

Aus der Frauenklinik und Poliklinik  
der Universität Würzburg  
Direktor: Professor Dr. med. Johannes Dietl

Die Bedeutung der intrazytoplasmatischen Spermieninjektion in  
der Behandlung der schweren männlichen Subfertilität

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

Würzburg, Dezember 2001

Referent: Professor Dr. med. Wolfgang Würfel  
Korreferent: Professor Dr. med. Johannes Dietl  
Dekan: Professor Dr. med. Volker ter Meulen

Tag der mündlichen Prüfung: 22. April 2002

Die Promovendin ist Ärztin

## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1	Historischer Überblick .....	1
1.1.1	In-vitro-Fertilisation.....	1
1.1.2	Intratubarer Gametentransfer (GIFT) .....	2
1.1.3	Intratubarer Zygotentransfer (ZIFT).....	3
1.1.4	Zona-Drilling (ZD) und Partielle Zonadisektion (PZD) .....	4
1.1.5	Subzonale Injektion (SUZI) .....	5
1.1.6	Intrazytoplasmatische Spermieninjektion (ICSI).....	6
1.1.7	MESA und TESE.....	7
1.2	Eigene Fragestellung .....	9
<b>2</b>	<b>Material und Methodik</b>	<b>10</b>
2.1	Patientenkollektiv und Einschlußkriterien .....	10
2.2	Behandlungsablauf der ICSI an der Krüsmann-Klinik .....	11
2.2.1	Spermagewinnung .....	12
2.2.2	Spermiogramme.....	14
2.2.3	Ovarielle Stimulation und Unterstützung der Lutealphase.....	14
2.2.4	Gewinnung und Vorbereitung der Eizelle .....	15
2.2.5	Durchführung der intrazytoplasmatischen Spermieninjektion.....	16
2.2.6	Embryotransfer und Feststellen der Schwangerschaft.....	16
2.3	Bildung von Patientengruppen .....	17
2.4	Datenerhebung und statistische Auswertung .....	19
<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>20</b>
3.1	ICSI-Daten aus 449 Behandlungszyklen (Oktober 1993 - März 1995).....	20
3.1.1	Behandlungsergebnisse.....	20
3.1.2	Durchschnittliche Spermiogrammparameter .....	22
3.1.3	Vergleich aller Behandlungszyklen im Hinblick auf nachfolgende Schwangerschaften.....	23
3.1.4	Schwangerschaftsrate in Relation zur Anzahl der transferierten Embryonen.....	25
3.1.5	Spermagewinnung .....	26
3.2	Vergleich der ICSI-Daten bei rein andrologischer Subfertilität und bei zusätzlichem weiblichen Sterilitätsfaktor (Oktober 1993 - März 1995).....	29
3.2.1	Behandlungsergebnisse.....	29
3.2.2	Schwangerschaftsrate in Relation zur Anzahl der transferierten Embryonen.....	32

3.3	ICSI-Daten bei rein andrologischer Subfertilität (Oktober 1994 - März 1995) .....	34
3.3.1	Behandlungsergebnisse .....	34
3.3.2	Durchschnittliche Spermogrammparameter .....	35
3.3.3	Vergleich der Behandlungszyklen bei rein andrologischer Indikation im Hinblick auf nachfolgende Schwangerschaften .....	36
3.3.4	Schwangerschaftsrate in Relation zur Anzahl der transferierten Embryonen .....	38
3.3.5	Spermagewinnung .....	38
3.4	ICSI-Ergebnisse bei rein andrologischer Subfertilität im Einführungsjahr und im Folgezeitraum .....	40
<b>4</b>	<b>Diskussion</b>	<b>43</b>
4.1	Embryotransferraten .....	43
4.2	Schwangerschaftsraten .....	45
4.3	Weiblicher Sterilitätsfaktor .....	46
4.4	Einfluß der Behandlungsroutine .....	47
4.5	Abhängigkeit von Spermogrammparametern .....	48
4.6	Injektion epididymaler und testikulärer Spermien .....	49
4.7	Abortrate .....	51
4.8	Genetische Risiken .....	52
4.8.1	Elterliche Chromosomenanomalien .....	52
4.8.2	Pränataldiagnostik .....	55
4.8.3	Chromosomale Aberrationen bei ICSI-Schwangerschaften .....	56
4.9	Fehlbildungsraten .....	58
4.10	Postnatale Entwicklung .....	62
4.11	Methodik .....	63
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>65</b>
<b>6</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>67</b>
<b>7</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>68</b>

# **1 Einleitung**

## **1.1 Historischer Überblick**

### *1.1.1 In-vitro-Fertilisation*

In Deutschland muß gegenwärtig von einer Prävalenz von ca. 15 % bei ungewollter Kinderlosigkeit bei Paaren im fortpflanzungsfähigen Alter ausgegangen werden (Bruckert, 1991).

Laut WHO liegt dabei in ca. 30 % der Fälle die Ursache für Sterilität und Infertilität auf Seiten des Mannes (WHO, 1987).

Im Jahr 1978 wurde in England Luise Brown geboren, das erste Kind, das seine Existenz einer Befruchtung außerhalb des Körpers und dem anschließenden Transfer des Präimplantationsembryos in den Uterus der Mutter verdankt (Steptoe und Edwards, 1978). Die Methode der extrakorporalen Befruchtung mit anschließendem Embryotransfer wurde primär entwickelt, um im Falle einer tubaren Sterilität den Eltern zu einem eigenen Kind zu verhelfen. Seit Mitte der 80er Jahre wird die In-vitro-Fertilisation (IVF) standardmäßig auch in der Behandlung der männlichen Infertilität eingesetzt. Insbesondere bei stark eingeschränkten Spermogrammen sind die Ergebnisse aber enttäuschend (Cohen et al., 1985), so daß kinderlosen Paaren mit schwerer männlicher Subfertilität bisher nur der Schritt zur heterologen Insemination, also der Samenspende, oder die Adoption blieb.

Eine Verbesserung der Fertilisationsraten bei schwerer männlicher Subfertilität war deshalb Gegenstand intensiver wissenschaftlicher Untersuchungen.

Oehringer et al. (1988), erhöhten zunächst die Anzahl an Spermatozoen zur Insemination der Oozyten. Für Patienten mit Teratozoospermie oder vorangegangenen IVF-Versagen erreichten sie damit leicht verbesserte Fertilisationsraten; Patienten mit schwerer Oligozoospermie oder Patienten mit einem sehr hohen Anteil an pathologischen Spermatozoen profitierten hiervon aber nicht.

Kreitman et al. (1980) begannen in den 80er Jahren mit ersten Versuchen eines intratubaren Gametentransfers an Primaten, bei denen sie Ei- und Samenzellen in den Eileiter einbrachten. Tesarik et al. (1983) beschrieben die Methode erstmals beim Menschen. Sie führten den intratubaren Gametentransfer per laparotomiam im Rahmen einer mikrochirurgischen Salpingostomie durch.

### *1.1.2 Intratubarer Gametentransfer (GIFT)*

1984 berichteten Asch et al. von der ersten Schwangerschaft nach GIFT, dem gamete intrafallopian transfer, die sie bei einem Patientenpaar erzielten. Basierend auf der Vorstellung, daß das intratubare Milieu bessere Voraussetzungen für Fertilisierung der Eizelle und Entwicklung des Embryos bietet und die Synchronisation mit dem Aufbau des Endometriums in höherem Maße gegeben erscheint, werden bei GIFT laparoskopisch reife Oozyten mit motilen Samenzellen durch den Fimbrientrichter in die Tube eingebracht. Dementsprechend müssen die Patienten alle Risiken einer Laparoskopie in Kauf nehmen.

Durch den zunehmenden Einsatz der ultraschallgesteuerten Punktion bei der Eizellgewinnung wurde die in den Anfängen der IVF eingesetzte laparoskopisch kontrollierte Absaugung der herangereiften Follikel verdrängt.

1981 berichteten erstmals Lenz et al. über die Möglichkeit, auf transkutanem transvesikalem Wege unter sonographischer Kontrolle Follikel zu punktieren, was eine deutliche Verminderung der Belastung für die Patientin bedeutete.

Der Einsatz der transvaginalen Sonographie konnte diesen Vorteil ausdehnen, die Eizellgewinnung noch weiter erleichtern und in Bezug auf die Zahl der gewonnenen Eizellen verbessern (Gembruch et al., 1988).

In Anlehnung an diese Entwicklung der bei IVF zunehmend vermeidbaren Laparoskopie, begannen von Seiten verschiedener Forschergruppen Bemühungen, den intratubaren Gametentransfer auf transvaginalen bzw. transuterinem Wege (nach transvaginal ultraschallgesteuerter Follikelpunktion)

durchzuführen (Jansen und Anderson, 1987; Jansen et al., 1988; Würfel et al., 1988; Lisse et al., 1989)

Jansen et al. veröffentlichten 1988 Daten zu einer ersten klinischen Schwangerschaft nach Gametentransfer über einen Katheter auf transvaginalem Wege.

1988 berichteten Würfel et al. über eine Schwangerschaft nach hysteroskopischer Sondierung des uterinen Tubenostiums.

1989 erzielten Lisse et al. zwei klinische Schwangerschaften nach vaginalsonographisch kontrolliertem transuterinem Gametentransfer über einen Teflonkatheter.

Leeton et al. (1987), verglichen IVF-Embryotransfer und intratubaren Gametentransfer (gamete intrafallopian transfer, GIFT) in der Behandlung der männlichen Infertilität und fanden keinen signifikanten Unterschied bezüglich der Schwangerschaftsraten zwischen den beiden Verfahren.

### *1.1.3 Intratubarer Zygotentransfer (ZIFT)*

Kritiker von GIFT sahen in der fehlenden Möglichkeit, die Fertilisierung zu dokumentieren bzw. eine abnorme Fertilisierung zu erkennen, einen Nachteil. Aus diesem Grund wurde als alternatives Verfahren der intratubare Zygotentransfer (zygote intrafallopian transfer, ZIFT) entwickelt; er sollte die potentiellen Vorteile von IVF-Embryotransfer und GIFT kombinieren. Dabei wurden die (maximal drei) Zygoten entweder laparoskopisch (Devroey et al., 1989) oder per Katheter transvaginal (Toth et al., 1992) transferiert.

Devroey et al. (1989; 1992) berichteten beim ZIFT an Paaren mit idiopathischer Sterilität über eine Schwangerschaftsrate von 48%; bei Paaren mit andrologischem Faktor blieben die Fertilisierungs- und Schwangerschaftsraten jedoch deutlich niedriger.

Alternativ fanden neben IVF-Embryotransfer, GIFT und ZIFT auch verwandte Verfahren wie der Transfer von Embryonen im Pronukleusstadium (pronuclear stage tubal transfer, PROST) oder intratubarer Embryonentransfer (embryo intrafallopian transfer, EIFT) Anwendung (Yovich et al., 1987; Balmaceda et al.,

1988). 1988 verglichen Yovich et al. Schwangerschaften, die nach den vier verschiedenen Verfahren GIFT, PROST, EIFT und IVF-Embryotransfer erzielt worden waren und fanden signifikant höhere Schwangerschaftsraten in den Gruppen, bei denen Embryonen in die Tuben transferiert worden waren. Bei männlicher Subfertilität war dieser Vorteil jedoch nicht nachweisbar.

#### *1.1.4 Zona-Drilling (ZD) und Partielle Zonadissektion (PZD)*

Die Mißerfolge in der Behandlung von Patienten mit sehr stark eingeschränkten Spermogrammen führten zur Anwendung von Methoden der Mikromanipulation an der Eizelle. Die Zona pellucida erweist sich beim natürlichen Befruchtungsvorgang als funktionelle Einheit zum Schutz der Eizelle gegen äußere Beschädigungen und als Mechanismus, um nur ein Spermium eindringen zu lassen. Kommt es zu einem erfolgreichen Eindringen eines Spermatozoons in die Oozyte, so verhindern im Sinne eines funktionellen Polyspermieblocks nachgeordnete Reaktionen der Eizelle selbst das Eindringen weiterer Spermatozoen (Beier, 1992).

Unter der Vorstellung, die Zona pellucida könnte, insbesondere bei schlechter Spermatozoenqualität, ein zu großes Hindernis für die Penetration eines Spermiums darstellen, konzentrierte man sich darauf, dieses Eindringen zu erleichtern.

Beim sogenannten Zona-Drilling (ZD) (Gordon et al., 1988) wurden in die Zona Löcher gebohrt, in der Vorstellung, bei der sich anschließenden Insemination dem Spermatozoon die Penetration zu erleichtern. Versuche am Mausmodell hatten zunächst vielversprechende Ergebnisse erzielt. 1986 zeigten Gordon und Talansky Fertilisierung und normale Embryonalentwicklung nach Zona-Drilling bei extrem reduzierter Spermindichte. Bei der Anwendung der Methode unter klinischen Bedingungen waren die Fertilisationsraten jedoch enttäuschend niedrig und es kam durch das Eindringen von mehreren Spermatozoen gehäuft zu Polyploidien, also zur Vervielfältigung des Chromosomensatzes über die normale diploide Anzahl hinaus (Payne et al., 1991).

Ähnlich verhielt es sich mit dem Einschneiden der Zona pellucida, der Partiellen Zona Dissektion (PZD) (Cohen et al., 1991). Hier konnte die Fertilisationsrate im Einzelfall verbessert werden, aber auch bei diesem Verfahren stellte sich das Problem der Polyploidien.

#### *1.1.5 Subzonale Injektion (SUZI)*

In einem nächsten Schritt versuchten mehrere Arbeitsgruppen die Spermatozoen in den perivitellinen Raum direkt zu injizieren (subzonale Injektion, SUZI) (Laws-King et al., 1987). Laws-King berichtete bereits 1987 über eine erfolgreiche Fertilisierung nach Einbringen eines Spermatozoons in den perivitellinen Raum.

Palermo et al., (1992), konnten dabei erhöhte Fertilisationsraten von nahezu 20% auch bei stark eingeschränkten Spermogrammen erzielen.

Auch andere Gruppen berichteten über ähnliche Ergebnisse (Fishel et al., 1993).

Die Berichte von den ersten Schwangerschaften und Geburten nach SUZI und insbesondere die erzielbaren Fertilisationsraten beim Menschen führten zu einem deutlichen Anstieg des Gebrauchs der Methode in der Behandlung von Patienten, bei denen in der Standard-IVF keine Fertilisation erreicht wurde (Ng et al., 1988; Fishel et al., 1990; Fishel et al., 1993;).

Allerdings blieb auch bei SUZI das Problem der polyspermatischen Fertilisierung bestehen (Cohen et al., 1991; Ng et al., 1991).

So existierte noch immer die Patientengruppe mit schwerster Subfertilität, die aufgrund ihrer extrem schlechten Spermogrammparameter von keiner der Behandlungsmöglichkeiten profitierte.

### 1.1.6 Intrazytoplasmatische Spermieninjektion (ICSI)

Eine neue Ära in der Therapie der schweren männlichen Subfertilität begann mit der ersten Veröffentlichung von Palermo et al. (1992) über Schwangerschaften nach Injektion eines einzelnen Spermatozoons in das Zytoplasma humaner Oozyten, die intrazytoplasmatische Spermieninjektion (ICSI).

Bereits 1976 wurde die Technik der ICSI von Uehara und Yanagimachi dazu genutzt, die Eizellen von Säugetieren zu fertilisieren. Später gelang es zwei weiteren Arbeitsgruppen auch bei Kaninchen und Kuh durch ICSI lebende Nachkommen zu zeugen (Hosoj et al., 1988; Goto et al., 1990).

Auch Iritani hatte von erfolgreichen Versuchen mit ICSI im Tiermodell berichtet (Iritani, 1991). Beim Kaninchen und anderen Kleinnagern konnte nach Mikroinjektion von Spermatozoen ins Ooplasma eine regelrechte Fertilisation der Eizellen erzielt werden; infolge des anschließenden Embryotransfers in den Uterus der Muttertiere kam es zu Schwangerschaften und auch zur Geburt lebender Nachkommen.

Lanzendorf (Lanzendorf et al., 1988), Veeck (Veeck et al., 1989) und Ng (Ng et al., 1991) veröffentlichten Berichte über Versuche der ICSI an menschlichen Eizellen; auch sie sahen regelhafte Fertilisationen, jedoch kam es nach Embryotransfer nie zu einer Schwangerschaft.

Erst der Arbeitsgruppe um Palermo (Palermo et al., 1992) glückten Schwangerschaften und erfolgreiche Geburten. An vier Paaren wurden acht Behandlungszyklen durchgeführt. 47 Metaphase-II-Oozyten wurden mikroinjiziert, 38 Oozyten blieben nach Injektion intakt, 31 Oozyten wurden fertilisiert und 15 Präimplantationsembryonen wurden transferiert. Hieraus resultierten vier Schwangerschaften, davon eine biochemische (nur nachweisbar durch einen HCG-Anstieg), zwei Einlingsschwangerschaften, aus denen zwei gesunde Knaben geboren wurden und eine Zwillingschwangerschaft, aus der jeweils ein gesundes weibliches und ein gesundes männliches Neugeborenes hervorgingen.

Dabei hatte der Zufall Palermo zum Erfolg verholfen: Bislang wurde der Einstich in die Oozyte immer gegenüber den Polkörperchen durchgeführt; durch ein versehentliches Drehen der Zelle um 90° gelang die Mikroinjektion erstmals, im Sinne von Schwangerschaften mit nachfolgender Geburt, erfolgreich.

Seit den Berichten über die ersten Schwangerschaften und Geburten durch intrazytoplasmatische Spermieninjektion richtete die Mehrheit der IVF-Zentren weltweit ihr Augenmerk auf diese Methode. Höhere Fertilisations- und Schwangerschaftsraten mit ICSI ließen die subzonale Injektion (SUZI) mehr und mehr in den Hintergrund treten. Zahlreiche Studien zeigten und untermauerten die Überlegenheit der ICSI gegenüber der SUZI (Fishel et al., 1993; Van Steirteghem et al., 1993 a; Van Steirteghem et al., 1993 b; Redgement et al., 1994).

1993 wies Van Steirteghem in 300 Behandlungszyklen mit ICSI hohe Implantationsraten pro transferiertem Embryo sowie gute Fertilisationsraten mit hohen Schwangerschaftsraten pro Embryotransfer nach (Van Steirteghem et al., 1993).

#### *1.1.7 MESA und TESE*

Verschiedene Arbeitsgruppen konnten außerdem zeigen, daß auch Patienten mit sehr schlechten Spermioigrammparametern, bei denen eine konventionelle IVF sowie SUZI und PZD versagten, sowie auch Fälle, in denen epididymale oder testikuläre Spermatozoen verwendet wurden, von ICSI profitieren (Silber et al., 1994; Würfel et al., 1996; Hu et al., 1999).

Unter Verwendung von Spermien aus Hodenbiopsaten (testikuläre Spermienextraktion, TESE) und Nebenhodenpunktaten (mikrochirurgische epididymale Spermienaspiration, MESA) (Silber et al., 1990; Devroey et al., 1994; Tournaye et al., 1994; Silber et al., 1995; Tournaye et al., 1996; Ubaldi et al., 1996; Schlegel et al., 1997) konnten sogar Männer mit einer Azoospermie, aber erhaltener Spermio-genese, erfolgreich behandelt werden. Die Gewinnung von Spermien mittels TESE und MESA sowie deren Verwendung im Rahmen

der ICSI sind mittlerweile weltweit etablierte Maßnahmen in der Behandlung der schweren männlichen Subfertilität (Würfel et al., 1996).

In einer 1994 erschienenen Arbeit von Nagy et al. konnten auch bei Kryptozoospermie (weniger als 500.000 Spermien/ml) Schwangerschaften erzielt werden.

Es konnte gezeigt werden, daß auch beim Einsatz kryokonservierter epididymaler und testikulärer Spermatozoen die Ergebnisse der ICSI nicht schlechter sind als bei nativen Spermatozoen. Hierdurch wird es möglich, das Problem wiederholter operativer Eingriffe beim Mann zu umgehen (Fischer et al., 1996; Gil-Salom et al., 1996; Podsiadly et al., 1996; Romero et al., 1996; Würfel et al., 1996;).

Alle bisherigen Studien zeigen, daß für die durch ICSI-Behandlung geborenen Kinder kein erhöhtes Risiko zu bestehen scheint.

Sowohl in Untersuchungen von Palermo et al., 1996, Bonduelle et al., 1996 und 1998, Loft et al., 1998, Ludwig et al., 1999, als auch in den Daten von van Steirteghem et al., 1993 und 1994, Govaerts et al., 1995, Bowen et al., 1998 finden sich durchwegs Fehlbildungsraten von drei bis fünf Prozent. Dies entspricht der Häufigkeit, die auch nach spontaner Konzeption zu erwarten wäre.

In den Arbeiten von Bonduelle et al., 1998 b, und Bowen et al., 1998, zeigte sich eine normale mentale und körperliche Entwicklung der nach ICSI geborenen Kinder.

Die Fehlbildungsrate scheint also nicht erhöht und die nachgeburtliche Entwicklung der ICSI-Kinder zeigt keine Auffälligkeiten.

## 1.2 Eigene Fragestellung

Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit der Bedeutung der intrazytoplasmatischen Spermieninjektion in der Behandlung der schwersten männlichen Subfertilität.

In einer retrospektiven Analyse der ersten 449 Behandlungszyklen, die bei 313 Paaren an der Frauenklinik Dr. Wilhelm Krüsmann in München durchgeführt wurde, wird der Frage nachgegangen, welche Erfolge mit dieser Methode erzielbar sind und wo ihre Grenzen liegen.

Von Interesse ist dabei erstens, wie viele Oozyten in den einzelnen Behandlungszyklen aspiriert und erfolgreich fertilisiert werden können, zweitens, wie oft ein Embryotransfer erfolgreich möglich ist und wie viele Präimplantationsembryonen transferiert werden.

Drittens sollen biochemische Schwangerschaften erfaßt sowie Schwangerschafts- und Abortraten bezüglich Behandlungs- und Embryotransferzyklen berechnet werden.

In einem weiteren Schritt soll auch auf die Frage eingegangen werden, ob das Vorliegen von zusätzlichen Sterilitätsfaktoren auf Seiten der Frau auf den Erfolg der ICSI Einfluß nimmt, also wie sich Fertilisations-, Transfer- und Schwangerschaftsraten in Abhängigkeit hiervon verhalten.

Zuletzt wird untersucht, inwieweit Behandlungsroutine, also Häufigkeit der Anwendung der ICSI einen Einfluß auf Fertilisations-, Transfer- und Schwangerschaftsraten besitzt.

## **2 Material und Methodik**

### **2.1 Patientenkollektiv und Einschlußkriterien**

Im Oktober 1993 begann die Frauenklinik Dr. Wilhelm Krüsmann, München (Krüsmann-Klinik) mit der Etablierung und Durchführung der intrazytoplasmatischen Spermieninjektion (ICSI).

Von Oktober 1993 bis März 1995 wurden insgesamt 449 ICSI Behandlungszyklen bei 313 Ehepaaren mit meist langwährendem unerfüllten Kinderwunsch an der Krüsmann-Klinik durchgeführt.

217 Paare unternahmen im Beobachtungszeitraum einen ICSI-Versuch, 64 Paare durchliefen zwei, 25 Paare drei ICSI-Zyklen, 6 Paare wurden vier Mal und ein Paar sogar fünf Mal mittels ICSI behandelt.

Das mittlere Alter der Patientinnen betrug 32 Jahre, wobei die jüngste 19 Jahre und die älteste 44 Jahre alt war.

Auf Seiten der Männer war der jüngste Patient 23 Jahre, der älteste 54 Jahre und das mittlere Alter betrug 36 Jahre.

Die durchschnittliche Kinderwunschdauer lag bei 6 Jahren, wobei die kürzeste mit 1 Jahr, die längste mit 22 Jahren angegeben wurde.

Eingang in das ICSI-Programm haben ausschließlich Patientenehepaare gefunden, bei denen auf Seiten des Mannes eine schwere Subfertilität mehrfach nachgewiesen wurde, sei es durch wiederholt erstellte Spermioogramme oder aufgrund vorangegangener erfolgloser IVF-Versuche ohne ICSI.

Die Zuteilung der Patienten zum ICSI-Programm erfolgte entweder direkt, d.h. die Patienten waren bereits in der Krüsmann-Klinik erfolglos mit IVF behandelt worden, oder die Indikationsstellung fand aufgrund erstmalig veranlaßter Spermioogramme und deren pathologischer Befunde statt.

Tabelle 2.1

Vorangegangene Verfahren der Sterilitätsbehandlung vor Beginn der insgesamt 449 ICSI Behandlungszyklen

	ICSI- Behandlungs- zyklen	% aller Behandlungs- zyklen
In vitro Fertilisation (IVF)	208	46,3%
Intrauterine Insemination (IUI)	241	53,7%
Intratubarer Gametentransfer (GIFT)	9	2,0%
Artifizielle Insemination mit Spendersamen*	7	1,6%

Tab. 2.1: Aufgelistet sind die verschiedenen Arten der Sterilitätsbehandlung vor Beginn der ICSI-Behandlung. Bei den insgesamt 449 ICSI Behandlungszyklen waren pro Behandlungszyklus teilweise verschiedene Sterilitätsbehandlungen vorausgegangen, es kommt daher zu Mehrfachnennungen. Die Prozentangaben beziehen sich auf 449 ICSI Behandlungszyklen. Bei der IVF werden durch Punktion entnommene Oozyten extrakorporal befruchtet, die Embryonen werden nach erfolgter Fertilisation in den Uterus transferiert. Beim GIFT werden die auf gleiche Weise entstandenen Gameten per Katheter direkt in die Tuben eingebracht. Bei der IUI werden die Spermien des Ehegatten, bei der AID Spermien eines Spenders in den Uterus eingeführt.

\*) außerhalb, wird an der Krüsmann-Klinik nicht durchgeführt

Bei 80 Behandlungszyklen (17,8% aller ICSI-Behandlungszyklen) waren anamnestisch keine anderweitigen Sterilitätsbehandlungen vor ICSI angewandt worden. Bei 95% dieser Behandlungszyklen (76 Männer) wiesen die Spermioogramme eine hochgradige Oligozoospermie auf, die zur unmittelbaren Indikationsstellung für ICSI führte. In den anderen 4 Behandlungszyklen ergab sich die Indikation zur ICSI durch das Vorliegen einer extremen Asthenozoospermie mit 0% progressiver Motilität; zusätzlich bestanden bei den Paaren dieser 4 Behandlungszyklen Indikationen auch auf Seite der Frau zur Durchführung einer IVF, z.B. Endometriose oder PCO-Syndrom (Tabelle 2.1).

## **2.2 Behandlungsablauf der ICSI an der Krüsmann-Klinik**

Eine gynäkologische sowie urologisch-andrologische Voruntersuchung des Ehepaares mit einem hormonellen Screening sowie einem Screening auf Hepatitis B und C sowie auf HIV war bei allen Patientenpaaren obligat.

Vor der Therapie wurden meist mehrere ausführliche Beratungsgespräche mit dem betroffenen Patientenehepaar über den Behandlungsablauf der ICSI geführt.

Dabei wurde vor allem auf mögliche Restrisiken dieser noch neuen Methode sowie die medizinischen Probleme bei deren Durchführung eingegangen. Die Patienten wurden umfassend darüber aufgeklärt, daß ICSI ein neues Verfahren der Sterilitätsmedizin darstellt, bei dem weltweit große Erfahrungen noch fehlen, so daß keine Erfolgsgarantie gegeben werden kann und daß insbesondere ein Restrisiko besteht, welches nicht völlig abschätzbar ist.

Die Patienten unterzeichneten eine entsprechende Einverständniserklärung.

Entsprechend den Richtlinien der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (DGGG) wurde bei allen Ehemännern ein Karyogramm aus den peripheren Lymphozyten erstellt. In Fällen, bei denen konkrete anamnesticke Hinweise, wie beispielsweise Mukoviszidose oder eine beidseitige Samenleiteraplasie, vorlagen, wurden gezielte genetische Untersuchungen und gegebenenfalls eine ausführliche Beratung durch einen Humangenetiker veranlaßt.

Im Falle einer eintretenden Schwangerschaft wurde eine Pränataldiagnostik angeraten.

### *2.2.1 Spermagewinnung*

Die Ejakulate wurden nach vier- bis fünftägiger Abstinenz üblicherweise durch Masturbation in sterile Gefäße gewonnen.

Erwies sich dieses Erstejakulat mit Bakterien kontaminiert, so wurde der Ehemann vor Beginn der ICSI-Behandlung entsprechend dem Keimbefall antibiotisch vorbehandelt. Dies war in 20 Behandlungszyklen notwendig. In 4 Behandlungszyklen wurde durch Masturbation gewonnenes, kryokonserviertes Sperma für ICSI benutzt.

In 42 Behandlungszyklen war eine Spermagewinnung mittels Masturbation nicht möglich, so daß hier in Abhängigkeit von der entsprechenden Diagnose zu

anderen Maßnahmen gegriffen werden mußte. In sieben Fällen wurden die Spermatozoen aus einem Spermatozelenpunktat, bei einem Patienten mit Ejakulationsstörungen nach Vibratorstimulation gewonnen. Bei drei Patienten mit retrograder Ejakulation konnten nach Blasenspülung Spermatozoen für die Mikroinjektion gewonnen werden und in 31 Behandlungszyklen kamen mikrochirurgische epididymale Spermienaspiration (MESA) und/oder testikuläre Spermienextraktion (TESE) zum Einsatz (Tabelle 2.2).

Tabelle 2.2

Verschiedenen Arten der Spermagewinnung in 449 Behandlungszyklen ICSI

	Anzahl der Behandlungszyklen	% aller Behandlungszyklen
Masturbation	407	90,6%
Spermatozelenpunktion	7	1,6%
Vibratorstimulation	1	0,2%
Blasenspülung	3	0,7%
MESA / TESE	31	6,9%

Tab. 2.2: In den meisten Fällen erfolgte die Spermengewinnung durch Masturbation nach 4-5 Tagen sexueller Karenz, in 4 dieser Fälle war kryokonserviertes Sperma verwendet worden. In 20 Fällen war wegen Bakteriennachweis im Ejakulat der Ehemann antibiotisch behandelt worden. Vibratorstimulation wurde bei Ejakulationsstörungen, Blasenspülung bei retrograder Ejakulation durchgeführt. Spermatozelenpunktion, mikrochirurgische epididymale Spermienaspiration (MESA) und testikuläre Spermienextraktion (TESE) wurde in den übrigen Behandlungszyklen notwendig, bei denen die Masturbation nicht möglich war.

Bei der MESA, die grundsätzlich in Allgemeinnarkose durchgeführt wird, werden zunächst der Skrotalinhalt durch eine etwa zwei bis drei Zentimeter lange querverlaufende mediane Inzision der Haut exponiert und Hoden und Nebenhoden nach Eröffnung der Tunica vaginalis hervorluxiert. Nach Inzision der Serosa im Bereich des Nebenhodenkopfes und Präparation wird unter dem Operationsmikroskop ein oder mehrere Samenkanälchen mittels spezieller Skalpelle eröffnet. Die hervortretende Samenflüssigkeit wird aspiriert. Unmittelbar nach Entnahme erfolgt die mikroskopische Analyse des gewonnenen Samenmaterials. Nebenhoden und Skrotum werden in Schichten verschlossen.

Bei der TESE wird nach Exposition des Hodens die Tunica albuginea über eine Länge von drei Millimetern inzidiert und das hervorquellende Gewebe flach mit einer Schere abgetragen. Aus den so gewonnenen Biopsaten werden die vitalen Spermatozoen entweder enzymatisch oder mechanisch entfernt. Hoden und Skrotum werden anschließend schichtweise verschlossen.

### *2.2.2 Spermioogramme*

Die Spermioogramme wurden nach den WHO-Kriterien von 1987 ausgewertet. Danach galten als Normwerte mehr als 20 Millionen Spermatozoen pro Milliliter, mehr als 20% Spermatozoen schnell vorwärts bewegliche (A), mehr als 20% langsam vorwärts bewegliche (B) und mehr als 60% Normalformen.

### *2.2.3 Ovarielle Stimulation und Unterstützung der Lutealphase*

Im Behandlungszyklus erfolgte die hormonelle Stimulation der Ovarien in der überwiegenden Zahl der Fälle (418 Behandlungszyklen) nach dem sogenannten langen Protokoll.

Dabei wurde ab der mittleren Lutealphase des Vorzyklus mit täglichen Applikationen von Gonadotropin Releasing Hormon (GnRH) - Analoga begonnen, die über die Menstruation hinaus weitergeführt wurden. Ab dem 3. Tag des eigentlichen Stimulationszyklus folgte die Applikation von humanem Menopausen Gonadotropin (hMG) oder Follikel stimulierendem Hormon (FSH), üblicherweise 150 I.E. täglich.

Je nach ovarieller Antwort oder den Vorerfahrungen aus anderen Stimulationen wurde die Dosis im Einzelfall auch niedriger oder höher gewählt (75-300 I.E.).

Die Ovulationsinduktion erfolgte mittels 5000 I.E. humanem Choriongonadotropin (hCG), sobald die führende Follikelkohorte einen mittleren Durchmesser um die 20 mm erreicht hatte.

In 31 Behandlungszyklen wurde die Stimulation teils nur mit FSH oder hMG, teils in Kombination mit Clomifen durchgeführt.

Die Lutealphase wurde generell mit 3x200 mg Progesteron täglich intravaginal (Utrogestan®) und durch 1500 I.E. hCG alle drei Tage gestützt.

#### *2.2.4 Gewinnung und Vorbereitung der Eizelle*

Nach Follikelpunktion zur Gewinnung der Oozyten, werden diese zunächst enzymatisch behandelt, um die Cumuluszellen zu entfernen. Die Corona radiata wird anschließend mechanisch mit Hilfe einer ausgezogenen Pasteurpipette entfernt. Im Anschluß daran wird das Reifestadium der freipräparierten Oozyten festgestellt (Metaphase II, Metaphase I, Germinalvesikel). Zur Injektion werden ausschließlich Oozyten der Metaphase II verwendet. Nach mehrfachem Waschen in Medium werden die Eizellen im Brutschrank gelagert.

Halte- und Injektionspipetten wurden während der Erfassung noch selbst hergestellt, inzwischen gibt es sowohl Injektions- als auch Haltepipetten vorgefertigt zu kaufen.

Es werden 5-6 Tropfen Medium auf eine Petrischale gebracht und mit filtriertem Paraffinöl überschichtet. In jeden Tropfen kommt eine Eizelle. In das Zentrum der Petrischale werden Medium und etwa 1 µl Spermatozoensuspension gesetzt.

Zur Mikroinjektion wird ein Invertmikroskop, verbunden mit Hoffmann-Phasenkontrastobjektiven sowie hydraulischen Mikromanipulatoren und Injektoren, verwendet. Die Injektion wird bei einer Temperatur von 37°C durchgeführt.

Zunächst werden Halte- und Injektionspipette in die dafür vorgesehenen Halterungen eingespannt und dann in eine optische Ebene gebracht und justiert.

### *2.2.5 Durchführung der intrazytoplasmatischen Spermieninjektion*

Bei einer 200fachen Vergrößerung wird eine Samenzelle immobilisiert, indem die Spitze der Injektionspipette über das Schwanzstück der Samenzelle streicht und es so unbeweglich macht. Die Samenzelle wird möglichst flach vom Ende der Geißel her aufgenommen, wobei darauf geachtet wird, daß die Geißel keine Schlinge in der Pipette bildet. Die Injektionspipette, in der die Samenzelle jetzt vollkommen bewegungslos liegt, wird innerhalb der Ölschicht in der Petrischale zum Tropfen mit der ersten Eizelle bewegt. Die Oozyte wird bei 100facher Vergrößerung mit der Injektionspipette gedreht, bis der Polarkörper entweder oben (12 Uhr) oder unten (6 Uhr) zu liegen kommt. In dieser Position wird die Oozyte mit der Haltepipette angesogen und festgehalten. Dann werden die Pipetten und die Oozyte bei 200facher Vergrößerung scharf fokussiert, die Samenzelle in der Injektionspipette an deren Spitze gebracht und vorsichtig rechtwinklig bei 3 Uhr in die Oozyte und in das Zytoplasma eingestochen. Es wird darauf geachtet, daß bis in die Mitte der Oozyte gestochen wird, um die Oolemmembran sicher und atraumatisch zu durchbrechen. Die Perforation wird durch Aspiration des Oolemmas geprüft. Dann wird die Samenzelle injiziert. Um kein oder nur ein minimales Volumen von Medium in das Zytoplasma einzubringen, wird die Injektionspipette, nachdem der Kopf der Samenzelle die Pipettenspitze verlassen hat, zurückgezogen und nicht mehr weiter injiziert.

16-18 Stunden nach der Injektion werden die Oozyten auf das Vorhandensein von zwei oder mehr Vorkernen untersucht. Falls mehr als drei Oozyten Zeichen der Fertilisation zeigen, werden die überzählig fertilisierten Oozyten im Pronukleusstadium kryokonserviert oder - falls dies vom Ehepaar nicht gewünscht wurde - verworfen.

### *2.2.6 Embryotransfer und Feststellen der Schwangerschaft*

Nach weiteren 24 Stunden werden gemäß den Vorschriften des deutschen Embryonenschutzgesetzes (Keller et al., 1992) maximal 3

Embryonen intrauterin transferiert; die Vorgehensweise ist dieselbe wie bei der traditionellen IVF.

HCG im Serum sowie Progesteron und Östradiol wurden 14 Tage nach dem Embryonentransfer bestimmt. Von einer biochemischen Schwangerschaft wurde bei folgenden Werten ausgegangen: HCG > 25 IE.; Progesteron > 20 ng/ml und Östradiol > 500 pg/ml. Bei sonographischem Nachweis einer Fruchthöhle 6 Wochen nach Embryotransfer wurde die Schwangerschaft als klinisch bezeichnet.

### **2.3 Bildung von Patientengruppen**

Für die Auswertung der Daten wurden die Behandlungszyklen aller Patienten in verschiedene Gruppen eingeteilt und die Ergebnisse in Abhängigkeit von verschiedenen Parametern erstellt:

Zunächst wurden alle Behandlungszyklen mit und alle Behandlungszyklen ohne Schwangerschaften hinsichtlich der Anzahl der aspirierten Oozyten und transferierten Embryonen, der Schwangerschaftsraten und der durchschnittlichen Spermioigrammparameter miteinander verglichen.

Des Weiteren wurde auf Schwangerschaftsraten in Abhängigkeit von der Anzahl der transferierten Embryonen und der Art der Spermagewinnung eingegangen.

Um möglichst genaue Aussagen über den Einfluß von andrologisch bedingten Sterilitätsfaktoren (männlicher Faktor) auf die Ergebnisse zu machen, war es erforderlich, eine Gruppe zu bilden, in der zusätzlich weibliche Sterilitätsfaktoren (weiblicher Faktor) nicht nachzuweisen waren. Dementsprechend wurde eine Unterteilung in zwei Patientengruppen unternommen: Eine Gruppe, bei der es keinen Hinweis auf einen zusätzlichen weiblichen Faktor gab (230 Behandlungszyklen, 51,2% der Behandlungszyklen) und eine Gruppe, in der auch die Frau - anamnestisch und/oder durch

entsprechende Diagnostik gesichert - einen Sterilitätsfaktor besaß (219 Behandlungszyklen entsprechend 48,8% der Behandlungszyklen).

Tabelle 2.3

Weibliche Sterilisationsfaktoren bei 219 Behandlungszyklen ICSI

	Anzahl der Behandlungszyklen	% aller Behandlungszyklen
Ovarielle Funktionsstörungen	92	42,0%
Endometriose	75	34,2%
Tubenfaktor	59	26,9%
Funktionsstörung von Hypophyse, Schilddrüse, Nebenniere	53	24,2%
Uteriner Faktor	34	15,5%
Sonstige	32	14,6%

Tab. 2.3: Um genauere Aussagen über den Einfluß männlicher Sterilitätsfaktoren (männlicher Faktor) auf die Ergebnisse zu machen, wurden aus den 449 Behandlungszyklen ICSI zwei Gruppen gebildet. Eine Gruppe (230 Behandlungszyklen, 51,2%), in der keine Hinweise auf weibliche Sterilitätsfaktoren vorlagen und eine Gruppe (219 Behandlungszyklen, 48,8%), in der zusätzlich anamnestisch oder diagnostisch gesicherte weibliche Sterilitätsfaktoren (weiblicher Faktor) nachweisbar waren. Die Tabelle zeigt die Verteilung der weiblichen Sterilitätsursachen in dieser Gruppe, pro Behandlungszyklus lagen teilweise mehrere weibliche Faktoren vor.

In beiden Gruppen wurden die Behandlungsergebnisse bezüglich der Schwangerschaftsraten, der durchschnittlichen Spermogrammparameter und der Anzahl der transferierten Embryonen ermittelt und verglichen.

Weiterhin wurde untersucht, ob nach einer Einarbeitungszeit bei ICSI-Eingriffen die Schwangerschaftsraten steigen, unter der Vorstellung, daß eine höhere Eingriffsfrequenz Behandlungsergebnisse verbessern könnte. Dazu wurden die 230 Behandlungszyklen, in denen kein weiblicher Sterilitätsfaktor vorlag, in zwei Behandlungszeiträumen gesondert betrachtet. Das erste Behandlungsjahr an der Krüsmann-Klinik mit 112 Behandlungszyklen ICSI von Oktober 1993 bis September 1994 wurde als Einarbeitungszeitraum angesehen. Die Ergebnisse hinsichtlich der Schwangerschaftsraten wurden mit den 118 Behandlungszyklen im zweiten Beobachtungszeitraum von Oktober 1994 bis März 1995 verglichen.

## **2.4 Datenerhebung und statistische Auswertung**

Die mit ICSI behandelten Patienten wurden teils retrospektiv teils kontinuierlich aus dem Operationsbuch der Krüsmann-Klinik ermittelt, die entsprechenden Daten dann den Patientenakten entnommen und per Microsoft Excel 4.0 dokumentiert und ausgewertet.

Die statistischen Signifikanzberechnungen erfolgten mit Hilfe des Statistikprogramms SPSS, Version 10.0, Schwangerschaftsraten wurden unter Anwendung des  $\chi^2$  – Tests (exakter Test nach Fisher) verglichen;  $p < 0,01$  wurde als statistisch signifikant bewertet.

### **3 Ergebnisse**

#### **3.1 ICSI-Daten aus 449 Behandlungszyklen (Oktober 1993 - März 1995)**

##### *3.1.1 Behandlungsergebnisse*

Im Beobachtungszeitraum Oktober 1993 bis März 1995 wurden in der Krüsmann-Klinik bei insgesamt 449 Behandlungszyklen eine intrazytoplasmatische Spermieninjektion (ICSI) durchgeführt; die Anzahl der behandelten Paare betrug 313. Insgesamt wurden dabei 3903 Oozyten aspiriert (durchschnittlich 8,7 pro Behandlungszyklus) und 1003 Embryonen transferiert (durchschnittlich 2,2 pro Behandlungszyklus).

Dabei war in 417 Behandlungszyklen ein Embryotransfer möglich, das entspricht 92,9% aller Behandlungszyklen.

Es resultierten insgesamt 146 Schwangerschaften, darunter auch biochemische Schwangerschaften mit HCG > 25 IE, Progesteron > 20 ng/ml und Östradiol > 500 pg/ml und klinische Schwangerschaften mit sonographischem Nachweis einer Fruchthöhle sechs Wochen nach Embryotransfer), entsprechend einer Schwangerschaftsrate von 32,5% pro Behandlungszyklus und 35,0% pro Embryotransfer.

27,4% der Schwangerschaften endeten mit einem Abort (biochemische Schwangerschaften eingeschlossen) oder mit einer extrauterinen Gravidität.

Die Abortrate pro Behandlungszyklus liegt bei 8,2%, pro Embryotransfer bei 8,9% und bezogen auf die Schwangerschaften bei 25,3%.

Die Rate der extrauterinen Schwangerschaften liegt sowohl pro Behandlungszyklus als auch pro Embryotransfer bei 0,7% und bezogen auf die Schwangerschaften bei 2,1%. (Tabelle 3.1)

Tabelle 3.1

Behandlungsergebnisse aus 449 Behandlungszyklen ICSI (Oktober 1993 bis März 1995)

Behandlungszyklen	449
Aspirierte Oozyten	3903
Aspirierte Oozyten pro Behandlungszyklus	8,7
Embryotransferzyklen	417
Embryotransferzyklen / alle Behandlungszyklen	92,9%
Transferierte Embryonen	1003
Transferierte Embryonen pro Behandlungszyklus	2,2
Schwangerschaften	146
Schwangerschaftsrate pro Behandlungszyklus	32,5%
Schwangerschaftsrate pro Embryotransfer	35,0%
Aborte	37
Abortrate pro Behandlungszyklus	8,2%
Abortrate pro Embryotransfer	8,9%
Abortrate pro Schwangerschaft	25,3%
Extrauteringraviditäten	3
Extrauteringraviditäten pro Behandlungszyklus	0,7%
Rate der Extrauteringraviditäten pro Embryotransfer	0,7%
Rate der Extrauteringraviditäten pro Schwangerschaft	2,1%

Tab. 3.1: Im Beobachtungszeitraum Oktober 1993 bis März 1995 wurden in der Krüsmann-Klinik bei 313 Paaren in insgesamt 449 Behandlungszyklen eine intrazytoplasmatische Spermieninjektion (ICSI) durchgeführt. Dabei wurden nach hormoneller Stimulation Oozyten durch sonographisch gesteuerte Follikelpunktion entnommen. Nach enzymatischer Entfernung von Cumuluszellen und mechanischer Entfernung der corona radiata wurde das Reifestadium bestimmt und nur die Oozyten in Metaphase II weiter verwendet. Die auf unterschiedliche Weise gewonnenen Spermien wurden zu einer Spermatozoensuspension aufbereitet, je eine Samenzelle wurde in eine Injektionspipette aufgenommen und in die Oozyte injiziert. 18 Stunden später wurde die Fertilisation anhand der Bildung von zwei oder mehreren Vorkernen überprüft und weitere 24 Stunden später wurden maximal drei Embryonen in den Uterus transferiert. Die Tabelle zeigt die Behandlungsergebnisse.

### 3.1.2 Durchschnittliche SpermioGrammparameter

In insgesamt 44 Behandlungszyklen lag kein im Sinne der WHO verwertbares SpermioGramm vor. In diesen Fällen erfolgte die Beschreibung der Spermienqualität rein deskriptiv, z.B. „z.T. vereinzelt motile Spermien auffindbar“, (siehe oben). Diese 44 Behandlungszyklen werden in den Auswertungen den SpermioGrammen mit ausgeprägter Oligozoospermie zugeteilt, werden aber in Mittelwertsberechnungen nicht berücksichtigt (Tabelle 3.2).

Tabelle 3.2

Durchschnittswerte der SpermioGrammparameter in 405 Behandlungszyklen ICSI (Oktober 1993 bis März 1995)

	Mittelwert ± Standardabweichung	Bereich	Median
Spermienkonzentration (x 10 <sup>6</sup> /ml)	14,4 ± 18,4	0-100	8
Progressive Motilität	20,5 ± 13,7%	0-60%	20%
Normale Morphologie	39,2 ± 14,1%	0-70%	40%

Tab. 3.2: Mittelwerte ± Standardabweichung, Bereich und Medianwerte von SpermioGrammparametern in 405 Behandlungszyklen. 44 der insgesamt 449 Behandlungszyklen wurden nicht berücksichtigt, da kein verwertbares SpermioGramm vorlag, n=405. Die Spermatozoenkonzentration liegt deutlich im Bereich der Oligozoospermie, die progressive Motilität zeigt eine Asthenozoospermie, der Anteil an Spermien mit normaler Morphologie ist nach WHO-Kriterien pathologisch niedrig.

Mit einer durchschnittlichen Spermatozoenkonzentration von 14,4 x 10<sup>6</sup> / ml und insbesondere unter Berücksichtigung der Tatsache, daß in weiteren 44 Behandlungszyklen die Konzentration unter 1 x 10<sup>6</sup> /ml lag, befand sich die mittlere Spermatozoendichte deutlich im Bereich der Oligozoospermie.

Die mittlere progressive Motilität von 20,5% charakterisiert den Durchschnitt der SpermioGramme als asthenozoosperm.

Als pathologisch erweist sich nach den angewandten WHO-Kriterien auch die durchschnittliche normale Morphologie von 39,2%.

### *3.1.3 Vergleich aller Behandlungszyklen mit und ohne nachfolgende Schwangerschaft*

Es zeigen sich im wesentlichen keine Unterschiede zwischen den Behandlungszyklen, in denen eine Schwangerschaft erzielt wurde und denen ohne nachfolgende Schwangerschaften. Sowohl in Bezug auf Anzahl der aspirierten Oozyten und die Anzahl der pro Behandlungszyklus transferierten Embryonen (Embryotransfer pro Behandlungszyklus) als auch in den Spermogrammparametern sind sich Behandlungszyklen mit und Behandlungszyklen ohne Schwangerschaften ähnlich, es handelt sich also um vergleichbare und homogene Kollektive.

Unterschiede zeigen sich lediglich bei der Anzahl der transferierten Embryonen. In der Gruppe der Behandlungszyklen mit nachfolgender Schwangerschaft liegt die Anzahl der Behandlungszyklen, bei denen drei Embryonen transferiert wurden, mit 66,4% gegenüber 41,3% in der Gruppe ohne Schwangerschaften deutlich höher. Dieser Unterschied ist statistisch signifikant ( $p < 0,01$ ). Tabelle 3.3 zeigt die Ergebnisse im Überblick.

Tabelle 3.3

Vergleich der Behandlungszyklen mit und ohne folgende Schwangerschaft (SS)

		ohne SS	mit SS	
Behandlungszyklen		303 (67,5%)	146 (32,5%)	
Aspirierte Oozyten		2586	1317	
Aspirierte Oozyten pro Behandlungszyklus		8,5	9,0	
Embryotransferzyklen		271 (89,4%)	146 (100%)	
Transferierte Embryonen		626	377	
Transferierte Embryonen pro Behandlungszyklus		2,1	2,6	
Zyklen ohne Embryotransfer		32 (10,6%)	-	
Zyklen mit 1 transferierten Embryo		41 (13,5%)	12 (8,2%)	
Zyklen mit 2 transferierten Embryonen		105 (34,7%)	37 (25,3%)	
Zyklen mit 3 transferierten Embryonen		125 (41,3%)	97 (66,4%)**	
Durchschnittliche Spermio-gramm-parameter *	Spermienkonzentration (x 10 <sup>6</sup> / ml)	14,6 ± 17,9	14,2 ± 19,4	
		Bereich	0-85	0,1-100
		Median	8	6
	Progressive Motilität (%)	20,3 ± 13,4	21,1 ± 14,2	
		Bereich	0-60	0-60
		Median	20	20
	Normale Morphologie (%)	39,0 ± 14,4	39,8 ± 13,6	
		Bereich	0-70	0-60
		Median	40	40

Tab. 3.3: Behandlungszyklen mit und ohne erfolgte Schwangerschaft (SS) werden bezüglich aspirierter Oozyten, Embryotransfers und durchschnittlicher Spermio-grammparameter miteinander verglichen. Ein signifikanter Unterschied (p<0,01) ergibt sich bei der Anzahl der Zyklen mit drei transferierten Embryonen, ansonsten zeigen die beiden Gruppen keine wesentlichen Unterschiede, es handelt sich um vergleichbare und homogene Kollektive.

\*) In der Gruppe der Behandlungszyklen mit Schwangerschaften mußten 31 Behandlungszyklen, in der Gruppe der Behandlungszyklen ohne Schwangerschaften 13 Behandlungszyklen herausgenommen werden, da kein verwertbares Spermio-gramm vorlag

\*\*\*) Der Unterschied zwischen beiden Gruppen ist signifikant (p<0,01)

### 3.1.4 Schwangerschaftsrate in Relation zur Anzahl der transferierten Embryonen

In insgesamt 32 Behandlungszyklen (7,1% der Behandlungszyklen) kam es zu keinem Embryotransfer. Daraus ergeben sich 417 Behandlungszyklen mit Embryotransfer, was einer Embryotransferrate von 92,9% entspricht.

Deutlich zu sehen ist die Zunahme der Anzahl an Schwangerschaften mit der Zahl der transferierten Embryonen. In 49,9 %, also fast in der Hälfte der Behandlungszyklen, war es nicht nur von dem Ehepaar gewünscht, sondern auch tatsächlich möglich, 3 Embryonen zu transferieren.

In der Gruppe der Zyklen mit Transfer von drei Embryonen konnte in 43,7% der Zyklen Schwangerschaften erzielt werden (Tabelle 3.4).

Tabelle 3.4

Schwangerschaften in Relation zur Anzahl der transferierten Embryonen in 449 Behandlungszyklen ICSI

Transferierte Embryonen pro Behandlungszyklus	Behandlungszyklen	Schwangerschaften
kein Embryo	32 (7,1%)	0
1 Embryo	53 (11,8%)	12 (22,6%)
2 Embryonen	142 (31,6%)	37 (26,1%)
3 Embryonen	222 (49,4%)	97 (43,7%)

Tab. 3.4: Von 449 Behandlungszyklen ICSI konnten in 417 Behandlungszyklen Embryos transferiert werden. Die Zunahme der Schwangerschaftsraten mit der Anzahl der transferierten Embryonen ist deutlich zu erkennen.

### 3.1.5 Spermagewinnung

Tabelle 3.5 zeigt die Schwangerschaftsraten in Abhängigkeit von den verschiedenen Arten der Spermagewinnung bei 449 Behandlungszyklen. In fast 90% der Behandlungszyklen erfolgte dies durch Masturbation. Die übrigen Arten der Spermagewinnung spielen prozentual kaum eine Rolle, so daß letztendlich die Schwangerschaftsraten unter statistischen Kriterien nicht miteinander vergleichbar sind.

Man kann aber feststellen, daß auch bei den anderen Methoden der Spermagewinnung Schwangerschaften zu erzielen sind.

Tabelle 3.6 geht gesondert auf die Gruppe MESA / TESE ein.

Berücksichtigt man die 6 Behandlungszyklen nicht, bei denen die Spermagewinnung mit MESA und TESE erfolgte, so verbleiben 13 Behandlungszyklen MESA und 12 Behandlungszyklen TESE.

In der MESA-Gruppe fand in 92,3% ein Embryotransfer stattfinden, es resultierten zwei Schwangerschaften, was einer Schwangerschaftsrate pro Embryotransfer von 16,7% entspricht.

In der TESE-Gruppe ließen sich in 91,7% Transferzyklen 5 Schwangerschaften erzielen, entsprechend einer Schwangerschaftsrate von 45,5% pro Embryotransfer.

Betrachtet man in beiden Gruppen die SpermioGramme, so zeigen sich erwartungsgemäß deutlich pathologische Parameter. Eine Ausnahme stellt in der MESA-Gruppe die normale Morphologie bei 34,3% der Behandlungszyklen dar.

Auch hier ist wieder zu berücksichtigen, daß in beiden Gruppen zusammen 13 Behandlungszyklen aus der Berechnung der durchschnittlichen SpermioGrammparameter herausgenommen wurden, da die Parameter nicht im konventionellen SpermioGramm darstellbar waren. Die Mittelwerte der Parameter sind daher noch deutlicher in den pathologischen Bereich verschoben (Tabelle 3.6).

**Tabelle 3.5**

Ergebnisse der Intrazytoplasmatischen Spermieninjektion (ICSI) in Abhängigkeit von der Art der Spermagewinnung

	Masturbation	Spermatozelen- punktion	Vibrator- stimulation	Kryo- konservierung	Blasenspülung	MESA / TESE
Behandlungszyklen	403 (89,8%)	7 (1,6%)	1 (0,2%)	4 (0,9%)	3 (0,7%)	31 (6,9%)
Aspirierte Oozyten	3509	56	9	39	38	252
Aspirierte Oozyten pro Behandlungszyklus	8,7	8,0	9,0	9,8	12,7	8,1
Embryotransferzyklen	374 (92,8%)	6 (85,7%)	1 (100%)	4(100%)	3 (100%)	29 (93,5%)
Transferierte Embryonen	901	14	1	10	9	68
Transferierte Embryonen pro Behandlungszyklus	2,2	2,0	1,0	2,5	3,0	2,2
Schwangerschaften	133	2	1	1	1	8
Schwangerschaftsrate pro Behandlungszyklus	33,0%	28,6%	100%	25,0%	33,3%	25,8%
Schwangerschaftsrate pro Embryotransferzyklus	35,6%	33,3%	100%	25,0%	33,3%	27,6%

Tab. 3.5: Die Tabelle zeigt die Ergebnisse der intrazytoplasmatischen Spermieninjektion (ICSI) in Abhängigkeit von der Art der Spermagewinnung. Bei der Masturbation wurden die Ejakulate nach 4-5 Tagen sexueller Karez gewannen., in 4 Fällen war kryokonserviertes Sperm verwendet worden. Vibratorstimulation wurde bei Ejakulationsstörungen, Blasenspülung bei retrograder Ejakulation durchgeführt. Spermatozelenpunktion, mikrochirurgische epididymale Spermienaspiration (MESA) und testikuläre Spermienextraktion (TESE) wurde in den übrigen Behandlungszyklen notwendig. Neben der Masturbation machen die übrigen Arten der Spermagewinnung nur 10,2% aus, die Ergebnisse sind damit statistisch nicht vergleichbar. Tendenziell zeigen sich jedoch auch gute Ergebnisse in den Fällen, in denen eine Spermagewinnung durch Masturbation nicht möglich war oder in denen kryokonserviertes Sperm verwendet wurde.

Tabelle 3.6

Ergebnisse ICSI in 31 Behandlungszyklen mit epididymalen Spermien (MESA) und testikulären Spermien (TESE)

		MESA	TESE	MESA+ TESE
Behandlungszyklen		13 (2,9%)	12 (2,7%)	6 (1,3%)
Aspirierte Oozyten		110	107	35
Aspirierte Oozyten pro Behandlungszyklus		8,5	8,9	5,8
Transferierte Embryonen		33	23	12
Transferierte Embryonen pro Behandlungszyklus		2,5	1,9	2,0
Schwangerschaften		2	5	1
Schwangerschaftsrate pro Behandlungszyklus		15,4%	41,7%	16,7%
Embryotransferzyklen		12 (92,3%)	11 (91,7%)	5 (83,3%)
Schwangerschaftsrate pro Embryotransferzyklus		16,7%	45,5%	20,0%
Durch- schnittliche Spermio- gramm- parameter **	Spermiendichte (x 10 <sup>6</sup> /ml)	11,9 ± 13,8	0,2 ± 0,1	2,5 ± 2,1
	Bereich	0-35	0,1-0,3	1-4
	Median	6,5	0,15	2,5
	Progressive Motilität (%)	11,4 ± 9,8	0	2,5 ± 3,5
	Bereich	0-30	0	0-5
	Median	10	0	2,5
	Normale Morphologie (%)	34,3 ± 14,3	20,0 ± 7,1	15,0 ± 7,1
	Bereich	20-60	15-30	10-20
	Median	30	17,5	15

Tab. 3.6: Behandlungsergebnisse bei Verwendung von epididymalen Spermien (MESA) und testikulären Spermien (TESE). Bei MESA+TESE wurden sowohl epididymale als auch testikuläre Spermien verwendet. Die SpermioGrammparameter sind deutlich pathologisch, insbesondere unter Berücksichtigung der insgesamt 13 Behandlungszyklen, die wegen nicht erstellbarem SpermioGramm nicht in die Berechnung eingingen.

\*\*) In der MESA-Gruppe wurden fünf, in der TESE-Gruppe vier und in der MESA/TESE-Gruppe drei Behandlungszyklen herausgenommen, da kein konventionelles SpermioGramm zu erstellen war.

## **3.2 Vergleich der ICSI-Daten bei rein andrologischer Subfertilität und bei zusätzlichem weiblichen Sterilitätsfaktor (Oktober 1993 – März 1995)**

### *3.2.1 Behandlungsergebnisse*

Im Beobachtungszeitraum Oktober 1993 – März 1995 wurde in insgesamt 230 Behandlungszyklen eine ICSI durchgeführt, in denen bei der Frau retrospektiv keine Erkrankungen oder kein anamnestischen Hinweise auf eine Fertilitätsminderung vorlagen, also von einer rein andrologischen Subfertilität ausgegangen werden kann. Die Anzahl der behandelten Paare betrug in dieser Gruppe 153.

Das mittlere Alter lag bei den Frauen bei 32 Jahren, die jüngste Patientin war 22, die älteste 42 Jahre alt, der Median lag bei 33 Jahren.

Bei den Männern lag das mittlere Alter in dieser Gruppe bei 36 Jahren, der jüngste Patient war 23, der älteste 54 Jahre alt. Der Median lag bei 36 Jahren.

Insgesamt wurden in dieser Gruppe 2069 Oozyten aspiriert (durchschnittlich 9,0 pro Behandlungszyklus) und 523 Embryonen transferiert (durchschnittlich 2,3 pro Behandlungszyklus). In 211 von 230 Behandlungszyklen konnte ein Embryonentransfer stattfinden (91,7%). Es resultierten 69 Schwangerschaften, entsprechend einer Schwangerschaftsrate von 30,0% pro Behandlungszyklus und 32,7% pro Embryotransfer.

8,7% der Behandlungszyklen endeten mit einem Abort oder extrauterinen Gravidität.

Die Abortrate pro Behandlungszyklus liegt bei 8,3%, pro Embryotransfer bei 9,0% und bezogen auf die Schwangerschaften bei 27,5%.

Die Rate der Extrauteringraviditäten liegt pro Behandlungszyklus bei 0,4%, pro Embryotransfer bei 0,5% und bezogen auf die biochemischen Schwangerschaften bei 1,4%.

Gegenüber diesen 230 Behandlungszyklen der Gruppe mit rein andrologischer Subfertilität wurde im gleichen Beobachtungszeitraum von Oktober 1993 bis März 1995 in 219 Behandlungszyklen eine ICSI durchgeführt

an einem Patientenkollektiv, bei denen es auch auf Seiten der Frau zumindest anamnestische Hinweise auf eine Fertilitätsbeeinträchtigung gab. Diese Gruppe soll im folgenden als Gruppe mit zusätzlichem weiblichen Sterilitätsfaktor bezeichnet werden.

Das mittlere Alter der Frauen lag in dieser Gruppe bei 33 Jahren, wobei die jüngste 19 und die älteste 44 Jahre alt waren und der Median bei 31 Jahren lag. Bei den männlichen Patienten betrug das mittlere Alter 35 Jahre, der Median lag bei 34 Jahren. Der jüngste war 24, der älteste Patient 54 Jahre alt.

In dieser Gruppe befanden sich 160 Paare. Insgesamt wurden 1834 Oozyten aspiriert (durchschnittlich 8,4 pro Behandlungszyklus) und 480 Embryonen transferiert (durchschnittlich 2,2 pro Behandlungszyklus). Dabei war in 206 Behandlungszyklen ein Embryotransfer möglich, das entspricht 94,1% aller Behandlungszyklen.

Es konnten 77 Schwangerschaften erzielt werden, entsprechend einer Schwangerschaftsrate von 35,2% pro Behandlungszyklus und 37,4% pro Embryotransfer.

26,0% der Schwangerschaften endeten mit einem Abort oder einer extrauterinen Gravidität.

Die Abortrate pro Behandlungszyklus liegt bei 8,2%, pro Embryotransfer bei 8,7% und bezogen auf die biochemischen Schwangerschaften bei 23,4%.

Die Rate der Extrauteringraviditäten liegt pro Behandlungszyklus bei 0,9%, pro Embryotransfer bei 1,0% und bezogen auf die Schwangerschaften bei 2,6% (Tabelle 3.7).

Tabelle 3.7

Vergleich der Behandlungsergebnisse ICSI in 230 Behandlungszyklen bei ausschließlich andrologischer Subfertilität mit 219 Behandlungszyklen bei zusätzlichen weiblichen Sterilitätsfaktoren

	Ausschließlich andrologische Subfertilität **	Zusätzlich weibliche Faktoren **
Behandlungszyklen	230 (51,2%)	219 (48,8%)
Aspirierte Oozyten	2069	1834
Aspirierte Oozyten pro Behandlungszyklus	9,0	8,4
Transferierte Embryonen	523	480
Transferierte Embryonen pro Behandlungszyklus	2,3	2,2
Embryotransferzyklen	211 (91,7%)	206 (94,1%)
Schwangerschaften	69	77
Schwangerschaftsrate pro Behandlungszyklus	30,0%	35,2%
Schwangerschaftsrate pro Embryotransferzyklus	32,7%	37,4%
Aborte	19	18
Abortrate pro Behandlungszyklus	8,3%	8,2%
Abortrate pro Embryotransferzyklus	9,0%	8,7%
Abortrate pro Schwangerschaft	27,5%	23,4%
Extrauteringraviditäten	1	2
Rate der EUG* pro Behandlungszyklus	0,4%	0,9%
Rate der EUG* pro Embryotransferzyklus	0,5%	1,0%
Rate der EUG* pro Schwangerschaft	1,4%	2,6%

Tab. 3.7: Verglichen werden die Ergebnisse von Oktober 1993 bis März 1995 aus 230 Behandlungszyklen ICSI, bei denen klinisch oder anamnestisch kein Hinweis auf einen sterilitätsmindernden Faktor auf Seiten der Frau vorlag und damit von einer reinen andrologischen Subfertilität ausgegangen werden kann, mit 219 Behandlungszyklen ICSI, bei denen zusätzlich weibliche Sterilitätsfaktoren vorlagen.

\*\* ) Die Unterschiede in den einzelnen Parametern sind statistisch nicht signifikant ( $p > 0,01$ )

\*) Extrauteringravidität

Vergleicht man die Gruppe mit rein andrologischer Subfertilität mit der Gruppe mit zusätzlichen weiblichen Sterilitätsfaktoren, so ist die Anzahl der Behandlungszyklen mit 230 Behandlungszyklen und 219 Behandlungszyklen ähnlich. In der Gruppe der rein andrologischen Subfertilität ist der Durchschnitt der pro Behandlungszyklus aspirierten Oozyten mit 9,0 etwas höher als durchschnittlich 8,4 aspirierte Oozyten in der Gegengruppe. Mit durchschnittlich 2,3 und 2,2 transferierten Embryonen liegen beide Gruppen annähernd gleich. Bei der rein andrologischen Subfertilität konnte in 91,7% der Behandlungszyklen ein Embryo transferiert werden, während dieser Prozentsatz in der gemischten Gruppe mit 94,1% etwas höher lag. Auch die Schwangerschaftsraten in der Gruppe, in der auch auf Seiten der Frau eine Sterilitätsursache vorlag, lagen mit 37,4% pro Embryotransfer gegenüber 32,7% pro Embryotransfer höher als in der Gruppe ohne eine Diagnose bei der Frau. Sämtliche Unterschiede sind statistisch nicht signifikant ( $p > 0,01$ ). Bezüglich des mittleren Alters konnte in den beiden Patientengruppen weder bei den männlichen noch bei den weiblichen Patienten ein wesentlicher Unterschied gefunden werden: Die Frauen ohne Sterilitätsfaktoren waren im Schnitt ein Jahr jünger als die Frauen mit Sterilitätsfaktoren, die Männer in der Gruppe mit rein andrologischen Faktoren waren durchschnittlich ein Jahr älter als in der anderen Gruppe.

### *3.2.2 Schwangerschaftsrate in Relation zur Anzahl der transferierten Embryonen*

Tabelle 3.8 zeigt die Schwangerschaftsrate in Abhängigkeit von der Anzahl der transferierten Embryonen; gegenübergestellt sind die Behandlungszyklen mit und ohne zusätzliche weibliche Diagnose.

Tabelle 3.8

Schwangerschaften in Abhängigkeit von der Anzahl der transferierten Embryonen bei ausschließlich andrologischer Subfertilität und bei zusätzlichen weiblichen Sterilitätsfaktoren

	Ausschließlich andrologische Subfertilität **		Zusätzliche weibliche Sterilitätsfaktoren **	
	Behandlungszyklen	Schwangerschaften	Behandlungszyklen	Schwangerschaften
kein Embryo	19 (8,3%)	0	13 (5,9%)	0
1 Embryo	19 (8,3%)	4 (21,1%)	34 (15,5%)	8 (23,5%)
2 Embryonen	72 (31,3%)	17 (23,6%)	70 (32,0%)	20 (28,6%)
3 Embryonen	120 (52,2%)	48 (40,0%)	102 (46,6%)	49 (48,0%)

Tab. 3.8: 230 Behandlungszyklen ICSI wurden bei Paaren durchgeführt, bei denen nur eine rein androgene Subfertilität nachweisbar war, 219 Behandlungszyklen ICSI wurden bei Paaren mit zusätzlichen weiblichen Sterilitätsfaktoren durchgeführt. Die Tabelle stellt die Ergebnisse in Relation zur Anzahl der transferierten Embryonen dar.

\*\* )die Unterschiede zwischen den beiden Gruppen sind statistisch nicht signifikant ( $p > 0,01$ )

Es zeigen sich zwischen beiden Gruppen keine statistisch signifikanten Unterschiede.

In beiden Gruppen liegt der Prozentsatz der Behandlungszyklen, in denen kein Embryotransfer stattfand, unter 10% (8,3% gegenüber 5,9%).

In der Gruppe mit rein androgenen Sterilitätsfaktoren konnten in mehr als der Hälfte der Behandlungszyklen drei Embryonen transferiert werden, woraus sich eine Schwangerschaftsrate von 40,0% pro Embryotransfer in dieser Gruppe errechnet.

In der Gruppe mit zusätzlicher weiblicher Subfertilität ist das Ergebnis ähnlich. In 46,6% der Behandlungszyklen konnten drei Embryonen transferiert werden, dies entspricht einer Schwangerschaftsrate von 48,0% pro Embryotransfer.

### **3.3 ICSI-Daten bei rein andrologischer Subfertilität (Oktober 1994 - März 1995)**

#### *3.3.1 Behandlungsergebnisse*

Im Beobachtungszeitraum Oktober 1994 bis März 1995 wurde in insgesamt 118 Behandlungszyklen eine ICSI durchgeführt, bei denen keine weibliche Diagnose vorlag. Die Anzahl der behandelten Ehepaare betrug 104. Insgesamt wurden dabei 1054 Oozyten aspiriert (durchschnittlich 8,9 pro Behandlungszyklus) und 282 Embryonen transferiert (durchschnittlich 2,4 pro Behandlungszyklus).

In 114 Behandlungszyklen erfolgte ein Embryotransfer, was 96,6% aller Behandlungszyklen entspricht.

Es resultierten insgesamt 47 Schwangerschaften, entsprechend einer Schwangerschaftsrate von 39,8% pro Behandlungszyklus und 41,2% pro Embryotransfer.

27,7% der Schwangerschaften endeten mit einem Abort oder einer extrauterinen Gravidität.

Die Abortrate pro Behandlungszyklus liegt bei 10,2%, pro Embryotransfer bei 10,5% und bezogen auf die biochemischen Schwangerschaften bei 25,5%.

Die Rate der Extrauteringraviditäten liegt pro Behandlungszyklus bei 0,8%, pro Embryotransfer bei 0,9% und bezogen auf die Schwangerschaften bei 2,1%.  
(Tabelle 3.9)

Tabelle 3.9

Behandlungsergebnisse mit ICSI bei ausschließlich andrologischer Subfertilität im Zeitraum Oktober 1994 bis März 1995

Behandlungszyklen	118
Aspirierte Oozyten	1054
Aspirierte Oozyten pro Behandlungszyklus	8,9
Embryotransferzyklen	114 (96,6%)
Transferierte Embryonen	282
Embryotransfer pro Behandlungszyklus	2,4
Schwangerschaften	47
Schwangerschaftsrate pro Behandlungszyklus	39,8%
Schwangerschaftsrate pro Embryotransfer	41,2%
Aborte	12
Abortrate pro Behandlungszyklus	10,2%
Abortrate pro Embryotransfer	10,5%
Abortrate pro Schwangerschaft	25,5%
Extrauterine Graviditäten	1
Rate der extrauterinen Graviditäten pro Behandlungszyklus	0,8%
Rate der extrauterinen Graviditäten pro Embryotransfer	0,9%
Rate der extrauterinen Graviditäten pro Schwangerschaft	2,1%

Tab. 3.9: 118 Behandlungszyklen mit rein andrologischer Indikation aus dem Zeitraum von Oktober 1994 bis März 1995, also die Zeit nach dem Einführungsjahr, wurden gesondert betrachtet. Die Tabelle zeigt die Ergebnisse.

### 3.3.2 Durchschnittliche Spermogrammparameter

In 13 der 118 Behandlungszyklen lag kein im Sinne der WHO verwertbares Spermogramm vor. Sie werden in den Auswertungen den Spermogrammen mit ausgeprägter Oligozoospermie zugeteilt, bei den Mittelwertsberechnungen werden sie aber nicht berücksichtigt. Die Durchschnittswerte liegen also eigentlich niedriger (Tabelle 3.10).

Tabelle 3.10

Durchschnittliche Spermogrammparameter in 118\* Behandlungszyklen ICSI mit rein andrologischer Indikation im Zeitraum Oktober 1994 bis März 1995

	Mittelwert ± Standardabweichung	Bereich	Median
Spermatozoendichte (x 10 <sup>6</sup> /ml)	8,6 ± 12,9	0,01-80	3
Progressive Motilität	16,0 ± 13,7	0-60	15
Normale Morphologie	36,6 ± 13,2	5-60	30

Tab. 3.10: Die Behandlungszyklen mit rein andrologischer Indikation im Zeitraum von Oktober 1994 bis März 1995 wurden gesondert betrachtet. Bei der Berechnung der durchschnittlichen Spermogrammparameter wurden von 118 Behandlungszyklen 13 Zyklen ausgeschlossen, da kein Spermogramm zu erstellen war. Auch dann liegen die Werte noch deutlich im pathologischen Bereich.

\*) 13 Behandlungszyklen wurden nicht berücksichtigt, da kein verwertbares Spermogramm vorlag, n=105

Mit einer durchschnittlichen Spermatozoenkonzentration von  $8,6 \times 10^6$  / ml und insbesondere unter Berücksichtigung der Tatsache, daß in weiteren 13 Behandlungszyklen die Konzentration unter  $1 \times 10^6$  / ml lag, liegt der Durchschnitt der Behandlungszyklen deutlich im Bereich der Oligozoospermie. Die mittlere progressive Motilität von 16,0% charakterisiert den Durchschnitt der Spermogramme in den Behandlungszyklen im Sinne einer Asthenozoospermie. Ebenso erweist sich nach den angewandten WHO-Kriterien die durchschnittliche normale Morphologie von 36,6% als pathologisch.

### *3.3.3 Vergleich der Behandlungszyklen bei rein andrologischer Indikation im Hinblick auf nachfolgende Schwangerschaften*

Verglichen werden die Behandlungszyklen, in denen eine Schwangerschaft erzielt werden konnte mit den Behandlungszyklen ohne nachweisbare Schwangerschaften. Unterschiede zwischen den beiden Gruppen zeigen sich vor allem bezüglich der Embryotransfers (Tabelle 3.11).

In der Gruppe mit erzielten Schwangerschaften wurden durchschnittlich 2,6 Embryonen pro Behandlungszyklus gegenüber 2,2 Embryonen in der Gruppe ohne erzielte Schwangerschaften transferiert. In der Gruppe mit erzielten Schwangerschaften wurden in 70,2% der Behandlungszyklen 3 Embryonen transferiert, während dies in der Gruppe ohne erzielte Schwangerschaften in

weniger als der Hälfte der Behandlungszyklen (46,5%) zutraf. Dieser Unterschied ist statistisch signifikant ( $p < 0,01$ ).

Tabelle 3.11

Vergleich aller Behandlungszyklen bei ausschließlich andrologischer Indikation mit und ohne Schwangerschaft (SS) im Zeitraum Oktober 1994 bis März 1995

		ohne SS	mit SS
Behandlungszyklen		71 (60,2%)	47 (39,8%)
Aspirierte Oozyten pro Behandlungszyklus		639	415
Embryotransferzyklen		67 (94,4%)	47 (100%)
Transferierte Embryonen		158	124
Transferierte Embryonen pro Behandlungszyklus		2,2	2,6
Anzahl der transferierten Embryonen	kein Embryo	4 (5,6%)	0
	1 Embryo	9 (12,7%)	3 (6,4%)
	2 Embryonen	25 (35,2%)	11 (23,4%)
	3 Embryonen	33 (46,5%)	33 (70,2%)**
Durchschnittliche Spermio-grammparameter *	Spermiendichte (x 10 <sup>6</sup> / ml)	8,6	8,6
	Bereich	0-53	0-80
	Median	3	4
	Progressive Motilität	14,6%	18,1%
	Bereich	0-50	0-60
	Median	12	14
	Normale Morphologie	34,9%	37,3%
	Bereich	10-60	5-60
	Median	30	30

Tab. 3.11: Die Behandlungszyklen bei rein andrologischer Indikation im Zeitraum Oktober 1994 bis März 1995 wurden gesondert betrachtet und bezüglich nachfolgender Schwangerschaften in zwei Gruppen aufgliedert. Signifikante Unterschiede zeigen sich nur beim Embryotransfer. In der Gruppe der Zyklen mit nachfolgenden Schwangerschaften lagen die Fälle, in denen drei Embryonen transferiert wurden, signifikant höher.

\*) In der Gruppe der Behandlungszyklen mit Schwangerschaften mußten sechs Behandlungszyklen, in der Gruppe der Behandlungszyklen ohne Schwangerschaften mußten sieben Behandlungszyklen herausgenommen werden, da kein verwertbares Spermio-gramm vorlag.

\*\* ) Der Unterschied zwischen den beiden Gruppen ist signifikant ( $p < 0,01$ )  $n=118$

### 3.3.4 Schwangerschaftsrate in Relation zur Anzahl der transferierten Embryonen

In insgesamt 4 Behandlungszyklen (3,4% der Behandlungszyklen) war kein Embryotransfer möglich. In 114 Behandlungszyklen fand ein Embryotransfer statt, das entspricht einer prozentualen Transferrate von 96,6%. Mit der Zahl der transferierten Embryonen nimmt die Schwangerschaftsrate zu. In über der Hälfte der Behandlungszyklen wurden 3 Embryonen transferiert. In den Fällen mit drei transferierten Embryonen kam es in 50,0% der Behandlungszyklen zu einer Schwangerschaft (Tabelle 3.12)

Tabelle 3.12

Schwangerschaften in Abhängigkeit von der Anzahl der transferierten Embryonen in 118 Behandlungszyklen ICSI bei männlicher Subfertilität

	Behandlungszyklen	Schwangerschaften
kein Embryo	4 (3,4%)	0
1 Embryo	12 (10,2%)	3 (25,0%)
2 Embryonen	36 (30,5%)	11 (30,6%)
3 Embryonen	66 (55,9%)	33 (50,0%)

Tab. 3.12: Einfluß der Anzahl transferierter Embryonen auf die Schwangerschaftsrate. Untersucht wurden 188 Behandlungszyklen ICSI bei rein andrologischer Indikation im Zeitraum Oktober 1994 bis März 1995.

### 3.3.5 Spermagewinnung

Tabelle 3.13 zeigt Schwangerschaftsraten in Abhängigkeit von den verschiedenen Arten der Spermagewinnung in den 118 Behandlungszyklen. In 82,2% der Behandlungszyklen wurden die Spermatozoen durch Masturbation gewonnen. Die übrigen Arten der Spermagewinnung nehmen daneben prozentual kaum Raum ein, so daß sie in Anbetracht der geringen Fallzahlen im Hinblick auf die Schwangerschaftsrate nicht miteinander vergleichbar sind.

Tabelle 3.13

Ergebnisse ICSI in Abhängigkeit von der Art der Spermagewinnung in 118 Behandlungszyklen bei rein männlicher Subfertilität

	Masturbation	Spermatozelen- punktion	Kryo- konservierung	Blasenspülung	MESA / TESE
Behandlungszyklen	97 (82,2%)	3 (2,5%)	3 (2,5%)	3 (2,5%)	12 (10,2%)
Aspirierte Oozyten	864	31	27	38	94
Aspirierte Oozyten pro Behandlungszyklus	8,9	10,3	9,0	12,7	7,8
Embryotransferzyklen	97 (100%)	3 (100%)	3 (100%)	3 (100%)	8 (66,7%)
Transferierte Embryonen	231	9	7	9	26
Transferierte Embryonen pro Behandlungszyklus	2,4	3,0	2,3	3,0	2,2
Schwangerschaften	38	2	1	1	4
Schwangerschaftsrate pro Behandlungszyklus	39,2%	66,7%	33,3%	33,3%	33,3%
Schwangerschaftsrate pro Embryotransferzyklus	39,2%	66,7%	33,3%	33,3%	50,0%

Tab. 3.13: Die Tabelle zeigt die Ergebnisse der ICSI in Abhängigkeit von der Art der Spermagewinnung. in 118 Behandlungszyklen bei rein andrologischer Indikation im Zeitraum Oktober 1994 bis März 1995. Neben der Masturbation sind die Fallzahlen bei den übrigen Arten der Spermagewinnung zu gering, um die Schwangerschaftsraten vergleichen zu können.

### **3.4 ICSI-Ergebnisse bei ausschließlich andrologischer Subfertilität im Einführungsjahr und im Folgezeitraum**

Im Beobachtungszeitraum Oktober 1993 bis September 1994 wurde in 112 Behandlungszyklen eine ICSI durchgeführt, in denen bei der Ehefrau retrospektiv keine fertilitätseinschränkende Erkrankungen oder anamnestische Hinweise auf eine Fertilitätsminderung vorlagen. Dieser Beobachtungszeitraum umfaßt das erste Jahr, in dem die ICSI an der Krüsmann-Klinik eingeführt und etabliert wurde; es wird hier als das Einführungsjahr bezeichnet.

Insgesamt wurden in diesen 112 Behandlungszyklen 1015 Oozyten aspiriert (durchschnittlich 9,1 pro Behandlungszyklus) und 241 Embryonen transferiert (durchschnittlich 2,2 pro Behandlungszyklus). In 97 von 112 Behandlungszyklen fand ein Embryotransfer statt (Embryotransferrate 86,6%). Es resultierten 22 Schwangerschaften, entsprechend einer Schwangerschaftsrate von 19,6% pro Behandlungszyklus und 22,7% pro Embryotransfer.

Sieben Schwangerschaften endeten mit einem Abort, die Abortrate liegt damit pro Behandlungszyklus bei 6,3%, pro Embryotransfer bei 7,2%, und bezogen auf die biochemischen Schwangerschaften bei 31,8%.

Tabelle 3.14 vergleicht die Behandlungsergebnisse aus den 112 Behandlungszyklen im Einführungsjahrjahr Oktober 1993 bis September 1994 mit den 118 Behandlungszyklen aus dem darauf folgenden Beobachtungszeitraum Oktober 1994 bis März 1995.

Tabelle 3.14

Behandlungsergebnisse ICSI bei ausschließlich andrologischer Indikation im Einführungsjahr Oktober 1993 bis September 1994 und im folgenden Zeitraum Oktober 1994 bis März 1995

	Folge- zeitraum	Einführungs- jahr
Behandlungszyklen	118	112
Aspirierte Oozyten	1054	1015
Aspirierte Oozyten pro Behandlungszyklus	8,9	9,1
Transferierte Embryonen	282	241
Transferierte Embryonen pro Behandlungszyklus	2,4	2,2
Embryotransferzyklen	114 (96,6%)	97 (86,6%) **
Schwangerschaften	47	22 *
Schwangerschaftsrate pro Behandlungszyklus	39,8%	19,6%
Schwangerschaftsrate pro Embryotransfer	41,2%	22,7%
Aborte	12	7 **
Abortrate pro Behandlungszyklus	10,2%	6,3%
Abortrate pro Embryotransfer	10,5%	31,8%
Abortrate pro Schwangerschaft	25,5%	31,8%
Extrauterin gravidität	1	-
Rate der EUG pro Behandlungszyklus	0,8%	-
Rate der EUG pro Embryotransfer	0,9%	-
Rate der EUG pro Schwangerschaft	2,1%	-

Tab. 3.14: Um den Einfluß der Behandlungsroutine auf die Ergebnisse der ICSI zu erfassen, wurde der Zeitraum von Oktober 1993 bis September 1994, also zu Beginn der Einführung der ICSI an der Krüsmann-Klinik, dem darauf folgenden Halbjahr von Oktober 1994 bis März 1995 gegenüber gestellt. Dabei wurden nur die 118 Behandlungszyklen mit rein andrologischer Indikation betrachtet. Die Schwangerschaftsrate pro Behandlungszyklus liegt im Folgezeitraum signifikant höher ( $p=0,00093$ ). Tendenziell, aber ohne statistische Signifikanz, steigen im Folgezeitraum ebenfalls die Embryotransferrate und allerdings auch die Abortrate.

\*)dieser Unterschied ist statistisch signifikant ( $p<0,01$ )

\*) dieser Unterschied ist statistisch nicht signifikant ( $p>0,01$ );

EUG: Extrauterin gravidität

Vergleicht man die beiden Gruppen miteinander, so ist die Anzahl mit 118 und 112 Behandlungszyklen ähnlich. Auch der Durchschnitt der pro Behandlungszyklen aspirierten Oozyten mit 8,9 gegenüber 9,1 ist ähnlich. Ein deutlicher Unterschied zeigt sich hinsichtlich der Embryotransfer-Zyklen: Während in den 118 Behandlungszyklen des Folgezeitraums in 96,6% ein Embryotransfer möglich war (114 Zyklen), liegt der Prozentsatz in den 112 Behandlungszyklen des ersten Jahres mit einer Embryotransfer-Rate von 86,6% niedriger. Dieser Unterschied ist allerdings statistisch nicht signifikant ( $p > 0,01$ ).

In den 118 Behandlungszyklen im Folgezeitraum Oktober 1994 bis März 1995 lag die Schwangerschaftsrate höher. Es wurden 47 Schwangerschaften erzielt, was einer Schwangerschaftsrate von 39,8% pro Behandlungszyklus entspricht. In den 112 Behandlungszyklen des Einführungsjahres wurden 22 Schwangerschaften erzielt, entsprechend einer Schwangerschaftsrate von 19,6% pro Behandlungszyklus. Dieser Unterschied ist statistisch hoch signifikant ( $p = 0,00093$ ).

Die Abortrate in diesen 112 Behandlungszyklen lag mit 31,8% gegenüber 25,5% pro biochemischer Schwangerschaft höher als in den 118 Behandlungszyklen des folgenden Halbjahrs. Auch dieser Unterschied zeigt keine statistische Signifikanz.

## **4 Diskussion**

In dieser retrospektiven Arbeit werden die ersten 449 Behandlungszyklen ICSI der Frauenklinik Dr. Wilhelm Krüsmann ausgewertet und insbesondere Fertilisierungsraten, Embryotransferzyklen und biochemische Schwangerschaftsraten erfaßt.

### **4.1 Embryotransferraten**

In 417 von 449 Behandlungszyklen konnten bis zu drei Embryonen transferiert werden, was einer Embryotransferzyklusrate von 92,9% entspricht.

Im Einarbeitungsjahr lag die Embryotransferrate bei 86,6 %.

Verglichen mit verschiedenen anderen Zentren, die Embryotransferraten zwischen 74% (van Steirteghem et al., 1994), 86% (Svalander et al., 1995), 94% (Payne et al., 1994), 95% (Oehninger et al., 1995), und 100% (Nijs et al., 1996) haben, liegt die Krüsmann-Klinik im weltweiten Durchschnitt.

1998 wurden die Daten aus 13666 ICSI-Behandlungszyklen von 90 Zentren aus 24 Ländern im Task Force on Intracytoplasmic Sperm Injection (van Steirteghem et al., 1998), eine von der European Society for Human Reproduction and Embryology (ESHRE) eigens eingerichtete Qualitätskontrolle, veröffentlicht. Dabei zeigte sich eine Embryotransferrate von 89,6%, die niedriger als die der Krüsmann-Klinik ist.

In fast der Hälfte der 449 Behandlungszyklen war es möglich, 3 Embryonen zurückzusetzen. Vergleicht man alle Behandlungszyklen mit und alle Behandlungszyklen ohne Schwangerschaften, so zeigt sich ein signifikanter Unterschied in der Schwangerschaftsrate, wenn drei Embryonen transferiert wurden.

Sowohl in den 449 Gesamt-Behandlungszyklen als auch in den 118 Behandlungszyklen des letzten halben Jahres des untersuchten Zeitraums nahm die Schwangerschaftsrate mit der Zahl der transferierten Präimplantationsembryonen zu. Diese Beobachtung deckt sich mit

verschiedenen statistischen Analysen und Angaben in der Literatur (Speirs et al., 1983; Bouckaert et al., 1994; Walters, 1996; Deutsches IVF-Register, 1999). Aus dem Deutschen IVF-Register von 1999 geht hervor, daß die Schwangerschaftsrate nach Rücksetzung von drei Embryonen im Durchschnitt bei 26,2% pro durchgeführtem Embryotransfer lag. Nach Rücksetzung von nur zwei Embryonen fiel die Schwangerschaftsrate pro Embryotransfer auf 20,7%, wird nur ein Embryo transferiert, liegt die Schwangerschaftsrate sogar nur bei 8,5%.

Mit der Anzahl an transferierten Embryonen nimmt naturgemäß jedoch auch die Zahl der risikoreichen Mehrlingsschwangerschaften zu. Immer wieder stellt sich deshalb die wichtige Frage, wie viele Embryonen transferiert werden sollten, um einerseits eine möglichst optimale Schwangerschaftsrate zu erzielen, auf der anderen Seite aber das Risiko einer Mehrlingsgravidität möglichst klein zu halten.

Ludwig et al. (2000) untersuchten retrospektiv 2573 ICSI-Transferzyklen im Hinblick darauf, welche Schwangerschaftsraten bei zwei transferierten Präimplantationsembryonen zu erwarten wären. Sie kamen zur Schlußfolgerung, daß ab einem bestimmten mütterlichen Alter, welches sie jedoch nicht zu definieren vermochten und daher als empirischen Grenzwert 35 Jahre festlegten, der Transfer von zwei anstatt drei Embryonen zur Reduktion der Schwangerschaftsrate führt. Aus diesem Grund lautet ihre Empfehlung, Patienten im Alter über 35 Jahren, nach entsprechender ausführlicher Aufklärung, 3 Embryonen zu transferieren. Die Autoren formulierten außerdem die Forderung nach Einführung eines „Qualitäts-Scoring-Systems“ der Oozyten im Pronukleusstadium, welches unter Umständen hilfreich sein könnte bei der Vorhersage der Teilungs- und Implantierungsfähigkeit der Embryonen, ihrer Qualität und damit letztendlich der Schwangerschaftsrate.

Die Einführung und Anwendung von Beurteilungskriterien der Präimplantationsembryonen ist eine häufig wiederkehrende Forderung. Laut Roseboom et al. (Roseboom und Vermeiden, 1995; Roseboom et al., 1995) hat die Embryoqualität den größten Einfluß auf die Fähigkeit zur Implantation. Widersprüchliche Aussagen existieren darüber, ob mit ICSI morphologisch

bessere Präimplantationsembryonen erzielt werden können als durch IVF (Yang et al., 1996; Bar-Hava et al., 1997).

Aus einer 1999 publizierten Studie der Arbeitsgruppe um Oehninger et al. (Hsu et al., 1999) geht hervor, daß die Präimplantationsembryonen nach ICSI verglichen mit denen nach IVF hinsichtlich Teilungsvermögen und Morphologie schlechter einzustufen sind, daß jedoch die Fähigkeit zur Implantation dennoch gleich gut ist. Teilungsvermögen und Morphologie werden von diesen Autoren als die besten Prädiktoren für die Implantation bewertet.

Auch in der Krüsmann-Klinik werden die Embryonen nach ihrer morphologischen Qualität in drei Kategorien eingeteilt. Mit dieser Klassifizierung wurde jedoch konsequent erst nach Beginn der Datenerhebung für diese Arbeit begonnen, so daß eine Aufnahme dieses Scores in diese Arbeit nicht erfolgen konnte.

## **4.2 Schwangerschaftsraten**

In 449 Behandlungszyklen konnten insgesamt 146 biochemische Schwangerschaften erzielt werden, was einer Schwangerschaftsrate von 32,5% pro Behandlungszyklen entspricht. Bei einer Transferrate von 92,9% bedeutet das eine Schwangerschaftsrate von 35,0% pro Embryotransfer.

Diese Zahlen zeigen sehr deutlich den therapeutischen Erfolg einer Behandlung mit ICSI an der Krüsmann-Klinik.

Verglichen mit den Schwangerschaftsraten anderer Arbeitsgruppen liegt die Krüsmann-Klinik über dem Durchschnitt. 1995 wurden bundesweit 13153 ICSI-Zyklen in 47 Zentren durchgeführt, die Schwangerschaftsrate pro Behandlungszyklus lag bei 22,0%, pro Embryotransfer bei 24,1% (Küpker et al., 1996). Aus dem Deutschen IVF-Register 1998 geht für die an der Erfassung beteiligten Zentren eine Schwangerschaftsrate von 23,3% pro Embryotransfer für das Jahr 1997 hervor (Deutsches IVF-Register, 1998).

Die Task Force (van Steirteghem et al., 1998) registrierte für den Zeitraum 1991/92 bis 1994 bei 13178 ICSI-Behandlungszyklen europaweit eine Schwangerschaftsrate von 28,7% pro Behandlungszyklus.

### 4.3 Weiblicher Sterilitätsfaktor

Unter der Vorstellung, daß ein zusätzlicher Sterilitätsfaktor auf Seite der Frau die Ergebnisse von ICSI verschlechtern könnte, wurde eine Einteilung der Patienten in zwei Gruppen unternommen. Eine Gruppe umfaßte alle Behandlungszyklen, in denen es keinen Hinweis auf das Vorliegen eines zusätzlichen weiblichen Faktors gab, in der anderen Gruppe gab es entsprechend anamnestisch und/oder diagnostisch gesichert Sterilitätsfaktoren auch auf Seite der Frau.

Vergleicht man die beiden Gruppen hinsichtlich verschiedener Parameter, so zeigen sich jedoch keine signifikanten Unterschiede. Entgegen den Erwartungen liegt die Schwangerschaftsrate in der Gruppe mit weiblicher Diagnose mit 37,4% gegenüber 32,7% pro Embryotransfer sogar etwas höher. Ein Einfluß von Seiten der Frau scheint also im ICSI-Patientenkollektiv der Krüsmann-Klinik zumindest hinsichtlich der etwaigen fertilitätsmindernden Diagnosen nicht vorzuliegen. Ob andere Faktoren, die als Einflußgrößen auf die Ergebnisse von IVF mehrfach untersucht wurden, wie beispielsweise mütterliches Alter (IX. Treffen deutschsprachiger IVF-Gruppen, 1995), auch bei ICSI eine Rolle spielen, sollte in prospektiven Studien untersucht werden. Hierzu publizierten Oehninger et al. 1995 die Ergebnisse von 102 Behandlungszyklen ICSI, wobei sie, wie auch andere Autoren (Cohen et al., 1994; Nagy et al., 1994; Payne et al., 1994; Mansour et al., 1995; Nagy et al., 1995; Oehninger et al., 1996; Palermo et al., 1996; Svalander et al., 1996; Oehninger et al., 1998; Verheyen et al., 1999), keinen Zusammenhang zwischen SpermioGrammparametern und Schwangerschaftsraten fanden, jedoch feststellten, daß das mütterliche Alter einen signifikanten Einfluß auf die Schwangerschaftsrate hat. Auch bei Sherins et al. (1995) nahmen die Schwangerschaftsraten nach ICSI mit steigendem mütterlichen Alter ab.

Aus einer Zusammenfassung des X. Treffens der Deutschen IVF-Zentren (Rjosk et al., 1995) geht hervor, daß die Behandlungsergebnisse in Abhängigkeit vom Alter der Frau und von der Anzahl der transferierten Präimplantationsembryonen nach ICSI einen ähnlichen Trend aufweisen wie

bei IVF. Wird nur ein Embryo transferiert, beträgt die Schwangerschaftsrate nur 6,6%.

Ab einem mütterlichen Alter von 35 Jahren, scheint sich eine Abnahme der Schwangerschaftsrate abzuzeichnen, bei Patientinnen über 39 wird diese Reduktion ähnlich wie bei IVF überdeutlich.

#### **4.4 Einfluß der Behandlungsroutine**

Vergleicht man die ICSI-Daten aus dem Einarbeitungszeitraum mit dem darauf folgenden Halbjahr, so zeigt sich sehr eindrucksvoll die Zunahme der Behandlungszahl. Im gesamten ersten Jahr wurden 112 ICSI-Behandlungszyklen durchgeführt, danach waren es bereits innerhalb eines halben Jahres 118 Behandlungszyklen.

Während der Unterschied in der Anzahl der Embryotransferzyklen als Marker für eine verbesserte Leistung knapp nicht signifikant war, war die Schwangerschaftsrate im Folgezeitraum signifikant höher als im Einführungsjahr.

Dies könnte als Hinweis darauf zu werten sein, daß eine größere Behandlungsroutine positiven Einfluß nimmt auf den Behandlungserfolg. Allerdings muß diese Aussage kritisch betrachtet werden, da zahlreiche andere Faktoren, wie ein anderes Patientenkollektiv mit anderen Diagnosen und Risikofaktoren ebenso in die Behandlung mit eingehen. Zudem ist die Aussagekraft einer nur singulär betrachteten Einflußgröße statistisch gering. Letztendlich bedürfte eine Untersuchung von Risiko- und Prognosefaktoren für eine Behandlung mit ICSI prospektiver multivariater Studien.

Aus den Behandlungsergebnissen des Deutschen IVF-Zentralregisters für 1995 (Rjosk et al., 1995) zeigt sich für IVF, daß drei Gruppen, die über 1000 Behandlungszyklen im Jahr durchführten, eine deutlich höhere Schwangerschaftsrate erzielten, dagegen sich die Erfolgsraten bei unter 1000 Behandlungszyklen pro Jahr nur unwesentlich unterschieden.

Diese drei Gruppen erreichten auch bei der ICSI deutlich bessere Schwangerschaftsraten als andere Arbeitsgruppen. Fünf weitere

Arbeitsgruppen führten über 500 ICSI-Behandlungen im Jahr durch. Erstaunlicherweise erzielten sie keine wesentlich besseren Schwangerschaftsraten pro Embryotransfer als Gruppen mit kleineren Fallzahlen (23.9% gegenüber 23,5%).

Eine Beantwortung der Frage nach dem Einfluß von Behandlungsroutine auf den Erfolg der ICSI kann mit den hier vorliegenden Ergebnissen letztendlich nicht schlüssig vollzogen werden.

Svalander et al. (1995), die retrospektiv ihre ersten 171 Behandlungszyklen ICSI auswerteten, sahen ganz deutlich eine Zunahme der Schwangerschaftsraten mit zunehmender Fallzahl und führten dies auf Veränderungen und Verbesserungen ihrer Techniken und ihrer Ausstattung mit entsprechenden Mikrowerkzeugen zurück.

Eine Arbeitsgruppe um Gvakharia (Gvakharia et al., 2000) begegnet dem Problem der anfangs fehlenden handwerklichen Erfahrung durch Etablierung eines Trainingsmodells an Hamsteroozyten und konnte zeigen, daß die Fertilisierungsraten in der Hand eines Anfängers von etwa 30% auf bis zu 60% mit zunehmender Übung gesteigert werden konnten.

#### **4.5 Abhängigkeit von Spermogrammparametern**

Für den Behandlungserfolg von IVF ist ein Zusammenhang zwischen Spermogrammparametern und Schwangerschaftsraten mehrfach nachgewiesen worden (Kruger et al., 1988; Akerlof et al., 1991; Duncan et al., 1993).

Wie bereits erwähnt, haben diverse Autoren (Cohen et al., 1994; Nagy et al., 1994; Payne et al., 1994; Mansour et al., 1995; Nagy et al., 1995; Palermo et al., 1996; Oehninger et al., 1996; Svalander et al., 1996; Oehninger et al., 1998; Verheyen et al., 1999) jedoch keinen Zusammenhang zwischen den verschiedenen Spermogrammparametern und dem Behandlungserfolg von ICSI nachweisen können.

Vielmehr reicht die Existenz eines einzigen lebenden Spermatozoons als Voraussetzung für ICSI aus (Sherins et al., 1995).

Oehninger et al., 1996 konnten bei einem Vergleich von Implantationsraten bei Vorliegen von schwerer Teratozoospermie nach IVF mit hoher Inseminationskonzentration und nach ICSI zeigen, daß durch ICSI ein signifikant größerer Anteil an morphologisch exzellenten Präimplantationsembryonen mit der Tendenz zur besseren Implantation hervorgebracht werden kann.

Auch Nagy et al. (1994) und Payne et al. (1994) konnten keinen Einfluß einer bestehenden Teratozoospermie auf Implantation oder Schwangerschaftsraten feststellen.

Im Patientenkollektiv der Krüsmann-Klinik zeigte sich bei der Betrachtung der durchschnittlichen SpermioGrammparameter durchweg eine Oligoastheneratozoospermie. In fast 30% aller Behandlungszyklen lag die Spermatozoenkonzentration sogar unter  $1 \times 10^6$  / ml. Unabhängig von der Spermienkonzentration ließen sich, entsprechend den Angaben in der Literatur, in allen Untergruppen Schwangerschaften erzielen.

Im überwiegenden Teil der Behandlungszyklen (89,8%) wurden die Spermien durch Masturbation gewonnen. Auf diese Zyklen entfallen auch entsprechend die meisten Schwangerschaften. Wenig repräsentativ sind im Hinblick auf die extrem kleinen Fallzahlen die Schwangerschaftsraten, die sich aus den Behandlungszyklen mit anderen Arten der Spermengewinnung (Spermatozelenpunktion, Vibratorstimulation, Blasenspülung, MESA, TESE) ergeben.

#### **4.6 Injektion epididymaler und testikulärer Spermien**

Seit der Einführung der ICSI unter Verwendung von testikulären Spermatozoen wurde auch Patienten mit obstruktiver, aber auch nicht-obstruktiver, Azoospermie (Schoysman et al., 1993; Devroey et al., 1994; Devroey et al., 1995; Silber, 1995; Silber et al., 1995; Devroey et al., 1996) eine erfolgreiche Behandlung ermöglicht.

Silber et al. (1990) berichteten bereits 1990 über erste Versuche mit epididymalen Spermien bei Patienten mit kongenitaler bilateraler Aplasie des Vas deferens (CBAVD).

Tournaye et al. veröffentlichten 1994 erste Schwangerschaftsdaten nach MESA bei Fällen von obstruktiver Azoospermie aufgrund einer CBAVD.

Weitere Möglichkeiten ergeben sich zudem seit den ersten Publikationen von erfolgreichen Schwangerschaften nach Verwendung von kryokonservierten Spermatozoen nach TESE und MESA (Nagy und Liu, 1995; Gil-Salom, 1996; Podsiadly, 1996; Khalifeh et al., 1997). Fertilisierungs- und Implantationsraten sind auch in diesen Fällen hoch und führen zu erfolgreichen Schwangerschaften.

Die Fallzahlen der ersten 31 ICSI-Behandlungen nach MESA und TESE der Krüsmann-Klinik sind zu klein, um ihnen statistische Aussagekraft zuzugestehen. Betrachtet man sie jedoch als eine Art Pilotprojekt, können sie als positiver Ausblick auf weitere Behandlungszyklen mit erfolgreichen Behandlungsergebnissen gedeutet werden.

1998 publizierten Würfel et al. hierzu die Ergebnisse aus über 510 Behandlungszyklen, bei denen unter Verwendung von epididymalen oder testikulären Spermatozoen ICSI durchgeführt wurde. In 409 Behandlungszyklen wurden dabei kryokonservierte Spermatozoen verwendet, da seit Anfang 1996 das Konzept einer simultanen Durchführung von MESA / TESE und der Follikelpunktion verlassen und ICSI routinemäßig nur noch mit kryokonservierten Spermatozoen durchgeführt wurde. Es zeigten sich keinerlei Unterschiede in den Behandlungsergebnissen zwischen MESA, TESE, frischen oder kryokonservierten Spermatozoen. Die Embryotransferraten lagen zwischen 92,3% und 94,1%, die Schwangerschaftsraten pro Embryotransfer zwischen 23,6% und 28,1% und damit deutlich höher als der 1995 angegebene bundesweite Durchschnitt von 17,8% bei TESE (Küpker et al., 1996).

Diese Daten zeigen eindrucksvoll, daß die Verwendung von epididymalen und testikulären Spermatozoen einen effektiven Therapieansatz darstellt und daß die Kryokonservierung, die viele Vorteile bietet, aufgrund ihrer gleich guten Behandlungsergebnisse für die klinische Routine zu empfehlen ist.

Bedacht werden sollte dabei jedoch, daß die Anwendung dieser Methoden hohe Anforderungen an die Organisation eines Zentrums mit enger Zusammenarbeit von Gynäkologen und Urologen erfordert und daher auch nur von Zentren mit einer entsprechend hohen Behandlungszahl durchgeführt werden sollte.

#### **4.7 Abortrate**

Mit einer Abortrate von 25,3% pro eingetretener biochemischer Schwangerschaft liegt die Krüsmann-Klinik über der bundesweiten Abortrate von 15,1% pro Schwangerschaft, die für 1995 angegeben ist (Küpker et al., 1996). Vergleicht man die Abortraten während und nach dem Einführungsjahr (31,8% gegenüber 25,5% pro Schwangerschaft), so zeigt sich zwar eine Verminderung, der Unterschied ist jedoch statistisch nicht signifikant ( $p > 0,01$ ). Mit drei Extrauteringraviditäten in 449 Behandlungszyklen (0,7% pro Embryotransfer) beziehungsweise einer extrauterinen Schwangerschaft in 118 Behandlungszyklen (0,9% pro Embryotransfer) ist die Inzidenz an ektopen Schwangerschaften sehr niedrig und ähnlich der in der Literatur angegebenen (Wisanto et al., 1995; Govaerts et al., 1998).

Die Daten der Krüsmann-Klinik können eindrucksvoll den Erfolg der ICSI aufzeigen. Unabhängig von der Qualität des zugrundeliegenden Spermioграмms lassen sich hohe Fertilisierungs-, Implantations- und Schwangerschaftsraten erzielen. Auch in ausgeprägten Fällen eines Oligoasthenoteratozoospermie-Syndroms oder bei Vorliegen von Azoospermie lassen sich, eventuell mit Hilfe von epididymalen oder testikulären Spermatozoen, Schwangerschaften erzielen.

## 4.8 Genetische Risiken

Nicht erfaßt in dieser Arbeit sind Schwangerschaftsverlauf, Geburtenraten sowie Daten zu Fehlbildungen und weiterer Entwicklung der geborenen Kinder. Dennoch dürfte gerade dies von großer Bedeutung für Patienten sein, die vor der Entscheidung für oder gegen eine Behandlung mit der ICSI stehen.

Es soll deshalb im Folgenden auf den derzeitigen Stand der Diskussion bezüglich genetischer Risiken, Schwangerschaftsverläufe, Geburt und Gesundheit, Mißbildungsraten und normaler Entwicklung der nach ICSI geborenen Kinder eingegangen werden.

### 4.8.1 Elterliche Chromosomenanomalien

Immer wieder wird im Zusammenhang mit ICSI insbesondere auf das mögliche genetische Risiko dieser Behandlung hingewiesen. Zum einen besteht die Angst vor erhöhten Fehlbildungsraten durch die ICSI-Behandlung an sich, zum anderen existieren Befürchtungen hinsichtlich der erhöhten Inzidenz von Chromosomenanomalien bei infertilen Männern (De Braekeleer und Dao, 1991; In't Veld et al., 1997; de Kretser, 1997; Pryor et al., 1997).

Bei diesen zeigen sich sowohl vermehrt strukturelle als auch numerische Aberrationen (Chandley et al., 1975; Chandley, 1979; Nordenson et al., 1984; Retief et al., 1984; De Braekeleer und Dao, 1991; Bourrouillou et al., 1992; Pandiyan und Jequier, 1992; Yoshida et al., 1995; In't Veld et al., 1997; de Kretser, 1997; Pryor et al., 1997). Während generell in der männlichen Bevölkerung die Rate an abnormen Karyogrammen mit 0,7-1% angegeben ist (Lange und Engel, 1991; Nielsen und Wohler, 1991; Jacobs et al., 1992), steigt die Häufigkeit in einem nichtselektierten männlichen subfertilen Patientengut signifikant auf 2,2% (Chandley et al., 1975). Retief et al. wiesen 1984 nach, daß niedrige Spermatozoenkonzentrationen eine positive Assoziation mit der Inzidenz chromosomaler Auffälligkeiten zeigen. In Fällen mit

Spermatozoendichten kleiner  $10 \times 10^6$  / ml oder Azoospermie liegt die Häufigkeit von Chromosomenaberrationen bei 7-14%.

Johannisson et al. zeigten 1993, daß bei der sogenannten Robertsonschen Translokation oligoasthenozoosperme Spermioogramme vorliegen.

Yoshida et al. (1995) untersuchten die Häufigkeit chromosomaler Aberrationen bei 1007 infertilen Männern. Dabei zeigte sich ein Anstieg der Inzidenz von 2,2% bei Patienten mit normalen Spermienkonzentrationen, auf 5,1% in der Gruppe der Patienten mit Oligozoospermie, über 14,6% bei Azoospermie, auf 20,3% bei nicht-obstruktiver Azoospermie.

In einer von Testart et al. 1996 veröffentlichten Studie wiesen von 261 der in ein ICSI-Programm aufgenommenen Männer 11 (4,2%) abnorme Karyotypen auf, wobei es sich ausschließlich um strukturelle Chromosomenanomalien handelte. In acht Fällen handelte es sich um Translokationen, in zwei um Inversionen, und bei einem Mann lag ein zusätzliches Marker-Chromosom (47XY, mar) vor. Es resultierten vier Feten von drei dieser Patienten, wobei zwei den zytogenetischen Defekt ihres Vaters erbten.

Auch in einer 1996 erschienenen Arbeit von Baschat et al. (1996) wurde eine Chromosomenanalyse bei den Patienten vor der Durchführung von ICSI vorgenommen. Bei 2 von 32 Männern (6,45%) wurden chromosomale Translokationen diagnostiziert, wobei beide Patienten im Spermioogramm Oligoasthenoteratozoospermien zeigten, ansonsten aber klinisch gesund waren. Bei einem der beiden Patienten konnte eine Zwillingschwangerschaft erzielt werden, wobei die Amniozentese in der 14. Schwangerschaftswoche bei einem der Zwillinge einen unauffälligen weiblichen Karyotyp, beim anderen männlichen Embryo eine unbalanzierte 22,Y Translokation (erbt vom Vater) ergab.

In einer 1998 veröffentlichten prospektiven Studie von Meschede et al. (1998) wurden die Chromosomen von 868 männlichen und weiblichen Patienten vor einer geplanten ICSI-Behandlung analysiert. Insgesamt wurden 33 aberrante Karyogramme diagnostiziert, entsprechend einer Rate von 7,6% pro Paar und 3,8% pro Individuum. Obwohl mehr als doppelt so oft männliche Infertilität in dieser Kohorte vorlag, wurden 24 der auffälligen Chromosomensätze unter den

Frauen gefunden. Bei allen 9 Paaren, bei denen auf Seiten des Mannes ein abnormes Karyogramm vorlag, wurde auch männliche Infertilität diagnostiziert. Bei 7 der 33 Paare mit einer chromosomalen Anomalie bei wenigstens einem der Partner kam es zu einer Schwangerschaft.

Auch bei Mau et al., (1997) fanden sich unter 150 Paaren, die sich einer Behandlung mit ICSI unterzogen, chromosomale Aberrationen von 12% bei den Männern und 6% bei den Frauen.

Von 200 karyotypisierten Paaren zeigten bei Peschka und seinen Mitarbeitern (Peschka et al., 1996) sowohl 3% der Männer als auch 3% der Frauen auffällige Karyogramme.

Auch in der bereits erwähnten Studie von Testart et al. (1996) wurden auf Seite der Frauen chromosomale Aberrationen nachgewiesen. Bei insgesamt 261 Paaren lag bei 3 Frauen (1,2%) ein auffälliges Karyogramm vor.

Diese Daten zeigen zweifelsohne, daß abnorme Chromosomensätze unter infertilen Männern und Frauen eine höhere Prävalenz aufweisen als in der übrigen Bevölkerung.

Verschiedene Untersucher konnten zeigen, daß die Inzidenz von väterlich vererbten strukturellen und gonosomalen Chromosomenaberrationen bei durch ICSI gezeugten Kindern erhöht ist (In't Veld et al., 1995; Liebaers et al., 1995; Bonduelle et al., 1996; Aytoz et al., 1998).

Es können jedoch durch ICSI Schwangerschaften erzielt werden, auch wenn Spermatozoen von Männern mit chromosomalen Auffälligkeiten Verwendung finden (Baschat et al., 1996; Bonduelle et al., 1996; Testart et al., 1996; Meschede et al., 1998).

Die Ergebnisse in Bezug auf Fertilisierungs-, Embryotransfer- und Schwangerschaftsraten bei Paaren mit chromosomalen Auffälligkeiten waren dabei vergleichbar mit den Ergebnissen bei Paaren mit normalen Karyotypen (Baschat et al., 1996; Testart et al., 1996; Meschede et al., 1998).

Im Hinblick auf das möglicherweise erhöhte Risiko für die Nachkommen, chromosomale Auffälligkeiten zu erben, scheint es wünschenswert, die elterlichen Karyotypen zu kennen, um gegebenenfalls eine Vorhersage über die genetischen Risiken für die Nachkommen treffen zu können.

Aus Untersuchungen von Moosani et al. (1995) geht hervor, daß trotz Vorliegen normaler Lymphozytenkaryogramme bei infertilen Männern die Rate an aneuploiden Spermatozoen möglicherweise erhöht sein könnte.

Ähnliches berichten auch Martin (1996) und In't Veld (1997), die bei Patienten mit unauffälligen Chromosomensätzen aus Lymphozyten aneuploide Spermatozoen nachwiesen.

#### *4.8.2 Pränataldiagnostik*

Als wünschenswert wird daher in vielen Zentren, die ICSI durchführen, zusätzlich zur Karyotypisierung beider Eltern die invasive pränatale Diagnostik nach erfolgreich durch ICSI eingetretener Schwangerschaft angesehen.

Die Arbeitsgruppe um van Steirteghem verglich in einer 1998 veröffentlichten Studie 576 ICSI-Schwangerschaften, in denen eine pränatale Diagnostik (Amniozentese oder Chorionzottenbiopsie) durchgeführt wurde, mit 540 ICSI-Schwangerschaften ohne invasive pränatale Diagnostik. Die Schwangerschaftsverlustrate betrug in der Amniozentese-Gruppe 1,3%, in der Gruppe ohne Fruchtwasserpunktion 2,7%. Beide Zahlen sind vergleichbar mit den Angaben in der Literatur über Spontanabortraten in der Normalbevölkerung (Gustavii, 1984; Wilson et al., 1986).

Gerade zu Beginn des Einsatzes von ICSI in der assistierten Reproduktion mußten Patienten häufig vor Behandlungsbeginn ihr Einverständnis für eine invasive pränatale Diagnostik geben (Bonduelle et al., 1994; Govaerts et al., 1995). Es zeigte sich jedoch, daß bei eingetretener Schwangerschaft ein großer Teil der Patientinnen aus Angst vor einem Abort sich diesem Verfahren entziehen. Ist auch die Abortrate der Amniozentese mit 1-2% zahlenmäßig vergleichsweise gering, so ist für die einzelne Patientin, die nach oft jahrelanger Kinderlosigkeit endlich schwanger geworden ist, das persönliche Risiko als sehr hoch einzustufen. Dementsprechend zeigen die Daten aus zwei schwedischen Arbeitsgruppen, bei denen die invasive pränatale Diagnostik zwar empfohlen, jedoch nur auf „freiwilliger“ Basis durchgeführt wird,

eine nur geringe Rate an pränatalen Chromosomentests. Nur 33-41% aller ICSI-Schwangeren ließen eine entsprechende Untersuchung durchführen (Bui und Wramsby, 1996; Wennerholm et al., 1996).

Ähnliches berichten Ludwig et al. (1999), die retrospektiv den Schwangerschaftsverlauf von 310 Schwangerschaften nach ICSI aufgearbeitet und ausgewertet haben. Hier ließen nur insgesamt 34,1% aller Paare eine invasive Pränataldiagnostik durchführen.

Aus einer 1997 durchgeführten Studie (Meschede et al., 1998) läßt sich sehr deutlich ablesen, daß durch ICSI schwanger gewordene Frauen nicht invasive Untersuchungsverfahren wie Fehlbildungsschall oder Serumscreening der Amniozentese beziehungsweise Chorionzottenbiopsie vorziehen, auch wenn diese höhere Sensitivität und Spezifität aufweisen.

Die WHO empfiehlt in ihrem Bericht 1995 (Wertz et al., 1995), Paaren, die sich einer ICSI unterziehen, ebenso wie allen anderen ihre eigenen Wahlmöglichkeiten entsprechend persönlicher Vorstellungen und Werte zuzugestehen. In Anlehnung daran ist das von Meschede et al. (1998) sowie auch Ludwig et al. (1999) vorgeschlagene Vorgehen einer ausführlichen genetischen Beratung zu unterstützen. Diese sollte eine invasive pränatale Diagnostik anbieten, jedoch nicht ausdrücklich empfehlen.

#### *4.8.3 Chromosomale Aberrationen bei ICSI-Schwangerschaften*

Problematisch zeigt sich die Beurteilung der Daten hinsichtlich des Auftretens chromosomaler Aberrationen bei mit ICSI erzielten Schwangerschaften. Es liegen mittlerweile zahlreiche internationale Publikationen und Studien verschiedener Arbeitsgruppen vor, die teilweise kontroverse Aussagen erbringen und daher vorsichtig kritisch beleuchtet werden müssen (In't Veld et al., 1995; Govaerts et al., 1995; Bonduelle et al., 1996; Palermo et al., 1996; Testart et al., 1996; van Opstal et al., 1997; Bonduelle et al., 1998 a; Meschede et al., 1998; Ludwig et al., 1999; Ludwig et al., 1999;).

Bonduelle et al. wiesen in einer 1996 erschienen Untersuchung daraufhin, daß möglicherweise die Rate gonosomaler Aberrationen auf etwa 1% erhöht ist.

In einer retrospektiven Studie von Palermo et al. (1996) resultierten aus 987 ICSI-Behandlungszyklen 578 Neugeborene aus 382 Geburten. Dabei wurde nur ein einziger Fall einer gonosomalen Auffälligkeit, ein Kind mit Klinefeltersyndrom, registriert. Dies entspricht einer Rate von 0,17%.

Die Arbeitsgruppe um van Steirteghem veröffentlichte 1998 die Ergebnisse von 1082 pränatalen Tests. Es wurden 18 (1,66%) neu aufgetretene chromosomale Aberrationen gefunden. 9 (0,83%) davon waren gonosomale und 9 (0,83%) autosomale Aberrationen (strukturelle Aberrationen und Trisomien). Gegenüber der Inzidenz an gonosomalen Anomalien von 0,23% in der Normalbevölkerung (Nielsen und Wohler, 1991; Jacobs et al., 1992) ist die Rate von 0,83% in diesem Kollektiv statistisch signifikant erhöht.

Die erhöhte Inzidenz an autosomalen Aberrationen ist allerdings auch, zumindest teilweise, mit der zunehmenden Häufigkeit an Trisomien bei höherem mütterlichen Alter zu erklären.

Ebenso konnte auch bei strukturellen Aberrationen eine mit 0,36% gegenüber 0,07% signifikant erhöhte Inzidenz beobachtet werden (Jacobs et al., 1992).

Der erhöhte Prozentsatz an neu aufgetretenen gonosomalen Aberrationen liegt nach Ansicht von Bonduelle et al. (1998 a) entweder an der ICSI-Methode selbst oder er ist in Verbindung zu bringen mit bestimmten pathologischen Spermogrammen. Interessanterweise traten nämlich all diese Aberrationen in Fällen auf, bei denen extreme Oligoasthenozoospermien vorlagen.

Dennoch konnten Bonduelle et al. (1998 a) bisher keine Korrelation nachweisen zwischen dem Auftreten von chromosomalen Anomalien und Spermogrammparametern wie Motilität, Morphologie oder Konzentration.

Auch in dieser Studie nahmen lediglich 54,5% der Paare eine Amniozentese oder Chorionzottenbiopsie in Anspruch.

Insbesondere die Veröffentlichungen zweier Arbeitsgruppen (In't Veld et al., 1995; van Opstal et al., 1997) sorgten für eine erhebliche Verunsicherung hinsichtlich der Sicherheit von ICSI.

In einem Brief an Lancet berichtete In't Veld (1995) von 5 gonosomalen Chromosomenaberrationen bei 15 Chorionzottenbiopsien entsprechend einer Rate von 33,3%. Diese Daten sind jedoch mit großer Vorsicht zu interpretieren, da es sich zum einen um eine sehr kleine Fallzahl handelt, zum anderen ein hochselektiertes Patientenkollektiv vorliegt. Die 12 Patienten wurden dem Humangenetiker In't Veld zur pränatalen Diagnostik bei erhöhtem mütterlichen Alter zugewiesen.

Ähnlich verhält es sich mit Daten von van Opstal et al. (1997), die 9 chromosomale Auffälligkeiten bei 71 Pränataldiagnosen (12,7%) berichteten. Ebenso wie bei In't Veld handelte es sich auch hier nicht um die Gesamtergebnisse eines einzelnen Zentrums, sondern um ein selektiertes Patientenkollektiv, welches beispielsweise aufgrund von Auffälligkeiten im Ultraschall oder wegen des mütterlichen Alters zugewiesen wurde.

Insgesamt zeigt sich aus den Daten der Pränataldiagnostik bei ICSI-Schwangerschaften, daß die Rate insbesondere gonosomaler Auffälligkeiten wohl marginal erhöht zu sein scheint. Dies muß in jedem Falle zu entsprechender Beratung von Paaren, die vor einer Behandlung mit ICSI stehen, führen.

Bedacht werden muß dabei, daß viele der gonosomalen Aberrationen nur selten zu Auffälligkeiten bei der Geburt führen, daß die geborenen Kinder meist eine völlig normale physische Entwicklung nehmen, eine normale Intelligenz haben und daß daher Auffälligkeiten erst im weiteren Verlauf des Lebens, eventuell zum Zeitpunkt eines Kinderwunsches, bekannt werden. Vor diesem Hintergrund sollte dem betroffenen Paar die Entscheidung für oder gegen eine ICSI nach entsprechender ausführlicher Aufklärung selbst überlassen werden.

## **4.9 Fehlbildungsraten**

Eine Beratung der Patienten muß selbstverständlich auch über etwa auftretende Mißbildungen sowie hinsichtlich der Entwicklung der geborenen Kinder erfolgen. Hierzu liegen mittlerweile einige Daten aus verschiedenen

Arbeitsgruppen vor (Bonduelle et al., 1994; Bonduelle et al., 1996; Palermo et al., 1996; Wennerholm et al., 1996; Kurinczuk und Bower, 1997; Bonduelle et al., 1998 b; Bowen et al., 1998; Ludwig et al., 1999), die ebenso wie die Ergebnisse aus den pränatalen Untersuchungen teilweise kontrovers und daher vorsichtig zu beurteilen sind.

Insgesamt liegt die Fehlbildungsrate in den meisten Veröffentlichungen zwischen 3 und 5%. Sie bewegt sich damit im Rahmen der in zahlreichen Studien nachgewiesenen Fehlbildungsrate von etwa 2,2% bei IVF (Saunders und Lancaster, 1989; Beral und Doyle, 1990; Rizk et al., 1991; Eurocat 1991; Lechat und Dolk, 1993; Lancaster et al., 1997; Deutsches IVF-Register, 1998; Cohen et al., 1988).

Für die Allgemeinbevölkerung wird die Prävalenz an Fehlbildungen mit einer Frequenz von 3 bis 4% angegeben (Marden et al., 1964; Leppig et al., 1987; Lechat und Dolk, 1993; Queißer-Luft und Spranger, 1997).

Die Arbeitsgruppe um Bonduelle et al. (1996) publizierte prospektiv erhobene Daten bezüglich der Fehlbildungsrate bei 423 nach ICSI geborenen Kindern. Zwischen April 1991 und September 1994 waren 320 Schwangerschaften nach ICSI erzielt worden, woraus die Geburt von 423 Kindern resultierte. Die Kinder wurden bei Geburt, im Alter von 2 Monaten, mit 1 Jahr und mit 2 Jahren von einem Pädiater untersucht, wobei die körperliche Untersuchung auf Fehlbildungen und die Bewertung der Psychomotorik erfolgte. Insgesamt wurden bei 14 Kindern (3,3%) sogenannte „größere Fehlbildungen“, definiert als eine körperliche Beeinträchtigung des Kindes oder eine notwendige Operation, gefunden. Daneben fanden sich bei 87 (20,5%) der 423 Kinder „kleinere Anomalien“, wie zum Beispiel kleine Herzfehler, die als vorübergehend und nicht operationsbedürftig eingestuft worden waren. Leppig et al. (1987) fanden in einem Normalkollektiv unter 39,9% der Kinder eine oder mehrere kleine Anomalien. Es erscheint wichtig, auch nach diesen zu fahnden, da sie ein Marker für größere Fehlbildungen sein können (Marden et al., 1964; Leppig et al., 1987).

Palermo et al. (1996) eine Arbeitsgruppe des Cornell Medical Centers, New York, untersuchten in einer retrospektiven Studie 971 ICSI-Behandlungszyklen

und fanden unter 578 Neugeborenen 15 (2,6%) mit angeborenen Fehlbildungen; darunter 9 größere und 6 kleinere.

Ähnliche Daten konnten Ludwig et al. 1999 veröffentlichen. Von 267 nach ICSI geborenen Kindern zeigten 3,4% große Fehlbildungen und 10,5% kleinere Auffälligkeiten.

In einer prospektiven Studie zeigten Bowen et al. (1998) durch die Untersuchung von 89 nach ICSI geborenen Kindern am Ende des ersten Lebensjahres, daß die Inzidenz von größeren Fehlbildungen bei 4,5% (4/89) lag.

1996 publizierten Wennerholm et al. Daten aus 175 ICSI-Schwangerschaften. Unter 210 Neugeborenen fanden sich 2 „major malformations“ bei 2 Einlingen und in 4 Fällen „minor anomalies“ bei 4 Kindern. Dies entspricht einer Rate an 1,0% größeren Fehlbildungen.

Erstmalig berichtete erneut die Brüsseler Arbeitsgruppe um van Steirteghem und Bonduelle (Bonduelle et al.,1996) über eine prospektiv angelegte Studie von 105 Kindern nach ICSI unter Verwendung epididymaler oder testikulärer Spermatozoen und von 56 Kindern nach dem Transfer von kryokonservierten Embryonen nach ICSI. Auch hier lag die Gesamtrate an größeren Fehlbildungen bei 2,4%. Dies spricht dafür, daß auch bei Verwendung von Spermatozoen nach TESE oder MESA die Fehlbildungsrate nicht erhöht zu sein scheint.

Aus diesen Daten sollte also die Schlußfolgerung möglich sein, daß die Fehlbildungsrate bei Geburt nach ICSI nicht erhöht ist. Dies wird jedoch von verschiedener Seite angezweifelt. Beitrag hierzu lieferte insbesondere eine Publikation, in der die australischen Autoren Kurinczuk und Bower (Kurinczuk und Bower, 1997) die Ergebnisse von van Steirteghem und seinen Mitarbeitern einer Nachuntersuchung unterzogen. Ziel dieser Untersuchungen war es, die Hypothese zu belegen, daß nach ICSI geborene Kinder ein erhöhtes Risiko haben, an einer „major malformation“ zu leiden. Dazu reklassifizierten die Autoren die Daten der Brüsseler Arbeitsgruppe nach einer Einteilung, die das Western Australian Birth Defects Registry benutzt (Bower, 1995; Bonduelle et

al., 1997) und verglichen diese dann mit den Resultaten aus den normalen Bevölkerungsdaten.

Danach stieg die Rate an größeren Fehlbildungen von 3,3% in der Auswertung der Brüsseler Arbeitsgruppe auf 7,4% in der neuen Klassifizierung, entsprechend fiel die Rate der „minor anomalies“ von 20,5% auf 0,7%. Das würde bedeuten, daß nach ICSI geborene Kinder nahezu doppelt so oft größere Fehlbildungen aufweisen als natürlich empfangene.

Letztendlich zeigt sich bei Durchsicht der beiden Klassifizierungen, die erwartungsgemäß auch die Brüsseler Arbeitsgruppe kritisch vorgenommen und kommentiert hatte (Bonduelle et al., 1997), eine bekannte Problematik aller klinischen Einteilungen. Es besteht auch hier Uneinigkeit über die Zuordnung bestimmter Merkmale zu definierten Kriterien.

Einig sind sich die beiden Arbeitsgruppen darin, daß in Zukunft Vergleiche nur zwischen Daten, denen die identische Klassifikation zugrunde liegt, angestellt werden sollten.

Eine erst 2000 publizierte Studie von Wennerholm et al. untersuchte alle nach ICSI geborenen Kinder zweier IVF-Zentren in Göteborg von 1993 bis 1998. Eingang fanden 1139 Kinder, davon 736 Einlinge, 200 Zwillinge und einmal Drillinge. 87 der Kinder (7,6%) zeigten Malformationen, davon 40 kleinere. Die schwerwiegenderen größeren Fehlbildungen zeigten sich häufiger unter den Zwillingen. Dies deckt sich mit anderen Untersuchungen (Cohen et al., 1988; Doyle et al., 1990; Burn, 1995; Keeling, 1995) und wird häufig bei der Suche nach Erklärungsansätzen einer möglicherweise erhöhten Fehlbildungsrate angeführt.

Es besteht kein Zweifel, daß es prospektiver kontrollierter Studien bedarf, die sowohl standardisierte Untersuchungen der Kinder als auch eine standardisierte Klassifikation der Fehlbildungen umfassen. Wichtig ist dabei auch, daß eine wirklich vergleichbare Kontrollgruppe von Kindern existiert, die im gleichen Zeitraum geboren werden.

## 4.10 Postnatale Entwicklung

Eine gleichartige Forderung stellt sich nach Sammlung und Auswertung von Daten bezüglich der postnatalen Entwicklung von ICSI – Kindern.

Erste Daten hierzu liegen von Bowen et al. (1998) vor. Sie verglichen in einer prospektiven Studie 89 nach ICSI geborene Kinder mit 84 IVF-Kindern und 80 Kindern nach spontaner Konzeption hinsichtlich ihrer Entwicklung im Alter von durchschnittlich 13 Monaten. Erhoben wurden dabei der MDI (mental developmental index), der Gedächtnisleistung, Problemlösungsfähigkeit und sprachliche Gewandtheit beurteilen soll, und der PDI (physical developmental index) unter Zuhilfenahme des Bayley-Scores (Bayley, 1993). Der PDI zeigte in keinem Punkt signifikante Unterschiede zwischen den 3 Gruppen, hingegen lag der MDI bei den nach ICSI geborenen Jungen signifikant niedriger als in beiden Vergleichsgruppen. Obwohl ein geringfügiger Entwicklungsrückstand im Alter von 1 Jahr nicht unbedingt Vorhersagekraft für die späteren intellektuellen Leistungen hat (Bowen et al., 1996), gibt es Untersuchungen, die zeigen, daß Tests, die mentale und kognitive Fähigkeiten prüfen, im Gegensatz zu solchen, die auf die motorische Entwicklung eingehen, einen größeren prädiktiven Aussagewert haben (Slater, 1997).

Zweifelsohne wecken diese Daten Befürchtungen hinsichtlich der Entwicklung nach ICSI geborener Kinder.

In einer zweiten Publikation von Bonduelle et al. (1998 b) werden demgegenüber 201 ICSI-Kinder mit 131 nach IVF geborenen Kindern im Alter von 2 Jahren verglichen. Die Autoren bedienten sich wie auch die Arbeitsgruppe um Bowen des Bayley-Scores und fanden keine Unterschiede.

Bewertet man beide Studien, so muß bedacht werden, daß die Kinder in der Erhebung von Bonduelle et al. älter sind als die bei Bowen und daß das untersuchte Patientenkollektiv mehr als doppelt so groß ist. Die Aussagekraft dieser Studie dürfte daher eher besser sein. Ferner muß bei der näheren Betrachtung der Daten berücksichtigt werden, daß erhebliche Unterschiede zwischen den Elternkollektiven hinsichtlich der Bildung, dem sozialen Stand und

dem Ausländeranteil bestanden, was für die Beurteilung der kindlichen mentalen Entwicklung von großer Bedeutung ist.

Abschließend läßt sich sagen, daß die bisher vorliegenden Daten bezüglich einer etwaigen Entwicklungsverzögerung vorsichtig interpretiert werden müssen und weitere prospektive kontrollierte Studien notwendig sind.

#### **4.11 Methodik**

In die Beurteilung der Ergebnisse dieser Arbeit muß kritisch miteinbezogen werden, daß es sich um eine retrospektive Untersuchung handelt. Sämtliche zugrundeliegenden Daten wurden aus den Operationsbüchern und Patientenakten der Krüsmann-Klinik erhoben. Daraus ergibt sich die Problematik von korrekter Dokumentation und Aktenführung. Dies ist insbesondere bei der Betrachtung der weiblichen Sterilitätsfaktoren zu beachten, da in diesem Fall eine sorgfältige Anamneseerhebung und Dokumentation Grundlage für die Unterteilung in Patientengruppen war. Problematisch ist dabei, daß fehlende, unverständlich oder unvollständig erscheinende Angaben nicht nacherhoben oder ergänzt werden können und dementsprechend Ergebnisse unter Umständen verfälscht sein könnten.

Ähnlich verhält es sich mit der Abortrate, die kritisch betrachtet werden muß. Da sich nicht alle Patienten nach bestätigter Schwangerschaft weiter durch die Krüsmann-Klinik betreuen ließen, erfolgte unter Umständen keine Rückmeldung über den Ausgang der Schwangerschaft. Nicht in allen Patientenakten sind somit Schwangerschaftsverlauf und Geburt dokumentiert, bzw. erfolgte die Nachdokumentation möglicherweise zu einem Zeitpunkt, an dem die Datenerhebung aus der entsprechenden Akte bereits abgeschlossen war. Erfasst werden konnten lediglich die dokumentierten biochemischen und klinischen Aborte, naturgemäß insbesondere Frühaborte. Denkbar ist aus diesem Grund eine in Wirklichkeit höhere Rate an Aborten, insbesondere an Spätaborten. Gleiches gilt für die Rate an Extrauterin graviditäten. Nicht erfasst ist aus den gleichen Gründen auch die Rate der Mehrlingsschwangerschaften.

Dabei ist sie ist eine Hauptproblematik der assistierten Reproduktion und sollte gesenkt werden, um das Risiko der Behandlung, die Inzidenz der Schwangerschaftskomplikationen sowie Morbidität und Mortalität vermindern zu können.

Sinnvoll erscheint aus den genannten Gründen daher die Form der prospektiven Datenerhebung, bei der Kontrollmöglichkeiten über die Qualität, den Umfang und die Vollständigkeit der Daten besser gegeben sind.

## **5 Zusammenfassung**

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Bedeutung der intrazytoplasmatischen Spermieninjektion (ICSI) in der Behandlung der schweren männlichen Subfertilität.

Es wurden die ersten 449 ICSI-Behandlungszyklen an der Frauenklinik Dr. Wilhelm Krüsmann in München ausgewertet, die von Oktober 1993 bis März 1995 bei insgesamt 313 Ehepaaren durchgeführt wurden.

Eingang in das ICSI-Programm hatten ausschließlich Ehepaare gefunden, bei denen auf Seiten des Mannes eine schwere Subfertilität mehrfach nachgewiesen war – entweder durch wiederholt erstellte Spermioogramme oder aufgrund vorangegangener erfolgloser IVF-Versuche, also ohne ICSI. Bei fast der Hälfte aller Paare lagen zusätzlich auch auf Seite der Frau eine Erkrankung oder anamnestische Hinweise auf eine Fertilitätsminderung vor.

Es konnte gezeigt werden, daß unabhängig von der Schwere der Pathologie des Spermiogramms, so auch in Fällen, in denen überhaupt nur vereinzelt lebende Spermatozoen gefunden wurden, hohe Fertilisierungs-, Embryotransfer- und Schwangerschaftsraten erzielt werden können. Dabei traten sogar Konzeptionen nach ICSI mittels epididymalen und testikulären Spermatozoen ein.

Ein Einfluß der auf Seite der Frau vorliegenden fertilitätsmindernden Faktoren konnte in dieser Arbeit nicht nachgewiesen werden.

Demgegenüber scheint die zunehmende Anzahl an behandelten Fällen und die damit verbundene größere Erfahrung einen positiven Einfluß auf die Erfolgsrate der ICSI zu nehmen. In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, daß die Schwangerschaftsrate nach einer Übungsphase signifikant höher liegt. Daraus ist der Schluß zu ziehen, daß Zentren mit einer entsprechend großen Fallzahl bessere Schwangerschaftsraten erzielen könnten.

Nicht untersucht wurde in dieser Arbeit die Geburtenrate und damit die eigentliche Baby-take-home-Rate. Für das einzelne Paar, das von langem, nicht erfülltem Kinderwunsch betroffen ist, hat aber gerade diese Rate eine große Bedeutung. Wichtig erscheint auch in diesem Zusammenhang die

Etablierung von prospektiven kontrollierten Studien, die sich mit langangelegten Nachuntersuchungen der nach ICSI geborenen Kinder beschäftigt, um sicherzugehen, daß diese doch sehr junge Methode gesunde Nachkommen mit einer normalen Entwicklung, auch in den ihnen nachfolgenden Generationen, hervorbringt.

## **6 Abkürzungsverzeichnis**

AID	Artifizielle Insemination mit Spendersamen
CBAVD	Kongenitale bilaterale Aplasie des Vas deferens
EIFT	Intratubarer Embryonentransfer
FSH	Follikelstimulierendes Hormon
GIFT	Intratubarer Gametentransfer
GnRH	Gonadotropin releasing Hormon
HCG	Humanes Choriongonadotropin
HIV	Human immunodeficiency virus
HMG	Humanes menopausales Hormon
ICSI	Intrazytoplasmatische Spermieninjektion
IUI	Intrauterine Insemination
IVF	In-vitro-Fertilisation
LH	Luteinisierendes Hormon
MDI	Mental developmental index
MESA	Mikrochirurgische epididymale Spermienaspiration
PCO-Syndrom	Syndrom der polyzystischen Ovarien
PDI	Physical developmental index
PROST	Transfer von Embryonen im Pronukleusstadium
PZD	Partielle Zonadissektion
SUZI	Subzonale Injektion
TESE	Testikuläre Spermienextraktion
WHO	Weltgesundheitsorganisation
ZD	Zona-Drilling
ZIFT	Intratubarer Zygotentransfer

## 7 Literaturverzeichnis

1. Akerlof E, Fredricsson B, Gustafson O, Lunell NO, Nylund L, Rosenberg L (1991) Sperm count and motility influence the results of fertilization in vitro. *Int J Androl* 14:79-86
2. Asch RH, Ellsworth LR, Balmaceda JP, Wong PC (1984) Pregnancy after translaparoscopic gamete intrafallopian transfer. *Lancet* 2:1034-5
3. Aytoz A, De Catte L, Camus M, Bonduelle M, van Assche E, Liebaers I, van Steirteghem AC, Devroey P (1998) Obstetric outcome after prenatal diagnosis in pregnancies obtained after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 13: 2958-2961
4. Balmaceda JP, Gastaldi C, Remohi J, Borrero C, Ord T, Asch RH (1988) Tubal embryo transfer as a treatment for infertility due to male factor. *Fertil Steril* 50: 476-9
5. Bar-Hava I, Brengauz M, Ashkenazi J, Feldberg D, Shelef M, Orvieto R (1997) Morphology and clinical outcomes of embryos after in vitro fertilization are superior to those after intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 68: 653-657
6. Baschat AA, Küpker W, Al Hasani S, Diedrich K, Schwinger E (1996) Results of cytogenetic analysis in men with severe subfertility prior to intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 11: 330-333
7. Bayley N (1993) Bayley scales of infant development, 2<sup>nd</sup> edn. San Antonio: the Psychological Corporation
8. Beier HM (1992) Die molekulare Biologie der Befruchtungskaskade und der beginnenden Embryonalentwicklung. *Ann Anat* 174: 491-508
9. Beral V, Doyle P (1990) Report of the MRC working party on children conceived after in vitro fertilization. Births in Great Britain resulting from assisted conception. 1978-87. *Br Med J* 300: 1229-1233
10. Bonduelle M, Aytoz A, van Assche E, Devroey P, Liebaers I, van Steirteghem AC (1998 a) Incidence of chromosomal aberrations in

children born after assisted reproduction through intracytoplasmatic sperm injection. Hum Reprod 13: 781-782

11. Bonduelle M, Devroey P, Liebaers I, van Steirteghem AC (1997) Commentary: Major defects are overestimated. BMJ 315:1265-1266
12. Bonduelle M, Joris H, Hofmans K (1998 b) Mental development of 201 ICSI children at 2 years of age. Lancet 351: 1553
13. Bonduelle M, Legein J, Buysse A (1996) Prospective follow-up study of 423 children born after intracytoplasmatic sperm injection. Hum Reprod 11: 1585-1564
14. Bonduelle M, Legein J, Buysse A, van Assche E, Schietecatte J, Devroey P, van Steirteghem AC, Liebaers I (1994) Prospective follow-up study of 55 children born after subzonal insemination and intracytoplasmatic sperm injection. Hum Reprod 9: 1765-1768
15. Bonduelle M, Legein J, Buysse A, van Assche E, Wisanto A, Devroey P, van Steirteghem AC, Liebaers I (1996) Prospective follow-up study of 423 children born after intracytoplasmatic sperm injection. Hum Reprod 11: 1558-1564
16. Bonduelle M, Wilikens A, Buysse A, van Assche E, Devroey P, van Steirteghem AC, Liebaers I (1998) A follow-up study of children born after intracytoplasmatic sperm injection (ICSI) with ejaculated epididymal and testicular spermatozoa and after replacement of cryopreserved embryos obtained after ICSI. Hum Reprod (Suppl. 1); 13: 196-207
17. Bonduelle M, Wilikens A, Buysse A, van Assche E, Wisanto P, Devroey P, van Steirteghem AC, Liebaers I (1996) Prospective follow-up study of 877 children born after intracytoplasmatic sperm injection (ICSI) with ejaculated epididymal and testicular spermatozoa and after replacement of cryopreserved embryos obtained after ICSI. Hum Reprod (Suppl. 4); 11: 131-159

18. Bouckaert A, Psalti I, Loumaye E (1994) The probability of a successful treatment of infertility by in-vitro fertilization. *Hum Reprod* 9: 448-455
19. Bourrouillou G, Bujan L, Calvas P, Colombies P, Mansat A, Pontonnier F (1992) Role and contribution of karyotyping in male infertility. *Prog Urol* 2: 189-195
20. Bowen J, Gibson F, Leslie G, Arnold J, Ma P, Starte D (1996) Predictive value of the Griffiths assessment in extremely low birthweight infants. *J Paediatr Child Health* 32:25-30
21. Bowen JR, Gibson FL, Leslie GI, Saunders DM (1998) Medical and developmental outcome at 1 year for children conceived by intracytoplasmic sperm injection. *Lancet* 351: 1529-1534
22. Bower C (1995) Birth defects in Western Australia: the value of a birth defects registry. *Perspect Hum Biol* 1: 29-36
23. Bower C, Rudy E, Ryan A, Forbes R, Grace L (1996) Report of the birth defects registry of Western Australia 1980-1995. Perth, WA: King Edward Memorial Hospital Centre for Women's Health, (3)
24. Bruckert E (1991) How frequent is unintentional childlessness in Germany? *Andrologia* 23: 245.
25. Bui TH, Wramsby H (1996) Micromanipulative assisted fertilization – still clinical research. *Hum Reprod* 11: 925-926
26. Burn J (1995) The spectrum of genetic disorders in twins. In: Ward RH; Whittle M, eds. *Multiple pregnancy*. London: RCOG Press
27. Chandley AC (1979) The chromosomal basis of human infertility. *Br Med Bull* 35: 181-186
28. Chandley AC, Edmond P, Christie S, Gowans L, Fletcher J (1975) Cytogenetics and infertility in man. *Ann Hum Genet* 39: 231-252
29. Cohen J, Alikani M, Malter HE, Adler A, Talansky BE, Rosenwaks Z (1991) Partial zona dissection or subzonal sperm insertion;

microsurgical fertilization alternatives based on evaluation of sperm and embryo morphology. *Fertil Steril* 56: 696-706.

30. Cohen J, Alikani M, Munne S, Palermo G (1994) Micromanipulation in clinical management of fertility disorders. *Semin Reprod Endocrinol* 12: 151-156
31. Cohen J, Mayaux MJ, Guihard – Moscato L (1988) Pregnancy outcomes after in vitro fertilization. A collaborative study on 2342 pregnancies. *Ann N Y Acad Sci* 541, 1-6
32. Cohen JC, Edwards R, Fehilly C, Fishel S, Hewitt J, Purdy J. (1985) IVF: a treatment for male infertility. *Fertil Steril* 43: 422-32.
33. De Braekeleer M, Dao TN (1991) Cytogenetic studies in male infertility: a review. *Hum Reprod* 6: 245-250
34. de Kretser DM (1997) Male infertility. *Lancet* 349: 787-790
35. De Vries MJ, De Sutter P, Dhont M (1999) Prognostic factors in patients continuing in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection treatment and dropouts. *Fertil Steril* 72: 674-678
36. Depypere HT, McLaughlin KJ, Seamark RF (1988) Comparison of zona cutting and zona drilling as techniques for assisted fertilization in the mouse. *J Reprod Fertil* 84: 205-11
37. Deutsches IVF-Register (1998) Jahrbuch 1997. Bundesgeschäftsstelle Bad Segeberg
38. Deutsches IVF-Register (1999) Jahrbuch 1998. Bundesgeschäftsstelle Bad Segeberg
39. Devroey P, Liu J, Nagy Z, Goosens A (1995) Pregnancies after testicular sperm extraction and ICSI in non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod* 10: 1754-1460
40. Devroey P, Liu J, Nagy Z, Tournaye H, Silber SJ, Van Steirteghem AC (1994) Normal fertilization of human oocytes after testicular sperm

- extraction and intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 62: 639-641
41. Devroey P, Nagy Z, Tournaye H, Liu J, Silber S, van Steirteghem AC (1996) Outcome of intracytoplasmic sperm injection with testicular spermatozoa in obstructive and non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod* 11: 1015-1018
  42. Devroey P, Staessen C, Camus M, De Grauwe E, Wisanto A, Van Steirteghem AC (1989) Zygote intrafallopian transfer as a successful treatment for unexplained infertility. *Fertil Steril* 52: 246-249
  43. Doyle PE, Beral V, Botting B, Wale CJ (1990) Congenital malformations in twins in England and Wales. *J Epidemiol Community Health* 45: 43-48
  44. Duncan WW, Glew MJ, Wang X-J, Flaherty SP, Matthews CD (1993) Prediction of in vitro fertilization rates from semen variables. *Fertil Steril* 59: 1233-1238
  45. Eurocat: Eurocat report 4. (1991) Surveillance of congenital anomalies, 1980-1988 Brussels Eurocat Central Registry
  46. Fischer R, Baukloh V, Naether OGJ, Schulze W, Salzbrunn A, Benson DM (1996) Pregnancy after intracytoplasmic sperm injection of spermatozoa extracted from frozen-thawed testicular biopsy. *Hum Reprod* 11/10: 2197
  47. Fishel S, Antinori S, Jackson P, Johnson J, Lisi F, Chiariello F (1990) Twin birth after subzonal insemination. *Lancet* 335: 722-3.
  48. Fishel S, Jackson P, Antinori S (1990) Subzonal insemination for the alleviation of infertility. *Fertil Steril* 54: 828-835.
  49. Fishel S, Timson J, Green S, Hall J, Dowell K, Klenteris L (1993) Micromanipulation. *Reprod Med Rev* 2: 199-222.

50. Gembruch U, Diedrich K, Al-Hasani S, Welker B, Wahode J, van der Ven H, Krebs D (1988) Transvaginale, ultraschallkontrollierte Follikelpunktion. *Geburtsh.Frauenheilk.* 6:17-24
51. Gil-Salom M, Romero J, Minguez Y, Rubio C, De los Santos MJ, Remohi J, Pellicer A (1996) Pregnancies after intracytoplasmic sperm injection with cryopreserved testicular spermatozoa. *Hum Reprod* 6: 1309-1313
52. Gordon JW, Grunfeld L, Garrisi GJ, Talansky BE, Richards C, Laufer N (1988) Fertilization of human oocytes by sperm from infertile males after zona pellucida drilling. *Fertil Steril* 50:68-73
53. Gordon JW, Talansky BE (1986) Assisted fertilization by zona drilling : a mouse model for correction of oligospermia. *J Exp Zool* 239: 347-54
54. Goto K, Kinsoshita A, Takuma Y, Ogawa K (1990) Fertilization of bovine oocytes by the injection of immobilised, killed spermatozoa. *Vet Rec* 127: 517-520
55. Govaerts I, Devreker F, Koenig I (1995) Comparison of pregnancy outcome after intracytoplasmic sperm injection. *Lancet* 346: 1095-1096
56. Govaerts I, Devreker F, Koenig I, Place I, van den Bergh M, Englert Y (1998) Comparison of pregnancy outcome after intracytoplasmic sperm injection and in vitro fertilization. *Hum Reprod* 13: 1514-1518
57. Govaerts I, Englert Y, Vamos E, Rodesch F (1995) Sex chromosome abnormalities after intracytoplasmic sperm injection. *Lancet* 346: 1095-1096
58. Govaerts I, Koenig I, van den Bergh M, Bertrand E, Revelard P, Englert Y (1996) Is intracytoplasmic sperm injection (ICSI) a safe procedure? What do we learn from early data about ICSI? *Hum Reprod* 11: 440-443
59. Gustavii B (1984) Chorionic biopsy and miscarriage in first trimester. *Lancet* i, 107

60. Gvakharia MO, Lipshultz LI, Lamb DJ (2000) Human sperm microinjection into hamster oocytes: a new tool for training and evaluation of the technical proficiency of intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 73: 395-401
61. Hosoj Y, Miyake M, Utsumi K, Iritani A (1988) Proceedings of the 11th international congress on animal reproduction and artificial insemination. Dublin, Abstract 331
62. Hsu MI, Mayer J, Aronshon M, Lanzendorf S, Muasher S, Kolm P, Oehninger S (1999) Embryo implantation in in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection: impact of cleavage status, morphology grade, and number of embryos transferred. *Fertil Steril* 72: 679-685
63. Hu YH, Maxson WS, Hoffman DI, Ory SJ, Licht MR, Eager S (1999) Clinical application of intracytoplasmic sperm injection using in vitro cultured testicular spermatozoa obtained the day before egg retrieval. *Fertil Steril* 72: 666-9
64. In't Veld P, Brandenburg H, Verhoeff A, Dhont M, Los F (1995) Sex chromosomal abnormalities and intracytoplasmic sperm injection. *Lancet* 346: 773
65. In't Veld P, Halley DJJ, van Hemel JO, Niermeijer MF, Dohle G, Weber RFA (1997) Genetic counselling before intracytoplasmic sperm injection. *Lancet* 350: 490
66. In't Veld PA, Broekmans FJM, de France HF (1997) Intracytoplasmic sperm injection (ICSI) and chromosomally abnormal spermatozoa. *Hum Reprod* 12: 752-754
67. Iritani A (1991) Micromanipulation of gametes for in vitro assisted fertilization. *Molec Reprod Dev* 28: 199-207.
68. IX. Treffen deutschsprachiger IVF-Gruppen (1995) Saarbrücken, 12.-13.5.1995

69. Jacobs PA, Browne C, Gregson N (1992) Estimates of the frequency of chromosome abnormalities in unselected newborns using moderate levels of banding. *J Med Genet* 29: 103-108
70. Jansen RPS, Anderson JC (1987) Catheterisation of the fallopian tubes from the vagina. *Lancet* 2:309-10
71. Jansen RPS, Anderson JC, Sutherland PD (1988) Nonoperative embryo transfer to the fallopian tube. *N Engl J Med* 4:288-291
72. Johannisson R, Schwinger E, Wolff HH, vom Ende V, Löhrs U (1993) The effect of 13;14 Robertsonian translocation on germ cell differentiation in infertile males. *Cytogenet Cell Genet* 63:151-155
73. Keeling JW (1995) Anomalous development in twins. In: Ward RH, Whittle M, eds. *Multiple pregnancy*. London: RCOG Press
74. Keller R, Günther HL, Kaiser P (1992) *Embryonenschutzgesetz*. Kohlhammer, Stuttgart Berlin Köln
75. Khalifeh FA, Sarraf M, Dabit ST (1997) Full-term delivery following intracytoplasmic sperm injection with spermatozoa extracted from frozen-thawed testicular tissue. *Hum Reprod* 12: 87-88
76. Kreitman O, Hodgen GD (1980) Low tubal ovum transfer: An alternative to IVF. *Fertil Steril* 34: 375-8
77. Kruger TF, Acosta AA, Simmons KF, Swanson RJ, Matta JF, Oehninger S (1988) Predictive value of abnormal sperm morphology in in vitro fertilization. *Fertil Steril* 49: 112-117
78. Küpker W, Fornara P, Al-Hasani S, Diedrich K (1996) Die intrazytoplasmatische Spermatozoeninjektion (ICSI) – Assistierte Fertilisierung bei schwerer männlicher Subfertilität. *Gynäkologe* 29: 453-463
79. Kurinczuk JJ, Bower C (1997) Birth defects in infants conceived by intracytoplasmic sperm injection: an alternative interpretation. *BMJ* 315: 1260-1265

80. Lancaster P, Shafir E, Hurst T, Huang J (1997) Assisted Conception Australia and New-Zealand 1994 und 1995. AIHW National Perinatal Statistics Unit, Sydney, Australia. 1-80
81. Lange R, Engel W (1991) Chromosomal aberrations as a cause of male subfertility. *Fertilität* 3: 79-92
82. Lanzendorf SE, Malony MK, Veeck LL, Siusser J, Hodgen GD, Rosenwaks Z (1988) A preclinical evaluation of pronuclear formation by microinjection of human spermatozoa into human oocytes. *Fertil Steril* 49: 835-42.
83. Laws-King A, Trounson A, Sathananthan H, Kola J (1987) Fertilization of human oocytes by microinjection of a single spermatozoon under the zona pellucida. *Fertil Steril* 48: 637-42.
84. Lechat MF, Dolk H (1993) Registries of congenital anomalies: Eurocat. *Environ Health Perspect (Suppl 2)*; 101: 153-157
85. Leeton J, Rogers P, Caro C, Healy D, Yates C (1987) A controlled study between the use of gamete intrafallopian transfer and in vitro fertilization in the management of idiopathic and male infertility. *Fertil Steril* 48: 605-7
86. Lenz S, Lauritzen SJG, Kjellow M (1981) Collection of human oocytes for in vitro fertilization by ultrasonically guided follicular puncture. *Lancet* 1:1163
87. Leppig KA, Werler MM, Cann CI (1987) Predictive value of minor anomalies, association with major anomalies. *J Pediatr* 110: 531-537
88. Liebaers I, Bonduelle M, van Assche E, Devroey P, van Steirteghem AC (1995) Sex chromosome abnormalities after intracytoplasmic sperm injection. *Lancet* 346:1095
89. Lisse K, Sydow P, Pfüller B, Wilken T, Scheiber I (1989) Entwicklung einer Methode zum transuterinen Gametentransfer (GT) - erste Ergebnisse. *Zent.bl.Gynäkol.* 111:469-471

90. Loft A, Ejdrup B, Pedersen K (1998) Outcome after intracytoplasmic sperm injection (ICSI) - a danish national cohort of 506 infants. *Fertil Steril* 70 (Suppl. I): 350
91. Ludwig M, Al-Hasani S, Ghasemi M, Gizycki U, Küpker W, Diedrich K (1999) Intrazytoplasmatische Spermatozoeninjektion – ICSI (II): Geburt und Gesundheit von 267 Kindern. *Geburtsh u Frauenheilk* 59: 395-401
92. Ludwig M, Geipel A, Küpker W, Al-Hasani S, Ghasemi M, Gizycki U, Diedrich K (1999) Intrazytoplasmatische Spermieninjektion - ICSI (I). Verlauf von 310 Schwangerschaften und Ergebnisse der Pränataldiagnostik. *Geburtsh Frauenheilk* 59: 387-394
93. Ludwig M, Geipel A, Mennicke K, Küpker W, Al-Hasani S, Ghasemi M, Gizycki U, Gembruch U, Diedrich K (1999) Intrazytoplasmatische Spermatozoeninjektion – ICSI (I): Verlauf von 310 Schwangerschaften, Ergebnisse der Pränataldiagnostik und Diskussion eines non-invasiven Konzepts zur Pränataldiagnostik. *Geburtsh. u. Frauenheilk* 59: 387-394
94. Ludwig M, Sch pper B, Katalinic A, Sturm R, Al-Hasani S, Diedrich K (2000) Experience with elective transfer of two embryos under the conditions of the German embryo protection law: results of a retrospective data analysis of 2573 transfer cycles. *Hum Reprod* 15:319-324
95. Malter HE, Cohen J (1998) Partial zona dissection of the human oocyte: a nontraumatic method using micromanipulation to assist zona pellucida penetration. *Fertil Steril* 51:139-48.
96. Mansour RT, Aboulghar MA, Serour GI (1995) The effect of sperm parameters on the outcome of intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 64: 982-986
97. Marden PM, Smith DW, Mc Donald MJ (1964) Congenital anomalies in the newborn infant including minor variations. A study of 4412

- babies by surface examination for anomalies and buccal smear for sex chromatin. *J Pediatr* 64: 357-371
98. Martin RH (1996) The risk of chromosomal anomalies following ICSI. *Hum Reprod* 11: 924-925
  99. Mau UA, Bäckert IT, Kaiser P (1997) Chromosomal findings in 150 couples referred for genetic counselling prior to intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 12: 930-937
  100. Meschede D, Lemcke B, Exeler JR, De Geyter C, Behre HM, Nieschlag E, Horst J (1998) Chromosome abnormalities in 447 couples undergoing intracytoplasmic sperm injection – prevalence, types, sex distribution and reproductive relevance. *Hum Reprod* 13: 576-582
  101. Meschede D, Lemcke B, Stüssel F, Louwen F, Horst J (1998) Strong preference for non-invasive prenatal diagnosis in women pregnant through intracytoplasmic sperm injection (ICSI). *Prenat Diagn* 18: 700-705
  102. Moosani N, Pattinson HA, Carter MD, Cox DM, Rademaker AW, Martin RH (1995) Chromosomal analysis of sperm from men with idiopathic infertility using sperm karyotyping and fluorescence in situ hybridization. *Fertil Steril* 64: 811-817
  103. Nagy Z, Liu J, Janssenwillen C, Silber S, Devroey P, van Steirteghem AC (1995) Using ejaculated, fresh and frozen-thawed epididymal and testicular spermatozoa gives rise to comparable results after intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 63: 808-815
  104. Nagy Z, Liu J, Joris H (1995) The result of intracytoplasmic sperm injection is not related to any of the three basic sperm parameters. *Hum Reprod* 10: 1123-1129
  105. Nagy ZP, Liu J, Joris H, Bocken G, Tournaye H, Devroey P, Van Steirteghem AC (1994) Extremely impaired semen parameters and the outcome of the intracytoplasmic sperm injection. Tenth Annual

Meeting of the European Society for Human Reproduction and Embryology, Brussels. Hum Reprod; 9 (Suppl 4), 20.

106. Ng S-C, Bongso A, Ratnam SS (1991) Microinjection of human oocytes: a technique for severe oligoasthenoteratozoospermia. Fertil Steril 56: 1117-23.
107. Ng S-C, Bongso A, Ratnam SS, Sathananthan H, Chan CLK, Wong PC (1988) Pregnancy after transfer of sperm under zona [letter]. Lancet 332: 790.
108. Nielsen J, Wohler M (1991) Chromosome abnormalities found among 34910 newborn children: results from a 13-year incidence study in Arhus, Denmark. Hum Genet 87: 81-83
109. Nijs M, Vanderzwalmen P, Vandamme B, Segal-Bertin G, Lejeune B, Segal L, van Roosendaal E, Schoysman R (1996) Fertilizing ability of immotile spermatozoa after intracytoplasmic sperm injection. Hum Reprod 11: 2180-2185
110. Nordenson I, Abramsson L, Duchek M (1984) Somatic chromosomal aberrations and male infertility. Hum Hered 34: 240-245
111. Oehninger S, Chaturverdi S, Toner J, Morshedi M, Mayer J, Lanzendorf S, Muasher S (1998) Semen quality: is there a paternal effect on pregnancy outcome in in vitro fertilization / intracytoplasmic sperm injection? Hum Reprod 13: 2161-2164
112. Oehninger S, Kruger TF, Simon T (1996) A comparative analysis of embryo implantation potential in patients with severe teratozoospermia undergoing in vitro fertilization with a high insemination concentration or intracytoplasmic sperm injection. Hum Reprod 11: 1086-1089
113. Oehninger S, Veeck L, Lanzendorf S, Maloney M, Toner J, Muasher S (1995) Intracytoplasmic sperm injection: achievement of high pregnancy rates in couples with severe male factor infertility is

dependent primarily upon female and not male factors. *Fertil Steril* 64: 977-981

114. Oehringer S, Acosta AA, Morshedi M, Veek L, Swanson RJ, Simmons KF (1988) Corrective measures and pregnancy outcome in in vitro fertilization in patients with severe sperm morphology abnormalities. *Fertil Steril* 50: 283-7.
115. Palermo G, Colombero RT, Schattman GL, Davis OK, Rosenwaks Z (1996) Evolution of pregnancies and initial follow-up of newborns delivered after intracytoplasmic sperm injection. *JAMA* 276: 1893-1897
116. Palermo G, Joris H, Derde M-P, Camus M, Devroey P, Steirteghem AC (1993) Sperm characteristics and outcome of human assisted fertilization by subzonal insemination and intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 59: 826-835
117. Palermo G, Joris H, Devroey P, Van Steirteghem AC (1992) Induction of acrosome reaction in human spermatozoa used for subzonal insemination. *Hum Reprod* 7:248-54.
118. Palermo G, Joris H, Devroey P, Van Steirteghem AC (1992) Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet* 340: 17-18.
119. Palermo GD, Colombero LT, Schattman GL, Davis OK, Rosenwaks Z (1996) Evolution of pregnancies and initial follow-up of newborns delivered after intracytoplasmic sperm injection. *JAMA* 276: 1893-1897
120. Pandiyan N, Jequier AM (1996) Mitotic chromosomal anomalies among 1210 infertile men. *Hum Reprod* 11: 2604-2608
121. Payne D, Flaherty SP, Jeffrey R, Warnes GM, Matthews CD (1994) Successful treatment of severe male factor infertility in 100 consecutive cycles using intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 9: 2051-2057

122. Payne D, Jeffery R, Flaherty SP, Matthew CD (1994) Sperm morphology does not influence the fertilization rate or implantation rate of embryos obtained through intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod (Suppl 4)*; 9: 39-40
123. Payne D, McLaughlin KJ, Depypere HT (1991b) Experience with zona drilling and zona cutting to improve fertilization rates of human oocytes in vitro. *Hum Reprod* 6: 423-431
124. Peschka B, Schwanitz G, van der Ven K (1996) Type and frequency of constitutional chromosome aberrations in couples undergoing ICSI. *Hum Reprod* 11: 224-225
125. Podsiadly BT, Woolcott RJ, Stanger JD, Stevenson K (1996) Pregnancy resulting from intracytoplasmic injection of cryopreserved spermatozoa recovered from testicular biopsy. *Hum Reprod* 6: 1306-1308
126. Pryor J, Kent-First M, Muallem A (1997) Microdeletions in the Y chromosome of infertile men. *N Engl J Med* 336: 534-539
127. Queißer – Luft A, Spranger J (1997) Fehlbildungen bei Neugeborenen: Mainzer Modell. *Der Kinderarzt* 28: 1-6
128. Redgement CJ, Young D, Tsirigotis M, Yazdani N, Al Shawaf T, Craft IL (1994) Experience with assisted fertilization in severe male factor infertility and unexplained failed fertilization in vitro. *Hum Reprod* 9: 680-3.
129. Retief AE, van Zyl JA, Menkveld MF, Fox GM, Kotze GM, Brunsnicky J (1984) Chromosome studies in 496 infertile males with a sperm count below 10 million per ml. *Hum Genet* 66: 162-164
130. Rizk B, Doyle P, Tan SL (1991) Perinatal outcome and congenital malformations in in vitro fertilization babies from the Bourn – Hallam group. *Hum Reprod* 6: 1259-1265

131. Rjosk HK, Haeske-Seeberg H, Seeberg B, Kreuzer E (1997) IVF, ICSI, KRYO, GIFT. Ergebnisse in Deutschland 1995. *Der Frauenarzt* 2: 237-253
132. Romero J, Remohi J, Minguez Y, Rubio C, Pellicer A, Gil-Salom M (1996) Fertilization after intracytoplasmatic sperm injection with cryopreserved testicular spermatozoa. *Fertil Steril* 65: 877
133. Roseboom TJ, Vermeiden JPW (1995) Evaluation of embryo scoring systems and their value in predicting in vitro fertilization outcome. *Assist Reprod Rev* 5:53-59
134. Roseboom TJ, Vermeiden JPW, Schoute E (1995) The probability of pregnancy after embryo transfer is affected by the age of the patients, cause of infertility, number of embryos transferred, and the average morphology score, as revealed by multiple logistic regression analysis. *Hum Reprod* 10: 3035-3041
135. Saunders D, Lancaster P (1989) The wider perinatal significance of the Australian in vitro fertilization data collection program. *Am J Perinatol* 6: 252-255
136. Schlegel PN, Palermo G, Goldstein S, Menendez S, Zaninovic N, Veeck LL, Rosenwaks Z (1997) Testicular sperm extraction with intracytoplasmatic sperm injection for nonobstructive azoospermia. *Urology* 49: 435
137. Schoysman R, Vanderzwalmen P, Nijs M, Segal L, Segal-Bertin, G, Geerts L, van Roosendaal E, Schoysman D (1993) Pregnancy after fertilization with human testicular sperm. (Letter) *Lancet* 342: 1237
138. Sherins RJ, Thorsell LP, Dorfmann A, Dennison-Lagos L, Calvo L, Krysa RN, Coulam CB, Schulman JD (1995) Intracytoplasmatic sperm injection facilitates fertilization even in the most severe forms of male infertility: pregnancy outcome correlates with maternal age and number of eggs available. *Fertil Steril* 64: 369-375

139. Silber SJ (1995) What forms of male infertility are there left to cure? Hum Reprod 10: 503-504
140. Silber SJ, Nagy Z, Liu J (1995) The use of epididymal and testicular spermatozoa for intracytoplasmic sperm injection: the genetic implications for male infertility. Hum Reprod 10: 2031-2043
141. Silber SJ, Nagy ZP, Liu J, Godoy H, Devroey P, Van Steirteghem AC (1994) Conventional in vitro fertilization gegenüber intracytoplasmatic sperm injection for patients requiring microsurgical sperm aspiration. Hum Reprod 9: 1705-1709
142. Silber SJ, Ord T, Balmaceda J, Patrizio P, Asch RH (1990) Congenital absence of the vas deferens: the fertilizing capacity of human epididymal sperm. N Engl J Med 323: 1788-92
143. Silber SJ, van Steirteghem AC, Liu J (1995) High fertilization and pregnancy rate after intracytoplasmatic sperm injection with spermatozoa obtained from testicle biopsy. Hum Reprod 10: 148-152
144. Slater A (1997) Can measures of infant habituation predict later intellectual ability? Arch Dis Child 77: 474-476
145. Speirs AL, Lopata A, Gronow MJ (1983) Analysis of the benefits and risks of multiple embryo transfer. Fertil Steril 39: 468-471
146. Steptoe PC, Edwards RG (1978) Birth after the reimplantation of a human embryo. Lancet 2: 366
147. Svalander P, Forsberg A-S, Jakobsson A-H, Wikland M (1995) Factors of importance for the establishment of a successful program of intracytoplasmatic sperm injection treatment for male infertility. Fertil Steril 63: 828-837
148. Svalander P, Jakobsson A-H, Forsberg A-S, Bengtsson A-C, Wikland M (1996) The outcome of intracytoplasmatic sperm injection is unrelated to strict criteria sperm morphology. Hum Reprod 11: 1019-1022

149. Tesarik J, Pilka L, Tvorak M, Travník P (1983) Oocyte recovery, in vitro insemination and transfer into oviduct after microsurgical repair at a single laparotomy. *Fertil Steril* 39: 472
150. Testart J, Gautier E, Bami C, Rolet F, Sedbon E, Thebault A (1996) Intracytoplasmic sperm injection in infertile patients with structural chromosome abnormalities. *Hum Reprod* 11:2609-2612
151. Toth TL, Oehninger S, Toner JP, Brzyski RG, Acosta AA, Muasher SJ (1992) Embryo transfer to the uterus or the fallopian tube after in vitro fertilization yields similar results. *Fertil Steril* 57: 1110-1113
152. Tournaye H, Devroey P, Camus M, Valkenburg M, Bollen N, Van Steirteghem AC (1992) Zygote intrafallopian transfer or in vitro fertilization and embryotransfer for the treatment of male factor infertility: a prospective randomized trial. *Fertil Steril* 58: 344-50
153. Tournaye H, Devroey P, Liu J, Nagy Z, Lissens W, Van Steirteghem A (1994) Microsurgical epididymal sperm aspiration and intracytoplasmic sperm injection: a new effective approach to infertility due to congenital absence of the vas deferens. *Fertil Steril*. 61: 7045-51
154. Tournaye H, Liu J, Nagy Z, Camus M, Goosens A, Silber S, van Steirteghem AC, Devroey P (1996) Correlation between testicular biopsy and outcome after intracytoplasmic sperm injection using testicular spermatozoa. *Hum Reprod* 11: 127-132
155. Ubaldi F, Camus M, Tournaye H, Clasen K, Nagy Z, Smits J, van Steirteghem AC, Devroey P (1996) Results of microsurgical epididymal sperm aspiration (MESA) and testicular sperm extraction (TESE) in azoospermic men using intracytoplasmic sperm injection (ICSI). *Andrologia* (Suppl 1); 28: 71
156. Uehara T und Yanagimachi R (1976) Microsurgical injection of spermatozoa into hamster eggs with subsequent transformation of sperm nuclei into male pronuclei. *Biol Reprod* 15: 467-470

157. Van Opstal D, Los F, Ramlakhan S, van Hemel JO, van den Ouweland AMW, Brandenburg H, Pieters MHEC, Verhoeff MCS, Vermeer MCS, Dhont M, In't Veld P (1997) Determination of the parent of origin in nine cases of prenatally detected chromosome aberrations found after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 12: 682-686
158. Van Steirteghem AC (1994) IVF and micromanipulation techniques for male factor infertility. *Curr Opin Obstet Gynecol* 6: 173-177
159. Van Steirteghem AC, Bonduelle M, Hamberger L, Joris H, Royere D, Tarlatzis BC (1998) Assisted reproduction by intracytoplasmic sperm injection: a survey on the clinical experience in 1994 and the children born after ICSI, carried out until 31 December 1993. ESHRE Task Force on Intracytoplasmic Sperm Injection. *Hum Reprod* 13: 1737-1746
160. Van Steirteghem AC, Liu J, Joris H, Nagy Z, Janssenwillen C, Tournaye H, Derde M-P, Van Assche E, Devroye P (1993 a) Higher success rate by ICSI than by SUZI. Report of a second series of 300 consecutive treatment cycles. *Hum Reprod* 8: 1055-1060.
161. Van Steirteghem AC, Nagy Z, Joris H, Liu J, Staessen C, Smits J (1993 b) High fertilization and implantation rates after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 8: 1061-6.
162. Van Steirteghem AC, Nagy Z, Liu J, Joris H, Verheyen G, Smits J, Tournaye H, Liebaers I, Devroey P (1994) Intracytoplasmic sperm injection. *Bailliere's Clin Obstet Gynaec* 8: 85-93
163. Veeck LL, Oehninger S, Acosta AA, Muasher SJ (1989) Sperm microinjection in a clinical in vitro fertilization program. Proceeding of the 45th Annual meeting of the American Fertility Society; Nov 13-16 San Francisco. Birmingham, Alabama: American Fertility Society, 1990.

164. Verheyen G, Tournaye H, Staessen A (1999) Controlled comparison of conventional in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection in patients with asthenozoospermia. Hum Reprod 14: 2313-2319
165. Walters DE (1996) The statistical implication of the number of replacements in embryo transfer. Hum Reprod 11: 10-12
166. Wennerholm UB, Bergh C, Hamberger L, Lundin K, Nilsson L, Wikland M, Källen B (2000) Incidence of congenital malformations in children born after ICSI. Hum Reprod 15: 944-948
167. Wennerholm UB, Bergh C, Hamberger L, Nilsson L, Reismer E, Wennergren M, Wikland M (1996) Obstetric and perinatal outcome of pregnancies following intracytoplasmic sperm injection. Hum Reprod 11: 1113-1119
168. Wertz DC, Fletcher JC, Berg K. (1995) WHO, Guidelines on ethical issues in medical genetics and the provision of genetics services, Geneva: World Health Organization
169. WHO: Laborhandbuch zur Untersuchung des menschlichen Ejakulates und der Spermien / Zervikalschleim - Interaktion. Übersetzung: Nieschlag E., Bals-Pratsch M, Behre H M, Knuth U A, Meschede D, Nieschlag S. Springer, Berlin - Heidelberg - New York 1993
170. Wilson RD, Kendrick V, Wittmann BK (1986) Spontaneous abortion and pregnancy outcome after normal first-trimester ultrasound examination. Obstet Gynecol 67: 352-355
171. Wisanto A, Magnus M, Bonduelle M (1995) Obstetric outcome of 424 pregnancies after intracytoplasmic sperm injection. Hum Reprod 10: 2713-2718
172. World Health Organization Task Force on the Diagnosis and Treatment of Infertility: Towards more objectivity in diagnosis and management of male infertility. (1987) Int J Androl Suppl 7: 3.

173. Würfel W, Krüsmann G, Fiedler K, von Hertwig I, Schleyer M, Böhm I, Ovens-Raeder A, Waldenmaier C, Wiedemann U, Schwarzer U (1998) Zur intrazytoplasmatischen Injektion (ICSI) von Spermatozoen aus dem Nebenhoden (MESA) und dem Hoden (TESE): Eine retrospektive Analyse von über 500 Behandlungszyklen. Geburtsh. U. Frauenheilk. 58: 426-432
174. Würfel W, Krüsmann G, Fiedler K, von Hertwig I, Schleyer M, Schwarzer U, Waldenmaier C, Ovens-Raeder A, Böhm I, Wiedemann U (1996) Zur Verwendung testikulärer und epididymaler Spermien zur intrazytoplasmatischen Spermieninjektion (ICSI). Geburtsh. u. Frauenheilk. 12, A39
175. Würfel W, Krüsmann G, Fiedler K, von Hertwig I, Schwarzer U (1996) Schwangerschaften nach In-vitro-Fertilisation (IVF) und intracytoplasmatischer Spermieninjektion (ICSI) von testikulären Spermatozoen (TESE) aus Kryokonservaten. Zbl. Gynäkol. 118: 665
176. Würfel W, Krüsmann M, Rothenaicher P, Hirsch P, Krüsmann W (1988) Schwangerschaft nach intratubarem Gametentransfer per hysteroscopiam. Geburtsh. Frauenheilk. 48: 401-403
177. Yang D, Shahata MA, Al-Bader M, Al-Natsha SD, Al Flamerzia M, Al Shawaf T (1996) Intracytoplasmatic sperm injection improving embryo quality: comparison of the sibling oocytes of non-male-factor couples. J Assist Reprod Genet 13: 351-355
178. Yoshida A, Tamayama T, Nagao K (1995) A cytogenetic survey of 1007 infertile males. Contracept Fertil Sex 23 (Suppl. 9), S23
179. Yovich JL, Yovich JM, Edirisinghe WR (1988) The relative chance of pregnancy following tubal or uterine transfer procedures. Fertil Steril 49: 858-864
180. Yovich YL, Blackledge DG, Richardson PA, Matson PL, Turner SR, Draper R (1987) Pregnancies following pronuclear stage tubal transfer. Fertil Steril 48: 851-7

## **Danksagung**

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. W. Würfel für die Überlassung des Themas sowie seine geduldige und jederzeit kompetente Betreuung und Unterstützung bei dieser Arbeit.

Danken möchte ich Herrn Prof. Dr. med. Th. Steck für die sorgfältige und konstruktive Korrektur dieser Arbeit.

Weiterhin danke ich Herrn Dr. med. K. Fiedler sowie Arzthelferinnen, Schwestern und sonstigen Angestellten der Krüsmann-Klinik, die mir stets hilfsbereit gegenübertraten und immer ein offenes Ohr für meine Fragen hatten.

Herrn M. Henning vom Institut für Medizinische Datenverarbeitung und Statistik, Rechts der Isar, München, Herrn Dr. med. Jörg Theisen sowie Herrn Dr. med. Stefan Keller und Herrn Felix Keller, die mich bei der statistischen Bearbeitung äußerst hilfsbereit unterstützten, möchte ich an dieser Stelle danken.

Danken möchte ich besonders Herrn Dr. med. Jörg Nill, der mir beim Layout und der formalen Gestaltung dieser Arbeit eine außerordentlich große Hilfe war.

Schließlich gilt mein besonderer Dank meinen Eltern, die mich während meiner gesamten Ausbildung immer und zu jeder Zeit in jeder Hinsicht großzügig unterstützten und ohne deren Hilfe diese Arbeit nicht hätte geschrieben werden können.

## **Lebenslauf**

Name: Eder  
Geburtsname: Müller  
Vorname: Stephanie  
Geburtsdatum: 29.12.1970  
Geburtsort: München  
Familienstand: verheiratet

### **Schulbildung:**

1977-1981 Grundschule in München  
1981-1990 Gymnasium in München, neusprachlicher Zweig  
Abschluß: Allgemeine Hochschulreife

### **Studium:**

1990-1992 Studium der Humanmedizin  
Vorklinik an der Technischen Universität München  
Abschluß: Ärztliche Vorprüfung 1992  
1992-1996 Klinisches Studium an der Technischen Universität München  
Abschlüsse: Erstes Staatsexamen 1993  
Zweites Staatsexamen 1996  
1996-1997 Praktisches Jahr an der Technischen Universität München  
1.Tertial: Innere Medizin, Klinikum Rechts der Isar,  
München  
2.Tertial: Traumatology / Plastic Surgery, University of  
South Alabama, Mobile, USA  
Abdominal Surgery, University of South Africa,  
Pretoria, South Africa  
3.Tertial: Gynäkologie und Geburtshilfe, Kreisklinik Pasing,  
München  
Abschluß: Drittes Staatsexamen

### **Berufstätigkeit:**

1997-1998 Ärztin im Praktikum, Kreisklinik Pasing, München  
Abteilung für Gynäkologie und Geburtshilfe  
Seit 1998 Assistenzärztin, Kreisklinik Pasing, München  
Abteilung für Gynäkologie und Geburtshilfe

München, den 5. Mai 2002