

# JOURNAL FÜR FERTILITÄT UND REPRODUKTION

BEYELER M, HÄBERLE M, HOHL M

*Vergleich der Schwangerschaftsrate nach in vitro-Fertilisation und intrazytoplasmatischer Spermieninjektion zwischen dem Embryotransfer an Tag 2 und Tag 5 (Blastozystentransfer) - Eine kontrollierte matched-pair-Analyse*

*Journal für Fertilität und Reproduktion 2002; 12 (2) (Ausgabe für Schweiz), 10-18*

*Journal für Fertilität und Reproduktion 2002; 12 (2) (Ausgabe für Österreich), 11-19*

**Homepage:**

**[www.kup.at/fertilitaet](http://www.kup.at/fertilitaet)**

**Online-Datenbank mit  
Autoren- und Stichwortsuche**

ZEITSCHRIFT FÜR IN-VITRO-FERTILISIERUNG, ASSISTIERTE REPRODUKTION UND KONTRAZEPTION

# VERGLEICH DER SCHWANGERSCHAFTSRATE NACH IN VITRO-FERTILISATION UND INTRA-ZYTOPLASMATISCHER SPERMIENINJEKTION ZWISCHEN DEM EMBRYOTRANSFER AN TAG 2 UND TAG 5 (BLASTOZYSTENTRANSFER) – EINE KONTROLLIERTE MATCHED-PAIR-ANALYSE

VERGLEICH DER SCHWANGERSCHAFTSRATE NACH IVF UND ICSI BEI ET AN TAG 2 UND TAG 5

## Summary

*The aim of this study was to find out whether the pregnancy rates could be increased due to better embryo selection by embryo transfer on day 5 (blastocyst stage) versus embryo transfer on day 2. So far, the results of day 2 transfer were rather unsatisfactory. David K. Gardner was looking for new culture media that allowed a longer extracorporeal breeding and therefore a selection of the qualitatively better embryos. This way corre-*

*sponds closer to the physiological conditions. As a consequence implantation und pregnancy rates can be increased while using a minimal number of transferred embryos. At the same time we can minimize the risk of multiple gestation.*

*Our first experiences at the hospital of Baden (Switzerland) are very promising. Applying blastocyst transfer to 42 patients pregnancy rate reached values of 40 %.*

Ein weiteres Problem betraf die Gewinnung der Oozyten: Von der Laparotomie gelangte man über die Laparoskopie Ende der 60er Jahre zur heute üblichen ultraschallgesteuerten Follikelpunktion. Einen großen Fortschritt erreichte man anfangs der 90er Jahre, als die Intrazytoplasmatische Spermieninjektion (ICSI) eingeführt wurde. Bei männlichen Fertilitätsstörungen ist sie heute die Methode der Wahl.

Aufbauend auf Arbeiten von David K. Gardner [6] werden seit ein paar Jahren an mehreren Zentren Blastozysten transferiert und die bisher besten Ergebnisse mit Schwangerschaftsraten bis zu 60 % erreicht. Damit der Blastozysten transfer möglich wurde, mußten zuerst neue Kulturmedien entwickelt werden, welche dem veränderten Nährstoffbedarf der Embryonen ab dem 8-Zellstadium nachkommen. Die Entwicklung dieser neuen Medien beruht auf den Forschungsergebnissen von D. K. Gardner [7, 8].

Im Kantonsspital Baden wird die IVF seit 1989 angewendet. Sukzessive wurden auch die ICSI und die Blastozystenkultur eingeführt. Die Resultate von in vitro-Fertilisation und intrazytoplasmatischer Spermieninjektion waren bisher eher bescheiden. In der Schweiz beträgt die Fertilisierungsrate bei IVF und ICSI 55 %, die Schwangerschaftsraten pro Zyklus hingegen lediglich 14,3 % für IVF und 17,8 % für ICSI (FIVNAT-CH 1997). Das deutsche IVF-Register gab 1997 Fertilisierungsraten von 26,6 % für IVF und 34,4 % für ICSI an. Die Schwangerschaftsraten pro Zyklus betragen 16,5 % resp. 17,8 %. In den USA betragen die Schwangerschaftsraten pro Zyklus je nach Alter der Patientinnen 13,4 % bis 33,4 % (National Report, Reproductive Health, 1996).

Verbesserungen sind somit besonders bei der Implantationsrate erwünscht.

## ZUSAMMENFASSUNG

Das Ziel dieser Studie liegt darin, bei gleichbleibender Anzahl transferierter Embryonen resp. Blastozysten eine Verbesserung der Schwangerschaftsraten dank besserer Embryoselektion durch den Transfer am Tag 5 nach Follikelpunktion nachzuweisen. Die bisherigen Tag 2-Transfers lieferten nur unbefriedigende Resultate. Basierend auf den Forschungsarbeiten vor allem von David K. Gardner wurden neue Kulturmedien entwickelt, welche eine Verlängerung der extrakorporalen Phase und damit eine Selektion der qualitativ besseren Embryonen erlauben. Auf diese Weise wird eine Annäherung an physiologische Verhältnisse möglich. Implantations- und Schwangerschaftsraten lassen sich deutlich steigern, während gleichzeitig die Anzahl zu transferierender Embryonen und damit die Gefahr von Mehrlingsschwangerschaften minimal gehalten werden kann.

Die ersten Erfahrungen am Kantonsspital Baden (Schweiz) sind erfolgversprechend. Anhand von 42 Patientinnen konnte eine Verbesserung der Schwangerschaftsrate auf 40 % erreicht werden.

## EINLEITUNG

Zirka 15 % aller Ehen bleiben ungewollt kinderlos. Dabei liegen die Gründe für die Kinderlosigkeit in etwa 30 % der Fälle beim Mann, in zirka 30 % bei der Frau, und in 40 % liegen Störungen bei beiden Partnern vor [1]. Die Ursachen können grob in 5 Kategorien eingeteilt werden: Ovulatorischer Faktor (25 %), tubarer Faktor (20 %), zervikaler Faktor (15 %), männlicher Faktor (25 %), multifaktoriell (15 %) [2, 3].

Die in vitro-Fertilisation (IVF) wurde vor allem in England entwickelt [4]. Seit Mitte der 60er Jahre wird sie zur Behandlung der Sterilität beim Menschen durchgeführt. Damit aber die IVF beim Menschen erfolgreich sein konnte, mußten drei Hauptprobleme gelöst werden [5]:

1. Entwicklung geeigneter Kulturmedien für Oozyten und Spermien,
2. Induktion der Kapazitation und Akrosomenreaktion der gewonnenen Spermien,
3. Zeitpunkt der Follikelpunktion (nämlich so kurz wie möglich vor der spontanen Ovulation).

Durch Verbesserungen der Kulturbedingungen und Optimierung der Oozytenqualität könnte sich die Embryonenqualität steigern lassen, was wiederum die Implantationsrate beeinflussen könnte.

## FRAGESTELLUNG

Im September 1998 wurde im Kantonsspital Baden der Blastozysten-transfer nach sequentieller Kultur eingeführt. Die Entwicklung der Zygote erfolgt in einem Pyruvat-haltigen Medium. Am Tag 3, also zirka im 8-Zell-Stadium, wird auf ein Glukosehaltiges Medium gewechselt. Während dieser verlängerten extrakorporalen Phase findet eine natürliche Selektion statt, indem zirka die Hälfte aller Embryonen – die qualitativ minderwertigen – absterben, während sich die Embryonen von guter Qualität weiterentwickeln. Am Tag 5 werden maximal zwei Blastozysten ins Uteruskavum transferiert. Überzählige Blastozysten können kryokonserviert werden.

In dieser Arbeit geht es nun um den Vergleich der Schwangerschaftsraten nach Transfer von Embryonen im Blastozystenstadium (Tag 5 nach Follikelpunktion) mit der herkömmlichen Methode (Tag 2 nach Follikelpunktion) bei gleicher Anzahl transferierter Embryonen. Zielkriterien sind Fertilisierungs-, Implantations-, Schwangerschafts- und Geburtenrate sowie Anzahl der Zyklen mit Kryokonservierung.

## PATIENTEN UND METHODEN

Es handelt sich um eine kontrollierte retrospektive „matched-pair“-Analyse. In die Studie eingeschlossen wurden alle Patientinnen unter 41 Jahren mit IVF oder ICSI, welche im Zeitraum vom 01.09. bis 31.12.1998 einen Blastozysten-transfer erhielten. Als Kontrollgruppe wurden für die „mat-

ched pair“-Analyse Patientinnen gewählt, welche sich 1996 einer Behandlung mit IVF oder ICSI unterzogen haben. Zu jeder Patientin von 1998, welche einen Blastozysten-transfer erhalten hatte, wurde eine Patientin von 1996 mit Tag-2-Transfer gesucht. Die Patientinnen mußten bestmöglich in Alter (gleicher Jahrgang), Indikation (tubar, männlich oder multifaktoriell) und Anzahl entnommener Oozyten übereinstimmen. Ergaben sich mehrere mögliche Paarungen, was nur in einem Fall eingetreten war, entschied das Los.

1997 führten wir verschiedene Änderungen im Kultursystem in unserem Labor durch. Über den Zeitraum des ganzen Jahres hatten wir kein für alle Kulturen gleiches Kultursystem, so daß es sehr schwer ist, hier mit Paaren aus der Zeit der Blastozystenkultur zu matchen. Aus diesem Grunde nahmen wir die Ergebnisse von 1997 nicht in die Auswertung auf.

Anhand der Krankengeschichte wurden für jede Patientin standardisierte Evaluationsblätter ausgefüllt. Diese enthielten Angaben über Alter der Patientin, Indikation der Sterilitätsbehandlung, Anzahl entnommener und Anzahl fertilisierter Oozyten, Anzahl transferierter Embryonen, Anzahl kryokonservierter Zygoten oder Embryonen und Ausgang des Embryotransfers.

Einteilung der Indikationen:

- Tubare Faktoren
- Männliche Faktoren
- Multifaktorielle Ursachen

Zu den männlichen Faktoren zählten nebst pathologischem Spermogramm auch Varikozele, retrograde Ejakulation, Vasovasostomie, Semikastratio nach Hodentorsion, Paraplegie, Status nach Kryptorchismus und Aplasie oder postentzündlicher Verschuß des Vas deferens.

Unter multifaktorielle Ursachen fielen Kombinationen mehrerer Ätiologien. Außerdem kamen noch seltene Ursa-

chen von Fertilitätsstörungen hinzu: iatrogene Ätiologie, Mikroprolaktinom bzw. Hyperprolaktinämie, Zervixstenose, Status nach Fimbrienplastik sowie Asherman-Syndrom.

Jede Patientin erhielt einen Zahlen-code, der alle Labordaten beinhaltet, und so konnten die Daten anonym im Computer mit Excel und StatView bearbeitet werden.

Eine biochemische Schwangerschaft ist definiert als eine Erhöhung der Schwangerschaftshormone bei sonographisch nicht nachweisbarer Fruchtblase. Als klinische Schwangerschaft gilt eine Schwangerschaft mit nachweisbarer Fruchtblase. Eine Extrauterin gravidität wird definiert als Schwangerschaft mit nachweisbarer Fruchtblase außerhalb des Cavum uteri. Damit man mehrere Eizellen erhält, führt man eine hormonelle Stimulation der Follikelreifung durch. Verschiedene Behandlungsmethoden stehen zur Verfügung. Heute wird vorwiegend die kontrollierte Stimulation nach Down-Regulation der Hypophyse angewendet. Folgende Schemata kommen am Kantonsspital Baden zum Einsatz:

1. LHRH-Agonist (Luteinisierendes Hormon-Releasing Hormon) 500 µg/d vom 23. Zyklustag des vorangegangenen Zyklus an plus HMG (Human Menopausal Gonadotrophin) 150 oder 225 IU/d Tag 2 bis zur Induktion der Follikelreifung (Long Protocol) [9].
2. LHRH-Agonist 500 µg/d Tag 1 bis 3 plus HMG 225 IU/d Tag 2 bis Reifungsinduktion (Short Protocol).

Haben ein oder mehrere Follikel einen Durchmesser von > 17 mm erreicht, erhält die Patientin 5.000 bis 10.000 I.E. HCG (Human Chorionic Gonadotrophin) i.m. zur Induktion der Follikelreifung und Ovulation. Der optimale Zeitpunkt zur Follikelpunktion ist 36 Stunden nach der Injektion des HCG. Diese Punktion erfolgt unter Ultraschallkontrolle auf transvaginalen Weg.

Die Befruchtung erfolgte mittels in vitro-Fertilisation oder intrazytoplasmatischer Spermieninjektion. Der Embryotransfer erfolgte am Tag 2 im Jahr 1996 sowie am Tag 5 im Jahr 1998. Anschließend wurde die Lutealphase mit Progesteron oder HCG unterstützt, bis die Plazenta ihre endokrine Tätigkeit entwickelt hat. Es gibt folgende Möglichkeiten, die Lutealphase zu unterstützen:

- Progesteron (Utrogestan®) 3 x 200 ml täglich vaginal bis 17 Tage nach Ovulationsauslösung resp. bis 9. Schwangerschaftswoche.
- HCG (Profasi®) 5.000 I.E. am Tag 4 nach Ovulationsauslösung, 2.000 I.E. am Tag 7 und 2.000 I.E. am Tag 10.

#### Blastozystentransfer

Gardner untersuchte die Bedingungen *in vivo* und stellte fest, daß der Embryo auf seinem Weg in den Uterus verschiedenen Konzentrationen von Glukose und Pyruvat ausgesetzt ist [6]. Basierend auf diesen Erkenntnissen entwickelte er zwei neue Serum- und Co-Kultur-freie Medien, welche den Blastozystentransfer ermöglichen. Die Zusammensetzung der zwei sequentiellen Medien unterscheidet sich sowohl im Kohlenhydrat- wie auch im Aminosäuregehalt. Das Pyruvat-haltige Medium G1 wird während der Entwicklung der Zygote bis zum 8-Zell-Stadium verwendet. Am Tag 3 wird auf das Glukose-haltige Medium G2 gewechselt, das die Blastozystenentwicklung unterstützt. Gardner stellte durch dieses Vorgehen eine signifikante Erhöhung in der Fähigkeit der Embryonen fest, das Blastozystenstadium zu erreichen. Während bei der Kultur mit Ham's F10-Medium nur 38 % der Embryonen das Blastozystenstadium erreichten, waren es mit G1 plus G2 66 %. Zusätzlich konnte die Implantationsrate durch Tag-5-Transfer auf 45 % gesteigert werden, gegenüber 21 % bei Tag-3-Transfer [7].

Der Blastozystentransfer kann sowohl in einem IVF- wie auch in einem ICSI-Zyklus oder nach einem Auftauzyklus von kryokonservierten Zygoten oder Embryonen durchgeführt werden.

Der Vorteil des Blastozystentransfers besteht in der Möglichkeit der natürlichen Selektion der genetisch alterierten Embryonen vor dem Embryonentransfer, wodurch die Anzahl zu transferierender Blastozysten infolge verbesserter Implantationsrate niedriger gehalten werden kann. Es werden maximal 2 Blastozysten transferiert.

#### Statistik

Zur statistischen Auswertung der Daten wurde der Mann-Whitney-Test verwendet. Anhand dieses Testes können signifikante Unterschiede in einer Variablen bei zwei unabhängigen Gruppen nachgewiesen werden, indem er eine Rangordnung der Werte erstellt. Auf den Chi-Quadrat-Test wurde wegen der zu kleinen Stichprobe verzichtet. Er wäre bei der Analyse unserer Daten erst ab einer Stichprobengröße von über 340 Patientinnen signifikant.

## ERGEBNISSE

Verglichen werden Tag-2-Transfer (die herkömmliche Methode) im Jahr 1996 versus Blastozystentransfer im Jahr 1998. Insgesamt sind 42 Patientinnen im Alter zwischen 22 und 40 Jahren untersucht worden, wobei die Alterskategorie 30 bis 34 Jahre am häufigsten vertreten war. Die männliche Indikation war am häufigsten.

Es gibt drei Hauptkriterien, nach welchen die Daten ausgewertet wurden:

1. Abhängigkeit des Erfolgs von der Anzahl transferierter Embryonen,
2. Abhängigkeit des Erfolgs vom Alter der Patientin,
3. Abhängigkeit der Ergebnisse von der Indikation.

#### ad 1.) Abhängigkeit von der Anzahl transferierter Embryonen (Tab. 1-4)

Dieser Aspekt ist vor allem bei der Auswertung der Tag-2-Transfers wichtig, wo maximal drei Embryonen transferiert wurden. Es interessiert, ob der Transfer von drei Embryonen zu mehr Erfolg führt wie derjenige von nur zwei Embryonen.

Zu keinem Embryotransfer kam es beim Tag-2-Transfer (resp. Blastozystentransfer) in 2 (3) Fällen, entweder weil keine Oozyten fertilisiert werden konnten (1 Patientin) oder weil die Zygote sich nur ungenügend bzw. gar nicht weiterentwickelte. Diese Zyklen, in denen 1996 und 1998 kein Embryotransfer stattfinden konnte, kamen nicht weiter zur Auswertung, da es sich bei dieser Arbeit um eine „matched-pair“-Analyse von Zyklen mit einem Transfer handelt, nicht um eine gesamte Jahresstatistik. Beim Tag-2-Transfer wurden im Mittel 2,3 (0 bis 3) und beim Tag-5-Transfer 1,8 (0 bis 2) Embryonen bzw. Blastozysten transferiert. Im Jahr 1998 konnten bei gleichen Stimulationsbedingungen 569 Oozyten gewonnen werden, 1996 461. Die totale Fertilisierungsrate liegt mit 67,1% 1998 über derjenigen von 1996 (56,6%) (Tab. 1).

Aus den oben genannten Gründen kam es in den 42 Zyklen im Jahr 1996 zu 40, 1998 zu nur 39 Embryonentransfers (Tab. 2). Während 1996 bei 25 Zyklen Zygoten oder Embryonen kryokonserviert werden konnten, war dies 1998 in 19 Zyklen möglich, wobei dann Zygoten oder Blastozysten kryokonserviert wurden. Die Implantationsrate beträgt beim Tag-2-Transfer bei 2 (3) gleichzeitig transferierter Embryonen 21,4% (13,7%), beim Blastozystentransfer hingegen liegt sie bei 33,3% (1 Blastozyste) resp. 30,6% (2 Blastozysten).

Die Anzahl Schwangerschaften inkl. biochemischer Schwangerschaft, Abort und Extrauterin gravidität beträgt 1996 15, 1998 20 (Tab. 3). Die klini-

# VERGLEICH DER SCHWANGERSCHAFTSRATE NACH IVF UND ICSI BEI ET AN TAG 2 UND TAG 5

sche Schwangerschaftsrate berechnet sich nach Abzug der biochemischen Schwangerschaften, der Aborte und der Extrauteringraviditäten und liegt 1998 mit 17 Geburten resp. noch andauernden Schwangerschaften höher als 1996 mit 11 Geburten. Aus dem Verhältnis Anzahl Schwangerschaften pro transferierter Embryonen wird ersichtlich, daß beim Blastozysten-

transfer weniger zu transferierende Embryonen für die höhere Schwangerschaftsrate nötig sind.

Sowohl biochemische Schwangerschaften als auch Aborte und Extrauteringraviditäten sind sehr selten.

Im Jahr 1998 entwickelten sich 23 Fruchtblasen, 1996 nur 16 (Tab. 4).

*ad 2.) Abhängigkeit vom Alter der Patientin (Tab. 5-8)*

In die Studie einbezogen wurden nur Patientinnen unter 41 Jahren. Der Blastozysten- und der Tag-2-Transfer werden jedoch auch bei älteren Patientinnen durchgeführt. Zur Auswertung ist die Einteilung in drei Alterskategorien sinnvoll:

Tabelle 1: Totale Fertilisierungsrate

n transferierte Embryonen	n Zyklen		n Eizellen		n fertilisierte Eizellen			
	Tag-2-Transfer	Blastozysten	Tag-2-Transfer	Blastozysten	Tag-2-Transfer		Blastozysten	
0	2	3	14	31	1	7,1 %	23	74,2 %
1	2	3	18	39	2	11,1 %	23	59,0 %
2	21	36	233	499	136	58,4 %	336	67,3 %
3	17	0	196	0	122	62,2 %	0	
Total	42	42	461	569	261	56,6 %	382	67,1 %

Legende: Kryokons.: Kryokonservierung, SS: Schwangerschaften, transf. E: transferierte Embryonen, EUG: Extrauteringraviditäten

Tabelle 2: Embryotransfers

n transferierte Embryonen	n Transfers		n Zyklen mit Kryokonservierung		Implantationsrate	
	Tag-2-Transfer	Blastozysten	Tag-2-Transfer	Blastozysten	Tag-2-Transfer	Blastozysten
0	0	0	0	0		
1	2	3	0	0	0,0 %	33,3 %
2	21	36	16	19	21,4 %	30,6 %
3	17	0	9	0	13,7 %	
Total	40	39	25	19	16,8 %	30,7 %

Legende: Kryokons.: Kryokonservierung, SS: Schwangerschaften, transf. E: transferierte Embryonen, EUG: Extrauteringraviditäten

Tabelle 3: Schwangerschaften

n transferierte Embryonen	n SS (%) pro Zyklus				Klinische SS(%) pro Zyklus				Verhältnis SS/transf. E	
	Tag-2-Transfer	Blastozysten	Tag-2-Transfer	Blastozysten	Tag-2-Transfer	Blastozysten	Tag-2-Transfer	Blastozysten	Tag-2-Transfer	Blastozysten
0	0	0,0 %	0	0,0 %	0	0,0 %	0	0,0 %		
1	0	0,0 %	1	33,3 %	0	0,0 %	1	33,3 %	0,0 %	33,3 %
2	9	42,9 %	19	52,8 %	5	23,8 %	16	44,4 %	11,9 %	22,2 %
3	6	35,3 %	0		6	35,3 %	0	11,8 %		
Total	15	35,7 %	20	47,6 %	11	26,2 %	17	40,5 %	11,6 %	22,7 %

Legende: Kryokons.: Kryokonservierung, SS: Schwangerschaften, transf. E: transferierte Embryonen, EUG: Extrauteringraviditäten

Tabelle 4: Schwangerschaften

n transferierte Embryonen	n biochemische SS		n Fruchtblasen		n Aborte		n EUG	
	Tag-2-Transf.	Blastoz.	Tag-2-Transf.	Blastoz.	Tag-2-Transf.	Blastoz.	Tag-2-Transf.	Blastoz.
0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	1	0	0	0	0
2	1	2	9	22	2	1	1	0
3	0	0	7	0	0	0	0	0
Total	1	2	16	23	2	1	1	0

Legende: Kryokons.: Kryokonservierung, SS: Schwangerschaften, transf. E: transferierte Embryonen, EUG: Extrauteringraviditäten

- Patientinnen < 30 Jahren
- Patientinnen zwischen 30 und 34 Jahren
- Patientinnen zwischen 35 und 40 Jahren

Mit 19 Patientinnen überwiegt die Gruppe der 30–34-Jährigen. In allen drei Gruppen konnten 1998 bei gleichen Stimulationsbedingungen mehr Oozyten gewonnen werden. Total sind es 1996 461 Eizellen, 1998 569 (Tab. 5). Die Fertilisierungsrate liegt 1998 auch in allen drei Kategorien höher mit einem Maximum von 71,3 % bei den jüngsten Patientinnen.

Total ergaben sich beim Tag-2-Transfer mehr Zyklen mit Kryokonservie-

rung (25 versus 19), wobei sich die Zunahme nicht auf eine bestimmte Alterskategorie beschränkt (Tab. 6). Die Implantationsrate konnte in allen Altersgruppen gesteigert werden, am deutlichsten bei den Patientinnen zwischen 35 und 40 Jahren (30,0 % beim Blastozystentransfer gegenüber 6,3 % beim Tag-2-Transfer). Die totale Implantationsrate ist beim Blastozystentransfer mit 30,7 % beinahe doppelt so groß wie beim Tag-2-Transfer (16,8 %).

Bei der Schwangerschaftsrate ist vor allem eine Verbesserung in der ältesten Patientinnenkategorie ersichtlich (Tab. 7). Die totale Schwangerschaftsrate liegt beim Blastozystentransfer

mit 47,6 % über derjenigen von Tag-2-Transfer (35,7 %). Auch die klinische Schwangerschaftsrate weist 1998 eine deutliche Steigerung gegenüber 1996 auf. Sie betrifft die Gruppen der unter 30-Jährigen und der 35–40-Jährigen. Bei allen Alterskategorien konnten prozentual weniger Embryonen transferiert werden für die besseren Schwangerschaftsraten.

Sowohl die biochemischen Schwangerschaften wie auch die Aborte und Extrauteringraviditäten ereigneten sich nicht in der ältesten Gruppe, sondern beschränkten sich fast ausschließlich auf die mittlere Alterskategorie (Tab. 8). Die Anzahl entstandener Fruchtblasen ist in der

Tabelle 5: Totale Fertilisierungsrate in Abhängigkeit vom Alter der Patientin

Alter	n Zyklen		n Eizellen		n fertilisierte Eizellen			
	Tag-2-Transfer	Blastozysten	Tag-2-Transfer	Blastozysten	Tag-2-Transfer	Blastozysten	Tag-2-Transfer	Blastozysten
< 30	11	11	119	160	60	50,4 %	114	71,3 %
30–34	19	19	206	243	119	57,8 %	157	64,6 %
35–40	12	12	136	166	82	60,3 %	111	66,9 %
Total	42	42	461	569	261	56,6 %	382	67,1 %

Tabelle 6: Embryotransfers in Abhängigkeit vom Patientenalter

Alter	n Transfers		n Zyklen mit Kryokonservierung		Implantationsrate	
	Tag-2-Transfer	Blastozysten	Tag-2-Transfer	Blastozysten	Tag-2-Transfer	Blastozysten
< 30	10	11	7	6	26,3 %	33,3 %
30–34	18	18	10	7	20,5 %	29,4 %
35–40	12	10	8	6	6,3 %	30,0 %
Total	40	39	25	19	16,8 %	30,7 %

Tabelle 7: Schwangerschaften in Abhängigkeit vom Patientenalter

Alter	n SS (%) pro Zyklus				Klinische SS(%) pro Zyklus				Verhältnis SS/transf. E	
	Tag-2-Transfer		Blastozysten		Tag-2-Transfer		Blastozysten		Tag-2-Transfer	Blastozysten
< 30	4	36,4 %	7	63,6 %	3	27,3 %	6	54,6 %	15,8 %	28,6 %
30–34	9	47,4 %	8	42,1 %	6	31,6 %	6	31,6 %	13,6 %	17,7 %
35–40	2	16,7 %	5	41,7 %	2	16,7 %	5	41,7 %	6,3 %	25,0 %
Total	15	35,7 %	20	47,6 %	11	26,2 %	17	40,5 %	11,6 %	22,7 %

Tabelle 8: Schwangerschaften in Abhängigkeit vom Patientenalter

Alter	n biochemische SS		n Fruchtblasen		n Aborte		n EUG	
	Tag-2-Transf.	Blastoz.	Tag-2-Transf.	Blastoz.	Tag-2-Transf.	Blastoz.	Tag-2-Transf.	Blastoz.
< 30	0	1	5	7	1	0	0	0
30–34	1	1	9	10	1	1	1	0
35–40	0	0	2	6	0	0	0	0
Total	1	2	16	23	2	1	1	0

# VERGLEICH DER SCHWANGERSCHAFTSRATE NACH IVF UND ICSI BEI ET AN TAG 2 UND TAG 5

mittleren Gruppe mit 9 bzw. 10 Fruchtblasen am größten. 1998 konnten bei den 35–40-Jährigen 6 Fruchtblasen erreicht werden, während es 1996 nur 2 waren.

### ad 3.) Abhängigkeit von der Indikation (Tab. 9–12)

Zur besseren Übersicht wurden nur die zwei häufigsten Indikationen – tubar und männlich – gesondert betrachtet. Die weiteren Ätiologien wie ovarielle Faktoren, Endometriose, ungeklärte Sterilität usw. fielen in die Kategorie multifaktoriell.

Mit 29 Fällen überwiegt eindeutig die männliche Indikation. Dabei

spielt auch die Tatsache eine Rolle, daß die Blastozystentransfers nur in 8 Fällen aus einem IVF-Zyklus stammen, während bei den restlichen 34 Paaren eine intrazytoplasmatische Spermieninjektion durchgeführt wurde, deren hauptsächlichste Indikation ja die männliche Sterilität ist (Tab. 9). Unabhängig von der Indikation konnten 1998 mehr Oozyten gewonnen werden. Die Fertilisierungsrate weist bei männlicher Indikation die größte Verbesserung auf, 1996 wurden 52,2 %, 1998 69,0 % fertilisiert.

Bei männlicher Indikation ergaben sich 1998 nur 13 Zyklen mit Kryokonservierung gegenüber 17 im Jahr 1996 (Tab. 10). Die Implantations-

raten konnten bei allen Indikationen verbessert werden und sind bei männlichem Faktor mit 34,6 % (Blastozystentransfer) doppelt so groß wie beim Tag-2-Transfer (17,2 %).

Die Verbesserung der Schwangerschaftsrates beim Blastozystentransfer zeigt sich vor allem bei männlicher Indikation (Tab. 11). Die übrigen Zahlen sind zu klein, um signifikante Aussagen zu machen. Bei männlichem Faktor liegt die klinische Schwangerschaftsrates mit 44,8 % im Jahr 1998 deutlich über derjenigen von 1996 mit 24,1 %. Vor allem bei tubarer oder bei männlicher Indikation zeigt sich 1998 ein günstigeres Verhältnis zwischen der Anzahl an

Tabelle 9: Totale Fertilisierungsrate in Abhängigkeit von der Indikation

Indikation	n Zyklen		n Eizellen		n fertilisierte Eizellen			
	Tag-2-Transfer	Blastozysten	Tag-2-Transfer	Blastozysten	Tag-2-Transfer	Blastozysten	Tag-2-Transfer	Blastozysten
Tubar	5	5	63	82	38	60,3 %	40	48,8 %
Männlich	29	29	326	377	170	52,2 %	260	69,0 %
Multifaktoriell	8	8	72	110	53	73,6 %	82	74,6 %
Total	42	42	461	569	261	56,6 %	382	67,1 %

Tabelle 10: Embryotransfers in Abhängigkeit von der Indikation

Indikation	n Transfers		n Zyklen mit Kryokonservierung		Implantationsrate	
	Tag-2-Transfer	Blastozysten	Tag-2-Transfer	Blastozysten	Tag-2-Transfer	Blastozysten
Tubar	5	4	3	2	23,1 %	28,6 %
Männlich	28	27	17	13	17,2 %	34,6 %
Multifaktoriell	7	8	5	4	11,1 %	18,8 %
Total	40	39	25	19	16,8 %	30,7 %

Tabelle 11: Schwangerschaften in Abhängigkeit von der Indikation

Indikation	n SS (%) pro Zyklus		Klinische SS(%) pro Zyklus				Verhältnis SS/transf. E	
	Tag-2-Transfer	Blastozysten	Tag-2-Transfer	Blastozysten	Tag-2-Transfer	Blastozysten	Tag-2-Transfer	Blastozysten
Tubar	3	2	2	40,0 %	2	40,0 %	15,4 %	28,6 %
Männlich	10	16	7	24,1 %	13	44,8 %	10,9 %	25,0 %
Multifaktoriell	2	2	2	25,0 %	2	25,0 %	11,1 %	12,5 %
Total	15	20	11	26,2 %	17	40,5 %	11,6 %	22,7 %

Tabelle 12: Schwangerschaften in Abhängigkeit von der Indikation

Indikation	n biochemische SS		n Fruchtblasen		n Aborte		n EUG	
	Tag-2-Transf.	Blastoz.	Tag-2-Transf.	Blastoz.	Tag-2-Transf.	Blastoz.	Tag-2-Transf.	Blastoz.
Tubar	0	0	3	2	0	0	1	0
Männlich	1	2	11	18	2	1	0	0
Multifaktoriell	0	0	2	3	0	0	0	0
Total	1	2	16	23	2	1	1	0

Schwangerschaften und der Anzahl transferierter Embryonen.

Biochemische Schwangerschaft, Abort und Extrauterin gravidität (Tab. 12) ereigneten sich hauptsächlich bei männlicher Indikation, wobei diese ja auch am häufigsten vertreten ist.

Der Fertilisierungserfolg ist 1998 signifikant ( $p < 0,05$ ) besser. Somit konnte eine höhere Anzahl fertilisierter Eizellen pro totaler Anzahl Eizellen erzielt werden als im Jahr 1996. Der Fertilisierungserfolg errechnet sich aus Anzahl fertilisierter Eizellen/ totale Anzahl Eizellen. Er ist aussagekräftiger als die bloße Anzahl fertilisierter Eizellen, da durch die Quotientenbildung Ausreißer relativiert werden. Bei der Schwangerschafts- und Geburtenrate weist die deskriptive Auswertung einen eindeutigen Trend auf (siehe oben), welcher jedoch infolge der zu kleinen Stichprobe noch nicht signifikant ist. Es müßten mindestens 340 Patientinnen ausgewertet werden, um das Signifikanzniveau zu erreichen.

## DISKUSSION

### Hintergründe

Eines der ungelösten Probleme in der Reproduktionsmedizin sind die niedrigen Implantations- und folglich niedrigen Schwangerschaftsraten. Dabei stehen folgende Fragen im Vordergrund:

- Embryoselektion
- in vitro-Kulturbedingungen
- Transferzeitpunkt

Munne untersuchte total 245 Embryonen von IVF- und 136 Embryonen von ICSI-Zyklen mittels Fluoreszenz in-situ Hybridisierung (FISH). Mit Hilfe der FISH kann man mit markierten Sonden bestimmte Gene und bei deren Fehlen Aneuploidie und strukturelle Abnormitäten nachweisen. Munne entdeckte in 61 % bei IVF und in 52 % bei ICSI Chromosomen-

anomalien [10]. Mittels FISH konnte Munne auch in 20 (17,1 %) von 117 untersuchten, morphologisch normalen Embryonen Mosaikformen nachweisen. Bei 163 Embryonen, welche sich nicht weiterentwickelt hatten oder welche morphologisch abnormal waren, wiesen 47 (28,8 %) ein Mosaik auf [11].

Evsikov untersuchte mit FISH die inneren Zellen von Blastozysten bezüglich Chromosomenabnormitäten. Von insgesamt 86 Blastozysten wiesen 12 (13,9 %) genetische Veränderungen wie Tri-, Tetraploidie, Mono-, Tri- oder Tetrasomie auf. Zusätzlich suchte Evsikov bei Blastozysten nach Mosaikformen, welche mit nur 10,5 % eine signifikant niedrigere Inzidenz aufwiesen als bei früheren Embryonenstadien (bis zu 50 %). Evsikov schloß aus seinen Ergebnissen, daß die Selektion der abnormen Embryonen beim Übergang vom Morula- zum Blastozystenstadium geschieht [12].

Diverse weitere Studien beschäftigten sich mit der Inzidenz chromosomaler Aberrationen bei Embryonen nach IVF [13–18].

Um das Problem des Transfers chromosomal anomaler Embryonen anzugehen, ergeben sich grundsätzlich zwei Möglichkeiten:

1. Die „natürliche“ Selektion durch Verlängerung des extrakorporalen Intervalls (Blastozystentransfer).
2. Die Präimplantationsdiagnostik: Am Tag 3 werden 2 Zellen der 8-Zell-Embryonen biopsiert und mittels FISH auf Chromosomenanomalien untersucht.

Die großen Nachteile der Präimplantationsdiagnostik sind die Invasivität und der Umstand, daß dadurch auch gesunde Embryonen biopsiert werden. Im weiteren ist dieses Verfahren mit Inkrafttreten des Bundesgesetzes über die Fortpflanzungsmedizin in der Schweiz nicht zulässig.

Die bisherigen niedrigen Implantations- und Schwangerschaftsraten lassen sich zu einem großen Teil auf chromosomale Anomalien zurückführen. Durch den Blastozystentransfer wird eine natürliche Selektion dieser genetisch alterierten Embryonen vor dem Embryotransfer angestrebt. Dadurch werden Embryonen mit einem höheren Entwicklungspotential transferiert, da die Embryonen mit Chromosomenanomalien sich nicht zum Blastozystenstadium entwickeln [19]. Durch den Blastozystentransfer wird außerdem eine bessere Synchronisation mit der Endometriumentwicklung ermöglicht. Bei der natürlichen Konzeption erreicht der Embryo am Tag 5–6 das Uteruskavum. Dies kann beim Blastozystentransfer, welcher am Tag 5 vorgenommen wird, optimal imitiert werden, während beim Tag 2-Transfer das Endometrium auf die Implantation noch nicht optimal vorbereitet ist [20].

Durch die positive Selektion der genetisch normalen Embryonen vor dem Transfer läßt sich die Zahl der zu transferierenden Embryonen senken und somit auch das Risiko einer Mehrlingsschwangerschaft klein halten [21]. Ein weiterer Vorteil der extrakorporalen Selektion besteht darin, daß weniger Embryonen mit chromosomalen Aberrationen kryokonserviert werden und daß sich somit auch die Resultate der Auftauzyklen verbessern lassen sollten.

### Erfahrungen am Kantonsspital Baden

Seit der Einführung des Blastozystentransfers anfangs September 1998 konnten innert kürzester Zeit die Implantations- und Schwangerschaftsraten von ca. 17 % bzw. 26 % auf 30 % bzw. 40 % gesteigert werden. Diese Verbesserungen beruhen wahrscheinlich zum größten Teil auf der vorgezogenen natürlichen Selektion. Die gleichzeitige Steigerung der Fertilisierungsrates läßt aber noch weitere Einflüsse vermuten.

Der Fertilisierungserfolg hängt einerseits von der Anzahl entnommener Eizellen ab, welche von der Stimulationsmethode beeinflusst wird, andererseits ist die Laborarbeit ein ganz entscheidender Faktor. Die Hormonbehandlungen wurden zwischen 1996 und 1998 nicht geändert, jedoch dürften bessere Laborbedingungen (neue Kulturmedien, zusätzliche CO<sub>2</sub>-Inkubatoren, geheizte Objektive bei allen Mikroskopen, reduzierte Raumbeleuchtung, neues Follikelpunktionsbesteck) die verbesserten Fertilisierungsraten erklären.

Ungeklärt bleibt hingegen die trotz gleicher Bedingungen erfolgte, signifikante Steigerung der Anzahl gewonnenen Oozyten im Jahr 1998. Dabei läßt sich die Hypothese, daß die Oozytenqualität mit zunehmender Anzahl entnommener Eizellen sinke, nicht bestätigen. Die erhöhten Schwangerschafts- und Geburtenraten gehen parallel mit der Steigerung der Implantationsrate. Daraus läßt sich schließen, daß die unbefriedigenden Resultate des Tag 2-Transfers hauptsächlich auf Implantationsversagen anomaler, nicht lebensfähiger Embryonen beruhen. Zusätzlich wird eine bessere Synchronisation mit dem Endometrium erreicht, womit der Tag 5-Transfer die physiologischere Methode mit mehr Erfolgsaussichten darstellt.

Eine Folge der verlängerten Selektionszeit ist die verminderte Anzahl der für die Kryokonservierung zur Verfügung stehenden Embryonen. Das drückt sich auch in den Zahlen aus: Während es im Jahr 1996 beim Tag 2-Transfer insgesamt zu 25 Zyklen mit Kryokonservierung kam, beschränkte sich 1998 die Anzahl der Kryokonservierungen auf 19 Zyklen. Es konnten 1996 123, 1998 nur 101 Embryonen kryokonserviert werden. Diese sollten jedoch qualitativ besser sein, was sich in der Folge auch in verbesserten Resultaten in den Auftauzyklen ausdrücken sollte. Das Argument, daß beim Tag 2-Transfer noch ein großes Potential in den kryokonservierten Embryonen stecke, muß relativiert

werden, da noch keine Selektion genetisch defekter Embryonen stattfinden konnte. Somit können beim Tag 2-Transfer wohl mehr Embryonen kryokonserviert werden, welche jedoch insgesamt auch mehr genetische Defekte aufweisen.

Die eigenen Erfahrungen mit Auftauzyklen nach Blastozystentransfer sind bis jetzt noch zu klein, um Aussagen machen zu können. Jedoch sollte bei den verbesserten Resultaten des Blastozystentransfer ein Auftauzyklus auch weniger oft nötig sein, da vermehrt schon der erste Versuch zum gewünschten Erfolg führt. Ein weiteres eindruckliches Resultat findet sich im Verhältnis erreichter Schwangerschaften pro transferierten Embryonen. Dieses Verhältnis konnte durch den Blastozystentransfer verdoppelt werden: Von 11,58 % (1996) erhöhte sich die Zahl auf 22,67 % (1998). Aufgrund der zu kleinen Stichprobe konnte jedoch keine statistische Signifikanz nachgewiesen werden. Die größte Bedeutung dieser Verbesserung liegt darin, daß sich so mit weniger transferierten Embryonen höhere Schwangerschaftsraten erzielen lassen und somit die Gefahr von Mehrlingsschwangerschaften deutlich reduziert wird. Während unserer Studie kam es beim Tag-2-Transfer zu zwei Zwillingsschwangerschaften, beim Blastozystentransfer trat keine Zwillingsschwangerschaft auf.

Insgesamt konnten also im Kantonsspital Baden die Resultate in der Reproduktionsmedizin verbessert werden. Das Ziel einer Schwangerschaftsrate von 50 % dürfte erreichbar sein, vor allem auch zusammen mit den weiteren technischen Verbesserungen wie dem ultraschallgesteuerten Transfer. Für weitere Analysen des Blastozystentransfers wären eine Multizenterstudie oder ein längerer Beobachtungszeitraum empfehlenswert, weil dadurch ein größeres Patientenkollektiv untersucht werden könnte.

Diese Arbeit basiert auf einer retrospektiven Matched-Pair-Analyse,

deren Vorteil darin liegt, daß die zwei zu untersuchenden Gruppen vergleichbar sind. Die Patientinnen, welche sich einem Blastozystentransfer unterzogen haben, stimmen in Alter, Indikation und Anzahl entnommener Oozyten mit der Vergleichsgruppe überein, nämlich Patientinnen, welche einen Tag-2-Transfer erhielten. Ein Nachteil liegt darin, daß auf diese Weise viele Patientinnen mit Tag-2-Transfer nicht in die Studie einbezogen werden konnten, weil sich keine Paarungen mit Patientinnen mit Blastozystentransfer ergaben. Der Vorteil einer retrospektiven Studie liegt in der kurzen Zeitdauer, in welcher die Studie durchgeführt werden kann. Da alle Daten bereits vorliegen, können sie direkt verarbeitet werden. Ein Nachteil liegt jedoch darin, daß Verzerrungen infolge mangelhafter Dokumentation der wichtigen Daten auftreten können. Patientinnen mit lückenhafter Dokumentation fallen daher ebenfalls aus der Studie. Außerdem können Fehler in einer Dokumentation kaum aufgedeckt werden. Zu empfehlen wäre eine randomisierte prospektive Fall-Kontroll-Studie, wobei diese in diesem Gebiet aus ethischen und psychologischen Gründen schwierig sein dürfte. Es fänden sich wohl nur wenige Patientinnen, welche sich für eine solche Studie bereit erklären würden.

#### Literatur:

1. Spira A. Epidemiology of human reproduction. Hum Reprod 1986; 1: 111-5.
2. Swerdloff RS, Wang C, Kandeel FR. Evaluation of the infertile couple. Endocrinol Metab Clin North Am 1988; 17: 301-37.
3. Haxton MJ, Black WP. The aetiology of infertility in 1162 investigated couples. Clin Exp Obstet Gynecol 1987; 14: 75-9.
4. Edwards RG, Brody SA. Principles and practice of assisted human reproduction. W.B. Saunders Company, Philadelphia, PA, USA 1995.
5. Brinsden PR, Rainsbury PA. A textbook of in vitro fertilization and assisted reproduction. Parthenon publishing, 1992.
6. Gardner DK, Lane M, Calderon I et al. Environment of the preimplantation

human embryo in vivo-metabolite analysis of oviduct and uterine fluids and metabolism of cumulus cells. *Fertil Steril* 1996; 65: 349–53.

7. Gardner DK, Vella P, Lane M et al. Culture and transfer of human blastocysts increases implantation rates and reduces the need for multiple embryo transfers. *Fertil Steril* 1998; 69: 84–8.

8. Gardner DK, Lane M, Batt P. Uptake and metabolism of pyruvate and glucose by individual sheep preattachment embryos developed in vivo. *Mol Reprod Devel* 1993; 36: 313–9.

9. Rutherford AJ, Subak-Sharpe RJ, Dawson KJ et al. Improvement of in vitro fertilization after treatment with busserelin, an agonist of luteinising hormone releasing hormone. *Br Med J* 1988; 296: 1765–8.

10. Munne S, Marquez C, Reing A et al. Chromosome abnormalities in embryos obtained after conventional in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 1998; 69: 904–8.

11. Munne S, Weier HU, Grifo J et al. Chromosome mosaicism in human embryos. *Biol Reprod* 1994; 51: 373–9.

12. Evsikov S, Verlinsky Y. Mosaicism in the inner cell mass of human blastocysts. *Hum Reprod* 1998; 13: 3151–5.

13. Plachot M, de Grouchy J, Junca AM et al. Chromosome analysis of human oocytes and embryos: does delayed fertilization increase chromosome imbalance? *Hum Reprod* 1988; 3: 125–7.



**Dr. med. Mirjam Beyeler**

*Studium der Humanmedizin von 1993 bis 1999 an der Universität Zürich. Anschließend Tätigkeit an der medizinischen Klinik des Spitals Bülach. Seit 01.04.02 am Limmattalspital Schlieren/Urdenorf. Dissertation 2001 zum Thema „Vergleich der Schwangerschaftsrate nach in vitro-Fertilisation und intrazytoplasmatischer Spermieninjektion zwischen dem*

*Embryotransfer am Tag 2 und Tag 5 (Blastozystentransfer) – Eine kontrollierte matched-pair-Analyse“ unter Leitung von Prof. Dr. med. M.K. Hohl und Dr. med. M. Häberle.*

**Korrespondenzadresse:**

*Dr. med. Mirjam Beyeler  
Limmataustrasse 8, CH-8952 Schlieren  
e-mail: beyeler\_mirjam@bluewin.ch*

14. Plachot M, Mandelbaum J, Junca AM et al. Cytogenetic analysis and developmental capacity of normal and abnormal embryos after IVF. *Hum Reprod* 1989; 4 (Suppl): 99–103.

15. Zenzes MT, Casper RF. Cytogenetics of human oocytes, zygotes and embryos after in vitro fertilization. *Hum Genet* 1992; 88: 367–75.

16. Manor D, Kol S, Lewit N et al. Undocumented embryos: do not trash them, FISH them. *Hum Reprod* 1996; 11: 2502–6.

17. Jamieson ME, Coutts JR, Connor JM. The chromosome constitution of human preimplantation embryos fertilized in vitro. *Hum Reprod* 1994; 9: 705–15.

18. Munne S, Grifo J, Cohen J et al. Chromosome abnormalities in human arrested preimplantation embryos: a multiple-probe FISH study. *Am J Hum Genet* 1994; 55: 150–9.

19. Edwards RG, Hollands P. New advances in human embryology: implication of the preimplantation diagnosis of genetic disease. *Hum Reprod* 1988; 3: 549–56.

20. Tsirigotis M. Blastocyst stage transfer: pitfalls and benefits. *Hum Reprod* 1998; 13: 3285–9.

21. Gardner DK, Schoolcraft WB. No longer neglected: the human blastocyst. *Hum Reprod* 1998; 13: 3289–92.

ANTWORTFAX

# JOURNAL FÜR FERTILITÄT UND REPRODUKTION

Hiermit bestelle ich

ein Jahresabonnement  
(mindestens 4 Ausgaben) zum  
Preis von € 36,- (Stand 1.1.2007)  
(im Ausland zzgl. Versandkosten)

Name

Anschrift

Datum, Unterschrift

## Einsenden oder per Fax an:

Krause & Pachernegg GmbH, Verlag für Medizin und Wirtschaft,  
Postfach 21, A-3003 Gablitz, **FAX: +43 (0) 2231 / 612 58-10**

---

**Bücher & CDs**  
**Homepage: [www.kup.at/buch\\_cd.htm](http://www.kup.at/buch_cd.htm)**

---

## Unsere Sponsoren:

**BA~CA** Real Invest

Real Invest Austria.  
Der erste österreichische Immobilienfonds.

☎ 01/331 71-9000  
oder [www.realinvest.at](http://www.realinvest.at).