt von Schwangerschaften und positiverem Verlauf der Schwangerschaften, womit ein Fortbestehen zumindest über die 12. SSW gemeint ist.

Und als zweiter Schritt die Anwendbarkeit der Immunisierungsbehandlung. Sind nur bestimmte Patientinnen für diese Behandlung geeignet?

Somit ergibt sich für den Erfolg der Immunisierungsbehandlung eine Untergliederung in die folgenden drei Bereiche:

1. Schwangerschaftsrate - Kam es nach der Immunisierungsbehandlung vermehrt zum Eintritt einer Schwangerschaft?
2. Schwangerschaftsverlauf - Wie verliefen die Schwangerschaften nach der Immunisierungsbehandlung im Vergleich zu vorher?
3. Beeinflussung durch patientenbezogene Parameter - Profitieren nur bestimmte Patientinnen von der Behandlung?

4.1.1 Einfluß auf die Schwangerschaftsrate

Die zunächst entscheidende Frage, die zuerst betrachtet werden muß, ist die Frage nach der Schwangerschaftsrate. Ist die Anzahl der Schwangerschaften nach Immunisierungsbehandlung höher als vorher? Wie bereits in der Einleitung erläutert, werden frustrane IVF-Behandlungszyklen in Analogie zum chronisch habituellen Abortgeschehen als Frühestabort betrachtet, als Frühestabort in Form eines verhinderten Einnistens der befruchteten Eizelle.

In den IVF-Behandlungszyklen, die vor der Immunisierungstherapie durchgeführt wurden, kam es zu einer kumulativen Schwangerschaftsrate von 19%. 19% der Patientinnen aus unserem Kollektiv wurden also nach IVF/ET-Behandlungszyklen an unserer Klinik schwanger. Da diese Schwangerschaften nicht erfolgreich verliefen, also nicht zu der Geburt eines Kindes führten, wurden auch diese Patientinnen, wie auch diejenigen aus dem Kollektiv, bei denen keine Schwangerschaft eingetreten war, der Immunisierungsbehandlung unterzogen.

Unabhängig davon, ob Partner- oder Fremdlymphozyten (Indikation s. „Material und Methoden“) verwandt wurden, lag die kumulative Schwangerschaftsrate nach Immunisierung bei 54%, d.h. 54% der Patientinnen aus dem Kollektiv wurden nach der Applikation von Lymphozyten schwanger.

Dies bedeutet eine Steigerung der Schwangerschaftsrate nach Immunisierung um fast das Dreifache. Es ist kaum vorstellbar, daß dies nur ein Zufallsergebnis ist, es ist vielmehr anzunehmen, daß durch die Applikation von Lymphozyten Veränderungen im mütterlichen Organismus ausgelöst werden, die die Einnistung der Eizelle ermöglichen.

Auffallend ist, daß die höchste Schwangerschaftsrate in den Zyklen direkt nach der Immunisierung erzielt wurde, was bedeuten könnte, daß die Wirkung der Behandlung besonders groß am Anfang ist und mit zunehmendem zeitlichen Abstand nachläßt, was evtl. eine Auffrischung erfordern könnte.

4.1.2 Einfluß auf die Schwangerschaftsverläufe

Als nächstes sind die Verläufe der eingetretenen Schwangerschaften nach der Immunisierungsbehandlung zu betrachten. Hat die Immunisierungsbehandlung einen positiven Einfluß auf den Verlauf der Schwangerschaft?

Betrachtet man den Verlauf der Schwangerschaften, die vor der Immunisierungsbehandlung in unserem Kollektiv eingetreten sind, so stellt man fest, daß alle in einer Fehlgeburt geendet haben, zu 17% in einem Abort und 2% in einer Extrauterin gravidität.

Keine der Schwangerschaften überschritt die 12. SSW.

Nach der Immunisierungsbehandlung endete nur ein Drittel der Schwangerschaften in einer Fehlgeburt -14% in Form eines Abortes und 4% als EUG-. Die übrigen zwei Drittel der Schwangerschaftsverläufe im Patientenkollektiv verteilen sich zu gleichen Anteilen auf „intakte Schwangerschaft“, d.h. ein Drittel ist zum Zeitpunkt der Auswertung noch schwanger, jedoch über die 12. SSW bereits hinaus fortgeschritten; und auf Geburt, d.h. ein Drittel der Patientinnen wurde von einem gesunden Kind entbunden.

Somit müssen durch die Immunisierungsbehandlung im mütterlichen Organismus nicht nur Veränderungen ausgelöst werden, die es der Eizelle ermöglichen, sich einzunisten, sondern auch ihre spätere Abstoßung verhindern. Da es nicht nur zu höheren Schwangerschaftsraten, sondern auch zu positiveren Schwangerschaftsverläufen nach der Immunisierungsbehandlung gekommen ist.

Veränderungen, die das mütterliche Immunsystem den Feten nicht als fremd erkennen und so eine Abstoßung verhindern. Vorstellbar wäre eine Maskierung der Fremdantigenen, so daß keine Antikörper ausgebildet werden und damit die Abstoßung ausbleibt. So wäre es zum einen denkbar, daß das mütterliche Immunsystem für die Zeit der Schwangerschaft soweit blockiert würde, daß der Fetus nicht bedroht wäre, im Sinne eines passiven Schutzmechanismus, oder aber aktiv Schutzfaktoren ausgebildet werden, die das Schwangerschaftsprodukt vor der Abstoßung bewahren, im Sinne von Blockierenden Faktoren, wie in den späteren Abschnitten noch näher erläutert.

4.1.3 Beeinflussung durch patientenbezogenen Parameter

Als Weiteres ist noch zu klären, ob nur bestimmte Patientinnen von der Immunisierungsbehandlung profitieren oder, ob ihr Benefit unabhängig von patientinbezogenen Parametern ist.

Unter patientenbezogenen Parametern sind Alter, gynäkologische Diagnose, Spermiogrammbefund der Partner und Anamnese der Patientinnen zusammengefaßt.

Diese Parameter sind im Tabellenanhang dem Erfolg der Immunisierungsbehandlung, gemessen in Schwangerschaftsrate und -verlauf, gegenüber gestellt.

Ein maßgeblicher Einfluß dieser Parameter auf den Erfolg der Immunisierungsbehandlung konnte nicht festgestellt werden.

Ebensowenig scheint die Anzahl der, zur Immunisierung verwandten, Lymphozyten, sowie die Zyklusstimulationsform eine maßgebliche Auswirkung auf den Erfolg der Behandlung zu haben.

Dies läßt vermuten, daß Applikation der Lymphozyten eine eher unspezifische Stimulation des mütterlichen Organismus bewirkt. Unspezifisch insofern, als daß nicht nur ein bestimmtes Patientenkollektiv davon profitiert.

Die genauen Wirkmechanismen der Immunisierungsbehandlung im mütterlichen Organismus sind weiterhin unklar, die Hypothesen hierzu sind in den folgenden Abschnitten aufgeführt.

4.2 Immunisierungstherapie

Der Immunisierungsbehandlung liegt die Vermutung zu Grunde, daß es immunologische Mechanismen gibt, die die Implantation der Eizelle verhindern oder zu deren schneller Abstoßung führen, also ein Abortgeschehen zu sehr frühem Zeitpunkt. Die genauen Ursachen für ein solches immunologisches Abortgeschehen sind noch nicht geklärt, beruhen noch auf Hypothesen, wie in Abschnitt 4.3 näher ausgeführt.

In Form der Immunisierungsbehandlung versucht man, die verantwortlichen Mechanismen für das immunologische Abortgeschehen dahingehend zu beeinflussen, daß die Einnistung der Eizelle ermöglicht wird bzw. deren frühe Abstoßung verhindert wird.

Erstmals wurde 1981 das Konzept einer Immunisierungstherapie zur Behandlung von chronisch habituellen Aborten (CHA), bei denen eine immunologische Ursache vermutet wurde, von Taylor und Faulk vorgestellt. Dieses Konzept bestand in der intravenösen Verabreichung von Leukozytentransfusionen. Taylor und Faulk verabreichten vier CHA-Patientinnen mehrfache Leukozytentransfusionen. Diese Patientinnen wiesen eine Übereinstimmung in einem oder mehreren HLA-Merkmalen mit ihren Partnern auf, die Leukozyten stammten von mehreren unterschiedlichen Spendern. Die anschließenden Schwangerschaften verliefen ungestört und wurden bei drei Patientinnen mit der Geburt von gesunden Kindern erfolgreich beendet, die vierte Patientin war zum Zeitpunkt der Veröffentlichung noch schwanger.

Taylor und Faulk kamen zu dem Schluß, daß ein HLA-Sharing, d.h. ein erhöhtes Übereinstimmen in einem oder mehreren HLA-Merkmalen, zwischen den Partnern für die Reproduktion von Nachteil sei und es deswegen zu einer erhöhten Abortrate käme. Würden jedoch die Frauen mit mehrmaligen Leukozytentransfusionen vor und während der Schwangerschaft behandelt, so käme es zur Induktion von sog. TLX-Antigenen, die den Eintritt und das Bestehen einer Schwangerschaft ermöglichen. Dieses TLX-System kodiere sowohl Trophoblast- als auch Lymphozytenantigene (trophoblast-lymphocyt-crossreacting-system). Eine Übereinstimmung in diesem System mache einen erfolgreichen Schwangerschaftsverlauf unmöglich, so Taylor und Faulk. Ein erhöhtes HLA-Sharing werteten sie als Hinweis auf eine Übereinstimmung im TLX-System (Taylor und Faulk, 1981).

Auf diese Hypothese stützte sich 1987 die Gruppe um Westphal in Kiel und wandte die Kriterien, wie von Taylor und Faulk publiziert, auf 63 Paare mit multiplen habituellen Aborten an, indem sie sie auf Übereinstimmungen in HLA-Merkmalen und das Vorhandensein zyto-toxischer Antikörper untersuchte.

Westphal et al. unterzogen 30 ihrer Patientinnen einer Leukozytentransfusionstherapie, hierbei verzichteten sie jedoch auf die sehr engmaschig wiederholten Transfusionen, wie von Taylor und Faulk empfohlen. Sie gelangten zu dem Schluß, daß eine einzige Immunisierung bereits ausreichend für eine erfolgreiche Therapie sei. Es wurde eine Schwangerschaftsrate von 83% erzielt.

Hiervon kam es bei 84% zur Geburt eines gesunden Kindes, 8% der Schwangerschaften waren zum Zeitpunkt der Veröffentlichung noch nicht beendet und weitere 8% wurden abortiert. (Westphal et al., 1987)

Zwei Jahre zuvor war von Beer eine andere Methode der Immunisierungstherapie vorgestellt worden. Sie bestand in der intradermalen Applikation von paternalen Lymphozyten bei Patientinnen mit CHA.

Ihr Kollektiv bestand aus 100 CHA-Patientinnen, denen sie Lymphozyten ihres Partners intradermal injizierten. Anschließend wurde untersucht, ob die Patientinnen zytotoxische Antikörper gebildet hatten. Gezeigt werden konnte, das beim Nachweis von zytotoxischen Antikörpern im Serum und von Lymphozyten in der Dezidua, in erhöhtem Maße zu einem erneuten Abort kam. (Beer et al., 1985)

Westphal verwandte die Methode der intradermalen Applikation von paternalen Lymphozyten zur Immunisierungsbehandlung von Beer 1990 bei 116 Paaren mit chronisch habituellen Aborten und erzielte eine Schwangerschaftsrate von 67%. Von den Schwangerschaften wurden 54% ausgetragen, 3% waren zum Zeitpunkt der Veröffentlichung noch nicht beendet und 10% waren als Abort geendet.

Gestützt wurden diese Ergebnisse von zwei weiteren Studien (Fizet et al., Carp et al.), die im selben Jahr veröffentlicht wurden. Auch hier wurden Patientinnen mit chronisch habituellen Aborten einer intrakutanen Immunisierungstherapie mit paternalen Lymphozyten unterzogen. Die Autoren erzielten Schwangerschaftsraten von insgesamt 51 bzw. 62% in ihrem Kollektiv.

Seitdem hat sich die intrakutane Applikation von Partner- oder Fremdspenderlymphozyten zur Behandlung von immunologisch begründetem Abortgeschehen in zunehmendem Maße etabliert.

Als Nebenwirkung dieser Behandlungsmethode wird in der Literatur von einem Fall einer graft-versus-host-like Reaktion berichtet:

Katz et al. schilderten 1992 den Fall einer 34jährigen Patientin, die einer Immunisierung mit paternalen Lymphozyten unterzogen worden war. Sie entwickelte am auf die Immunisierungsbehandlung folgenden Tag an den Einstichstellen zwei Bullae von etwa einem Zentimeter Durchmesser, gefüllt mit klarem, nichteitrigem Inhalt. Die umgebende Haut war gerötet und induriert. Andere Entzündungszeichen fanden sich nicht. Die Größe der Hautmanifestationen nahm in den darauffolgenden Tagen zu. Unter der lokalen Anwendung von Steroiden und der oralen Applikation von Analgetika, kam es nach drei Wochen zum Abklingen der Beschwerden.

Die Autoren gingen von einer kutanen Manifestation einer Graft-versus-host-like Reaktion aus. In ihrem Patientenkollektiv beobachteten sie diese Reaktion zum ersten Mal. Auch in der Literatur lassen sich keine weiteren Beispiele für ähnliche Reaktionen finden.

(Katz et al., 1992)

1999 wurde eine große randomisierte, Placebo kontrollierte Doppelblindstudie vorgestellt, die bezüglich des Benefits der Immunisierungsbehandlung bei CHA-Patientinnen zu einem ganz anderen Ergebnis gelangt:

Ober et al. untersuchten 183 Patientinnen mit 3 oder mehr spontanen Aborten in der Vorgeschichte. 91 dieser Patientinnen wurden der Immunisierungsbehandlung mittels paternalen Lymphozyten unterzogen, 93 Patientinnen gehörten der Kontrollgruppe an.

Für die Immunisierung wurden den Patientinnen Lymphozyten, die aus Vollblut separiert wurden, intravenös injiziert, sowie in jeweils zwei Stellen des Unterarms sowohl intrakutan, als auch intradermal. Die Kontrollgruppe bekam statt der Lymphozyten eine Kochsalzlösung in gleicher Weise verabreicht. Als Erfolg wurde eine Schwangerschaft definiert, die über die 28. SSW fortgeschritten war. 4 der 181 Patientinnen wurden aus unterschiedlichen Gründen aus der Studie ausgeschlossen. Von den verbleibenden 179 wurden 131 (73,2%) innerhalb von 12 Monaten schwanger, bei 40 Patientinnen (22,3%) blieb eine Schwangerschaft aus.

Von den 131 Schwangeren wurden 72 (55%) entbunden und 59 (45%) erlitten eine Fehlgeburt.

Bei der Verteilung der Erfolgsrate in Behandlungs- und Kontrollgruppe fällt auf, daß 46% der Patientinnen in der Behandlungsgruppe erfolgreich schwanger wurden und die Schwangerschaften bereits die 28. SSW überschritten hatten. In der Kontrollgruppe waren es hingegen sogar 65% der Patientinnen. Es wurden 31 lebend geborene Kinder in der Behandlungsgruppe verzeichnet und 41 in der Kontrollgruppe.

Ihre Ergebnisse veranlaßten Ober et al. dazu, in der Immunisierungsbehandlung mit paternalen Lymphozyten kein Benefit bezüglich der Prävention wiederholter Aborte zu sehen. Dementsprechend geht ihre Empfehlung dahin, diese Behandlungsform nicht bei chronisch habituellem Abortgeschehen anzuwenden. (Ober et al., 1999)

4.3 Hypothesen für das immunologisch begründete Abortgeschehen

Auch wenn sich die Immunisierungstherapie zunehmend zur Behandlung von chronisch habituellen Abortierern etabliert hat und Erfolge anzunehmen sind, sind die Ursachen für ein immunologisch bedingtes Abortgeschehen noch nicht geklärt.

Bereits 1953 stellte Peter Medawar drei Hypothesen auf, die zur Erklärung des immunologischen Überlebens des „Allotransplantats“ Fet dienen sollten. Der Begriff „Allotransplantat“ wurde, wie bereits erwähnt, in Anlehnung an die Transplantationsmedizin gewählt, um deutlich zu machen, daß es sich bei einem Feten um zumindest zur Hälfte aus, für den mütterlichen Organismus, fremdem Erbmaterial handelt. Daraus resultiert die Frage, warum dieses „fremde Material“ nicht abgestoßen wird und welche Mechanismen dafür verantwortlich sind. Medawar stellte diesbezüglich die folgenden drei Hypothesen auf:

1. Der Fetus ist immunologisch unreif, d. h. er exprimiert keine väterlichen Alloantigene und präsentiert sich dem mütterlichen Immunsystem somit nicht als fremd.
2. Das mütterliche Immunsystem ist während der Schwangerschaft inaktiv. Es werden also trotz der Expression väterlicher Antigene keine immunologischen Reaktionen ausgelöst.
3. Der Fetus ist anatomisch von der Mutter getrennt. Eine immunologische, physikalische oder auch physiologische Barriere verhindert so den Übertritt von mütterlichen immunkompetenten oder zytotoxischen Molekülen und Zellen.

Inzwischen haben sich in der Literatur hauptsächlich die folgenden Mechanismen zur Erklärung eines immunologisch begründeten Abortgeschehens verfestigt:

1. Das Auftreten zytotoxischer antipaternaler Antikörper,
2. das Fehlen Blockierender Faktoren und
3. ein erhöhtes HLA-Sharing zwischen den Partnern.

4.3.1 Zytotoxische antipaternale Antikörper

Zytotoxische antipaternale Antikörper wurden erstmals 1985 als mögliche immunologische Ursache für CHA zur Diskussion gestellt. Beer stellte eine Studie vor, die 100 Patientinnen mit chronisch habituellen Aborten umfaßte. Diese Patientinnen unterzog er einer Immunisierungstherapie, indem er ihnen Lymphozyten ihres Partners intradermal injizierte. Beer konnte zeigen, daß die Patientinnen, die nach der Immunisierungstherapie leukozytotoxische Antikörper produziert hatten, ein weiteres Mal abortierten. Bei diesen Patientinnen waren Lymphozyten in der Decidua und zytotoxische antipaternale Antikörper im Serum nachweisbar. Er schloß daraus, daß diese Antikörper bei Patientinnen mit CHA gehäuft vorkommen und sie möglicherweise ein Indikator für ein deutlich erhöhtes Risiko bezüglich weiterer Aborte seien. (Beer et al., 1985)

Auch Böhme und Donat wiesen 1989 Lymphozyten im Endometrium nach. In 100 periovulatorisch durchgeführten Endometriumbiopsien, die anlässlich der Einlage einer Intrauterinspirale gewonnen worden waren, konnten sie einen erhöhten Anteil an T-Suppressorzellen gegenüber T-Helferzellen feststellen. Die Autoren deuteten dies als Ausdruck einer immunsuppressiven Lage für eine zu erwartende Invasion antigenen Materials z.B. in Form von Spermien und Bestandteilen des Seminalplasmas. Somit könnte, gemäß den beiden Autoren, der Anstieg von T-Suppressorzellen in der Lutealphase die Implantation der Blastozyste begünstigen. (Böhme und Donat, 1989)

Diese Ergebnisse stützen die These, daß die Reaktion des mütterlichen Organismus auf eine zu erwartende Schwangerschaft nicht in einer Abwehrreaktion besteht, sondern vielmehr in einer Herabsetzung der eigenen Abwehrfunktion, um das Überleben des Allotransplantates Fet zu ermöglichen.

Auch der negative Einfluß von NK-Zellen für das Eintreten und die Aufrechterhaltung einer Schwangerschaft wurde untersucht. 1996 wurden hierzu mehrere Studien veröffentlicht.

Bei den Zellen, die im Uterus zur Zeit der Implantation präsent sind, scheint es sich hauptsächlich um Makrophagen und NK-Zellen zu handeln. Ihre Zahl soll v.a. auf der Implantationsseite der Decidua basalis, vermehrt sein, so Loke und King 1996. Die beiden Autoren vermuteten im vom Trophoblasten exprimierten HLA-G einen fetalen Schutzmechanismus gegenüber den mütterlichen NK-Zellen. Die Co-Expression des ebenfalls vom Trophoblasten exprimierten HLA-C wird von Loke und King als wichtig für den Schutz gegen eine optimale Erkennung durch die mütterlichen NK-Zellen gewertet. (Loke und King, 1996)

HLA-G gehört zu den Klasse I Genen und läßt sich in der Plazenta, im Auge und im Thymus finden. In einer Arbeit von Jurisicova et al. von 1996, die die Rolle von HLA-G für den erfolgreichen Verlauf eines IVF-Behandlungszyklus untersuchten, stellten die Autoren fest, daß bei Patientinnen, die nach IVF-Behandlung schwanger wurden, vermehrt HLA-G von den Blastozysten exprimiert wurde, im Gegensatz zu den nicht schwangeren Patientinnen. (Jurisicova et al., 1996)

Durch die Abwesenheit der sog. Transplantationsantigene des major histocompatibility complex, kommt es nicht zur klassischen Antigenerkennung, wie sie in der Transplantationsmedizin eine Rolle spielt. Es wird jedoch, Untersuchungen zufolge, von invasiven Zytotrophoblastzellen ein nicht klassisches MHC-Antigen exprimiert (HLA-G), sowie das HLA-C, wie durch King et al. 1990 nachgewiesen. Die Erkennung dieser beiden Antigene scheint einer Lyse durch die large granular lymphocytes, die die größte Zellpopulation in der Dezidua im ersten Trimenon und zum Zeitpunkt der Geburt darstellen, entgegen zu wirken. (Marzusch und Steck, 1998)

Einer neuen Untersuchung zufolge, die in diesem Jahr von Hayakawa et al. vorgestellt wurde, kommt es nach Verabreichung von paternalen Lymphozyten bei CHA-Patientinnen zur Verschiebung der TH1-Zellen-Dominanz zu Gunsten einer TH2-Zellen-Dominanz. Die Autoren stellten fest, daß im mütterlichen Organismus die TH1-Zellen vorherrschen, wurden jedoch den Patientinnen paternale Lymphozyten verabreicht, so kam es zum Überwiegen der TH2-Zellen ggü. den TH1-Zellen. Hayakawa et al. untersuchten 12 Patientinnen mit chronisch habituellen Aborten, die mittels Applikation paternaler Lymphozyten behandelt wurden. 9 dieser Patientinnen entwickelten im Anschluß an die Behandlung eine TH2-Zellen-Dominanz, davon wurden 7 im Verlauf von 6 Monaten schwanger, 4 gebaren ein gesundes Kind. Von den 3 Patientinnen, bei denen es nicht zur Verschiebung der Dominanzen kam, wurde keine schwanger. (Hayakawa et al., 2000)

Interessant ist diese Untersuchung v.a., wenn man bedenkt, daß vom Trophoblasten HLA-G, ein zur Klasse I gehörendes MHC-Antigen, exprimiert wird, doch von TH2-Zellen Klasse II-Antigene erkannt werden. Es könnte also bedeuten, daß die Veränderungen im mütterlichen Organismus, die mittels Immunisierungsbehandlung ausgelöst werden müssen damit es zu Eintritt und Austragen einer Schwangerschaft kommt, in einer Dominanzverschiebung von TH1 zu TH2-Zellen besteht. Und durch die vermehrte Präsenz von TH2-Zellen der Fet nicht als fremd erkannt wird und somit sein „Überleben“ im mütterlichen Organismus ermöglicht wird.

Zu dem Schluß, daß die NK-Zellen eine erhebliche Bedeutung beim chronisch habituellen Abortgeschehen haben, kamen auch Ruiz et al. 1996. Ihre Untersuchung beschäftigt sich primär mit dem Einfluß des Alters auf chronisch habituelle Aborte (CHA). Die Autoren vermuten, daß 65% der chronisch habituellen Aborte immunologische Ursachen haben, wobei sie die Hauptursache hierfür in einem erhöhten Anteil an NK-Zellen sehen.

Zu dieser Schlußfolgerung gelangten sie durch den Nachweis einer erhöhten Konzentration von NK-Zellen bei Patientinnen mit CHA, die auch nach Immunisierungsbehandlung ein weiteres Mal abortierten. Das gleiche Ergebnis fanden sie bei Patientinnen mit wiederholten frustranen IVF-Behandlungszyklen.

Die Autoren schlugen deswegen vor, die Aktivität der NK-Zellen (identisch mit Serum-NK-Zellen) zu bestimmen, um eventuell eine Aussage über den Schwangerschaftsverlauf treffen zu können. (Ruiz et al., 1996)

Die Möglichkeit vermittels einer Aktivitätsbestimmung der NK-Zellen eine Aussage über den Schwangerschaftsverlauf treffen zu können, wurde im gleichen Jahr von Beer et al. untersucht. Beer et al. deuteten einen erhöhten Anteil an NK-Zellen im peripheren Blut als Indikator für ein weiteres Fehlschlagen der Schwangerschaft bei Patientinnen mit CHA, sowie auch bei Sterilitätspatientinnen im Rahmen des IVF-Programms.

Die Gruppe untersuchte 116 Frauen mit CHA (81 waren nicht schwanger und 35 waren schwanger) und 45 Frauen mit primärer Sterilität und Zustand nach wiederholten frustranen IVF-Behandlungszyklen. Sie bestimmten die Höhe der NK-Zellen im Serum und stellten fest, daß ein erhöhter Anteil an NK-Zellen im Serum ihres Patientenkollektivs vorlag. Dies veranlaßte die Autoren dazu, die Bestimmung der NK-Zellen im peripheren Blut als Untersuchungsmethode bei idiopathischer Sterilität zu empfehlen. (Beer et al., 1996)

Die Rolle von zytotoxischen Antikörpern auf die Schwangerschaftsrate und den Schwangerschaftsverlauf wird jedoch nicht einheitlich als negativ angesehen. In folgenden Studien wird ihr Auftreten als Indikator für eine erfolgreiche Schwangerschaft gewertet:

In der bereits im Abschnitt 4.3 erwähnten Studie von Carp et al. von 1990, in der 156 Patientinnen einer intrakutanen Immunisierungsbehandlung mit paternalen Lymphozyten unterzogen wurden, stellten die Autoren die Hypothese auf, daß die Produktion von zytotoxischen Antikörpern entscheidend für das Eintreten einer Schwangerschaft sei.

Sie werteten ihr Auftreten als Auseinandersetzung des mütterlichen Organismus mit paternalen Antigenen. Um die Induktion dieser Antikörper herbeizuführen, bedienten sie sich der Immunisierungsbehandlung und werteten somit das Auftreten der zytotoxischen, antipaternalen Antikörper als Erfolg der Immunisierungsbehandlung.

109 Patientinnen (70%) bildeten zytotoxische antipaternale Antikörper aus, bei 47 (30%) kam es nicht zu deren Induktion. Von den Patientinnen, die serokonvertierten, d.h. nach der Immunisierung Antikörper ausbildeten, wurden 61% schwanger. Bei der seronegativen Gruppe, die die Patientinnen beinhaltete, die keine Antikörper entwickelte, kam es zu einer Schwangerschaftsrate von 25%. Die Abortrate war mit 40% im seropositiven Kollektiv um die Hälfte geringer als im seronegativen. (Carp et al., 1990, Gynecol. Obstet. Invest.)

Ebenfalls ein Benefit in der Ausbildung zytotoxischer antipaternaler Antikörper für das Eintreten einer Schwangerschaft sahen Agrawal et al. Sie hielten sogar eine bestimmte Höhe des Titers für wichtig. Bei einem Titer von $>1:16$ erzielten sie eine Schwangerschaftsrate von 76% nach Immunisierungsbehandlung.

4.3.2 Blockierende Faktoren (BF)

Die Ausbildung von sog. Blockierenden Faktoren (BF) ist ein weiterer Mechanismus, dessen Bedeutung im Rahmen eines immunologisch bedingten Abortgeschehen diskutiert wird. Unter den BF sind Faktoren zu verstehen, deren Bildung durch den Kontakt mit paternalen Alloantigenen (vom Kindsvater stammend), die vom Feten exprimiert werden, induziert wird. Es wird davon ausgegangen, daß die Bildung von BF den Feten vor der Erkennung des mütterlichen Immunsystems bewahrt und somit seine Abstoßung verhindert.

Erstmals erwähnt wurden die BF in einer Studie von Beer 1985 (s. 4.4.2). Hierin wurden 100 Patientinnen einer intradermalen Immunisierung unterzogen. Bei den Patientinnen, die nach der Immunisierung BF ausbildeten, kam es zu normalen Schwangerschaften und lebend geborenen Kindern. (Beer et al., 1985)

Diese Ergebnisse wurden von Große-Wilde und Kuhn 1988 bestätigt. Die beiden Autoren kamen zu dem Schluß, daß die Ausbildung von BF eine große Bedeutung sowohl für das Eintreten, als auch für den Verlauf einer Schwangerschaft hätte. Sie überprüften in ihrer Untersuchung die unterschiedlichen Hypothesen bezüglich des immunologisch begründeten Abortgeschehen. Sowohl für das HLA-Sharing, als auch für das Auftreten von zytotoxischen antipaternalen Antikörper konnten sie bei einem Teil ihrer Patientinnen Anhaltspunkte finden. Keine der beiden Hypothesen ließ sich jedoch für die Mehrheit ihres Patientenkollektivs zur Begründung der CHA heranziehen. Da die beiden Autoren in ihrer Untersuchung zur Überprüfung des Erfolgs der intrakutanen Immunisierungstherapie den EAI-Test benutzten, der BF nachweisen soll, und sie feststellen konnten, daß bei einem Großteil der Patientinnen mit erfolgreich eingetretener Schwangerschaft, der Test positiv ausfiel, hielten sie die Bildung von BF für einen wichtigen Mechanismus für eine erfolgreiche Schwangerschaft.

(Große-Wilde und Kuhn, 1988)

Auch Hinney und Neumeyer untersuchten 1991 die Bedeutung von BF. Ihr Patientenkollektiv umfaßte 49 Patientinnen mit drei oder mehr vorausgegangenen Frühaborten, die sie einer ausgedehnten Diagnostik unterzogen. Bei 23 ihrer Patientinnen führten sie eine Immuntherapie vor der geplanten Schwangerschaft durch. Dies erfolgte durch Lymphozytenpräparate des Partners, die aus Buffycoats gewonnen wurden. Die Lymphozyten wurden der Patientin simultan intrakutan und intravenös injiziert. Zur Überprüfung der Immuntherapie wandten sie den EAI-Test nach Power, modifiziert nach Westphal, an. Sie stellten fest, daß bei einer blockierenden Aktivität von 50% von einem erfolgreichen Verlauf der Schwangerschaft auszugehen sei.

In ihrem Kollektiv kam es bei 73,9% zum erfolgreichen Beenden der Schwangerschaft bzw. zum Überschreiten der 20. SSW und bei den übrigen 26,1% der Patientinnen zum Frühabort. (Hinney und Neumeyer, 1991)

Von der Bedeutung der BF für das Eintreten einer Schwangerschaft, sowie für das Überleben des Feten im mütterlichen Organismus sind auch Check et al. überzeugt. Die Autoren stellten 1997 die Ergebnisse der Immunisierungstherapie mittels intrakutaner Lymphozytenapplikation bei 35 Patientinnen vor. Sie vermuten jedoch eine andere Ursache für die Induktion von BF. Sie gehen davon aus, daß Progesteron eine entscheidende Rolle bei der Bildung von BF spielt. Die Interaktion einer hohen Progesteronkonzentration soll Progesteronrezeptoren an bestimmten CD8-Lymphozyten Blockierende Faktoren induzieren. Diese BF wiederum würden dann die Aktivität von NK-Zellen hemmen. (Check et al., 1997)

Dieser Ansatz, eine bestimmte Höhe des Progesteronserumspiegels als entscheidend für die Induktion von BF anzunehmen, wurde von anderen Autoren nicht übernommen. Es wurde jedoch versucht, die Bedeutung von BF für eine erfolgreiche Schwangerschaft nachzuprüfen.

Bei einem Kollektiv von 33 CHA Patientinnen bestimmten Pena et al. 1998 BF im Serum und führten, wenn keine BF vorhanden waren, eine intrakutane Immunisierungstherapie mit Lymphozyten des Partners oder, bei zu großer Übereinstimmung im HLA-System, mit denen eines Drittspenders durch. Anschließend wurde überprüft, ob sich BF gebildet hatten. Bei 80% des Kollektivs kam es im Anschluß an die Immunisierungsbehandlung zur Geburt eines lebenden Kindes, jedoch nur bei 50% konnten BF nachgewiesen werden. (Pena et al., 1998)

Demnach profitierte ein Großteil der Patientinnen von der Immunisierungsbehandlung. Für eine erfolgreiche Schwangerschaft scheint jedoch die Bildung von BF nicht entscheidend zu sein bzw. der Nachweis von BF kann nicht als Prognosefaktor für das Eintreten einer Schwangerschaft gewertet werden.

4.3.3 HLA-Sharing

4.3.3.1 HLA-Sharing bei CHA-Patientinnen

Das erhöhte HLA-Sharing zwischen den Partnern wird von vielen Autoren als Ursache für eine erhöhte Abortneigung gewertet. Bei Paaren mit CHA kann ein gehäuftes HLA-Sharing beobachtet werden, dessen Bedeutung jedoch von den einzelnen Autoren unterschiedlich beurteilt wird.

1981 wurde in zwei Studien die Bedeutung eines HLA-Sharing bei Paaren mit CHA untersucht:

Beer et al. untersuchten 26 Patientinnen mit CHA auf ihre HLA-Merkmale, hierbei fanden sie eine erhöhte Übereinstimmung der HLA-Merkmale zwischen den Partnern. Dies ließ sie die Frage aufwerfen, ob diese Paare nicht von einer Immunisierung mit Lymphozyten eines Drittspenders profitieren würden. (Beer et al., 1981)

Zeitgleich veröffentlichten Taylor und Faulk ihre Ergebnisse, wie unter Abschnitt 4.3 bereits erwähnt. Auch sie nahmen ein HLA-Sharing als Ursache für eine erhöhte Abortneigung an. Abweichend zu Beer et al. hielten sie jedoch unterschiedliche HLA-Merkmale für entscheidend zur Induktion von TLX-Antigenen. Diese TLX-Antigene sollen erst den Eintritt und die Aufrechterhaltung einer Schwangerschaft ermöglichen. (Taylor und Faulk, 1981)

Bei dem TLX-Antigen handelt es sich vermutlich um das Leukozytendifferenzierungsantigen CD46. Dies liegt an der Zellmembran assoziiert an HLA-Moleküle vor und stellt einen Schutzmechanismus der Zelle vor autologer Komplementaktivierung dar. Es wird auffallend oft vom normalen Trophoblasten exprimiert. Ein bestimmter Phänotyp kann gehäuft bei Paaren mit habituellen Aborten beobachtet werden. Da er jedoch auch bei Paaren mit normaler Fertilität vorkommt, kann auch er nicht als alleinige Ursache für CHA gewertet werden. (Schwartz, 1992)

Die größte Untersuchung bezüglich des HLA-Sharing bei Paaren mit wiederholten Fehlgeburten, wurde 1995 von Ober et al. am Beispiel der Hutterer durchgeführt. Bei den Hutterern handelt es sich um eine abgeschlossen lebendende religiöse Gemeinschaft in den USA und Kanada, die sich gegen Verhütung jeglicher Art aussprechen. Durch ihre strikt antikontrazeptive Haltung weisen die Hutterer eine hohe Schwangerschafts- und Geburtenrate auf, zusammen mit ihrer abgeschlossenen Lebensform stellen sie so ein gut zu untersuchendes Kollektiv bezüglich des Einflusses des HLA-Sharing auf die Fertilität dar.

Ober stellte die Hypothese auf, daß die Gemeinsamkeit bestimmter HLA-Antigene bei den Partnern eine Voraussage ermögliche über Gelingen oder Fehlschlagen einer Schwangerschaft. Das Patientenkollektiv ihrer prospektiven Studie umfaßte >400 verheiratete Frauen. Ober nahm an, daß HLA-DR-Antigene die Fertilität oder das Überleben des Pre- bzw. Periimplantations-embryos beeinflusse und, daß HLA-B Antigene zur frühzeitigen Fehlgeburt beitragen.

Dies konnte sie jedoch nicht nachweisen. Sie stellte aber fest, daß bei Paaren mit einem HLA-Sharing des HLA-DR Antigens im Durchschnitt längere Intervalle bis zur ersten Schwangerschaft bestanden als bei Paaren, die in diesem Antigen keine Gemeinsamkeit aufwiesen. Gleichzeitig konnte sie nicht ausschließen, daß bei den beobachteten Ergebnisse noch andere Mechanismen eine Rolle spielten. (Ober et al. 1995)

4.3.3.2 HLA-Sharing bei IVF-Patientinnen mit wiederholten, frustranen IVF-Behandlungszyklen

Das wiederholte Fehlschlagen von IVF/ET-Behandlungen wird in der Literatur als Frühestabort interpretiert. Auch hier wird die Bedeutung des HLA-Sharings der Partner diskutiert, wozu einige Untersuchungen veröffentlicht wurden.

Balasch et al. untersuchten 15 Paare mit primärer Sterilität auf HLA-Sharing. Bei diesen Paaren war es nach drei IVF-Behandlungszyklen mit einem Embryotransfer (ET) von bis zu vier Präimplantationsembryonen zu keiner Schwangerschaft gekommen. Eine zweite Gruppe mit 100 nichtsterilen Paaren, bei denen mindestens ein gesundes Kind vorhanden war und keine Anzeichen für eine sekundäre Sterilität bestand, diente als Vergleichskollektiv.

Die Autoren kamen zu dem Schluß, daß Unterschiede in den HLA-Merkmalen die Implantation und die Aufrechterhaltung einer Schwangerschaft begünstigen. In ihrer Vergleichsgruppe konnten sie keine Unterschiede bezüglich des HLA-Sharing bei Paaren mit Schwangerschaft und bei denen ohne Schwangerschaft feststellen. (Balasch et al., 1993)

Gestützt wurden die Ergebnisse von Ho et al., die 76 Paare mit idiopathischer Sterilität auf HLA-Sharing untersuchten. Es handelte sich um Paare aus dem IVF-Programm der Arbeitsgruppe von Ho. 51 Paare, die bereits mindestens zwei Kinder hatten und bei denen keine Aborte in der Anamnese bekannt waren, dienten als Kontrollgruppe. Sie stellten ein erhöhtes HLA-Sharing bei Paaren fest, bei denen ein IVF-Behandlungszyklus erneut fehlschlug.

(Ho et al., 1994)

Auch Creus et al. bestätigten die Hypothese eines erhöhten HLA-Sharings bei Paaren mit wiederholten frustranen IVF-Behandlungszyklen. Ihre Studie umfaßte 50 Paare mit primärer Sterilität, bei denen nach mindestens drei IVF-Behandlungszyklen noch keine Schwangerschaft eingetreten war. Als Kontrollgruppe dienten 50 Paare mit primärer Sterilität, bei denen es bereits im ersten IVF-Behandlungszyklus zum Eintritt einer Schwangerschaft gekommen war. In der ersten Gruppe lag ein erhöhtes HLA-Sharing von mindestens zwei Merkmalen vor.

(Creus et al., 1998)

4.4 Immunisierungsbehandlung bei IVF-Patientinnen

Das Fehlschlagen einer einwandfreien IVF-Behandlung mit Embryotransfer wird als Frühstabort interpretiert. Und auch hierbei, wie bei einem chronisch habituellen Abortgeschehen, werden Ursachen im immunologischen Bereich vermutet. Daher wird die Immunisierungsbehandlung, die zunächst nur bei CHA-Patientinnen angewandt wurde, auf Patientinnen mit wiederholten frustranen IVF-Behandlungszyklen übertragen.

1992 wurden erstmals die Behandlungsergebnisse von vier Patientinnen vorgestellt, die nach drei bis vier erfolglosen IVF-Behandlungszyklen mit einem ET von zwei bis drei Präimplantationsembryonen einer intrakutanen Immunisierungstherapie mittels paternalen Lymphozyten unterzogen wurden. Bei den Patientinnen lag eine tubare Sterilität (bilaterale Okklusion oder Hydrosalpinx) vor, andere Ursachen, einschließlich männliche Subfertilität, konnten ausgeschlossen werden. Zwischen den Partnern war ein erhöhtes HLA-Sharing festzustellen. Die Immunisierungsbehandlung wurde zweimalig im Abstand von vier Wochen durchgeführt, der Erfolg wurde durch den Nachweis von Blockierenden Faktoren im Serum der Patientin überprüft und im Anschluß ein erneuter IVF/ET-Behandlungszyklus durchgeführt. Eine dieser Patientinnen wurde hierauf schwanger und gebar ein gesundes Kind.

(Hasewaga et al., 1992)

1993 veröffentlichten Kuhn et al. die Ergebnisse ihrer prospektiven Studie, die an zwei IVF-Zentren - Göttingen und Leuven - durchgeführt wurde. Diese Studie beinhaltete 20 Patientinnen, die entweder mind. 3 IVF-Versuche mit einem Embryotransfer von zumindest 3 Embryonen oder 8 sorgfältig überwachte Stimulationszyklen und einen diagnostischen IVF/ET zu verzeichnen hatten.

In Göttingen wurden den Patientinnen die Lymphozyten intravenös, intrakutan und subkutan injiziert, nachdem sie vorher aus dem Buffy coat von 450 ml Blut gewonnen wurden.

In Leuven wurden Lymphozyten, die aus 50 ml voll heparinisiertem Venenblut gewonnen wurden, nur intrakutan verabreicht.

Insgesamt 10 der Patientinnen wurden innerhalb von 5 Monaten schwanger, teils spontan, teils nach Stimulation. Die Schwangerschaftsrate entsprach sich in den beiden Zentren.

Der Vergleich der anamnestischen Daten der Patientinnen mit dem Schwangerschaftserfolg zeigte keine signifikante Korrelation.

Bei den Patientinnen, die nicht schwanger wurden, konnten keine EAI-Antikörper nachgewiesen werden.

Die erzielten Schwangerschaften wurden bei 10 Patientinnen mit der Geburt von gesunden Kindern, davon einmal Gemini, beendet. Eine Patientin erlitt eine missed abortion in der 7. SSW.

6 der Patientinnen wurden ein zweites Mal schwanger, hiervon wurde die eine Hälfte von gesunden Kindern entbunden, bei der anderen Hälfte bestand die Schwangerschaft zum Zeitpunkt der Auswertung noch.

Kuhn et al. sind sich der möglichen Placebo-Wirkung, die eine zusätzliche Rolle spielen könnte, durchaus bewußt. Die Ergebnisse von zwei Zentren, bei z.T. unterschiedlichen Rahmenbedingungen, kommen jedoch zum gleichen Schluß:

Die Immunisierungsbehandlung stellt bei wiederholtem, ungeklärten Fehlschlagen von IVF/ET eine Therapiemöglichkeit dar. (Kuhn et al., 1993)

Zu diesem Ergebnis gelangen auch wir in unserer Studie. Obwohl es sich bei unserem Kollektiv um eine relativ heterogene Gruppe handelt, da nicht nur Patientinnen mit tubarer Sterilität beteiligt sind, sondern auch männliche Subfertilität bei den Partnern vorliegt, profitiert ein Großteil unseres Kollektivs von der Immunisierungsbehandlung.

Auch, wenn noch nicht die genauen Ursachen für ein immunologisch bedingtes Abortgeschehen geklärt sind und damit auch nicht die genauen Wirkmechanismen der Immunisierungsbehandlung, so scheinen doch durch sie Veränderungen im mütterlichen Organismus bewirkt zu werden, die den Eintritt einer Schwangerschaft begünstigen und auch ihren Fortgang ermöglichen. Damit würde die Immunisierungsbehandlung eine Möglichkeit darstellen, Frauen, die auch nach wiederholten einwandfreien IVF/ET-Zyklen nicht schwanger geworden sind, eine weitere Behandlungsform anzubieten, um ihnen doch noch zu einem Kind zu verhelfen.

5. Zusammenfassung

In der vorliegenden Studie wurde ein Kollektiv von 100 Patientinnen aus dem IVF-Programm untersucht, die trotz einwandfrei durchgeführter Behandlungszyklen nicht schwanger wurden. Bei diesem Kollektiv handelt es sich um ein relativ heterogenes Kollektiv, in dem sich nicht nur Patientinnen mit tubarer Sterilität, die bekanntlich das Gros der IVF-Patientinnen ausmachen, befinden. Es wurden auch Patientinnen aufgenommen, bei deren Partnern eine männliche Subfertilität diagnostiziert wurde. Diese Tatsache macht die Untersuchung natürlich etwas schwieriger, v.a. hinsichtlich der Vergleichbarkeit der Ergebnisse.

Trotz der Unterschiedlichkeit der primären Diagnose, die dazu führte, daß die Patientinnen zunächst ins IVF-Programm aufgenommen wurden, kann doch eine Gemeinsamkeit verzeichnet werden:

Nach mehreren einwandfrei durchgeführten IVF/ET-Behandlungszyklen kam es nicht zum Eintritt einer Schwangerschaft oder, wenn es zu einer Schwangerschaft kam, so endete sie als Abort oder EUG.

Wie bereits erläutert und daher hier nicht noch einmal ausgeführt, vermutet man bei diesem wiederholten Fehlschlagen der IVF-Behandlungen eine Ursache im immunologischen Bereich und versucht diese, noch nicht geklärten Mechanismen, durch die Immunisierung vermittels Injektion von Lymphozyten zu beeinflussen.

Eine Beeinflussung des mütterlichen Organismus, die wohl eher als unspezifisch bezeichnet werden muß, da nicht nur ein bestimmtes Patientenkollektiv von der Immunisierungsbehandlung zu profitieren scheint.

Die Hypothesen, die es bezüglich der Reaktion des mütterlichen Organismus auf den Feten gibt, sind sehr unterschiedlich:

Sie reichen von der Ausbildung passiver Schutzmechanismen, wie die Bildung von Blockierenden Faktoren, die den Feten vor der Erkennung durch das mütterliche Immunsystem abschirmen sollen, über fehlende Erkennung des Feten als „fremd“ bei zu großer Übereinstimmung im HLA-System der Partner und dadurch verursachte Abstoßungsreaktion, bis zu aktiver Abstoßung durch die Ausbildung von zytotoxischen Antikörpern.

Bei der vorliegenden Studie handelt es sich nicht um eine prospektiv, randomisierte Doppelblindstudie, so daß nur darüber spekuliert werden kann, ob es ohne die Immunisierungsbehandlung nicht doch noch zu erfolgreich verlaufenden Schwangerschaften bei weiteren IVF-Zyklen gekommen wäre, also die Patientinnen nicht auch ohne die Immunisierungsbehandlung ein Kind geboren hätten.

Auch über die Wirkung der Immunisierungsbehandlung kann nur spekuliert werden. Was wir jedoch in dieser Studie zeigen konnten, ist die höhere Schwangerschaftsrate in unserem Kollektiv nach der Applikation von Lymphozyten und der positivere Verlauf der Schwangerschaften in Bezug zu vorher ohne natürlich etwas über den genauen Mechanismus sagen zu können.

Bei der Wirkung scheint es sich jedoch um eine eher unspezifische Wirkung zu handeln, da nicht nur bestimmte Patientinnen von dieser Behandlungsform zu profitieren scheinen.

Durch die Immunisierungsbehandlung scheint das mütterliche Immunsystem dahingehend beeinflußt zu werden, daß sowohl die Einnistung einer Eizelle, als auch die Aufrechterhaltung einer Schwangerschaft ermöglicht werden.

Die Ergebnisse unserer Studie geben Anlaß zu der Hoffnung, Patientinnen mit wiederholten fehlgeschlagenen IVF/ET-Behandlungszyklen eine weitere Behandlungsform anbieten zu können, die die Wahrscheinlichkeit auf eine erfolgreich verlaufende Schwangerschaft erhöht. Auch, wenn natürlich unsere Ergebnisse noch vermittle einer prospektiv randomisierten Doppelblindstudie überprüft werden sollten.

6. Tabellenanhang

	Diagnose								
	Normalbefund		idiopath. St.		tubare St.		ovarielle St.		p
	MW	ST	MW	ST	MW	ST	MW	ST	
Zyklusstimulierung									
Komb. 1	1.42	1.00	1.90	1.68	2.65	2.10	1.00	1.00	0.075
Komb. 2	1.25	1.06	1.10	1.02	1.72	1.52	1.80	1.92	0.54
Sonderformen	0.33	0.65	0.55	0.76	0.37	0.66	0.60	0.89	0.57

Tabelle 11: Zyklusstimulierung /Diagnose. MW=Mittelwert, ST=Streuung, p aus dem exakten Chi-Quadrat-Test nach Mehta und Patel

Komb. 1=Deca., HMG/FSH, HCG; Komb. 2=Dyneric, HMG/FSH, HCG

	Alter		p
	MW	ST	
Anzahl der Schwangerschaften			
keine	32.04	3.83	0.93
1-3	31.89	4.47	
Anzahl der Zyklen zwischen Immunisierung und Schwangerschaft			
1	31.26	4.77	0.041*
2	33.00	3.66	
3-5	34.75	1.26	
Verlauf der 1. Schwangerschaft			
intakte Schwangerschaft	30.72	5.11	0.19
Geburt	31.24	4.09	
Abort	34.07	4.08	
EUG	32.25	2.22	

Tabelle 20: Erfolg/Alter. MW=Mittelwert, ST=Streuung, p aus dem exakten Chi-Quadrat-Test nach Mehta und Patel

	Weibliche Diagnose								p
	Normalbef.		idiopath.St.		tubare St.		ovarielle St.		
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Anzahl der SS									
keine	2	16.7 %	10	50.0 %	32	50.8 %	3	60.0 %	0.19
1	9	75.0 %	9	45.0 %	26	41.3 %	2	40.0 %	
2	0	-	1	5.0 %	5	7.9 %	0	-	
3	1	8.3 %	0	-	0	-	0	-	
Anzahl der Zyklen zw. I. und SS									
1	9	90.0 %	8	80.0 %	19	61.3 %	2	100 %	0.94
2	1	10.0 %	2	20.0 %	8	25.8 %	0	-	
3	0	-	0	-	1	3.2 %	0	-	
4	0	-	0	-	2	6.5 %	0	-	
5	0	-	0	-	1	3.2 %	0	-	
Verlauf der 1. SS									
intakte SS	4	40.0 %	3	30.0 %	11	35.5 %	0	-	0.88
Geburt	4	40.0 %	3	30.0 %	8	25.8 %	2	100 %	
Abort	2	20.0 %	3	30.0 %	9	29.0 %	0	-	
EUG	0	-	1	10.0 %	3	9.7 %	0	-	
Verlauf der 2. SS									
intakte SS	0	-	1	100 %	2	40.0 %	-	-	1.0
Geburt	0	-	0	-	2	40.0 %	-	-	
Abort	1	100 %	0	-	1	20.0 %	-	-	
Verlauf der 3. SS									
intakte SS	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabelle 21: Erfolg/weibliche Diagnose. SS=Schwangerschaft, I.=Immunsierung, Normalbef.=Normalbefund, idiopath. St.=idiopathische Sterilität, p aus dem exakten Chi-Quadrat-Test nach Mehta und Patel

	Spermiogramm						p
	Normo.		OAT		Astheno.		
	n	%	n	%	n	%	
Anzahl der SS							
keine	40	50.0 %	6	40.0 %	1	20.0 %	0.23
1	34	42.5 %	8	53.3 %	4	80.0 %	
2	6	7.5 %	0	-	0	-	
3	0	-	1	6.7 %	0	-	
Anzahl der Zyklen zw. I. und SS							
1	28	70.0 %	7	77.8 %	3	75.0 %	0.60
2	9	22.5 %	1	11.1 %	1	25.0 %	
3	0	-	1	11.1 %	0	-	
4	2	5.0 %	0	-	0	-	
5	1	2.5 %	0	-	0	-	
Verlauf der 1. SS							
intakte SS	11	27.5 %	4	44.4 %	3	75.0 %	0.43
Geburt	12	30.0 %	4	44.4 %	1	25.0 %	
Abort	13	32.5 %	1	11.1 %	0	-	
EUG	4	10.0 %	0	-	0	-	
Verlauf der 2. SS							
intakte SS	3	50.0 %	0	-	-	-	0.57
Geburt	2	33.3 %	0	-	-	-	
Abort	1	16.7 %	1	100 %	-	-	
Verlauf der 3. SS							
intakte SS	-	-	-	-	-	-	-

Tabelle 22: Erfolg/Spermiogramm. SS=Schwangerschaft, I.=Immunsisierung, Normo.=Normozoospermie, OAT=Oligoasthenoteratozoospermie, Astheno.=Asthenozoospermie, p aus dem exakten Chi-Quadrat-Test nach Mehta und Patel

	Voroperationen							p					
	keine		Endometrio- sesanierung		Myom- enukleation		Tubektomie		Ovarek- tomie		Refertili- sierung		
	n	%	n	%	n	%	n		%	n	%	n	%
Anzahl der SS													
keine	31	48.4 %	2	25.0 %	0	-	8	50.0 %	2	100 %	4	57.1 %	0.17
1	29	45.3 %	5	62.5 %	2	66.7 %	8	50.0 %	0	-	2	28.6 %	
2	4	6.3 %	1	12.5 %	0	-	0	-	0	-	1	14.3 %	
3	0	-	0	-	1	33.3 %	0	-	0	-	0	-	
Anzahl der Zyklen zwischen I. und SS													
1	25	75.7 %	5	83.3 %	2	66.7 %	4	50.0 %	-	-	2	66.7 %	0.55
2	6	18.2 %	1	16.7 %	0	-	3	37.5 %	-	-	1	33.3 %	
3	0	-	0	-	1	33.3 %	0	-	-	-	0	-	
4	1	3.0 %	0	-	0	-	1	12.5 %	-	-	0	-	
5	1	3.0 %	0	-	0	-	0	-	-	-	0	-	
Verlauf der 1. SS													
intakte SS	11	33.3 %	4	66.7 %	0	-	3	37.5 %	-	-	0	-	0.85
Geburt	12	36.4 %	1	16.7 %	1	33.3 %	2	25.0 %	-	-	1	33.3 %	
Abort	8	24.2 %	1	16.7 %	1	33.3 %	2	25.0 %	-	-	2	66.7 %	
EUG	2	6.1 %	0	-	1	33.3 %	1	12.5 %	-	-	0	-	

Tabelle 23: Erfolg/Voroperationen. SS=Schwangerschaft, I.=Immunisierung, p aus dem exakten Chi-Quadrat-Test nach Mehta und Patel

	Assistierte Reproduktionstechniken									
	IUI				GIFT					
	nein		ja, ohne SS		p	nein		ja, ohne SS		p
n	%	n	%	n		%	n	%		
Anzahl der SS										
keine	38	45.8 %	9	52.9 %		46	47.9 %	1	25.0 %	
1	39	47.0 %	7	41.2 %		43	44.8 %	3	75.0 %	
2	5	6.0 %	1	5.9 %		6	6.3 %	0	-	
3	1	1.2 %	0	-	0.93	1	1.0 %	0	-	0.52
Anzahl der Zyklen zw. I. und SS										
1	33	73.3 %	5	62.5 %		35	70.0 %	3	100 %	
2	8	17.8 %	3	37.5 %		11	22.0 %	0	-	
3	1	2.2 %	0	-		1	2.0 %	0	-	
4	2	4.4 %	0	-		2	4.0 %	0	-	
5	1	2.2 %	0	-	0.67	1	2.0 %	0	-	1.0
Verlauf der 1. SS										
intakte SS	16	35.6 %	2	25.0 %		18	36.0 %	0	-	
Geburt	14	31.1 %	3	37.5 %		16	32.0 %	1	33.3 %	
Abort	11	24.4 %	3	37.5 %		13	26.0 %	1	33.3 %	
EUG	4	8.9 %	0	-	0.85	3	6.0 %	1	33.3 %	0.2

Tabelle 24 a: Erfolg/Assistierte Reproduktionstechniken in der Vorgeschichte.

SS=Schwangerschaft, I.=Immunsierung, p aus dem exakten Chi-Quadrat-Test nach Mehta und Patel

	Assistierte Reproduktionstechniken											
	IVF				IVF/ICSI							
	nein		ja, ohne SS		ja, mit Abort		nein		ja, ohne SS			
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	p	
Anzahl der SS												
keine	35	48.6 %	12	48.0 %	0	-	47	48.0 %	0	-		
1	32	44.4 %	12	48.0 %	2	66.7 %	45	45.9 %	1	50.0 %		
2	5	6.9 %	0	-	1	33.3 %	6	6.1 %	0	-		
3	0	-	1	4.0 %	0	-	0	-	1	50.0 %	0.014*	
											99	
Anzahl der Zyklen zw. I. und SS												
1	26	70.3 %	9	69.2 %	3	100 %	36	70.6 %	2	100 %		
2	7	18.9 %	4	30.8 %	0	-	11	21.6 %	0	-		
3	1	2.7 %	0	-	0	-	1	2.0 %	0	-		
4	2	5.4 %	0	-	0	-	2	3.9 %	0	-		
5	1	2.7 %	0	-	0	-	1	2.0 %	0	-	0.9	1.0
											2	
Verlauf der 1. SS												
intakte SS	13	35.1 %	5	38.5 %	0	-	17	33.3 %	1	50.0 %		
Geburt	12	32.4 %	4	30.7 %	1	33.3 %	17	33.3 %	0	-		
Abort	9	24.3 %	3	23.1 %	2	66.7 %	13	25.5 %	1	50.0 %		
EUG	3	8.1 %	1	7.7 %	0	-	4	7.8 %	0	-	0.8	0.78
											6	

Tabelle 24 b: Erfolg/Assistierte Reproduktionstechniken (IVF, IVF/ICSI) in der Vorgeschichte.
SS=Schwangerschaft, I.=Immunsierung, p aus dem exakten Chi-Quadrat-Test nach Mehta und Patel

	Fehlgeschlagene Schwangerschaften									
	Aborte oder Totgeburten				EUG					
	nein		ja		p	nein		ja		p
n	%	n	%	n		%	n	%		
Anzahl der SS										
keine	39	48.1 %	8	42.1 %		33	44.6 %	14	53.9 %	
1	36	44.4 %	10	52.6 %		35	47.3 %	11	42.3 %	
2	5	6.2 %	1	5.3 %		5	6.8 %	1	3.9 %	
3	1	1.2 %	0	-	0.87	1	1.2 %	0	-	0.82
Anzahl der Zyklen zw. I. und SS										
1	31	73.8 %	7	63.6 %		31	75.6 %	7	58.3 %	
2	10	23.8 %	1	9.1 %		8	19.5 %	3	25.0 %	
3	1	2.4 %	0	-		1	2.4 %	0	-	
4	0	-	2	18.2 %		0	-	2	16.7 %	
5	0	-	1	9.1 %	0.016*	1	2.4 %	0	-	0.13
Verlauf der 1. SS										
intakte SS	15	35.7 %	3	27.3 %		12	29.3 %	6	50.0 %	
Geburt	13	31.0 %	4	36.4 %		14	34.2 %	3	25.0 %	
Abort	11	26.2 %	3	27.3 %		11	26.8 %	3	25.0 %	
EUG	3	7.1 %	1	9.1 %	0.96	4	9.8 %	0	-	0.63

Tabelle 25: Erfolg/Fehlgeschlagene Schwangerschaften in der Vorgeschichte.

SS=Schwangerschaft, I.=Immunsisierung, p aus dem exakten Chi-Quadrat-Test nach Mehta und Patel

	Deca., HMG/FSH, HCG Anzahl der Anwendungen					p				
	<=0		<=1		<=3		<=9			
	n	%	n	%	n		%	n	%	
Anzahl der SS										
keine	7	53.9 %	13	39.4 %	15	53.6 %	12	46.2 %		0.26
1	5	38.5 %	19	57.6 %	12	42.9 %	10	38.5 %		
2	1	7.7 %	1	3.0 %	0	-	4	15.4 %		
3	0	-	0	-	1	3.6 %	0	-		
Anzahl der Zyklen zwischen I. und SS										
1	5	83.3 %	17	85.0 %	11	84.6 %	5	35.7 %		0.056
2	1	16.7 %	3	15.0 %	1	7.7 %	6	42.9 %		
3	0	-	0	-	0	-	1	7.1 %		
4	0	-	0	-	1	7.7 %	1	7.1 %		
5	0	-	0	-	0	-	1	7.1 %		
Verlauf der 1. SS										
intakte SS	2	33.3 %	7	35.0 %	5	38.5 %	4	28.6 %		0.82
Geburt	2	33.3 %	8	40.0 %	4	30.8 %	3	21.4 %		
Abort	1	16.7 %	5	25.0 %	3	23.1 %	5	35.7 %		
EUG	1	16.7 %	0	-	1	7.7 %	2	14.3 %		

Tabelle 26: Erfolg/Zyklustimulation (Deca., HMG/FSH, HCG). SS=Schwangerschaft, I.=Immunsierung, p aus dem exakten Chi-Quadrat-Test nach Mehta und Patel

	Dyneric, HMG/FSH, HCG Anzahl der Anwendungen					p			
	<=0		<=1		<=3		<=7		
	n	%	n	%	n		%	n	%
Anzahl der SS									
keine	7	31.8 %	19	52.8 %	17	48.6 %	4	57.1 %	0.20
1	12	54.6 %	14	38.9 %	18	51.4 %	2	28.6 %	
2	2	9.1 %	3	8.3 %	0	-	1	14.3 %	
3	1	4.6 %	0	-	0	-	0	-	
Anzahl der Zyklen zwischen I. und SS									
1	11	73.3 %	10	58.8 %	14	77.8 %	3	100 %	0.61
2	3	20.0 %	6	35.3 %	2	11.1 %	0	-	
3	0	-	0	-	1	5.6 %	0	-	
4	0	-	1	5.9 %	1	5.6 %	0	-	
5	1	6.7 %	0	-	0	-	0	-	
Verlauf der 1. SS									
intakte SS	5	33.3 %	6	35.3 %	7	38.9 %	0	-	0.54
Geburt	3	20.0 %	6	35.3 %	7	38.9 %	1	33.3 %	
Abort	5	33.3 %	5	29.4 %	3	16.7 %	1	33.3 %	
EUG	2	13.3 %	0	-	1	5.6 %	1	33.3 %	

Tabelle 27: Erfolg/Zyklustimulierung (Dyneric, HMG/FSH, HCG). SS=Schwangerschaft, I.=Immunsierung, p aus dem exakten Chi-Quadrat-Test nach Mehta und Patel

	Sonderformen Anzahl der Anwendungen					p			
	0		1		2		3		
	n	%	n	%	n		%	n	%
Anzahl der SS									
keine	31	45.6 %	13	52.0 %	2	40.0 %	1	50.0 %	0.20
1	34	50.0 %	10	40.0 %	1	20.0 %	1	50.0 %	
2	2	2.9 %	2	8.0 %	2	40.0 %	0	-	
3	1	1.5 %	0	-	0	-	0	-	
Anzahl der Zyklen zwischen I. und SS									
1	28	75.7 %	7	58.3 %	2	66.7 %	1	100 %	0.29
2	7	18.9 %	4	33.3 %	0	-	0	-	
3	1	2.7 %	0	-	0	-	0	-	
4	0	-	1	8.3 %	1	33.3 %	0	-	
5	1	2.7 %	0	-	0	-	0	-	
Verlauf der 1. SS									
intakte SS	14	37.8 %	3	25.0 %	1	33.3 %	0	-	0.62
Geburt	12	32.4 %	4	33.3 %	0	-	1	100 %	
Abort	9	24.3 %	3	25.0 %	2	66.7 %	0	-	
EUG	2	5.4 %	2	16.7 %	0	-	0	-	

Tabelle 28: Erfolg/Zyklustimulierung (Sonderformen). SS=Schwangerschaft, I.=Immunsierung, p aus dem exakten Chi-Quadrat-Test nach Mehta und Patel

	Immunisierung				
	Verwendete Lymphozyten				p
	Partner		Fremd		
	n	%	n	%	
Anzahl der Schwangerschaften					
keine	33	44.0%	14	58.3%	0.25
1-3	42	56.0%	10	41.7%	
Anzahl der Zyklen zwischen I. und SS					
1	30	71.4%	7	70.0%	0.87
2	8	19.1%	3	30.0%	
3	1	2.4%	0	-	
4	2	4.8%	0	-	
5	1	2.4%	0	-	
Verlauf der ersten Schwangerschaft					
intakte SS	15	35.7%	3	30.0%	0.81
Geburt	13	31.0%	4	40.0%	
Abort	10	23.8%	3	30.0%	
EUG	4	9.5%	0	-	

Tabelle 29: Erfolg/Immunisierung I. SS=Schwangerschaft, I.=Immunisierung, p aus dem exakten Chi-Quadrat-Test nach Mehta und Patel

	Immunisierung								p
	Anzahl der Lymphozyten								
	<=10 Mio.		<=25 Mio.		<=40 Mio.		<=80 Mio.		
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Anzahl der Schwangerschaften									
Keine	10	43.5%	16	59.3%	12	54.6%	6	31.6%	0.28
1-3	13	56.5%	11	40.7%	10	45.5%	13	68.4%	
Anzahl der Zyklen zw. I. und SS									
1	8	61.5%	8	72.7%	8	80.0%	8	61.5%	0.86
2	5	38.5%	2	18.2%	2	20.0%	2	15.4%	
3	0	-	0	-	0	-	1	7.7%	
4	0	-	1	9.1%	0	-	1	7.7%	
5	0	-	0	-	0	-	1	7.7%	
Verlauf der 1. SS									
intakte SS	6	46.2%	4	36.4%	4	40.0%	4	30.8%	0.95
Geburt	2	15.4%	4	36.4%	3	30.0%	5	38.5%	
Abort	5	38.5%	0	-	3	30.0%	3	23.1%	
EUG	0	-	3	27.3%	0	-	1	7.7%	

Tabelle 30: Erfolg/Immunisierung II. SS=Schwangerschaft, I.=Immunisierung, p aus dem exakten Chi-Quadrat-Test nach Mehta und Patel

	Auffrischung									
	erfolgt				Verwendete Lymphozyten					
	nein		ja		p	Partner		Fremd		p
	n	%	n	%		n	%	n	%	
Anzahl der SS										
keine	41	49.4 %	6	35.3 %	0.42	2	15.4 %	4	33.3 %	0.38
1-3	42	50.6 %	11	64.7 %		11	84.6 %	8	66.7 %	
Anzahl der Zyklen zw. I. und SS										
1	31	73.8 %	7	63.6 %	0.64	8	72.7 %	4	50.0 %	0.45
2	8	19.1 %	3	27.3 %		3	27.3 %	3	37.5 %	
3	1	2.4 %	0	-		0	-	0	-	
4	1	2.4 %	1	9.1 %		0	-	1	12.5 %	
5	1	2.4 %	0	-		0	-	0	-	
Verlauf der 1. SS										
intakte SS	15	35.7 %	3	27.3 %	0.85	2	18.2 %	3	37.5 %	0.34
Geburt	14	33.3 %	3	27.3 %		3	27.3 %	4	50.0 %	
Abort	10	23.8 %	4	36.4 %		5	45.5 %	1	12.5 %	
EUG	3	7.1 %	1	9.1 %		1	9.1 %	0	-	

Tabelle 31: Erfolg/Auffrischung. SS=Schwangerschaft, I.=Immunsierung, p aus dem exykten Chi-Quadrat-Test nach Mehta und Patel

	Auffrischung						
	Anzahl der Lymphozyten						
	<=25 Mio.		<=40 Mio.		<=80 Mio.	p	
n	%	n	%	n	%		
Anzahl der SS							
keine	3	27.3 %	1	20.0 %	2	25.0 %	0.72
1-3	8	72.7 %	4	80.0 %	6	75.0 %	
Anzahl der Zyklen zw. I. und SS							
1	6	75.0 %	1	25.0 %	5	83.3 %	0.59
2	1	12.5 %	3	75.0 %	1	16.7 %	
3	0	-	0	-	0	-	
4	1	12.5 %	0	-	0	-	
5	0	-	0	-	0	-	
Verlauf der 1. SS							
intakte SS	2	25.0 %	1	25.0 %	2	33.3 %	0.62
Geburt	3	37.5 %	3	75.0 %	1	16.7 %	
Abort	3	37.5 %	0	-	2	33.3 %	
EUG	0	-	0	-	1	16.7 %	

Tabelle 32: Erfolg/Auffrischung (Anzahl der Lymphozyten). SS=Schwangerschaft, I.=Immunsierung, p aus dem exakten Chi-Quadrat-Test nach Mehta und Patel

7. Literaturverzeichnis

- Balasz, J., Jové, I., Martorell, J., Gayé, A., Nanrell, J.A. (1993) Histocompatibility in in-vitro fertilization couples. *Fertility and Sterility*, 59, 2, 456-458
- Beer, A.E., Quebbeman, J.F., Ayers, J.W.T., Haines, R.F. (1981) Major histocompatibility complex antigens, maternal and paternal immune responses, and chronic habitual abortions in humans. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 141, 987-997
- Beer, A.E., Semprini, A.E., Xiaoyu, Z., Quebbeman, J.F. (1985) Pregnancy outcome in human couples with recurrent spontaneous abortions: HLA antigen profiles; HLA antigen sharing; female serum MLR Blocking Factors; and paternal leukocyte immunization. *Exp. Clin. Immunogenet.* 2: 137-153
- Beer, A.E., Quebbeman, J.F., Zhu, X. (1986) Nonpaternal leukocyte immunization in women previously immunized with paternal leukocytes: Immune response and subsequent pregnancy outcome. *Reproductive Immunology*, 261-268
- Beer, A.E., Kwak, J.Y.H., Ruiz, J.E. (1996) Immunophenotypic profiles of peripheral blood lymphocytes in women with recurrent pregnancy losses and in infertile women with multiple failed in vitro fertilization cycles. *American Journal of Reproductive Immunology*, 35, 376-382
- Behar, E., Carp, H., Livneh, A., Gazit, E. (1993) Differential suppression activity induced by paternal leukocyte immunization in habitual abortion. *Gynecol. Obstet. Invest.*, 36, 202-207
- Böhme, M., Donat, H. (1989) Nachweis von T-Lymphozyten im humanen Endometrium. *Zentralblatt für Gynäkologie*, 11, 18, 1205-1214
- Bux, J., Westphal, E., de Sousa, F., Müller-Eckhardt, C. (1992) Alloimmune neonatal neutropenia is a potential side effect of immunization with leukocytes in women with recurrent spontaneous abortions. *J. Reprod. Immunol.*, 22, 299-302
- Carp, H.J.A., Toder, V., Gazit, E., Orgad, S., Mashiach, S., Nebel, L., Serr, D.M. (1990) Immunization by paternal leukocytes for prevention of primary habitual abortion: Result of a matched controlled trial. *Gynecol. Obstet. Invest.*, 29, 16-21

- Carp, HJ., Toder, V., Mashich, S., Rabinovici, J. (1994) Effect of paternal leukocyte immunization on implantation after biochemical pregnancies and repeated failure of embryo transfer. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 31, 112-115
- Check, J.H., Arwitz, M., Gross, J., Peymer, M., Szekeres-Bartho, J. (1997) Lymphocyte immunotherapy (LI) increases serum levels of progesterone induced blocking factor (PIBF). *American Journal of reproductive immunology*, 37, 17-20
- Chiu, L., Nishimura, M., Nieda, M., Maeshima, M., Takedani, Y., Shibata, Y., Tadokoro, K., Juji, T. (1996) Enhancement of the expression of progesterone receptor on progesterone-treated lymphocytes after immunotherapy in unexplained recurrent abortion. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 35, 552-557
- Christiansen, OB., Mathiesen, O., Husth, M., Lauritsen, JG., Grunnet, N. (1994) Placebo-controlled trial of active immunization with third party leukocytes in recurrent miscarriage. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.*, 73,261-267
- Coulam, C.B., Stephenson, M., Stern, J.J., Clark, D.A. (1996) Immunotherapy for recurrent pregnancy loss: Analysis of results from clinical trials. *American Journal of Reproductive Immunology*, 35, 352-359
- Cowchock, FS., Smith, JB., David, S., Scher, J., Batzer, F., Corson, S. (1990) Paternal mononuclear cell immunization therapy for repeated miscarriage: predictive variable for pregnancy success. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 22, 12-17
- Creus, M., Balasch, J., Fàbregues, F., Martorell, J., Boada, M., Penarrubia, J., Barri, P.N., Vanrell, J.A. (1998) Parental human leukocyte antigens and implantation failure after in-vitro fertilization. *Human Reproduction*, 13, 39-43
- Desoye, G., Dohr, G., Kessler, H.H. (1989) Welche immunologische Mechanismen ermöglichen eine erfolgreiche Schwangerschaft. *Archives of Gynecology and Obstetrics* Vol. 245, No. 1-4, 146-148
- Ditfurth von, M., Kuntz, B.M.E., Kuhn, U., Distler, W. (1989) Der immunologische bedingte Abort - Diagnose und Therapie. *Archives of Gynecology and Obstetrics* Vol. 245, No. 1-4, 149-154

- Fizet, D., Bouzgarrou, R., Vezon, G. (1990) Lymphocyte immunization generates immunosuppressive factors in women with recurrent abortions. *Gynecol. Obstet. Invest.*, 30, 8-11
- Fujino, T., Takesako, S., Shiokawa, H., Iwamoto, I., Nagata, Y. (1991) Antiphospholipid antibodies induced by immunization with husband's lymphocytes in the sera of women with unexplained recurrent spontaneous abortions. *Nippon. Sanka Fujinka Gakkai Zasshi*, 43, 1693-1694
- Gafter, U., Sredni, B., Segal, J., Kalechman, Y. (1997) Suppressed cell-mediated immunity and monocyte and natural killer cell activity following allogeneic immunization of women with spontaneous recurrent abortions. *J. clin. Immunol.*, 17, 408-419
- Gatenby, PA., Cameron, K., Simes, RJ., Adelstein, S., Bennett, MJ., Jansen, RP., Shearman, RP., Stewart, GJ., Whittle, M., Doran, TJ. (1993) Treatment of recurrent spontaneous abortion by immunization with paternal lymphocytes: results of a controlled trial. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 29, 88-94
- Große-Wilde, H., Kuhn, U. (1988) Immundiagnostik und -therapie des habituellen Aborts. *Gynäkologie*, 21, 249-261
- Hasegawa, I., Hiromitsu, T., Takakuwa, K., Yamada, K., Kanazawa, K., Tanaka, K. (1992) Immunotherapy with paternal lymphocytes preceding in vitro fertilization-embryo transfer for patients with repeated failure of embryo transfer. *Fertility and Sterility*, 57, 2, 445-447
- Hayakawa, S., Karasaki-Suzuki, M., Itoh, T., Ishii, M., Kanaeda, T., Nagai, N., Takahashi-Yamamoto, M., Fujii, C. K., Oyama, J., Kitnaka, S., Satoh, K. (2000) Effects of paternal lymphocyte immunization on peripheral TH1/TH2 balance and TCR V β and V γ repertoire usage of patients with recurrent spontaneous abortions. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 43, 107-115
- Hinney, B., Neumeyer, H. (1991) Immuntherapie zur Abortprophylaxe. *Geburtshilfe und Frauenheilkunde*, 51, 15-22

- Ho, H.-N., Yang, Y.-S., Hsieh, R.-P., Lin, H.-R., Chen, S.-U., Chen, H.-F., Huang, S.-C., Lee, T.-Y., Gill, T.J. (1994) Sharing of human leukocyte antigens in couples with unexplained infertility affects the success of in vitro fertilization and tubal embryo transfer. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 170, 1, 63-71
- Jeng, GT., Scott, JR., Burmeister, LF. (1995) A comparison of meta-analytic results using literature vs individual data. *JAMA*, 274, 830-836
- Juriscova, A., Casper, R.F., MacLusky, N.J., Librach, C. (1996) Embryonic human leukocyte antigen-G expression: possible implications for human preimplantation development. *Fertility and Sterility*, Vol. 65, 5, 997-1002
- Katz, I., Fisch, B., Amit, S., Ovadia, J., Tadir, Y. (1992) Cutaneous graft-versus-host-like reaction after paternal lymphocyte immunization for prevention of recurrent abortion. *Fertility And Sterility*, 57, 927-929
- King, A., Boocock, C., Sharkey, AM., Gardner, L., Beretta, A., Siccardi, AG., Loke, YW. (1996) Evidence for the expression of HLA-C Class I mRNA and protein by first trimester trophoblast. *J. Immunol.*, 156, 2068-2076
- Komlos, L., Vardimon, D., Notmann, J., Ben-Rafael, Z., Hart, J., Klein, T., Levinsky, H., Halbrecht, I. (1996) Mixed maternal-paternal lymphocyte cultures before and after immunotherapy for recurrent spontaneous abortions. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 35, 30-33
- Kuhn, U., Blasczyk, R. Hojnacki, B., Vogeler, U., Luboldt, W., Passarge, E., Fischer, WM., Grosse-Wilde, H. (1993) Fc receptor blocking antibodies after active immunization for the treatment of recurrent spontaneous abortion. *Am J. Reprod. Immunol.*, 20, 141-151
- Kuhn, U., Campo, R., Hinny, B., Neumeyer, H., Criel, A., Gordts, S., Kuhn, W. Immunisierung mit Partner-Lymphozyten: Verbesserung der Schwangerschaftsrate bei Sterilitätspatientinnen. *Z. Geburtsh. Perinat.*, 197, 209-214
- Kwak, JY., Gilman-Sachs, A., Moretti, M., Beman, KD., Beer, AE. (1998) Natural killer cell cytotoxicity and paternal lymphocyte immunization in women with recurrent spontaneous abortions. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 40, 352-358

- Loke, Y.W., King, A. (1996) Immunology of human implantation: an evolutionary perspective. *Human Reproduction*, 11, 2, 283-286
- Lubinski, J., Vrdoljak, VJ., Beaman, KD., Kwak, JY., Beer, AE., Gilman-Sachs, A. (1993) Charakterization of antibodies induced by paternal lymphocyte immunization in couples with recurrent spontaneous abortion. *J. Reprod. Immunol.*, 24, 81-96
- Manyonda, IT., Pereira, Rs., Pearce, JM., Sharrock, CE. (1993) Limiting dilution analysis of allo-MHC anti-paternal cytotoxic T cell response. II: Recurrent spontaneous abortion and the effect of immunotherapy. *Clin. Exp. Immunol.*, 93, 132-137
- Marzusch, K., Steck, T. (1998) Immunologische Vorgänge im Rahmen der Dezidualisierung und beginnenden Plazentation - Implikation für pathologische Schwangerschaftsverläufe *Der Gynäkologe*, 4, 346-352
- Matsuyama, T., Kobayashi, Y., Honda, I., Inoue, M., Fujii, A. (1992) Analysis of HLA antigens and immunotherapy for infertile couples who failed to conceive after in vitro fertilization-embryo tubal replacement. *Nippon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi*, 44, 1241-1247
- McIntyre, J.A., Faulk, W.P. (1986) Clinical value of research in chronic spontaneous abortion. *American Journal of Reproductive immunology*, 10, 121-126
- Medawar, P.B (1953) Some immunological and endocrinological problems raised by the evolution of viviparity in vertebrates. *Symp. Soc. Exp. Biol.*, 7, 693
- Mettler, L. (1995) GIFT (Gameta Intra Falloppian Transfer) und andere Techniken aus *Moderne Fortpflanzungsmedizin*, herausgegeben von H.-R. Tinneberg und Ch. Ottmar. Georg Thieme Verlag, 151
- Michelmann, H.-W. (1995) Intrazytoplasmatische Spermatozoeninjektion (ICSI) aus *Moderne Fortpflanzungsmedizin*, herausgegeben von H.-R. Tinneberg und Ch. Ottmar. Georg Thieme Verlag, 189
- Moncayo, R., Moncayo, H., Sreffens, U., Sölder, E., Kersting, A., Dapunt, O. (1990) Serum levels of anticardiolipin antibodies are pathologically increased after active immunization of patients with recurrent spontaneous abortion. *Fertil. Steril.*, 54, 619-123

- Moroz, C., Livni, E., Segal, J. (1993) Treatment of recurrent spontaneous abortions by immunization with paternal lymphocytes induces immunosuppression by placental isoferritin. *Am. J. Repro. Immunol.*, 30,32-36
- Neppert, J., Müller-Eckhardt, G., Neumeyer, H., Malchus, R., Kiefel, V., Gerhard, I., Westphal, E., Harpprecht, J. (1989) Pregnancy-maintaining antibodies: Workshop report (Giessen, 1989). *Journal of Reproductive Immunology*, 15, 159-167
- Ober, C. (1995) Current topic: HLA and Reproduction: Lessons from studies in the Hutterites. *Placenta*, 16, 569-577
- Ober, C., Karrisio, T., Odem, RR., Barnes, RB., Branch, DW., Stephenson, MD., Baron, B., Walker, MA., Schreiber, JR. (1999) Mononuclear-cell immunization in prevention of recurrent miscarriages: a randomised trial. *Lancet*, 354, 365-369
- Pearlman, SA., Meek, RS., Cowchock, FS., Smith, JB., McFarland, J., Aster, RH. (1992) Neonatal alloimmune thrombocytopenia after maternal immunization with paternal mononuclear cells: successful treatment with intravenous gamma globulin. *Am. J. Perinatol.*, 9, 448-451
- Pena, R.B., Cadavid, A.P., Botero, J.H., Garcia, M.I., Ossa, J.E. (1998) The production of MLR-blocking factors after lymphocyte immunotherapy for RSA does not predict the outcome of pregnancy. *American Journal of Reproductive Immunology*, 39, 120-124
- Power, D.A., Catto, G.R.D., Mason, R.J., Macleod, A.M., Stewart, G.M., Stewart, K.N., Shewan, W.G. (1985) The fetus as an allograft: evidence for protective antibodies to HLA-linked paternal antigens. *Lancet*, ii, 701-704
- Power, DA., Mather, AJ., Mcleod, AM., Lind, T., Catto, GR. (1986) Maternal antibodies to paternal B-lymphocytes in normal and abnormal pregnancy. *Am.J. Reprod. Immunol. Microbiol.*, 10, 10-13
- Ruiz, A.M., Kwak, J.Y.H., Beer, A.E. (1996) Impact of age on reproductive outcome in women with recurrent spontneous abortions and infertility of immune etiology. *American Journal of Reproductive Immunology*, 35, 408-414

- Sbracia, M., Mastrone, M., Scarpellini, F., Grasso, J.A. (1996) Influence of histocompatibility antigens in recurrent spontaneous abortion couples and on their reproductive performances. *American Journal of Reproductive Immunology*, 35, 85-92
- Schmidt-Mathiesen, H. (1995) Sterilität und Infertilität aus Gynäkologie und Geburtshilfe. Schattauer Verlag, 130
- Schwartz, D. (1992) Immunologische Faktoren beim habituellen Abort. *Gynäkol. Geburtsh. Rudsch.*, 32, 194-200
- Steck, T., Westphal, E., Würfel, W. (1992) Maternal immunization by husband's leukocytes for repeated fetal death associated with mild pre-eclampsia - case report with successful outcome. *Arch. Gynecol. Obstet.*, 252, 103-107
- Steck, T., Bussen, S., Marzusch, K. (1997) Strategien zur Abortprophylaxe bei einer Vorgeschichte mit wiederholten Aborten. *Fertilität*, 13, 69-82
- Stephoe, P.C., Edwards, R.G. (1978) Birth after reimplantation of a human embryo. *Lancet*, 2, 8079-8092
- Sterzik, K., Strehler, E., De Santo, M., Oblinger, E., Rosenbusch, B., Kreienberg, R. (1995) Idiopathische habituelle Aborte: erfahrungen mit der aktiven Immuntherapie. *Geburtshilfe und Frauenheilkunde*, 55, 493-499
- Suraksha, A., Kishore, R., Halder, A., Sharma, A., Sharma, R.K., Das, V., Shukla, B.R.K., Agarwal, S.S. (1995) Outcome of pregnancy in women with recurrent spontaneous abortion following immunotherapy with allogeneic lymphocytes. *Human Reproduction*, 10, 2280-2284
- Taylor, C., Faulk, W.P. (1981) Prevention of recurrent abortion with leukocyte transfusion. *The Lancet*, 11, 68-69
- The Recurrent Miscarriage Immunotherapy Trialist Group. Worl-wide collaborative observational study and meta-analysis on allogenic leukocyte immunotherapy for recurrent spontaneous abortion. (1994) *Am. J. Reprod. Immunol.*, 32, 55-72
- Unander, AM. (1992) The role of immunization treatment in preventing recurrent abortion. *Transfus. Med. Rev.*, 6, 1-6

Westphal, E., Hühn, A., Olofsson, L., Müller-Ruchholtz, W. (1987) Leukozytentransfusionen zur Immunisierung von Patientinnen mit multiplen habituellen Frühaborten. Das Ärztliche Labortorium, 33, 307-310

Westphal, E. (1990) Aktueller Stand der immunologischen Ätiologie und Therapie bei chronisch habituellen Frühaborten aus „Die gestörte Frühschwangerschaft - Immunologischer, humangenetischer und andrologischer Aspekt“ erschienen im Georg Thieme Verlag

Danksagungen

Zuerst danke ich meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. Dr. Würfel, für die Bereitstellung des Themas. Desweiteren bedanke ich mich für die intensive Betreuung, die ich sowohl während der Sichtung des Datenmaterials, als auch bei der Erstellung der Dissertation erfahren habe. Herr Prof. Dr. Dr. Würfel fand stets einen Termin zur Besprechung, auch sehr kurzfristig, und ließ mir jeweils sehr schnell die jeweilige Korrektur der Arbeit mit ausführlichen Anmerkungen zukommen.

Als nächstes möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Steck bedanken, der die Dissertation durchgesehen hat und mir eine ausführliche Beurteilung zukommen ließ und mir auch bei den Formalien bezüglich der Beantragung der Promotion behilflich war.

Herrn Prof. Dr. Dietl danke ich für die Übernahme des Co-Referates.

Frau Dr. Haubitz vom Rechenzentrum bin ich für die Hilfe bei der statistischen Auswertung des Datenmaterials , sowie bei der Erstellung der graphischen Darstellungen zur Verdeutlichung der Ergebnisse sehr dankbar.

Ganz besonders möchte ich mich auch bei der Bibliothekarin der UFK Frau Berger bedanken, die stets freundlich und hilfsbereit war und mir sehr bei der Beschaffung der Literatur geholfen hat.