

Aus der Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe
der Universität zu Lübeck

Direktor: Prof. Dr. med. K. Diedrich

und

der Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe
der Medizinischen Fakultät Charité
der Humboldt-Universität zu Berlin

Direktor: Prof. Dr. med. W. Lichtenegger

**Bestimmung von Parametern zur Vorhersage eines ovariellen
Überstimulationssyndroms in einem Kollektiv von Patientinnen
zur IVF/ICSI**

Inauguraldissertation

zur
Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck

-Aus der Medizinischen Fakultät-

vorgelegt von

Ulrike Wiegank
aus Stralsund

Lübeck 2004

I. Einleitung und Problemstellung

1.1. Bedeutung von Sterilität und Sterilitätstherapie

Die Technik der In-vitro-Fertilisation wird seit 1977 angewendet. Mitte der 60er Jahre begann Edwards mit seinen Experimenten an menschlichen Eizellen, die in Zusammenarbeit mit Steptoe 1977 zu einer Eileiterschwangerschaft und 1978 zur Geburt von Louise Brown führten (Steptoe und Edwards, 1978). 1982 wurde mit Oliver Wimmelbacher in der Universitätsklinik Erlangen-Nürnberg das erste deutsche Kind nach IVF geboren. In den Anfängen wurde vornehmlich Patientinnen mit tubarer Sterilität auf diese Weise geholfen.

Heute werden in Deutschland in mehr als 100 Zentren assistierte reproduktionsmedizinische Behandlungen mit einem breiten Spektrum von Indikationsstellungen, wie z.B. funktionell-anatomischer Sterilität, Endometriose, immunologischen Sterilitätsursachen, idiopathischer Sterilität, Ovulationsstörungen sowie andrologischer Störungen durchgeführt. Der Anteil ungewollt kinderloser Paare wird auf ca. 15-20% geschätzt. Dabei steht immer mehr die Behandlung der männlichen Subfertilität im Vordergrund. Dies drückt sich im hohen Anteil der durchgeführten intrazytoplasmatischen Spermieninjektionen (ICSI) als einzig erfolgreicher Therapiemethode bei dieser Problematik aus. Im Jahr 2002 wurden in Deutschland über 87 000 Therapiezyklen mit den Techniken der IVF, ICSI, GIFT und Auftauzyklen durchgeführt, von denen ca. 38 300 (ca. 44%) auf ICSI bzw. IVF/ICSI-Behandlungen entfielen. Die durchschnittliche Schwangerschaftsrate lag nach IVF bei 26,80%, die nach ICSI bei 27,05% pro durchgeführtem Transfer (Deutsches IVF-Register, Jahrbuch 2002).

1.2. Ovarielle Stimulationsbehandlung

Vorraussetzung für einen Behandlungserfolg mittels IVF ist eine wirksame ovarielle Stimulation und damit die Gewinnung reifer Eizellen. Nachdem in den Anfängen der IVF der natürliche, unstimulierte Zyklus der Frau genutzt wurde, um eine einzelne Eizelle aus einem reifen Follikel laparoskopisch zu gewinnen (Steptoe und Edwards, 1978), ist es den Erfahrungen der Tiermedizin zu verdanken dass die Möglichkeit der kontrollierten ovariellen Stimulation (COS)

erfolgreich in die Humanmedizin übertragen werden konnte. Anfang der 80er Jahre wurden hierzu erste Berichte publiziert (Trounson et al., 1981).

Bei den verschiedenen Varianten der medikamentösen ovariellen Stimulation werden die endogenen Regulationsmechanismen zur Follikelreifung und Ovulationsinduktion außer Kraft gesetzt.

Im Gegensatz zur *in-vivo*-Befruchtung, wo im Rahmen der ovariellen Stimulation möglichst nur eine Eizelle heranreifen soll, um Mehrlingsschwangerschaften mit ihren Risiken zu vermeiden, wird bei der Stimulation zur extrakorporalen Befruchtung die kontrollierte Hyperstimulation und damit die Gewinnung möglichst vieler Eizellen zur gleichen Zeit angestrebt.

Die künstliche Stimulation birgt das Risiko des ovariellen Überstimulationssyndroms (*ovarian hyperstimulation syndrome*, OHSS) in sich, dessen Pathophysiologie bisher als nicht völlig aufgeklärt gilt. Das OHSS ist schon seit 1943 bekannt, als Gonadotropine, gewonnen aus dem Serum schwangerer Stuten, dem Hypophysenextrakt vom Schaf bzw. Urin schwangerer Frauen, zur Ovulationsauslösung eingesetzt wurden (Rydberg et al., 1943; Davis et al., 1944). Initial ist es durch vergrößerte Ovarien, einhergehend mit Unwohlsein, gekennzeichnet. In der fortgeschrittenen Form sind die Ovarien zystisch aufgetrieben mit einem Durchmesser von teilweise deutlich über 10 cm. Klinisch treten Spannungsgefühl, Abdominalschmerzen, Übelkeit, Erbrechen sowie Diarrhoe hinzu (Hurwitz et al., 1983; Goshen et al., 1992).

Die ersten Anzeichen des OHSS sind die Bildung einer geringen Aszitesmenge, die manchmal nur mittels transvaginalen Ultraschalls sichtbar gemacht werden kann. In der ausgeprägteren Form ist der Aszites auch klinisch auszumachen, jedoch selten vor dem 7. Tag nach hCG-Applikation.

Verschiedene biochemische Komponenten, produziert im Übermaß während der Ovulationsinduktion, initiieren offenbar eine Kaskade von Ereignissen, die schlussendlich im OHSS enden.

Verstärkte Vasodilatation und Kapillarpermeabilität gehören zu den initialen Veränderungen, die zum vollen Erscheinungsbild und der Aufrechterhaltung des OHSS führen. Bisher ist wenig über das intraovarielle parakrine Regulationssystem bekannt. Das Ovar und u.a. die residenten ovariellen

Leukozyten sezernieren eine Vielzahl von Zytokinen und Wachstumsfaktoren (Adashi, 1990). Proinflammatorische Zytokine spielen offenbar eine entscheidende Rolle in der Pathogenese des OHSS (Loukides et al, 1990; McClure et al., 1994; Robertson et al., 1995; Krasnow et al., 1996; Abramov et al., 1997; Artini et al., 1998; Arici et al., 1996; Ludwig et al., 1999).

1.2.1 GnRH-Agonisten

Bei der Stimulationsbehandlung mit urinären Gonadotropinen wie hMG (humanes Menopausengonadotropin) oder rekombinantem humanem (rh-)FSH kommt es in bis zu 20% der Zyklen zu einem vorzeitigen LH-Anstieg, zur Luteinisierung der Follikel und damit zum Abbruch der Therapie. Der vorzeitige Anstieg der LH-Konzentration („*premature LH-surge*“) wirkt sich außerdem negativ auf die Oozyten- und Embryonenqualität sowie auf die Schwangerschaftsraten aus (Loumaye, 1990; Stanger und Yovich, 1985). Durch die Behandlung mit synthetisch hergestellten GnRH-Agonisten ist die Stimulationstherapie planbar geworden. Der vorzeitige LH-Anstieg wird verhindert.

Das Prinzip beruht auf der Downregulation der hypophysären GnRH-Rezeptoren und damit einer Desensitivierung der Hypophyse (Schmutzler und Diedrich, 1990). Die Rezeptorbindungsaffinität der GnRH-Agonisten an den gonadotropen Zellen der Adenohypophyse ist 100-200fach höher als die des natürlichen Peptids. Bei der Bindung an die Rezeptoren kommt es zunächst zu einer vermehrten Entleerung der FSH- und LH-Speicher (*flare up*- Effekt) und zu einer vorübergehenden Vermehrung der membranständigen Rezeptoren (*up*-Regulation). Bei langandauernder Einwirkung des GnRH-Agonisten über mehrere Tage kehrt sich dieser Effekt um, und die Rezeptordichte nimmt ab. Die Agonisten-Rezeptoren-Komplexe werden in die Zellen aufgenommen und lysosomal abgebaut, die Neusynthese kann diesen Rezeptorenschwund allerdings nicht kompensieren.

Gleichzeitig erfolgt die Hemmung der Postrezeptor-Mechanismen, die eine abnehmende Synthese von LH und FSH bewirkt. Ergebnis ist eine unempfindliche Hypophyse, die refraktär gegenüber hypothalamischem GnRH ist. Da die Serumkonzentrationsspiegel von FSH und LH abfallen, bleiben die ovarielle

Steroidsynthese und damit die Follikelreifung aus. Nach ca. 6 Wochen setzt wieder ein hypothalamisch-hypophysär gesteuerter Zyklus ein.

Durch Kombination von Gonadotropinen und GnRH-Analoga werden gute Schwangerschaftsraten dadurch erreicht, dass bei Fehlen der vorzeitigen Luteinisierung eine hohe Anzahl befruchtungsfähiger, reifer Eizellen gewonnen werden kann.

1.2.2 GnRH-Antagonisten

Zukünftig werden die GnRH-Antagonisten zunehmende Bedeutung erhalten, die nicht im Vorzyklus, sondern erst im Stimulationszyklus gegeben werden (Felberbaum et al., 1995). Die subkutan verabreichbaren Substanzen können bei Verkürzung der Stimulationszyklen die Gonadotropingabe optimieren und sind dabei therapeutisch ähnlich sicher wie die GnRH-Agonisten Protokolle.

Der GnRH-Antagonist konkurriert mit dem normalen GnRH um die Bindung an den zellmembranständigen Rezeptoren, verhindert deren Mikroaggregation und damit die Signalübermittlung zur Auslösung der Mechanismen an den Postrezeptoren. Der GnRH-Antagonist besitzt keine intrinsische Aktivität und ist damit ein kompetitiver Hemmer am GnRH-Rezeptor. Anders als der Agonist zeigt der Antagonist in sensiblerem Maße Dosisabhängigkeit, und die antagonisierende Wirkung in der Hypophyse setzt sofort ohne den zwischenzeitlich stimulierenden Effekt ein (Coy et al., 1982). Vorteil gegenüber der Behandlung mit den Agonisten ist das Ausbleiben der typischen Nebenwirkungen des Estradiolentzuges wie Hitzewallungen, Schweißausbrüche, Kopfschmerzen.

Interessanterweise führt der Einsatz von GnRH-Antagonisten in der ovariellen Stimulation zu einer signifikanten Senkung des OHSS Risikos. Ob dafür die Wirkung an GnRH-Rezeptoren oder aber ein physiologischeres Follikelwachstum verantwortlich sind, ist bisher ungeklärt (Ludwig et al., 2001; Al-Inany und Aboulghar, 2002).

1.2.3 Ovulationsauslösung

Durch die einmalige subkutane Gabe von hCG (humanes Choriongonadotropin) kann die Ovulation ausgelöst werden, wenn die Follikelreifung abgeschlossen ist. HCG ähnelt in seiner Struktur und Wirkung dem LH, weist aber mit über 24

Stunden eine längere Halbwertszeit als LH - mit weniger als 30 min -, eine höhere Rezeptoraffinität und einen längeren intrazellulären Effekt, verglichen mit LH, auf. Insgesamt wird eine biologische Halbwertszeit von 6 Tagen angenommen (Casper, 1996). Es imitiert den mittzyklischen LH-Anstieg und induziert damit die Ovulation.

Die Alternative zu hCG besteht in der Gabe eines GnRH-Agonisten, um die Ovulation herbeizuführen, wenn zuvor die Behandlung mit einem Antagonisten stattgefunden hat. Diese Kombination zweier Präparate offenbart eine einzigartige Möglichkeit, das OHSS-Risiko zu senken (Imoedemhe et al., 1991; Itskovitz et al., 1993; Fauser et al., 2002; Kol, 2004).

1.3. Risiken der ovariellen Stimulationstherapie

Die schwerwiegendste und häufigste Komplikation in der assistierten Reproduktion ist das OHSS, das je nach untersuchtem und behandeltem Kollektiv in 1-10% der IVF-Zyklen auftritt (Brinsden et al., 1995; Ludwig et al., 1998) und dessen Pathophysiologie bisher als nicht aufgeklärt gilt.

Dabei ist bekannt, dass das OHSS durch hCG getriggert wird, unabhängig davon, ob das hCG exogen zugeführt wird oder endogen durch eine Schwangerschaft wirkt.

Das OHSS ist durch massiven Abstrom proteinreicher Flüssigkeit aus dem intra- in den extravasalen Raum gekennzeichnet (*generally capillary leaking*). Patientinnen mit schwerem OHSS können dabei lebensbedrohliche Komplikationen wie Hypovolämie, Hämorrhagie, Leber-Nieren-Versagen, Thrombembolien sowie ein *acute respiratory distress syndrome* (ARDS) entwickeln. Die Mortalität wird auf 1 zu 45 000 bis 1 zu 500 000 geschätzt (Brinsden et al., 1995).

Seit der Begriffsdefinition durch die WHO (1973) und später durch Schenker und Weinstein (1978) nahm das Problem des OHSS durch die Intensivierung der ovariellen Stimulation in Verbindung mit GnRH-Analoga sowie eine weltweite Zunahme der Behandlungszyklen zu.

Auch wenn heutzutage schwere Formen in nur in 2-3% der Fälle auftreten, so können sich doch die mildereren Formen auch bei sorgfältiger Therapieplanung nie ganz vermeiden lassen. Deshalb ist es wichtig, das individuelle Risiko der

eigentlich körperlich gesunden Patientin, durch therapeutische Interventionen gefährdet zu werden, genau abzuwägen.

Junge Frauen und solche mit polyzystischen Ovarsyndrom (PCOS), Hyperandrogenämie oder asthenischem Körperbau gelten als Risikoklientel für die Entwicklung eines OHSS (Navot et al., 1992; Keck und Geisthövel, 1999). Mit der Häufigkeit und dem Schweregrad des OHSS sind positiv korreliert:

Anzahl der Follikel <14 mm,

Estradiolwerte >2500pg/ml,

Anzahl gewonnener Oozyten >10,

Art der ovariellen Stimulation.

In der Literatur werden verschiedene Faktoren beschrieben, die als Hinweiszeichen für das drohende Überstimulationssyndrom gewertet werden können. Dabei handelt es sich um Proteine, die bei Reaktionen des Immunsystems, vor allem im Rahmen von Entzündungen, eine Rolle spielen. Damit sind auch schon die Grenzen für die Wichtung der Ergebnisse gezeigt. Es gibt bisher keinen spezifischen Marker, der laborchemisch bei der Erkennung des frühen OHSS eine Rolle spielt. Die bisher untersuchten Parameter wie Estrogen, Renin, Angiotensin II, (Fernandez et al., 1985; Navot et al., 1987; Ong et al., 1991; Delbaere et al., 1994) Prostaglandine PGE₂, PGI₂ (Borenstein et al., 1989; Balasch et al., 1990) und Histamin (Pride et al., 1986), Inhibin A und B (Enskog et al., 2000) ergaben keine eindeutigen Hinweise. Die klinische Symptomatik gilt bisher als der aussagekräftigste Befund (Ludwig et al., 1998).

Neueste Untersuchungen sind auf vasoaktive Substanzen fokussiert, da bekannt ist, dass sich grundlegende Veränderungen im Gefäßkompartiment - wie verstärkte Vasodilatation und Kapillarpermeabilität - vollziehen (Dourron et al., 1996).

1.4. Pathophysiologie des Überstimulationssyndroms

1.4.1 Übersicht

Ob ein Follikel das präovulatorische Stadium erreicht oder atretisch wird, hängt nicht nur davon ab, welches lokale endokrine Milieu ihn umgibt, sondern auch davon, welchen Grad die Vaskularisation erreicht hat. Die Gefäßversorgung dient der Substratzufuhr für die Steroidsynthese und sichert den Zugang der gonadotropen Hormone zum reifenden Follikel.

Die Neoangiogenese ist besonders in der Lutealphase des Zyklus bedeutsam. Eine Reihe angiogenetisch wirksamer Faktoren konnte ermittelt werden, denen eine Schlüsselrolle bei der Neoangiogenese zukommt. Für das Ovar spielt dabei der *Vascular Endothelial Growth Factor*, VEGF, eine besondere Rolle.

Es gibt Hinweise dafür, dass VEGF als ein wichtiger Faktor zur Entstehung des OHSS angesehen werden muss (Rizk et al., 1997). Dies konnte sowohl *in vitro* (Neulen et al., 1995; Lee et al., 1997) als auch *in vivo* gezeigt werden (Krasnow et al., 1996; Abramov et al., 1997; Agrawal et al., 1997; Friedmann et al., 1997; Lee et al., 1997; Artini et al., 1998; Ludwig et al., 1998a; Ludwig et al., 1999; Pellicer et al., 1999). So fanden sich erhöhte VEGF-Spiegel im Serum, Urin, Aszites, Follikelflüssigkeit und Pleuraexsudat von Patientinnen mit OHSS (McClure et al., 1994; Robertson et al., 1995). VEGF bewirkt durch direkten Einfluss auf Endothelzellen eine Zunahme der Kapillarpermeabilität (Pepper et al., 1992).

Das ovarielle Renin-Angiotensin-System wird ebenso durch hCG aktiviert (Lipitz et al., 1991; McClure et al., 1992). Die in stimulierten Patientinnen nachgewiesenen höheren Reninspiegel führen zu erhöhter Angiotensinaktivität. Angiotensin II, der stärkste Vasokonstriktor, fördert die ovarielle Angiogenese, Zystenbildung und Flüssigkeitsretention. Die Endothelzellkontraktion bewirkt eine erhöhte Kapillarpermeabilität und den Abstrom von Flüssigkeit in den interstitiellen Raum.

Intravasal führt das zur Hämokonzentration und Aktivierung des Gerinnungssystems und damit zu einer Ursache für thrombembolische Komplikationen (Kodama et al., 1997). Hypovolämie und Hypalbuminurie mit arterieller Hypertonie legen im Extremfall den Grundstein für ein Nierenversagen.

In der Follikelflüssigkeit lassen sich Makrophagen und Monozyten nachweisen (Loukides et al., 1990), die postovulatorisch in das folliculäre Kompartiment als Folge der postentzündlichen Reaktion einwandern und in der Lage sind, Zytokine wie z.B. IL-6, IL-8, TNF- α zu produzieren (Arici et al., 1996; Loret de Mola et al., 1996). Dabei zeigte sich, dass z.B. die Höhe der IL-6-Spiegel im Aszites und der Follikelflüssigkeit mit der Schwere des Verlaufes des OHSS korreliert (Abramov et al., 1996; Geva et al., 1997).

Zytokine sind Kommunikationsmittel des Immunsystems. Man bezeichnet sie auch als Monokine, weil sie vor allem von Zellen der Monozyten-Makrophagen-Linie, ferner von Endothelzellen produziert werden. Es sind strukturell sehr verschiedenartige Polypeptide (Glykoproteine), die als Botenstoffe fungieren. Zytokine sind in die Kontrolle lokaler und systemischer Ereignisse der Immunantwort, Entzündungsreaktion, Heilung und Hämatopoese verwickelt. Sie haben eine regulierende Wirkung für die Kontrolle des Wachstums und der Differenzierung von Zellen insbesondere des hämatopoetischen Systems (Blutbildung, Abwehrfunktion). Sie berühren auch die neuroendokrinen Ereignisse der Reproduktion, die Funktion der Ovarien und Testes sowie des Endometriums. So spielen sie offenbar bei der intraovariellen Regulation eine bedeutende Rolle, indem sie das Follikelwachstum, die Ovulation und die Corpus luteum-Bildung durch direkte und indirekte Wirkung auf die Zellen des Ovars modulieren (Adashi, 1990). Sie haben Einfluss auf die Embryonalentwicklung, Entwicklung der Plazenta und nicht zuletzt auf Mechanismen, die den Prozess der Geburt einleiten. Zytokine modulieren und vermitteln die Wirkung von Hormonen auf ihre Zielzellen, und umgekehrt können Hormone die Produktion und Wirkung von Zytokinen auf drei verschiedenen Ebenen regulieren.

Zytokinsekretion, Zytokin-Rezeptorexpression und Zellantworten. Zytokine arbeiten oft als Netzwerk zusammen, wobei ein Zytokin die Produktion eines anderen Zytokins bzw. seiner Zellrezeptoren hervorruft. Ein Zytokin kann mehrere verschiedene Funktionen in Abhängigkeit von der Zielzelle und der Umgebung ausüben. Zytokine verbinden das reproduktive endokrine System mit dem Immunsystem.

Unter der Bezeichnung Interleukine fasst man verschiedene Regulatorproteine zusammen (IL1-18), die der Kommunikation zwischen verschiedenen

Lymphozyten, Granulozyten und Makrophagen dienen (Aktivierung, Proliferation, Differenzierung von Lymphozyten, Aktivierung von Granulozyten und Makrophagen u.a.). Es gibt hierfür zahlreiche Synonyme. Sie modulieren bei Verletzungsreaktionen und inflammatorischen Geschehen neoangiogenetische Prozesse.

Die in die Pathophysiologie möglicherweise involvierten Faktoren sind im Folgenden kurz charakterisiert.

1.4.2 Interleukin (IL)-6

IL-6 ist ein Zytokin, das der Untergruppe der Hämatopoetine zugeteilt ist. Strukturell handelt es sich um ein Monomer aus 184 Aminosäuren. Es regt u.a. die Synthese von Proteinen der akuten Phase in den Hepatozyten an (Akutphaseprotein). Außerdem ruft es als endogenes Pyrogen Fieber hervor, mobilisiert Neutrophile und induziert die Bildung und Differenzierung von B- und T-Lymphozyten (Hirano, 1998). Es wird in vielen Geweben, so auch in den Gonaden, exprimiert. Es nimmt an der Regulation der Follikulogenese und Granulosazell-Steroidogenese teil (Adashi, 1990). In der Ratte wurde gezeigt, dass Granulosazellen IL-6 produzieren (Gorospe et al., 1992; Alpizar et Spizer, 1993; Gorospe et Spangelo, 1993). Loret de Mola konnte den immunhistochemischen Nachweis der IL-6-Expression in Corpora lutea erbringen (1996b).

1.4.3 Interleukin (IL)-8

IL-8 gehört in die Untergruppe der Chemokine. IL-8 besteht aus 69-79 Aminosäuren und bildet Dimere. Es wird nicht nur von Makrophagen, sondern neben einer Vielzahl anderer Zelltypen von Endothelzellen als Reaktion auf Antigene, die physische Schäden verursachen, bakterielle Produkte und auf Viren gebildet. Als ein chemotaktischer Faktor für neutrophile Zellen regt IL-8 diese Zellen dazu an, die Blutbahn zu verlassen und in umgebendes Gewebe einzuwandern (Transmigration).

1.4.4 Tumornekrosefaktor (TNF)- α

Tumornekrosefaktoren zählen als eigene Untergruppe zu den Zytokinen. TNF- α (Kachektin) wird von Makrophagen/Monozyten gebildet. Aus 157 Aminosäuren bestehend, mit einem Molekulargewicht von 17 kd, kommt er als Trimer vor. Er aktiviert das Gefäßendothel und erhöht die Permeabilität der Gefäßwände, was zu einem vermehrten Einstrom von IgG, Komplementproteinen und Zellen sowie zu einer gesteigerten Lymphdrainage führt. Systemische Effekte sind Fieber, Mobilisierung von Metaboliten und Schock.

1.4.5 Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)

Der *Vascular Endothelial Growth Factor* ist ein Protein mit einem Molekulargewicht von 34-42 kd (Senger et al, 1983). Es erhöht die Permeabilität von Blutgefäßen als mitogenes Signal für Endothelzellen in Arterien, Venen und Lymphgefäßen (Conolly et al, 1991; Ferrara et al., 1991). Seine verschiedenen Isoformen werden entsprechend der beteiligten Anzahl von Aminosäuren als VEGF₁₂₁, VEGF₁₆₅, VEGF₁₈₉ und VEGF₂₀₆ bezeichnet (Charnock-Jones et al., 1993). Die beim Menschen am häufigsten vorkommende Isoform ist VEGF₁₆₅, ein dimeres Glykoprotein mit 45 kd Molekulargewicht. VEGF induziert die Angiogenese (Shifren et al., 1994). Für die zyklischen Vorgänge im Ovar kommt der Angiogenese eine besondere Bedeutung zu (Findlay, 1986). In der Phase der Follikulogenese kommt es zu einer Zunahme der Kapillaren in Nachbarschaft der Thekazellen. Eine Basalmembran trennt zunächst die Thekazellen vom avaskulären Granulosazellkompartiment. Nach der Ovulation nimmt die Gefäßproliferation drastisch zu. Wenn die Basalmembran rupturiert, penetrieren die Gefäßzellen in das Granulosazellkompartiment und stellen binnen kurzem eine Verbindung zwischen Granulosazellen und Gefäßsystem her. Durch diesen Vorgang der Vaskularisation kommt es zur Ausbildung eines aktiven Corpus luteums (Phillips et al., 1990; Ravindranath et al., 1992; Kamat et al., 1995; Yamamoto et al., 1997). Ferner wurde die Expression von VEGF-*mRNA* in menschlichen Granulosazellen *in vivo* (Gordon et al., 1996) und *in vitro* (Yan et al., 1993) nachgewiesen.

Cullinan-Bove und Koos wiesen bei der Ratte nach, dass die VEGF-Expression im Uterus durch Estradiol und Estriol stimuliert wird. Damit ließe sich die durch Estriol induzierte Zunahme der Kapillarpermeabilität ableiten (Cullinan-Bove und Koos, 1993). Auch Zytokine können die VEGF-Expression steigern (Ben-Av et al., 1995). VEGF wirkt an Endothelzellen rezeptorvermittelt (Kendall et al., 1993; 1996; Waltenberg et al., 1994).

1.5. Fragestellung und Zielsetzung

Obwohl das OHSS in seiner schwersten Form selten auftritt, ist es eine iatrogene, ernst zu nehmende Komplikation im Rahmen nicht-lebenserhaltender Therapie, die potentiell lebensbedrohlich enden kann.

Deshalb wäre es wünschenswert, Risikopatientinnen rechtzeitig zu erkennen und zu behandeln sowie Faktoren zu bestimmen, die das Krankheitsbild beeinflussen.

Hierzu wurde ein prospektiver Studienansatz mit mehrfachen, definierten Blutentnahmen angedacht, der im Wesentlichen klären sollte, ob der Zytokinbestimmung im stimulierten Vollblut ein Voraussagewert

für die Entwicklung eines OHSS,

einer Schwangerschaft und

für ein Mehrlingsrisiko zukommt.

Dabei ist auch der Zeitpunkt der Zytokinbestimmung für eine Voraussage berücksichtigt worden.

Ferner sollte geklärt werden, inwieweit die mildesten Formen des OHSS zu erwarten sind, die teilweise lediglich durch Darstellung von Aszites oder leicht vergrößerten Ovarien charakterisiert sind. Auch hier wurde gefragt, ob solche Veränderungen durch Konzentrationsänderung der untersuchten Zytokine vorhersagbar wären.

II. Material und Methoden

2.1. Patientinnenkollektiv

Für die im Folgenden vorgestellte Untersuchung wurden Blutproben von Patientinnen verwendet, die sich in der Kinderwunschsprechstunde der Charité (Campus Mitte) Berlin im Rahmen einer Sterilitätsbehandlung der *In-vitro*-Fertilisationstherapie oder intracytoplasmatischen Spermieninjektion (ICSI) gefolgt von einem Embryonentransfer unterzogen.

2.2. Studiendesign

2.2.1 Allgemeines

Zunächst wurde eine prospektive Pilotstudie mit 34 Patientinnen zur Beantwortung der Frage, ob der Zytokinbestimmung zum Zeitpunkt der Follikelpunktion ein Vorhersagewert für die Entwicklung eines OHSS zukommt, durchgeführt.

Die Datenerhebung erstreckte sich über den Zeitraum vom 14.10.1998 bis zum 27.11.1998.

Dabei wurde zunächst am Tage der Follikelpunktion und dem Tag des Embryonentransfers Serum gewonnen und daraus die Faktoren IL6, IL8, TNF- α und VEGF bestimmt. Die Einteilung der Patientinnen in Gruppen mit OHSS I-III^o bzw. drohendem OHSS erfolgte retrospektiv anhand der standardisierten WHO Kriterien (WHO, 1973).

Die anschließende Hauptstudie sollte nun die Frage beantworten, ob es einen möglichst früh bestimmbareren Zeitpunkt gibt, zu dem sich anhand des Zytokinspektrums eine Vorhersage für ein sich später entwickelndes OHSS ergibt.

Nach vorläufiger Auswertung der Pilotstudie ergab sich die Notwendigkeit, die Kriterien für die Hauptstudie enger bezüglich des Alters und der Anamnese zu fassen, um die Rate an *low responders* möglichst niedrig zu halten. So wurde die Altersgrenze von 44 auf 40 korrigiert. Hinsichtlich der Anamnese haben wir Patientinnen mit PCOS ausgeschlossen. Patientinnen, bei denen eine chronische

Erkrankung, die mit veränderten Zytokinspiegeln einhergeht, bekannt war, wie z.B. die Endometriose, nahmen ebenfalls nicht an der Studie teil.

Die der Pilotstudie folgende, ebenfalls prospektiv angelegte Hauptuntersuchung bezieht sich auf weitere 83 Patientinnen, die nach Prüfung der Ein- und Ausschlusskriterien fortlaufend vom 10.01 bis 13.05.2000 rekrutiert wurden.

Das Blutentnahmeschema wurde außerdem auf 6 Zeitpunkte erweitert, um eine optimale Aussage hinsichtlich der Verläufe der Parameter zu erlauben. Die Zuordnung der Patientinnen zu den Gruppen mit OHSS I-III^o, bzw. drohendem OHSS erfolgte ebenfalls retrospektiv.

Beide Studien wurden separat ausgewertet.

2.2.2 Einverständniserklärung

Ein Ethikvotum lag nicht vor, da keine zusätzlichen Blutproben der Patientinnen entnommen werden mussten. Die Patientinnen mussten nicht zusätzlich im Krankenhaus vorstellig werden. Die Patientinnen wurden vor Einleitung der Therapie über die Studie aufgeklärt. Es lag eine generelle schriftliche Einverständniserklärung für die Verwendung der in der Routine anfallenden Daten für die Auswertung in klinischen Studien vor.

2.3. Ein- und Ausschlusskriterien

Eingeschlossen wurden nun Patientinnen mit primärer und sekundärer Sterilität der Kinderwunschsprechstunde in der Charité (Campus Mitte) Berlin, deren Alter maximal 40 Jahre betrug. Die Behandlung erfolgte entsprechend dem langen GnRH-Agonisten-Protokoll oder einem Mehrfachdosis-GnRH-Antagonisten-Protokoll. Eine Patientin erhielt ein kurzes GnRH-Agonisten-Protokoll.

Ausgeschlossen wurden Patientinnen mit histologisch gesicherter bzw. anamnestisch bekannter Endometriose, PCO-Syndrom sowie Patientinnen, die älter als 40 Jahre waren. Nicht verwendet wurden die Daten so genannter *low responder*, die während der Therapie mit 3 bzw. weniger Oozyten pro Stimulationszyklus antworteten und damit nicht adäquat auf die Therapie ansprachen. Im Verlauf ergab sich letztendlich eine Beobachtung von 77 Patientinnen, die alle Kriterien erfüllten.

2.4. Erfasste Parameter

Es wurden anamnestische Faktoren wie Voroperationen und Vorerkrankungen, die Dauer des Kinderwunsches und die Ursache der Sterilität erfasst.

Neben der Feststellung von Alter, Körpergröße und Gewicht sowie der körperlichen Untersuchung erfolgte eine endokrinologische Basisdiagnostik. Dazu wurden am 3. und 21. Zyklustag follikelstimulierendes Hormon (FSH), luteinisierendes Hormon (LH), Prolaktin (PRL), Estradiol (E_2), Progesteron, Testosteron, Dihydroepiandrosteronsulfat (DHEAS), sexualhormonbindendes Globulin (SHBG), freies Trijodthyronin (fT_3) und thyreoideastimulierendes Hormon (TSH) bestimmt.

Während des Stimulationszyklus wurde das entsprechende Protokoll mit Begleitmedikation, FSH-Menge, Anzahl und Wachstum der Follikel, Endometriumdicke, Aszitesbildung, Laborwerten (Progesteron, Estradiol, LH, hCG) sowie der Anzahl gewonnener Eizellen und der transferierten Embryonen registriert.

2.4.1 Stimulationsprotokolle

Die Patientinnen erhielten individuell angepasste Therapie-Schemata unabhängig von dieser Studie. Dabei entfielen 66 (85,7%) auf die Behandlung mit einem langen GnRH-Agonisten-Protokoll und 11 (14,3%) auf die Behandlung mit einem Mehrfachdosis- GnRH-Antagonisten-Protokoll.

Von den Patientinnen im langen Protokoll erhielten 43 am 10. Tag des Vorzyklus Leuprorelin i.m. als Depot (Enantone-Gyn®, Takeda Pharma GmbH, Aachen, Deutschland) zur Downregulation. 23 Patientinnen wurden mit Nafarelin intranasal (Synarela®, Heumann AG, Nürnberg, Deutschland) zur hypophysären Suppression behandelt. Die 10 Patientinnen im Mehrfachdosis-GnRH-Antagonisten-Protokoll erhielten Cetrotide® 0.25mg subkutan (Serono GmbH, Unterschleißheim, Deutschland). Eine Patientin wurde im kurzen Protokoll mit Nafarelin intranasal behandelt.

Die Follikelreifung wurde mit Hilfe transvaginaler Ultraschalluntersuchungen sowie Hormonbestimmungen im Blut (Estradiol, LH, Progesteron), wie in der täglichen Routine üblich, überwacht. Sobald der Leitfollikel 20mm bzw. die Follikel im Mittel

18mm aufwiesen, wurde die Ovulation durch die s.c. Gabe von 10.000I.E. hCG (Pregnesin®, Serono GmbH, Unterschleißheim, Deutschland) ausgelöst. Die Follikelaspiration wurde 36 h nach der Ovulationsinduktion vorgenommen.

2.4.1.1. Blutentnahmeschema zur Bestimmung von Hormonen, Interleukinen, Tumornekrose- und Wachstumsfaktoren im Zyklus, Follikulometrie sonografische Bestimmung der Ovargröße

Für die Hauptstudie haben wir an 6 Tagen im Zyklusverlauf Blutproben entnommen.

Es werden jeweils pro Untersuchung ein Plasma- und ein Serum-Röhrchen abgenommen.

Die Röhrchen wurden entsprechend dem Abnahmetag mit Nummern beschriftet (Tabelle 1).

Tabelle 1: Schema der standardisierten Blutentnahmen.

Nr.	Tag	Programm
1	dx	Stimulationsbeginn
2	d-2	Ovulationsinduktion mit HCG
3	d0	Follikelpunktion
4	d+2	Embryotransfer (ET)
5	d+5	3. Tag nach ET à Ultraschallkontrolle
6	d+16	16. Tag nach ET à Schwangerschaftstest und Ultraschall

Am Tag 5 nach der Follikelaspiration wird die Patientin einbestellt, um ein mögliches frühes oder drohendes Überstimulationssyndrom rechtzeitig zu erkennen (*early onset-OHSS*). Da die subjektiven Beschwerden der Patientinnen oft vom realen Befund abweichen, ist die Objektivierung über den vaginalen Ultraschall hier routinemäßig angesetzt.

Am Tag d+16, wird neben der Ultraschallkontrolle der Schwangerschaftstest im Serum durchgeführt.

Zu diesem Test bzw. dieser Blutentnahme stellten sich 75 der 77 Patientinnen vor (97%).

Von 83 ursprünglich für die Untersuchung vorgesehenen Patientinnen erfüllten nur 6 als Zyklusabbrecher die Kriterien nicht und wurden daher aus der Studie ausgeschlossen.

2.5. Analysemethoden und Datengewinnung

2.5.1 *Ex-vivo*-Stimulation der Proben

Die Bestimmung von TNF- α , IL-6 und IL-8 erfolgt nach Vollblutstimulation mittels *ex vivo* Stimulationskit MILENA® (MEKVS 1 190 Tests, DPC Biermann GmbH, Bad Nauheim, Deutschland).

Prinzip ist dabei, mittels Stimulationslösung, die Lipopolysaccharide enthält, die im Blut befindlichen Immunzellen (Monozyten, Makrophagen) anzuregen, Zytokine zu produzieren. Durch Zentrifugation wird ein Überstand gewonnen, der die produzierten Zytokine enthält, die anschließend mit dem vollautomatischen Immulite®-System von DPC Biermann bestimmt werden können.

Probeentnahme:

Es ist erforderlich, mit Hilfe pyrogenfreier Blutentnahmesysteme heparinisiertes Blut von den Patientinnen zu gewinnen.

Pro Testansatz werden dafür 50 μ l Blut benötigt.

Die Reagenzien des Kits wurden der Anleitung entsprechend vorbereitet. Dabei enthält die Stimulationslösung lyophilisiertes Lipopolysaccharid (LPS) (50pg/ml) sowie ein Kulturmedium.

Es wurde entsprechend der Vorlage wie folgt pipettiert:

500 μ l Stimulationslösung pro Reaktionsgefäß (pyrogenfrei) auf Raumtemperatur erwärmt

50 μ l heparinisiertes Vollblut dazugeben

Der Ansatz wurde gemischt und 4h bei $37 \pm 1^\circ\text{C}$ inkubiert. Nach abgelaufener Inkubationszeit wurde der Ansatz erneut gemischt und 5min bei 1000g abzentrifugiert. Der entstandene Überstand wurde abgenommen und sofort nach den Angaben des Herstellers in den Testkit eingesetzt bzw. bei -20 bis -80°C gelagert.

2.5.2 Bestimmung von IL-6

Die Bestimmung des IL-6 wurde vollautomatisch mittels Festphasen-Chemilumineszenz-Enzymimmunoassay (Interleukin-6-Immulate®, DPC Biermann GmbH, Bad Nauheim, Deutschland) quantitativ vorgenommen.

Aus dem durch Vollblutstimulation gewonnenen Überstand wird eine Menge von 100µl (mindestens 250µl Probenüberschuss) pro Testansatz in die Probenröhrchen überführt und diese mit einem Probenträger in die Ladestation gestellt.

Der vom Hersteller angegebene Messbereich lag bei bis zu 1000pg/ml, die analytische Sensitivität bei 5pg/ml. In einer Studie des Herstellers wurden Normwerte, basierend auf Werten von 75 Seren gesunder Blutspender, von nicht detektierbar bis 5,4pg/ml ermittelt. Normwerte nach *ex vivo*-Stimulation ergaben sich von 89-336pg/ml.

2.5.3 Bestimmung von IL-8

Die Bestimmung des IL-8 wurde ebenfalls vollautomatisch mittels Festphasen-Chemilumineszenz-Enzymimmunoassay (Interleukin-8-Immulate®, DPC Biermann GmbH, Bad Nauheim, Deutschland) quantitativ vorgenommen.

Aus dem durch Vollblutstimulation gewonnenen Überstand wird eine Menge von 50µl (mindestens 100µl Probenüberschuß) pro Testansatz in die Probenröhrchen überführt und diese mit einem Probenträger in die Ladestation gestellt.

Der vom Hersteller angegebene Messbereich lag bei bis zu 7500pg/ml, die analytische Sensitivität bei 2pg/ml. In einer Studie des Herstellers ergaben sich Normwerte (50 Seren gesunder Blutspender) von nicht detektierbar bis 62pg/ml. Normbereich nach *ex vivo*-Stimulation beträgt 152-731pg/ml.

2.5.4 Bestimmung von TNF- α

Die Bestimmung des TNF- α wurde vollautomatisch mittels Festphasen-Chemilumineszenz-Enzymimmunoassay (TNF- α -Immulate®, DPC Biermann GmbH, Bad Nauheim, Deutschland) quantitativ vorgenommen.

Aus dem durch Vollblutstimulation gewonnenen Überstand wird eine Menge von 100 μ l (mindestens 250 μ l Probenüberschuß) pro Testansatz in die Probenröhrchen überführt und diese mit einem Probenträger in die Ladestation gestellt.

Der vom Hersteller angegebene Messbereich lag bei bis zu 1000pg/ml, die analytische Sensitivität bei 1,7pg/ml. In einer Studie des Herstellers wurden, basierend auf der Messung von 58 Seren gesunder Blutspender, Werte von nicht detektierbar bis 8,1pg/ml ermittelt. Nach *ex vivo*-Stimulation liegen die Normwerte zwischen 152-643pg/ml.

2.5.5 Bestimmung von VEGF

Die VEGF-Bestimmung erfolgt aus dem Serum quantitativ immunologisch mittels monoklonaler Antikörper im Sandwich-Verfahren (Quantikine®, Human VEGF Immunoassay, Katalog Nr. DVE00 von R&D-Systems, Minneapolis, MN 55413, USA/ Wiesbaden-Nordenstadt, Deutschland). Der spezifisch gegen VEGF gerichtete Antikörper ist dabei auf einer Mikrotiterplatte vorgeschichtet.

Die Vorbereitung der Reagenzien und Lösungen des Kits erfolgt gemäß der Anleitung des Herstellers. Jeweils 100 μ l der Standards und Proben werden in die Wells pipettiert. Während einer Inkubationszeit von 2h bei Raumtemperatur wird vorhandenes VEGF an die immobilisierten Antikörper gebunden. Nach Entfernung der ungebundenen Substanzen durch den Waschvorgang mit jeweils 3x400 μ l Waschpuffer, werden 200 μ l eines polyklonalen Antikörpers enzyme-linked, spezifisch gegen VEGF, hinzugefügt. Wiederum wird für 2h bei Raumtemperatur inkubiert. Ein weiterer Waschvorgang mit 3x 400 μ l Waschpuffer folgt, der die ungebundenen Antikörper-Enzym-Reagenzien entfernt. Danach wird eine Substratlösung (je 200 μ l) zugesetzt. Während der 25minütigen Inkubationszeit bei Raumtemperatur verfärbt sich die Lösung proportional zur vorhandenen VEGF-Menge. Die Zugabe von jeweils 50ml einer Stop-Lösung beendet diesen Vorgang.

Die Farbintensität wird anschließend binnen 30 Minuten über einen *Microplate reader* bei einer Wellenlänge von 450nm bestimmt.

Die vom Hersteller angegebene analytische Sensitivität lag bei 5,0pg/ml. In einer Studie des Herstellers wurden, basierend auf der Messung von 37 Seren gesunder Blutspender, Werte zwischen 62-707pg/ml ermittelt. Im Mittel 220pg/ml.

2.6. Statistik

Das Ansprechen der einzelnen Patientinnen auf die Stimulationstherapie war individuell unterschiedlich. Die Streubreite der bei den Untersuchungen gewonnenen Messwerte war groß. Die Auswertung erfolgte rechnergestützt mit einem Statistikprogramm (SPSS, USA, 2002).

Über Testrechnungen sind gleiche Datensätze mit verschiedenen Auswertungsverfahren (z.B. U-Test nach Mann-Whitney, Kolmogorov-Smirnov-Test, Kruskal-Wallis-Test, Varianzanalyse) bearbeitet worden. Anschließend wurde geprüft, ob die verschiedenen Auswertungsstrategien zu gleichen statistischen Aussagen führen.

Entsprechend der Hypothese wurde der U-Test nach Mann-Whitney durchgeführt.

Als statistische Maßzahl für die zentrale Tendenz einer Merkmalsreihe dient der arithmetische Mittelwert, zur Beurteilung der biologischen Variabilität eines Versuches dienen die Standardabweichung (SD) sowie der Variationskoeffizient (VK in %). Die Schätzgenauigkeit des Mittelwertes wurde über den Standardfehler beschrieben (SF). In der Darstellung der Ergebnisse ist der Median als Repräsentant der zentralen Tendenz und das 95% Konfidenzintervall (95% CI) zur Verdeutlichung der Abweichungen gewählt worden, um den Eindruck hoher Datenpräzision zu vermeiden.

Das errechnete Signifikanzniveau ist jeweils angegeben; $p < 0,05$ wurde als Mindest-Signifikanzniveau zu Grunde gelegt.

III. Ergebnisse

3.1. Demographische Daten der Patientinnen

Die untersuchten Patientinnen wiesen im Mittel ein Alter von $31,6 \pm 4,4$ Jahren (Median 32 Jahre) auf. Die Sterilitätsursache war in 58,4% primärer und in 41,6% sekundärer Natur. Das Körpergewicht betrug $65,12 \pm 13,3$ kg (Median 62,0 kg), die Körpergröße $1,67 \pm 0,07$ m (Median 1,68 m). Daraus ergibt sich der durchschnittliche Body Mass Index (BMI) von $23,28 \pm 4,3$ kg/m² (Median 21,6 kg/m²) (Tabelle 2).

Tabelle 2: Übersicht über das Patientinnenprofil (Alter, Größe, Gewicht, BMI) aller Patientinnen

	Mittelwert \pm SD	Median	95% CI
Anzahl	77		
Alter (Jahre)	$31,6 \pm 4,4$	32	30,31 - 32,78
sekundäre Sterilität (%)	41,6		
primäre Sterilität (%)	58,4		
BMI (kg/m ²)	$23,28 \pm 4,3$	21,6	22,2 - 24,3
Gewicht (kg)	$65,12 \pm 13,3$	62	61,9 - 68,4
Größe (cm)	$1,67 \pm 0,07$	1,68	1,65 – 1,69
Dosis der Gonadotropine (U)	$2632,2 \pm 1223,5$	2325	2348,7 - 2915,6
Anzahl der Stimulationstage	$12,9 \pm 2,8$	12	12,2 - 13,5
Estradiol bei Auslösung (pg/ml)	$2512 \pm 1287,2$	2486	2220,0 - 2804,3
Anzahl der gewonnenen EZ	$13,7 \pm 5,7$	12	12,4 - 15,1
Anzahl transferierter Embryonen	$2,49 \pm 6$	3	2,36 – 2,61
klinische Schwangerschaften	14		

BMI= Body Mass Index (Masse in kg/ [Körperhöhe in m]²), EZ= Eizellen
CI= Konfidenzintervall 95%

Bei 44 Patientinnen (57,1%) fand sich am 5. Tag nach Follikelpunktion eine Aszitesbildung. Schlüsselt man die Patientinnen hinsichtlich der Aszitesbildung am Tag 5 nach Follikelpunktion (Tabelle 3) sowie Schwangerschaft (Tabelle 4) auf, ergeben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen.

Tabelle 3: Übersicht über Gruppen mit und ohne Aszitesbildung am Tag 5 nach Embryotransfer (d5).

	Aszites d5			kein Aszites d5			
	Mittelwert±SD	Median	95% CI	Mittelwert±SD	Median	95% CI	p-Werte
Anzahl	44	44		33	33		
Alter (Jahre)	31,36 ± 4,2	32	30,1 - 32,7	31,94 ± 4,7	32	30,29 - 33,59	0,668
sekundäre Sterilität (%)	40,9			42,4			
prim.Sterilität (%)	59,1			57,6			
BMI (kg/m²)	23,4 ± 4,0	21,51	22,0 - 24,7	23,2 ± 4,7	21,64	21,4 - 24,9	0,705
Gewicht (kg)	65,5 ± 12,8	62	61,3 - 69,8	64,6 ± 14,2	59,5	59,3 - 69,9	0,491
Größe (cm)	1,67 ± 0,8	1,68	1,65 - 1,70	1,67 ± 0,8	1,67	1,64 - 1,70	1,000
Dosis der Gonadotropine (U)	2457,5 ± 862,9	2250	2195,2 - 2719,8	2888,3 ± 1596,9	2550	2292,0 - 3484,62	0,821
Anzahl der Stimulationstage	12,5 ± 2,2	12	11,9 - 13,2	13,3 ± 3,5	12	12,0 - 14,6	0,463
Estradiol bei Auslösung (pg/ml)	2692,0 ± 1218,3	2702	2321,6 - 3062,4	2272,4 ± 1355,3	1666	1791,8 - 2752,9	0,087
Anzahl der gewonnenen EZ	14,0 ± 5,6	13	12,3 - 15,7	13,41 ± 5,9	12	11,3 - 15,5	0,642
Anzahl transferierter Embryonen	2,45 ± 0,6	2,5	2,3-2,6	2,53±0,5	3	2,34-2,71	0,444
klinische Schwangerschaften	4	4		10	10		0,018*

BMI= Body Mass Index (Masse in kg/ [Körperhöhe in m]²), EZ=Eizellen, CI= Konfidenzintervall 95%

Tabelle 4: Übersicht über die Gruppen schwangerer und nicht schwangerer Patientinnen

	schwanger			nicht schwanger			p-Werte
	Mittelwert±SD	Median	95% CI	Mittelwert±SD	Median	95% CI	
Anzahl	14	14		63	63		
Alter (Jahre)	31,71±4,8	32,5	29,6-35,5	31,69±4,3	32	30,5-32,7	0,848
sekundäre Sterilität (%)	28,6			44,5			
prim.Sterilität (%)	71,4			55,5			
BMI (kg/m²)	23,8±4,7	22,8	21,0-26,6	23,0±4,1	21,2	22-24,3	0,414
Gewicht (kg)	64,4±10,9	64	57,8+71,0	64,7±13,4	61	61,5-69,1	0,962
Größe (cm)	1,64±0,7	1,65	1,6-1,69	1,67±0,8	1,68	1,66-1,70	0,260
Dosis der Gonadotropine (U)	2562,5±1365,4	2250	1695,0-3430	2645,6±1205,9	2325	2339,4-2951,9	0,708
Anzahl der Stimulationstage	13,5±2,6	13,5	11,8-15,2	12,7±2,8	12	12,0-13,4	0,275
Estradiol bei Auslösung (pg/ml)	2379±1194,9	1900,5	1689,4-3069,3	2541±1314,1	2504	2210,7-2872,6	0,712
Anzahl der gewonnenen EZ	12,8±6,0	11	9,1-16,4	13,9±5,7	13	12,5-15,4	0,391
Anzahl transferierter Embryonen	2,38±0,5	2	2,1-2,69	2,5±0,6	3	2,4-2,7	0,382
klinische Schwangerschaften	14	14		0	0		

BMI= Body Mass Index (Masse in kg/ [Körperhöhe in m]²), EZ=Eizellen, CI= Konfidenzintervall 95%

3.2. Stimulationstherapie

Die meisten Parameter der Stimulationstherapie, wie Gonadotropinmenge, gewonnene Eizellen etc. zeigen keine signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen Gruppen (Tabelle 3 und 4).

Das Estradiol bei hCG Gabe liegt in der Gruppe mit Aszitesbildung bei $2692,0 \pm 1218,3$ pg/ml (Median 2702 pg/ml) gegenüber der Gruppe ohne Aszitesbildung mit $2272,4 \pm 1355,3$ pg/ml (Median 1666 pg/ml). Es zeigt sich ein Trend zur Signifikanz ($p=0,087$). In der Gruppe der Patientinnen mit Aszites am Tag 5 wurden 4 (9%) der Frauen schwanger, in der Gruppe ohne Aszites am Tag 5 hingegen 10 (30,3%) der Frauen ($p = 0,018$).

3.3. VEGF, IL-6, IL-8, TNF-

Die untersuchten Zytokine VEGF, IL-6, IL-8 sowie TNF- α ergaben im Verlauf die in Tabelle 5 ersichtlichen Werte für alle Patientinnen:

Tabelle 5: VEGF, IL-6, IL-8 und TNF- α ; Überblick über das gesamte Patientinnen-Kollektiv

	Mittelwert \pm SD	Median	95% CI
Anzahl	77		
VEGF (pg/ml)			
dx	254,1 \pm 168,9	206,5	211,9 - 296,3
hCG	266,98 \pm 169,2	221	228,3 - 305,6
FoPu	230,9 \pm 149,2	190	197,0 - 264,7
ET	255,6 \pm 164,7	211	218 - 292,9
d5	329,3 \pm 198,1	273	283,1 - 375,6
d16	352,5 \pm 230	290	298,4 - 406,5
IL-6 (pg/ml)			
dx	426,5 \pm 246,6	363	364,9 - 488,1
hCG	458 \pm 199,4	443	412,5 - 503,0
FoPu	465 \pm 277,7	411	399,2 - 529,8
ET	553 \pm 256,1	525	492,9 - 612,4
d5	571,3 \pm 260,3	536	510,6 - 632,0
d16	448,5 \pm 192,3	404,5	403,3 - 493,7
IL-8 (pg/ml)			
dx	318,5 \pm 172,5	280,5	275,4 - 361,6
hCG	317 \pm 119,0	298	290,0 - 344,0
FoPu	289 \pm 115,1	284	262,1 - 316,2
ET	369 \pm 148,5	357	334,2 - 403,6
d5	377,9 \pm 160,8	324	340,4 - 415,4
d16	370,4 \pm 152,4	344	334,6 - 406,2
TNF- (pg/ml)			
dx	392,7 \pm 244,5	325,5	331,7 - 453,8
hCG	440 \pm 216,2	395	391,1 - 489,3
FoPu	512 \pm 326,1	445,5	435,5 - 588,7
ET	577 \pm 315,7	518	503,1 - 650,4
d5	496,2 \pm 261,6	432	435,2 - 557,3
d16	415,5 \pm 214,1	367,5	365,1 - 465,8

dx= Therapiebeginn, hCG = hCG-Applikation, FoPu = Follikelpunktion, ET = Embryonentransfer, d5 = am Tag 5 nach Follikelpunktion, d16= Tag 16 nach Follikelpunktion

Die Aufschlüsselung der Werte in Gruppen mit und ohne Aszitesbildung ergibt das in Tabelle 6 veränderte Bild:

Tabelle 6: Übersicht über die Werte von VEGF, IL-6, IL-8 und TNF- α im Verlauf des Stimulationszyklus für die Gruppen mit und ohne Aszitesbildung

	Aszites d5			kein Aszites d5			
	Mittelwert \pm SD	Median	95% CI	Mittelwert \pm SD	Median	95% CI	p-Wert
Anzahl	44			33			
VEGF (pg/ml)							
dx	240,5 \pm 167,6	174	183,8-297,2	271,5 \pm 172	267,5	204,8-338,2	0,398
hCG	273,2 \pm 181,0	241	218,2-328,2	258,4 \pm 153,9	222	203,0-313,9	0,929
FoPu	235,5 \pm 162,7	166	186,0-284,9	224,8 \pm 131,2	195	178,3-271,3	0,938
ET	255,0 \pm 180,8	183	200,0-310,0	256,3 \pm 143,1	214	205,6-307,1	0,575
d5	345,7 \pm 222,2	247,5	276,4-414,9	307,2 \pm 160,9	278	248,2-366,2	0,832
d16	362,9 \pm 260,7	277	278,4-447,4	340,2 \pm 190,5	313	272,6-407,7	0,932
IL-6 (pg/ml)							
dx	426,3 \pm 219,1	379	351-501,5	426,8 \pm 280,3	336	320,2-533,4	0,557
hCG	482,7 \pm 206,9	467	419,8-545,6	424,5 \pm 186,7	427	358,3-490,8	0,134
FoPu	519,6 \pm 324,6	423	415,7-623,4	395,7 \pm 187,9	256,5	327,9-463,4	0,043*
ET	555,5 \pm 241,7	532	479,2-631,8	548,9 \pm 277,4	490,5	448,9-648,9	0,760
d5	576,1 \pm 269,9	532,5	492-660,2	564,8 \pm 251,0	570	472,8-656,9	0,924
d16	429,56 \pm 178,2	370	371,8-487,3	471,8 \pm 208,3	442	397-544,7	0,446
IL-8 (pg/ml)							
dx	330,5 \pm 154,2	294	277,6-383,5	304,0 \pm 194,1	264	230,2-377,8	0,227
hCG	341,4 \pm 116,6	340	306,0-376,8	284,4 \pm 115,9	275	243,3-325,5	0,028*
FoPu	308,7 \pm 120,2	291	270,3-347,1	264,8 \pm 105,2	263,6	226,8-302,7	0,223
ET	398,9 \pm 157,8	363	349,1-448,7	330,5 \pm 127,8	354	284,4-376,6	0,108
d5	393,3 \pm 165,9	354	341,6-445,0	357,1 \pm 153,9	314	300,6-413,5	0,415
d16	389,4 \pm 150,4	363	340,6-438,1	347,9 \pm 153,9	307	293,3-402,4	0,200
TNF- (pg/ml)							
dx	394,7 \pm 234,9	329	314-475,4	390,4 \pm 259,7	318	291,6-489,1	0,726
hCG	457,9 \pm 233,2	394,5	387,0-528,8	416,6 \pm 192,0	395	348,5-484,7	0,399
FoPu	572,4 \pm 389,6	646,5	447,8-697,0	436,7 \pm 204,9	394	362,8-510,6	0,075
ET	559,2 \pm 273,8	509	472,8-645,6	599,3 \pm 365,8	542	467,4-731,2	0,677
d5	488,5 \pm 263,1	420	406,5-570,5	506,7 \pm 263,5	525	410,0-603,3	0,767
d16	410,2 \pm 242,4	338	331,6-488,8	421,7 \pm 178,6	414	358,4-485,0	0,323

dx= Therapiebeginn, hCG = hCG-Applikation, FoPu = Follikelpunktion, ET = Embryonentransfer, d5 = am Tag 5 nach Follikelpunktion, d16= Tag 16 nach Follikelpunktion

Die Aufschlüsselung der gemessenen Werte für IL-6, IL-8, VEGF und TNF- α hinsichtlich erzielter Schwangerschaften ist in Tabelle 7 abgebildet.

Tabelle 7: Darstellung der Werte für VEGF, IL-6, IL-8 und TNF- α für die schwangeren und nicht schwangeren Patientinnen,

	schwanger			nicht schwanger			p-Wert
	Mittelwert \pm SD	Median	95% CI	Mittelwert \pm SD	Median	95% CI	
Anzahl	14			63			
VEGF (pg/ml)							
dx	234,5 \pm 193,9	160	111,3-357,7	258,6 \pm 164,4	229,5	212,9-304,4	0,475
hCG	237,26 \pm 171,5	186	138,2-336,3	273,7 \pm 169,3	228	230,7-316,7	0,331
FoPu	191,09 \pm 123,0	138	120,1-262,1	239,7 \pm 153,8	198	201,0-278,5	0,267
ET	220,63 \pm 139,9	185,5	139,8-301,4	263,3 \pm 169,7	211	220,6-306,1	0,383
d5	276,4 \pm 172,1	228	177,1-375,8	341 \pm 203,1	282	289,0-394,8	0,268
d16	334,3 \pm 201,5	262,5	218,0-450,7	356,8 \pm 237,7	295,5	294,4-419,3	0,898
IL-6 (pg/ml)							
dx	397,4 \pm 263,4	299,5	230,1-564,7	433 \pm 244,8	375	365,1-501,4	0,624
hCG	460,6 \pm 223,6	432,5	331,5-589,8	457,1 \pm 195,5	447	407,9-506,4	0,858
FoPu	456,7 \pm 163,4	431	362,4-551,0	466,4 \pm 300,0	376	387,5-545,3	0,447
ET	600,2 \pm 343,6	526	392,6-807,9	542,3 \pm 235,4	515	481,5-603,1	0,773
d5	566,0 \pm 272,4	580	408,7-723,3	572,6 \pm 259,8	531	504,9-640,3	0,989
d16	521,9 \pm 279,9	481,5	360,3-683,6	430,8 \pm 162,9	390	387,9-473,6	0,393
IL-8 (pg/ml)							
dx	242,7 \pm 114,9	228,5	169,7-315,7	336,0 \pm 179,5	283,5	286-386,0	0,061
hCG	292,4 \pm 139,9	249,5	211,6-373,2	322,4 \pm 114,3	309	293,6-351,2	0,237
FoPu	269,5 \pm 111,0	240	205,4-333,6	293,9 \pm 116,5	287,5	263,3-324,5	0,438
ET	399,4 \pm 152,6	357	307,3-491,6	362,3 \pm 148,0	356	324,1-400,6	0,273
d5	364,4 \pm 140,0	348,5	283,6-445,3	381,1 \pm 166,3	312	337,8-424,5	0,834
d16	372,4 \pm 187,4	294	264,2-480,6	369,9 \pm 144,6	351	331,8-407,9	0,659
TNF- (pg/ml)							
dx	352,2 \pm 263,4	294,5	184,9-519,5	402,1 \pm 241,6	328,5	334,8-469,4	0,460
hCG	436,1 \pm 210,2	400,5	314,8-557,5	441,1 \pm 219,1	391	386,0-496,3	0,926
FoPu	494,7 \pm 183,9	498	388,5-600,9	516,3 \pm 353,0	410,5	423,5-609,1	0,545
ET	640,4 \pm 489,0	532	344,9-935,9	563,0 \pm 268,2	512,5	493,7-632,3	0,988
d5	482,7 \pm 230,6	518,5	349,6-615,9	499,4 \pm 270,1	417	429,0-569,8	0,983
d16	442,8 \pm 210,1	438	321,5-564,1	408,9 \pm 216,4	348,5	352-465,8	0,413

dx= Therapiebeginn, hCG = hCG-Applikation, FoPu = Follikelpunktion, ET = Embryonentransfer, d5 = am Tag 5 nach Follikelpunktion, d16= Tag 16 nach Follikelpunktion

Es lässt sich ein signifikanter Unterschied zwischen IL-6 am Tag der Follikelpunktion, IL-8 am Tag der hCG-Applikation sowie der Ascitesbildung am Tag 5 feststellen. Es besteht ein Trend zur Signifikanz für TNF- α am Tag der Follikelpunktion und Ascites am Tag 5.

Alle übrigen Werte zeigen keine statistisch signifikanten Unterschiede.

Vergleicht man das Kollektiv der schwangeren Patientinnen mit den nicht schwangeren Patientinnen, so ergibt sich ein signifikanter Unterschied für II-8 bei Stimulationsbeginn.

13 der 14 Schwangerschaften sind nach Stimulationstherapie im langen Protokoll, 1 nach der Behandlung im Antagonisten-Protokoll eingetreten. 4 der 14 eingetretenen Schwangerschaften finden sich in der Gruppe Patientinnen wieder (28,6%), die am Tag 5 eine Aszitesbildung aufweist, 10 davon in der ohne Aszitesbildung (71,4%).

Das Ergebnis verschiebt sich am Tag 16: dort finden sich 6 (42,9%) in der Aszitesgruppe gegenüber 8 (57,1%) in der Gruppe ohne Aszitesbildung von insgesamt 14 Schwangerschaften. Liegt ein Aszites am Tag 16 vor, so ist eine Schwangerschaft wahrscheinlicher als bei nicht vorhandenem Aszites ($p = 0.012$, Tabelle 8).

Tabelle 8: gesonderte Betrachtung für den Tag 16 der Patientinnen mit und ohne Aszitesbildung

	Aszites d16			kein Aszites d16			p-Wert
	Mittelwert±SD	Median	95% CI	Mittelwert±SD	Median	95% CI	
Anzahl	11	11		45			
Alter (Jahre)	32,91±3,1	33	30,8-35,0	31,4±5,1	32	29,9-32,9	0,444
sekundäre Sterilität (%)	27,3			47,7			
prim.Sterilität (%)	72,7			52,3			
BMI (kg/m²)	23,5±3,6	22,3	20,7-26,3	22,9±4,2	21,6	21,6-24,4	0,588
Gewicht (kg)	66,1±10,9	66,0	57,7-74,5	64,0±14,1	60	59,5-68,5	0,346
Größe (cm)	1,68±,05	1,68	1,64-1,72	1,67±0,09	1,68	1,64-1,70	0,596
Dosis der Gonadotropine (U)	2856,8±2049,4	2400	1480,0-4233,6	2668,0±1104,6	2325	2323,8-3012,2	0,668
Anzahl der Stimulationstage	14,2±4,6	14	11,1-17,2	12,8±2,3	12	12,0-13,5	0,333
Estradiol bei Auslösung (pg/ml)	2539,4±1259,9	2368	1693,0-3385,8	2437,6±1366,9	1880,5	1977,5-2786,4	0,68
Anzahl der gewonnenen EZ	13,6±4,5	13	10,6-16,5	13,98±6,6	12	12-16,0	0,825
Anzahl transferierter Embryonen	2,36±,5	2	2,0-2,7	2,57±0,5	3	2,4-2,7	0,212
klinische Schwangerschaften	6			8			0,012*

BMI= Body Mass Index (Masse in kg/ [Körperhöhe in m]²), EZ=Eizellen, CI= Konfidenzintervall 95%

Für den Tag 16 (Tabelle 9) zeichnet sich ein Trend zur Signifikanz hinsichtlich des VEGF-Spiegels am Tag der hCG-Applikation ($p=0,07$) bzw. am Tag des Embryonentransfers ($p= 0,095$) ab.

Tabelle 9: Übersicht über die Aszitesbildung am Tag 16, Werte für VEGF, IL-6, IL-8 sowie TNF- α , gemessen an den Tagen der hCG-Applikation (hCG), Follikelpunktion (FoPu) und dem Embryonentransfer(ET)

	Aszites d16			kein Aszites d16			
	Mittelwert \pm SD	Median	95% CI	Mittelwert \pm SD	Median	95% CI	p-Wert
Anzahl	11	11		45	45		
VEGF (pg/ml)							
dx	179,9 \pm 121,6	124	98,2-261,6	258,5 \pm 188,2	229,5	164,9-322,2	0,303
hCG	181,1 \pm 113,4	115	104,9-257,3	269,8 \pm 168,9	218	218,4-321,2	0,070*
FoPu	163,0 \pm 89,9	122	102,6-223,5	323,8 \pm 157,0	186	185,6-280,0	0,177
ET	183,5 \pm 110,7	126	109,2-257,9	257,9 \pm 154,0	208	211,6-304,1	0,095
d5	223,1 \pm 131,1	144	135-311,2	317,9 \pm 186,1	260	260,6-375,2	0,114
d16	268,4 \pm 165,7	211	157,1-379,7	345,0 \pm 219,0	277	279,2-410,8	0,240
IL-6 (pg/ml)							
dx	471,5 \pm 409,7	352	196,3-746,7	405,6 \pm 174,4	363	346,6-464,6	0,831
hCG	373,6 \pm 158,7	427	267,0-480,3	462,8 \pm 175,1	446	410,2-515,4	0,343
FoPu	376,2 \pm 151,8	386	267,6-484,8	462,7 \pm 199,6	419	402,8-522,7	0,354
ET	513,5 \pm 242,3	525	350,8-676,3	556,7 \pm 242,0	523	481,2-632,1	0,677
d5	521,9 \pm 264,2	581	344,4-699,4	568,6 \pm 226,5	531	498,9-638,3	0,772
d16	409,2 \pm 196,8	340	277-541,4	460,8 \pm 186,7	442	404,8-516,9	0,404
IL-8(pg/ml)							
dx	329,5310,4	227	121-538,0	298,4 \pm 129,8	260	254,4-342,3	0,555
hCG	301,8 \pm 128,8	321	215,3-388,4	312,3 \pm 109,3	298	279,5-345,2	0,797
FoPu	277,9 \pm 114,7	258	195,8-360	274,6 \pm 89,8	283	247,6-301,6	0,983
ET	363,9 \pm 112,12	406	288,6-439,2	357,6 \pm 133,0	357	316,2-399,1	0,532
d5	381,6207,1	314	242,5-520,8	367,8 \pm 119,1	348	331,2-404,5	0,864
d16	391,7192,2	307	262,6-520,9	361,5 \pm 140,5	333	319,3-403,7	0,959
TNF- (pg/ml)							
dx	451,7 \pm 379,0	372	197,1-706,3	363,1 \pm 194,8	318	297,2-429	0,669
hCG	373,55 \pm 145,2	409	276-471,1	443,6 \pm 211,7	391	380-507,2	0,781
FoPu	398,2 \pm 131,4	419	304-492	508,1 \pm 290,4	456	420,9-595,4	0,256
ET	566,9 \pm 242,6	665	403-729,9	584,1 \pm 337,4	520,5	479-689,2	0,583
d5	498,7 \pm 267,4	512	319,1-678,4	479,5 \pm 236,2	417	406,8-552,2	0,914
d16	390,4 \pm 190,1	319	262,7-518,1	404,2 \pm 192,0	359	346,5-461,9	0,885

dx= Therapiebeginn, hCG = hCG-Applikation, FoPu = Follikelpunktion, ET = Embryonentransfer, d5 = am Tag 5 nach Follikelpunktion, d16= Tag 16 nach Follikelpunktion

3.4. Estradiol und Progesteron

Nachfolgend wurden die Estradiol- und Progesteronwerte über den gesamten Stimulationszyklus im Gesamtkollektiv ausgewertet (Tabelle 10).

Tabelle 10: Übersicht über die Estradiol- und Progesteronwerte aller Patientinnen im Stimulationszyklus

	Mittelwert±SD	Median	95% CI
Anzahl	77		
Estradiol (pg/ml)			
dx	26,8±18,5	21,3	22,0-31,6
hCG	2512,2±1287,2	2486	2220-2804
FoPu	1263,4±652,0	1170	1115,4-1411,4
ET	787,3±380,8	739	700,8-873,7
d5	1575,5±836,8	1420	1380,3-1770,7
d16	470,6±1014,6	42,3	232,2-709,0
Progesteron (nmol/l)			
dx	6,14±2,4	5,7	5,6-6,7
hCG	63,0±36,1	53,5	54,8-71,1
FoPu	307,3±150,	281	273,1-341,4
ET	704,1±401,2	624	610-797,7
d5	216,7±484,6	26,7	105,2-328,2
d16	40,7±23,9	40	35,3-46,1

dx= Therapiebeginn, hCG = hCG-Applikation, FoPu = Follikelpunktion, ET = Embryonentransfer, d5 = am Tag 5 nach Follikelpunktion, d16= Tag 16 nach Follikelpunktion

Tabelle 11: Estradiol- und Progesteron im Verlauf bei Patientinnen mit und ohne Aszitesbildung

	Aszites d5			kein Aszites d5			p-Wert
	Mittelwert±SD	Median	95% CI	Mittelwert±SD	Median	95% CI	
Anzahl	44			33			
Estradiol (pg/ml)							
dx	25,6±11,3	22,7	21,5-29,7	28,2±24,7	20	18,4-38,0	0,738
hCG	2692,0±1218,3	2702	2321,6-3062,4	2272,4±1355,3	1666	1791,8	0,087
FoPu	1362,8±615,4	1285	1175,6-1549,9	1131,0±684,8	1030	888,2-1373,8	0,070
ET	860,7±399,7	901	739,2-982,2	689,4±335,4	682	570,4-808,3	0,039*
d5	1726,5±860,1	1566,5	1458,5-1994,6	1370,9±770,9	1171	1088,1-1653,6	0,030*
d16	248,9±787,7	33,5	-510,50	732,6±1190,1	62,1	310,6-1154	0,001*
Progesteron (nmol/l)							
dx	6,4±2,6	5,9	5,6-7,2	5,8±2,1	5,6	5,0-6,5	0,323
hCG	64,1±30,4	53,5	54,8-73,3	61,4±42,9	53,5	46,2-76,7	0,370
FoPu	315,6±161,2	280,5	266,6-364,6	296,2±136,5	318	247,8-344,6	0,988
ET	738,6±443,9	623	600,2-876,9	657,5±336,1	624	534,2-780,7	0,684
d5	153,1±442,9	7,8	15,1-291,1	297,6±528,9	50,2	110,0-485,1	0,000
d16	40,95±24,34	38,5	33,6-48,4	40,4±23,6	45	32,0-48,8	0,943

dx= Therapiebeginn, hCG = hCG-Applikation, FoPu = Follikelpunktion, ET = Embryonentransfer, d5 = am Tag 5 nach Follikelpunktion, d16= Tag 16 nach Follikelpunktion

In der Gruppe Patientinnen mit Aszitesbildung am Tag 5 ist an den Tagen des Embryonentransfers, Tag 5 sowie Tag 16 eine signifikante Erhöhung der Estradiolwerte im Vergleich zur Gruppe ohne Aszitesbildung festzustellen. Ein Trend ist für die Tage der hCG-Applikation und der Follikelpunktion zu verzeichnen. Im Vergleich mit den übrigen Parametern bietet das Estradiol den besten prädiktiven Parameter für eine Aszitesbildung und damit für das OHSS. Progesteronwerte zeigen keine signifikanten Unterschiede (Tabelle 11).

Tabelle 12: Estradiol- und Progesteronwerte im Stimulationszyklus bei Patientinnen mit und ohne Schwangerschaft

	schwanger			nicht schwanger			p-Wert
	Mittelwert±SD	Median	95% CI	Mittelwert±SD	Median	95% CI	
Anzahl	14			63			
Estradiol (pg/ml)							
dx	35,9±36,7	22,8	11,2-60,5	24,7±10,6	21,1	21,6-27,8	0,566
hCG	2379,4±1194,9	1900,5	1689,4-3069,3	2541,7±1314,1	2504	2210,7-2872,6	0,712
FoPu	1230,7±615	1162	875,6-1585,8	1270,7±664,4	1170	1103,4-1438,0	0,895
ET	707,7±366,8	653	495,9-919,5	805,0±384,5	760	708,1-907,8	0,332
d5	1620,9±842,9	1383,5	1076,5-2165,4	1564,7±818,1	1456	1351,5-1777,9	0,972
d16	2234,3±1208,3	1838,5	1536,6-2931,9	44,9±27,1	36	37,8-52,0	0,000
Progesteron (nmol/l)							
dx	4,7±1,6	5,1	3,8-5,6	6,4±2,4	6,1	5,8-7,1	0,018
hCG	58,2±22,2	53	45,4-71,0	64±38,5	54,6	54,3-73,7	0,995
FoPu	340±120,6	319,5	270,4-409,6	300,0±156,2	280	260,6-339,3	0,184
ET	682,9±394,4	613,5	455,2-910,7	709,2±405,9	628	603,4-814,9	0,872
d5	1054,4±636,5	955,5	686,9-1422,0	24,4±23,4	12,7	18,4-30,4	0,000
d16	47,6±22,4	55	34,7-60,5	39,2±24,1	38	33,1-45,3	0,240

dx= Therapiebeginn, hCG = hCG-Applikation, FoPu = Follikelpunktion, ET = Embryonentransfer, d5 = am Tag 5 nach Follikelpunktion, d16= Tag 16 nach Follikelpunktion

Anhand der Estradiol- und Progesteronwerte lassen sich bis zum Tag des Embryonentransfers keine Unterschiede zwischen schwangeren und nicht schwangeren Patientinnen in diesem Kollektiv feststellen. Da bei Eintritt einer Schwangerschaft durch diese selbst Estradiol und Progesteron gebildet werden, sind diese beiden Parameter bei schwangeren gegenüber nicht schwangeren Patientinnen entsprechend signifikant erhöht (Tabelle 12).

IV. Diskussion

4.1. Allgemein

Das OHSS stellt eine ernsthafte, potentiell lebensbedrohliche, Komplikation bei der Ovulationsinduktion im Rahmen der IVF dar. In seiner ausgeprägten Form ist das OHSS durch massive zystische Vergrößerung der Ovarien sowie Ausbildung peripherer Ödeme und Aszites gekennzeichnet. Die Inzidenz beträgt 3-6% in der moderaten Form sowie 0,1-2% in der schweren Form (Golan et al., 1989; Schenker et Ezra, 1994; Brinsden et al, 1995; Serour et al., 1998) Die milde Form des OHSS, die klinisch unrelevant ist, wird in bis zu 20-33% der IVF-Zyklen beschrieben (Golan et al., 1989; Morris et al., 1995).

In der vorliegenden Arbeit haben wir versucht, anhand verschiedener Zytokinverläufe während des Stimulationszyklus einen Parameter zu finden, der ggf. die Vorhersage der Entwicklung eines OHSS erlaubt. Da die Inzidenz eines schweren OHSS erfreulicherweise gering ist, konnten wir dies nicht als Zielparameter wählen. Die Aszitesbildung – als mildeste Form eines OHSS und Zeichen einer erhöhten Gefäßpermeabilität im Rahmen der ovariellen Stimulation – schien aber mit erhöhten bzw. erniedrigten Werten von Estradiol, VEGF, IL-8 und ggf. auch TNF- α zum Zeitpunkt der hCG-Gabe bzw. der Follikelpunktion assoziiert. Diese Ergebnisse sollen im Nachhinein vor dem Hintergrund der aus der Literatur bekannten Situation diskutiert werden.

4.2. Epidemiologie

In den meisten Studien wird gezeigt, dass Patientinnen mit OHSS zumeist jünger als jene ohne OHSS sind. (Golan et al., 1988; Navot et al., 1988; Delvigne et al., 1993a; Lyons et al., 1994; Enskog et al., 1999). Als plausible Erklärung für dieses Phänomen gilt, dass die Ovarien bzw. eine höhere Anzahl Follikel empfindlicher auf Gonadotropine reagieren.

Aufgrund der Annahme, dass in die pathophysiologischen Veränderungen immunmodulatorische Zytokine verwickelt sind, wurde die These aufgestellt, dass Unterschiede in der immunologischen „Empfindlichkeit“ von Patientinnen einen Hinweis auf ein OHSS geben können. Enskog et al. (1999) stellten in einer

prospektiv randomisierten Studie fest, dass die Prävalenz von Allergien, als Zeichen eines hyperreagiblen Immunsystems, signifikant in Fällen mit schwerem OHSS erhöht war (50% vs. 21% in der Kontrollgruppe). Da die Follikel zum Zeitpunkt der Ovulation mit einer erhöhten Anzahl von Mastzellen ausgerüstet sind, schließen Enskog et al. daraus, dass den Mastzellen eine Rolle während der Ovulation und damit die Möglichkeit der Hyperreaktivität in den Ovarien bei Allergikerinnen zukommt.

Der häufig untersuchte Zusammenhang zwischen erhöhtem BMI und OHSS-Risiko hat sich allgemein nicht bestätigt (Lewis et al, 1990; Delvigne et al., 1993a; Enskog et al., 1999). Nur Navot et al. (1988) konnten hierbei einen positiven Zusammenhang feststellen.

4.2.1 Ätiologie der Sterilität in Bezug auf das OHSS

Das OHSS wird gleichermaßen bei primär als auch bei sekundär sterilen Patientinnen festgestellt (Navot et al, 1988). Ein erhöhtes Risiko haben vor allem Patientinnen, die in einem vorangegangenen Behandlungszyklus mit einem OHSS reagiert haben (Delvigne et al., 1993b).

Es ist durch zahlreiche Untersuchungen bekannt, dass ein hohes Risiko für Patientinnen mit einem PCO-Syndrom bzw. einem Hyperandrogenismus besteht. Diese Patientinnen sind von unserer Studie deswegen bewusst ausgeschlossen worden, da sie wahrscheinlich ein endokrinologisch besonderes Kollektiv darstellen und damit die Ergebnisse eventuell beeinflusst hätten. In unserer Studie zeigte sich eine Verteilung von 59,1% für die primäre Sterilität zu 40,9% für die sekundäre Sterilität in der Aszitesgruppe.

Eine signifikante Korrelation zwischen Basis-Ovarvolumen, gemessen mittels 3-D-Ultraschall, sowie der Follikelanzahl und Anzahl gewonnener Eizellen und der Entwicklung eines OHSS wurde in der Arbeit von Danninger et al. (1996) vorgestellt.

Als Risikofaktor wird eine LH:FSH-Ratio >2 angesehen, auch wenn Anzeichen eines PCO-Syndroms fehlen (Delvigne et al., 1993b; Bodis et al., 1997). Hierbei wird angenommen, dass die LH-Dominanz zu einer gestörten Androgen-Estrogen-Konversion und damit tendenziell zum OHSS führt.

Patientinnen mit hypogonadotropem Hypogonadismus benötigen grundsätzlich eine verlängerte Stimulation mit erhöhter Gonadotropindosis, da niedrigere E₂-Spiegel als gewöhnlich erreicht werden.

Navot et al. (1988) und Tibi et al. (1989) beschrieben auch höhere Basal-Prolactinwerte bei OHSS-Patientinnen.

4.2.2 Einfluss der Stimulationsschemata

In einer Metaanalyse von 18 kontrollierten Studien, in denen rekombinantes FSH und urinäres FSH verglichen wurden, gab es übereinstimmend keine Unterschiede in der Inzidenz eines OHSS (Daya, 2002). Die Verwendung von GnRH-Agonisten führte zum Anstieg der gewinnbaren Eizellen, der erreichten E₂-Spiegel und der Anzahl der Corpora lutea sowie der Inzidenz des OHSS. Ein Risiko besteht anscheinend unabhängig von der Stimulation im kurzen oder langen Protokoll (Whelan und Vlahos, 2000).

In neueren Studien wurde von einer geringeren OHSS-Komplikationsrate durch die Behandlung von GnRH-Antagonisten berichtet (Ludwig et al., 2001; Al-Inany und Aboulghar, 2002). Wir können zu dieser Fragestellung keine Aussage machen, da unser Studienansatz nicht auf diese Fragestellung ausgelegt war. Dies müsste umfangreichen prospektiv, randomisierten Studien vorbehalten bleiben.

Zusammenfassend kann jedoch kein Stimulationsregime alle Risiken für ein OHSS abwenden. Daher ist ein enges Monitoring am effektivsten, Risiken rechtzeitig zu entdecken und zu minimieren (Whelan und Vlahos, 2000).

4.2.3 Pathophysiologie

Der Aszites entsteht durch eine erhöhte Durchlässigkeit der peritonealen Kapillaren und eine daraus resultierende vaskuläre Instabilität. Folgen sind Hypovolämie, Hämokonzentration sowie Hyperkoagulabilität durch den Flüssigkeitsverlust aus den Gefäßen. Dieser Vorgang führt im Extremfall zu Minderperfusion der Nieren, Nierenversagen bis hin zum Tode (Schenker und Weinstein, 1978; Pride et al., 1990; Ryley et al., 1990; Rizk und Aboulghar, 1991; Fournet et al., 1991; Winkler et al., 1992; Cremisi et al., 1994; Keck et al., 1994; Rinaldi et al., 1995). Durch Flüssigkeitsverschiebungen von intra- nach extravasal

können sich Aszites, Pleura- und Perikardergüsse bilden, die auch die pulmonale Funktion beeinträchtigen (Schenker und Weinstein, 1978; Zosmer et al., 1987; Elchalal and Schenker 1997). Ein klinisch bedeutsames OHSS, meist mit Gabe von externem hCG verbunden (Navot et al., 1992), kann auch ohne Ovulationsinduktion durch endogenes hCG in einer Spontanschwangerschaft hervorgerufen werden (Rosen et al., 1991; Ludwig et al., 2000).

Die Vorhersage eines OHSS wurde herkömmlich unter Einbeziehung der endokrinen Antwort und mittels transvaginalem Ultraschall nach der Stimulationsbehandlung (Anzahl der Follikel am Tag der hCG-Gabe, Darstellbarkeit von polyzystischen Ovarien, Anzahl gewonnener Eizellen) getroffen (Blankenstein, 1987; Asch et al., 1991). Die gemessenen E₂-Konzentrationen im Serum oder Urin legten zumeist die Basiskriterien für die Fortführung einer Behandlung oder das Zurückhalten der hCG-Applikation im Stimulationsprotokoll. Es ist bekannt, dass hohe E₂-Konzentrationen einen Vorläufer des OHSS darstellen, jedoch dieses selbst nicht hervorrufen (Navot et al., 1988; Asch et al., 1991; Delvigne et al., 1993; Morris et al., 1995). Erhöhtes E₂ vermag nur in ca. ¼ der Fälle ein OHSS anzuzeigen, wohingegen sich ein schweres OHSS auch in Patientinnen mit partiellem 17,20-Desmolase-Mangel mit niedrigem Serum-Estradiol entwickeln kann (Meirow et al., 1996). Wir konnten in unseren Daten einen signifikant höheren E₂-Spiegel bei der Gruppe der Patientinnen finden, die im weiteren Verlauf einen Aszites entwickeln (Tabelle 11). Damit lassen sich unsere Ergebnisse diesbezüglich gut in die vorbeschriebene Literatur einordnen. Diese Werte diskriminierten offenbar am besten zwischen den beiden Patientengruppen.

Ebenfalls nur ein Viertel der OHSS-Fälle wird durch die erhöhte Anzahl der Follikel und gewonnenen Eizellen bemerkt. Lyons et al. (1994) stellten in einer Untersuchung fest, dass insbesondere das *early onset*-OHSS durch erhöhte E₂-Spiegel bzw. Anzahl gewonnener Eizellen angezeigt werden kann, wogegen das *late onset*-OHSS mit der Anzahl der Fruchthöhlen im Ultraschall korreliert.

Die Pathogenese ist bisher noch nicht lückenlos geklärt, weswegen vorwiegend empirisch therapiert wird. In der Literatur werden verschiedene Methoden diskutiert, eine normale Schwangerschaft mittels funktioneller und biochemischer Parameter von einem OHSS abzugrenzen.

U.a. wurden der vaskuläre Permeabilitätsfaktor (VPF) (Krasnow et al.), der intraovarielle Blutfluss über den Pulsatilitätsindex, Widerstandsindex und die SD-Rate (Moohan et al., 1997), VEGF (Abramov et al.), das ovarielle Prorenin-Renin-Angiotensin-System (Navot et al., 1987; Ong et al., 1991; Delbaere et al., 1994; Itskovitz et al., 1997), Prostaglandine (Borenstein et al., 1989; Balasch et al., 1990) und Histamin (Pride et al., 1986) untersucht. Darauf wurde bereits in der Einleitung ausführlich eingegangen.

Die Beteiligung lympho-hämatopoetischer Zytokine und ihrer Rezeptoren, die offenbar eine zentrale Rolle bei der Entwicklung des OHSS spielen, lassen auf ein Zusammenspiel des Immunsystems und der Reproduktionsorgane schließen. Zytokine sind lösliche intrazelluläre Signalproteine, die durch immunkompetente und nicht-immunkompetente Zellen sezerniert werden, die Teil des normalen Körper- Abwehrsystems darstellen.

Heute gilt als wesentlicher Mechanismus zur Entstehung eines OHSS die Sekretion angiogenetisch wirksamer Faktoren ovariellen Ursprungs, die sich in verschiedenen Körperflüssigkeiten, wie z.B. Serum, Follikelflüssigkeit, Aszites und Pleuraexsudat, in erhöhter Konzentration nachweisen lassen (Revel et al., 1996).

Faktoren, die die Gefäßpermeabilität erhöhen (TNF- α , IL-1, IL-2, IL-6, IL-8), als diagnostische Marker einzusetzen, wurden in jüngster Zeit untersucht (Dourron et al., 1996).

Diese Ergebnisse konnten von Friedlander et al. und Loret de Mola et al. weitgehend bestätigt werden (Friedlander et al., 1993; Loret de Mola et al., 1996).

4.3. VEGF

Die Zusammenhänge zwischen VEGF und OHSS wurden mehrfach überprüft.

Yan et al. (1993) zeigten, dass VEGF-*messenger*-RNA von luteinisierten Granulosazellen produziert wird.

McClure et al. (1994) erforschten den Einfluss der Aszitesflüssigkeit von Patientinnen mit OHSS und der mit rekombinantem humanem VEGF (*rh*-VEGF) versetzten Aszitesflüssigkeit im Gegensatz zur Aszitesflüssigkeit bei Patientinnen mit Aszites infolge nicht-maligner Lebererkrankungen auf die Zunahme der Kapillarpermeabilität im Meerschweinchenmodell. Durch Zugabe von spezifischen

VEGF-Antikörpern konnte hier der Effekt in den ersten zwei Gruppen antagonisiert werden, woraufhin geschlussfolgert wurde, dass VEGF als Hauptfaktor für die Zunahme der Kapillarpermeabilität beim OHSS verantwortlich ist.

Neulen et al. (1995) demonstrierten in ihrer Studie *in vitro*, dass die VEGF-Produktion der Granulosazellen dosis- und zeitabhängig über hCG verstärkt wird. Diese Ergebnisse wurden von Robertson et al. (1995) *in vivo* bestätigt. In der Untersuchung der VEGF-Konzentration von IVF-Patientinnen im Urin, zeigte sich, dass zwei Tage nach hCG-Gabe der VEGF-Kreatinin-Quotient signifikant ansteigt. Daraus wurde abgeleitet, dass die Zugabe von hCG zu einer Stimulation der ovariellen VEGF-Sekretion führt.

Krasnov et al. (1996) untersuchten die VEGF-Konzentration in Blut und Follikelflüssigkeit von IVF-Patientinnen, die Hinweise auf ein OHSS boten (Estradiol-Serumkonzentrationen $> 4000\text{pg/ml}$ und > 15 Follikel $> 13\text{ mm}$) am Tag der Follikelpunktion sowie 7 und 14 Tage danach. Zusätzlich wurde Peritonealflüssigkeit von Patientinnen mit drohendem OHSS im Rahmen einer GIFT-Therapie (Gamete Intrafallopian Transfer) analysiert. Als Kontrollgruppe dienten hier Patientinnen, die durch Eizellspende schwanger geworden waren. Nach Ovulationsinduktion mit hCG kam es zu einer signifikant erhöhten VEGF-Serumkonzentration. Bei Patientinnen mit OHSS wurden signifikant höhere VEGF-Konzentrationen als bei Patientinnen ohne VEGF ermittelt. Hierbei lag der Serumspiegel um den Faktor 100 höher als der in der Peritonealflüssigkeit. Krasnov schlossfolgerte daraus, dass das VEGF ovariellen Ursprungs ist und bestätigt damit die Theorie von Robertson.

Agrawal et al. (1997) beschrieben in einer Falldarstellung, dass die Serum-VEGF-Konzentration direkt mit dem klinischen Zustand einer Patientin korrelierte, die unter IVF-Behandlung ein schweres OHSS entwickelt hatte. Parallel zur Besserung des klinischen Beschwerdebildes zeigte sich eine zunehmende Normalisierung der VEGF-Spiegel.

Abramov et al. (1997) und Lee et al. (1997) bestätigten an einer größeren Patientenanzahl die Ergebnisse von Agrawal in der Untersuchung des Zusammenhanges zwischen VEGF-Serumkonzentration und VEGF-Konzentration in der Follikelflüssigkeit von IVF-Patientinnen sowie die Korrelation zwischen VEGF-Spiegeln und Estrogen- und Progesteron-Serumspiegeln zum Zeitpunkt der

Eizellentnahme. VEGF-Serumkonzentrationen von Patientinnen, die nach Ebyronttransfer schwanger wurden, waren signifikant höher als bei Patientinnen, die nicht schwanger geworden sind. Die klinischen Symptome der Patientinnen, die im Verlauf ein OHSS entwickelten, korrelierten mit den VEGF-Serumkonzentrationen. So fiel das Serum-VEGF signifikant ab, nachdem die klinischen Symptome verschwunden waren. Lee folgerte, dass VEGF einen Marker für die Follikelreife zum Zeitpunkt der Ovulation darstellt und dass das in der Frühschwangerschaft nachweisbare VEGF vorwiegend ovariellen Ursprungs sei. Lee et al. sehen im VEGF jedoch keinen prädiktiven Marker für das OHSS.

Friedmann et al. (1997) interpretierten die gefundenen erhöhten intraovariellen VEGF-Konzentrationen in der Follikelflüssigkeit bei älteren Patientinnen gegenüber jüngeren Patientinnen als Kompensationsmechanismus, um durch Zunahme der Vaskularisation der Follikelatresie entgegenzuwirken. Diese These konnte bisher nicht experimentell gestützt werden.

Über eine direkte Korrelation zwischen VEGF im Plasma sowie Anzahl gewonnener Eizellen in einer Normalpopulation von IVF-Patientinnen, die kein OHSS bekamen, wurde von Artini et al. (1998) berichtet.

Levin et al. (1998) bestätigten die These, dass VEGF in Korrelation zur Anzahl der Follikel eine wichtige Rolle bei der Entstehung des OHSS spielt. Eine mögliche Therapie sehen sie in der Verwendung von VEGF-Rezeptor-Antagonisten bzw. VEGF-Synthese-Inhibitoren.

In einer Studie von Artini et al. (1998) zeigte sich, dass bei gleichen Ausgangsparametern nur diejenigen Patientinnen mit Hinweisen auf ein drohendes OHSS (Estradiol > 2000pg/ml, >20 Follikel >15mm, klinisch sonst asymptomatisch) ein manifestes OHSS entwickelten, bei denen hCG zu einem signifikanten VEGF-Anstieg zwischen der hCG-Gabe und dem Zeitpunkt der Follikelpunktion führt. Hier wurde VEGF im Plasma bestimmt.

Agrawal et al. (1999) untersuchten VEGF-Serumkonzentrationen als prädiktiven Faktor für die Entstehung eines OHSS im Rahmen einer prospektiven Studie. Im Ergebnis liegen die VEGF-Serumkonzentrationen zum Zeitpunkt der hCG-Gabe deutlich höher bei den Patientinnen, die ein OHSS entwickeln als bei den Patientinnen ohne OHSS. Agrawal et al. halten den VEGF-Anstieg zwischen dem Tag der hCG-Applikation und der Eizellgewinnung für einen geeigneten

nichtsteroidalen Marker, um die Entwicklung eines OHSS beurteilen zu können (Sensitivität von 100% und Spezifität von 60%). Eine zu einem früheren Zeitpunkt durchgeführte Analyse des VEGF-Spiegels lässt keine Aussage über ein späteres OHSS zu. Agrawal et al. stellten in ihrer Untersuchung fest, dass eine positive Vorhersage in bis zu 40% aller OHSS-Fälle möglich und damit nur marginal der E₂-Bestimmung am Tag der hCG-Applikation überlegen ist. Die sicherste Vorhersage findet sich in der Kombination von VEGF-Anstieg und der Anzahl der Follikel am Tag der hCG-Gabe. Schwachpunkt der Untersuchung ist, dass sich die OHSS-Gruppe von der Kontrollgruppe hinsichtlich der Ovarialantwort, der höheren E₂-Konzentrationen, der signifikant höheren Anzahl von Follikeln und gewonnenen Eizellen unterscheidet.

Pellicier et al. (1999) bestätigten dieses Ergebnis. In einer Untersuchung von 40 Patientinnen wurden die Konzentrationen von VEGF, IL-1 β und IL-6 im Serum und in der Follikelflüssigkeit vor und nach hCG-Applikation bestimmt. Unter der Stimulation ließ sich ein Anstieg der VEGF-Konzentration verzeichnen, der bei Patientinnen, die im Verlauf ein OHSS entwickelten, signifikant höher war als bei Patientinnen ohne OHSS.

Aboulghar et al. (1999) stellten in ihrer Studie heraus, dass signifikant höhere VEGF-Spiegel im Serum und in der Aszitesflüssigkeit bei Patientinnen mit OHSS gefunden wurden als bei Kontrollpatientinnen und bestätigten damit Ergebnisse vorangegangener Studien.

In den bisher betrachteten Untersuchungen lagen die in der Follikelflüssigkeit bestimmten Spiegel deutlich über denen in der Peripherie bestimmten (Aszites, Serum, Urin). Daraus folgerten Keck et al. (2002), dass VEGF vornehmlich im Ovar gebildet wird.

Diese Autoren zeigten, dass Granulosazellen entscheidend an den zyklischen intraovariellen Regulationsvorgängen der Follikelreifung und -selektion sowie der Corpus-luteum-Bildung bzw. Luteolyse beteiligt sind. Diese Vorgänge bedürfen der Angiogenese ebenso wie der Apoptose. An der Steuerung dieser Vorgänge sind u.a. Zytokine und Wachstumsfaktoren beteiligt. Keck stellte fest, dass Granulosazellen in der Lage sind, sowohl VEGF zu exprimieren und dass diese Expression gonadotropinabhängig ist. VEGF ließ sich *in vitro* durch hCG, LH und auch FSH steigern.

Ludwig et al. (1998) fanden, dass sich VEGF im Serum als prädiktiver Marker in Bezug auf ein OHSS in IVF-Zyklen nicht eignet. Der Verlauf des OHSS kann durch das VEGF nicht effizienter als durch die Bestimmung des Hämatokrits, Flüssigkeitsbilanzierung sowie das klinische Bild der Patientin vorhergesagt werden. Dieselbe Arbeitsgruppe (Ludwig et al., 1999) untersuchte später parallel das freie VEGF und das Gesamt-VEGF im Serum bei Patientinnen mit OHSS. Dabei ließ sich eine signifikant höhere Konzentration an freiem VEGF am Tag der hCG-Gabe und am Tag des Embryotransfers bei den OHSS-Patientinnen im Vergleich zu Kontrollen feststellen. Unterschiede im Gesamt-VEGF waren nicht signifikant. Aus den Ergebnissen resultierte ein Erklärungsmodell dafür, dass eine Albumingabe am Tag der Eizellgewinnung das Risiko eines OHSS mindert. Albumin dient eventuell als unspezifisches Bindungsprotein auch für VEGF und mindert den freien, aktiven Anteil, der das OHSS triggert.

Die deutlichen Unterschiede in den verschiedenen Studien lassen sich durch diverse Faktoren erklären. An erster Stelle mag die Bestimmung von VEGF in Serum bzw. Plasma, in freier bzw. gebundener Form und die Verwendung verschiedener Kits nebst Aufbewahrung und Aufbereitung der Proben stehen. Letztendlich bestimmt einzig der freie Anteil der Zytokine den jeweiligen akuten biochemischen bzw. physiologischen Effekt an der Zielzelle. Ferner wurde VEGF zu verschiedenen Zeitpunkten gemessen, die Patientinnenkollektive waren stark unterschiedlich. Teilweise wurden nur Fälle mit schwerem OHSS, teilweise Fälle mit OHSS ohne Bezug zum Schweregrad eingeschlossen.

Während des Gerinnungsprozesses, der erforderlich ist, um Serum abzutrennen, werden Granula aus Leukozyten und Thrombozyten freigesetzt (Maloney et al., 1998). Bei deren Degranulation als Folge der Gerinnung wird zusätzliches VEGF freigesetzt, außerdem kommt die Hämokonzentration durch das OHSS als Ursache einer Missinterpretation der wahren Spiegel des freien aktiven VEGF hinzu. Dabei sei der Unterschied zwischen den VEGF-Spiegeln im Serum 8-10-mal höher als im Plasma. Ein weiterer Mechanismus bestehe darin, dass Thrombozyten und Megakaryozyten, mittels Endozytose zirkulierende Plasmaproteine, wie z.B. das VEGF, konzentrieren können.

Darin sehen Enskog et al. (1999) eine Ursache falsch hoher VEGF-Werte im peripheren Serum in der OHSS-Gruppe bei anderen Autoren. Enskog et al.

verglichen OHSS Patientinnen mit denen der Kontrollgruppe nur, wenn sie gleiche Follikelanzahl aufwiesen. VEGF in der OHSS-Gruppe war nicht direkt mit der Follikelanzahl korreliert. Das Gesamt-VEGF ergab keinen Unterschied zwischen OHSS- und Kontrollgruppe. Das lässt sich möglicherweise durch das VEGF, welches im Aszites und den vergrößerten Corpora lutea gebunden ist, erklären.

Ergebnisse einer weiteren Studie von Artini et al. (2002) bestätigten noch einmal den signifikanten VEGF-Anstieg nach hCG-Gabe bei Patientinnen, die ein OHSS entwickeln, sowohl in Serum als auch Follikelflüssigkeit gegenüber Patientinnen, die kein OHSS entwickelten. Die gleiche Studie zeigt, dass IL-6 kein geeigneter Marker für das *early onset*-OHSS darstellt, jedoch ein insgesamt erhöhtes Risiko für das OHSS anzuzeigen vermag. Hierbei wird eine Interaktion inflammatorischer und angiogenetischer Prozesse angenommen.

Chen et al. (1999) beschrieben in einer Studie, dass VEGF- und IL-6-Spiegel im Aszites signifikant im Verlauf eines ausgeprägten OHSS anstiegen. In einer Folgestudie (2000) konnten keine Unterschiede im VEGF-Spiegel der Patientinnen mit erhöhtem Risiko bzw. sich entwickelndem OHSS gefunden werden.

Klinische Beobachtungen weisen daraufhin, dass neben dem VEGF weitere Faktoren hinzutreten müssen, um ein OHSS entstehen zu lassen.

Die ovarielle Reaktion hängt vom verfügbaren biologisch wirksamem VEGF ab (Neulen et al., 2001).

Im Ruhezustand besitzen Endothelzellen keine VEGF-Rezeptoren. Erst durch Verletzung oder Hypoxie werden bestimmte VEGF-Rezeptoren exprimiert (Shweiki et al., 1992). Damit reagieren die Endothelzellen empfindlich auf VEGF. Es kommt zur Fenestrierung der Endothelien und anschließend zum Ausknospen von neuen Gefäßen in Richtung der VEGF-Quelle.

Kendall und Robertson (1996) entdeckten einen löslichen VEGF-Rezeptor, der die Aktivität von VEGF antagonisiert. Er bindet zirkulierendes VEGF und hindert es an der Bindung an zelluläre Rezeptoren. Die klinische Applikation von VEGF-Rezeptoren stellt eine interessante Möglichkeit in der Behandlung des schweren OHSS dar.

Löslicher flt-1-Rezeptor wirkt als Biomodulator für VEGF (Hornig u. Weich 1999). In der Konstellation von niedriger Menge von löslichem flt-1-Rezeptor und relativ hoher VEGF-Konzentration droht offenbar ein OHSS.

Mathur et al. (2002) zeigen, dass sich das Serum-VEGF an den Tagen der Eizellgewinnung, des Embryonentransfers, 5 bzw. 10 Tage nach Embryonentransfer nicht signifikant in den Fällen mit OHSS von den Kontrollen unterscheidet. Eine Trennung der Patientinnen mit hohem Risiko von denen mit niedrigem Risiko war durch VEGF-Bestimmung in der Lutealphase nicht möglich.

Eine Arbeit von McElhinney et al. (2002) beschreibt Unterschiede von freiem und gebundenem VEGF zwischen Patientinnen mit bzw. ohne OHSS und postuliert ein hochmolekulares Bindungsprotein, das VEGF bei Patientinnen ohne OHSS in höherem Maße bindet als bei Patientinnen mit OHSS. Das Verhältnis zwischen dem Spiegel dieses Bindungsproteins und freiem VEGF bestimmt, ob eine Patientin ein OHSS entwickelt oder nicht. Damit wird wiederum die These von Ludwig et al. (1999) gestützt.

Unsere Untersuchung zeigt keine signifikanten Unterschiede bezüglich des VEGF-Spiegels an den Tagen der hCG-Gabe, Follikelpunktion, des Embryonentransfers, Tag 5 bzw. Tag 16 zwischen den Gruppen mit und ohne Aszitesbildung sowie schwangerer und nicht schwangerer Patientinnen.

Ein Trend zur Signifikanz ließ sich für VEGF am Tag der hCG-Applikation und am Tag des Embryonentransfers für die Ausprägung des Aszites am Tag 16 ermitteln. Damit lassen sich diese Ergebnisse durchaus in die bestehende Literatur einordnen. Fraglich bleibt aber, ob es *cut-off* Werte gibt, die prädiaktive Maßnahmen erlauben und die Prädiktion eines OHSS ermöglichen.

4.4. IL-6

Interleukin-6 wird von Monozyten, Endothelzellen, T-Zellen und Fibroblasten produziert. Es wird durch Schock-Proteine getriggert, wie z.B. Interleukin-1 und TNF. Interleukin-6 spielt außerdem eine Rolle in den Prozessen der Angiogenese sowie der Hyperpermeabilität. Andus et al. (1992) zeigten, dass ein erhöhter IL-6-Spiegel in der Peritonealflüssigkeit von Patienten mit Aszites gefunden wurden. IL-6 spielt offenbar eine Rolle in der Entwicklung von Follikeln.

Aboulghar et al. (1999) konnten in der Untersuchung von OHSS-Patientinnen erhöhte IL-6-Spiegel im Serum und in der Aszitesflüssigkeit bestätigen. Die Arbeitsgruppe stützt die These, IL-6 als Marker für das OHSS einzusetzen.

Keck et al. (1998) zeigten, dass das in Plasmaproben enthaltene VEGF möglicherweise von IL-6-responsiven Granulosazellen IL-6-induziert gebildet worden ist. Gleichfalls wurde eine durch Granulosazellen verminderte Progesteron-Synthese registriert. Es scheint so zu sein, dass eine verstärkte Entzündungsreaktion im Rahmen des OHSS das empfindliche Gleichgewicht von Progesteron und VEGF beeinflusst.

Diese Arbeitsgruppe postulierte auch, dass in der Follikelflüssigkeit Monozyten und Makrophagen enthalten sind, die IL-6 sezernieren. Auch Granulosazellen sind in der Lage, gonadotropinabhängig IL-6 zu exprimieren. Sie verfügen ferner über spezifische IL-6-Rezeptoren, deren Expression durch hCG induziert werden kann, durch FSH jedoch nicht. Eine autokrine Regulation der Granulosazellen durch IL-6 kann angenommen werden. IL-6 führt zu einer dosisabhängigen Hemmung der Progesteronsekretion von Granulosazellen, so dass IL-6 eine modulierende Funktion der Steroidgenese im Ovar zukommt. IL-6 führt selbst auch wieder zu einer Stimulation der VEGF-Expression und ist damit wiederum an der Regulation angiogenetischer Vorgänge beteiligt. Keck et al. (1998) schlussfolgerten daher, dass unter Gonadotropintherapie eine Stimulation der intraovariellen VEGF- und IL-6-Expression herbeigeführt wird. Um das Vollbild des OHSS hervorzurufen, bedarf es einer kritischen Masse an Granulosazellen bzw. einer entsprechenden Anzahl von Follikeln. Unter hCG-Gabe werden vermehrt IL-6-Rezeptoren exprimiert und damit die Sensitivität gegenüber IL-6 gesteigert. IL-6 wiederum triggert autokrin die VEGF-Expression. IL-6 kann als indirekter Induktor der Angiogenese gesehen werden, da es die Wirkung von VEGF auf Endothelzellen verstärkt. Eine exzessive VEGF-Sekretion führt dann unter Vermittlung spezifischer Rezeptoren zu den Symptomen des OHSS.

Buyalos et al. (1992) zeigten eine nachweisbare IL-6-Konzentrationen in der Follikelflüssigkeit von Patientinnen nach Gonadotropinbehandlung. Die IL-6-Konzentrationen in der Follikelflüssigkeit waren signifikant höher als im Serum.

Friedlander et al. (1993) untersuchten Aszites und Serum von Patientinnen mit ausgeprägtem OHSS sowie in Kontrollen auf Zytokine und TNF- α . Dabei fanden sich signifikant erhöhte IL-6-Werte in der OHSS-Gruppe, TNF- α war jedoch nicht signifikant erhöht, außerdem wurde ein deutlicher Serum-Albuminmangel in der OHSS-Gruppe bemerkt. IL-6 ist ein potenter Inhibitor der Albuminproduktion in der Leber während er dort gleichzeitig zum Umschalten auf die Synthese der Akut-Phase-Proteine führt. Der Umkehrschluss ergibt, dass das exzessiv bei Patientinnen mit OHSS ausgeschüttete IL-6 eine Akut-Phase-Reaktion des Peritoneums verursacht. IL-6 eigne sich als Marker für das OHSS lt. Friedlander.

Loret de Mola et al. (1996a) untersuchten in einer Studie die IL-6-Konzentrationen im Serum bei Patientinnen unter Gonadotropinbehandlung im Vergleich zu postovulatorischen Kontrollpatientinnen im Normalzyklus. Unter Gonadotropinbehandlung fanden sich signifikant höhere IL-6-Spiegel im Vergleich zur Kontrollgruppe. Zwischen Patientinnen, die ein OHSS entwickelten und denen, die keinen Hinweis auf eine Überstimulation boten, waren hier keine signifikanten Unterschiede in der IL-6-Serumkonzentration erkennbar.

In einer Folgestudie von Loret de Mola (1996b) wurde die Produktion und Immunlokalisation von IL-6 sowohl im Serum als auch in der Peritoneal-, Aszites- und Follikelflüssigkeit bei Patientinnen mit OHSS und Kontrollpatientinnen im Normalzyklus untersucht. Hier konnten deutlich höhere IL-6-Werte für Patientinnen mit OHSS im Vergleich zu denen ohne OHSS in allen Körperflüssigkeiten bestimmt werden. Diese Daten beweisen nicht eindeutig, dass erhöhte IL-6-Spiegel in die Pathogenese des OHSS ursächlich verwickelt sind, bzw. ein Ergebnis der patho-physiologischen Veränderungen im Verlauf eines OHSS darstellen.

Mehrere Arbeitsgruppen untersuchten die Bedeutung von IL-6 als prädiktiven Marker für die Vorhersage eines OHSS.

Abramov et al. (1996) zeigten, dass die klinische Symptomatik im Verlauf des OHSS mit der Höhe des IL-6-Spiegels im Serum und im Aszites korreliert. Parallel zur klinischen Besserung sank auch der erhöhte IL-6-Spiegel signifikant bis zum Erreichen der Normalwerte bei Verschwinden der Symptome.

Geva et al. (1997) fanden signifikant erhöhte Konzentrationen von IL-6 in der Follikelflüssigkeit zum Zeitpunkt der Follikelpunktion bei Patientinnen, die ein OHSS entwickelten.

In den o.g. Studien wurde gezeigt, dass die IL-6-Konzentration in der Follikelflüssigkeit niedriger als im Serum ist und eine Gonadotropinstimulation zu einem Anstieg von IL-6 führt. Daraus lässt sich ableiten, dass IL-6 ovariellen Ursprungs ist und dass es sich bei der Ovulation um eine pseudoinflammatorische Reaktion handelt.

Chen et al. (2000) untersuchten in ihrer Studie, ob sich ein Unterschied bezüglich des Zytokinpektrums (IL-6, IL-8, TNF- α und VEGF) der Hormone (E_2 , Progesteron) und der Schwangerschaftsrate bei Patientinnen mit und ohne Leberfunktionsstörung im Rahmen eines schweren OHSS ergibt. Signifikant erhöht war dabei der IL-6-Spiegel in der Gruppe der Patientinnen mit Leberfunktionsstörung, die Implantations- und Schwangerschaftsrate jedoch signifikant verringert gegenüber den Patientinnen ohne Leberfunktionsstörungen während der aktiven Phase des OHSS. Übrige Parameter ergaben keine signifikanten Unterschiede. Das ist verständlich, da IL-6 als proinflammatorisches Zytokin auch in die Akut-Phase-Antwort bei Leberschäden (Alkoholhepatitis, Sepsis und fulminantes Leberversagen) involviert ist. Erhöhtes IL-6 scheint auch durch Milieuveränderung eine Implantation zu verhindern.

Forman et al. (1990) beschrieben in einer europaweiten Studie Leberfunktionsstörungen bei ca. 37,5% der schweren OHSS-Fälle.

Enskog et al. (2001) stellen in ihrer Untersuchung fest, dass IL-6 indirekt durch Verstärkung der Thrombopoese zur VEGF-Erhöhung führt, weil vermehrt neugeformte Thrombozyten mit VEGF-enthaltenden Granula angeliefert werden.

Konsistent und ergänzend zu den zitierten Studien können wir signifikant höhere IL-6 am Tag der Follikelpunktion bei Patientinnen mit früher Aszitesbildung Tag 5 belegen. Sie sind wahrscheinlich, wie ausgeführt, Ausdruck der massiv vermehrten Follikelreifung und stattfindenden Polyovulation (Tabelle (8)).

4.5. TNF-

Geva et al. (1997) untersuchten neben Zytokinen auch TNF- α als möglichen Vorhersageparameter bei Patientinnen mit OHSS. Im Vergleich zu Patientinnen ohne OHSS konnten hier keine signifikanten Unterschiede zum Zeitpunkt der Follikelpunktion festgestellt werden.

Revel et al. (1995) analysierten die Aszitesflüssigkeit von Patientinnen mit OHSS und einer Kontrollgruppe und zeigten eine höhere TNF- α -Konzentration in der Gruppe der OHSS-Patientinnen, konnten jedoch keinen Unterschied zwischen den Gruppen bezüglich IL-2, IL-6 und IL-8 finden. In einer Folgestudie (1996) wiederum wurden signifikant erhöhte Werte von IL-6, IL-8 und TNF- α sowie erniedrigte Nitritwerte in der Aszitesflüssigkeit und auch im Plasma von OHSS-Patientinnen gefunden. Unsere Studie zeigt einen Trend zur Signifikanz für TNF- α am Tag der Follikelpunktion bei Patientinnen mit konsekutiver Aszitesbildung am Tag 5 in Ergänzung zu den o.g. Studien (Tabelle 8).

4.6. IL-8

Abramov et al. (1996) fanden in ihrer Untersuchung keine IL-8-Erhöhung im peripheren Blut, jedoch im Aszites der Patientinnen mit OHSS. Die Arbeitsgruppe impliziert eine direkte Ausschüttung des IL-8 von den Ovarien in die Peritonealhöhle und damit eine direkte Mediatorwirkung auf die intraperitoneale akute-Phase-Reaktion, die beim OHSS beobachtet wurde. IL-8 am Tag der hCG-Applikation und Aszitesbildung am Tag 5 ergaben in unserer Studie eine signifikante Korrelation. Der IL-8-Spiegel zu Stimulationsbeginn zeigt signifikante Unterschiede im Vergleich der schwangeren mit den nicht schwangeren Patientinnen.

Wir selbst fanden signifikant niedrigere IL-8-Spiegel am Tag der hCG Gabe bei solchen Patientinnen, die später Aszites entwickelten (Tabelle 8). Diese Ergebnisse sind insofern neu und lassen sich im Gegensatz zu den Befunden von Abramov et al. (1996) durch die deutlich divergente Bestimmungsmethode erklären. Möglicherweise können wir mit der in dieser Arbeit gewählten Laboranalytik sensiblere Unterschiede herausarbeiten.

4.7. Anzahl der Follikel

Die Anzahl der Follikel, bestimmt am Tag der hCG-Gabe, sowie die Anzahl der gewonnenen Eizellen helfen nur in ca. einem Viertel in der Vorhersage eines OHSS. (Forman et al., 1990). Auch hier variieren die kritischen Werte von 10-35 Follikeln und 14-30 gewonnene Eizellen (Forman et al., 1990; Asch et al., 1991, Delvigne et al., 1993).

Die Anzahl der gewonnenen Eizellen ergab keinen signifikanten Unterschied in der Betrachtung der Gruppen mit und ohne Aszites bzw. schwangerer und nicht schwangerer Patientinnen (Tabelle 3 und 4). Wahrscheinlich ist es so, dass die Zahl der Eizellen eben nur mit dem schweren OHSS korreliert und geringfügige Auffälligkeiten wie die in dieser Arbeit untersuchte Aszitesbildung kaum beeinflusst werden. Insofern ist dieses Ergebnis nicht unbedingt verwunderlich.

4.8. Schwangerschaft

Die obigen Ausführungen zum Zusammenhang zwischen OHSS und dem Trigger hCG zeigen deutlich den schon seit langem bekannten Zusammenhang zwischen einer eintretenden Schwangerschaft und einem OHSS.

Wir konnten mehr Fälle mit Aszites sehen bei denjenigen Patientinnen, die schwanger wurden (Tabelle 3 und 8). Die vermehrte Ausschüttung von Zytokinen, aber insbesondere hCG, erklärt dieses Phänomen ausreichend und bedarf keiner weiteren Diskussion. Sicherlich ist die Schwangerschaft mit einer der besten Risikoparameter für die Entwicklung eines OHSS. Bedauerlicherweise eignet sich die Schwangerschaft jedoch – verständlicherweise – nicht für die Prädiktion dieser Fälle.

4.9. Grenzen der Studie

Wir haben einen prospektiven Studienansatz gewählt, der zahlreichen retrospektiven Untersuchungen zu diesem Thema entgegensteht. Dies ist der Hauptvorteil der Untersuchung.

Dadurch bedingt, ist natürlich die Zahl der Fälle mit schwerem OHSS erwartungsgemäß gering. Hierzu können sinnvolle Studien nur retrospektiv und wahrscheinlich multizentrisch erfolgen. Ansonsten kann kaum erwartet werden,

genügend schwere OHSS Fälle beobachten zu können, um valide statistische Auswertungen zu epidemiologischen Risikofaktoren durchführen zu können. Dann allerdings wird es wiederum fast unmöglich sein, Untersuchungen zu Zytokinen auszuwerten. Diese werden kaum routinemäßig zur Verfügung stehen.

Eine der Hauptgrenze solcher Auswertungen ist also, wie bereits in der Einleitung ausgeführt, die Seltenheit des schweren OHSS.

Die Zahl der eingeschlossenen Patientinnen war ausreichend groß, um zu den verschiedenen Zeitpunkten valide Berechnungen zu den einzelnen Parametern durchzuführen. Dies erklärt, warum wir im Gegensatz zu kleineren Untersuchungen durchaus signifikante Befunde erheben konnten, wo zuvor nur Trends oder keine Unterschiede offenbar geworden sind. Unser Kollektiv war homogener als das anderer Autoren – bedingt durch den prospektiven Studienansatz.

Wir haben für fast alle Zeitpunkte Proben von allen Patientinnen zur Verfügung gehabt. Nur selten kamen die Patientinnen den üblichen Terminen im Rahmen der Stimulationsbehandlung nicht nach. Dies ist als eindeutiger Vorteil zu werten.

Insgesamt gesehen scheint uns unser Studienansatz auch retrospektiv für die gesetzte Zielrichtung adäquat. Mängel – insbesondere die Seltenheit des Krankheitsbildes – können kaum überwunden werden.

4.10. Maßnahmen und Ausblick

Die Prävention einer Erkrankung erfordert das Wissen um die Ätiologie prädisponierender Faktoren, um diese im Rahmen einer Präventionsstrategie abzuwenden oder zu beeinflussen. Die Sekundärprävention ergibt sich aus der Kenntnis um die Pathophysiologie, den Zugriff auf Tests zur Früherkennung, um die pathophysiologische Veränderungen beeinflussen und korrigieren zu können.

Therapeutische Optionen und neue Ansätze bietet der Einsatz von Rezeptorenblockern (VEGF- und ACE-Hemmern) zur Therapie des OHSS. Es ist wichtig, im Vorfeld *poor-* von *low-respondern* zu unterscheiden und zu identifizieren, um maßgeschneiderte Stimulationsprotokolle mit Rücksicht auf Hormonstatus, ovarielle Reserve und biologisches Alter erstellen und anwenden zu können.

Lainas et al. (2002) untersuchten in einer Studie erfolgreich die Methylprednisolongabe zur Risikominimierung für das OHSS.

Empfohlen wird die Ovulationsauslösung mit nur 5000 I.E. hCG oder rekombinantem LH, die Verwendung von GnRH-Antagonisten, die möglichst niedrig dosierte Stimulation, die vollständige Aspiration von Follikeln und der Lutealphasensupport ohne hCG nur mit Progesteron. Liegen viele Follikel vor, wird die Kryokonservierung und Rückgabe der Embryonen in einem weiteren niedrig dosierten stimulierten Zyklus empfohlen.

Bei bestimmten Befundkonstellationen muss das Paar über ein erhöhtes Risiko für ein OHSS und die therapeutischen Optionen aufgeklärt werden. Dazu gehören hohe Serumestradiolwerte und die Ausbildung vieler Follikel, wobei die Grenzwerte von verschiedenen Autoren unterschiedlich angegeben werden: Forman et al. raten bei Estradiolserumkonzentrationen von >2000 pg/ml und mehr als 15 Follikeln, Asch et al. bei Estradiolserumkonzentrationen von >3500 pg/ml und mehr als 20 Follikeln zum Abbruch der Behandlung und Aussetzen der hCG-Gabe (Forman et al., 1990; Asch et al 1991).

Neulen et al. (2001) setzen die Grenze bei mehr als 15 Follikel mit 10 mm Durchmesser nach 5 Stimulationstagen und $E_2 > 1000 \text{ pg/ml}$ bzw. 3600 pmol/l .

Zukünftige Studien zu diesem Thema sollten multizentrisch laufen, möglicherweise auch multinational. In diese Studien sollten Patientinnen eingehen, die nach einem einheitlichen Stimulationsprotokoll stimuliert worden sind. Die viel versprechenden Ergebnisse mit GnRH-Antagonisten-Protokollen sollten motivieren, ggf. diese zu verwenden. Die obigen Ausführungen sollten berücksichtigt werden. Der Einsatz von nur 5.000 I.E. hCG oder rekombinantem hCG ($250 \mu\text{g} = \text{ca. } 6.500 \text{ I.E.}$) sollten favorisiert werden. In diesem multizentrischen Ansatz sollten prospektiv zu den in unserer Studie herausgearbeiteten Zeitpunkten (Tag der hCG-Gabe und Tag der Follikelpunktion) die Parameter $\text{TNF-}\alpha$, IL-8, E_2 und vor allem VEGF einheitlich, vorzugsweise in einem Zentrallabor, bestimmt werden.

Ferner wäre die parallele Erhebung zusätzlicher Laborwerte hilfreich, wie z.B. die Bestimmung der Leberfunktion (Transaminasen) und ggf. die IgE-Bestimmung bzw. Histaminliberation im Provokationstest als Mittel zur Früherkennung einer Atopieneigung sowie die Prüfung einer saisonalen Abhängigkeit.

Solche Studien werden möglicherweise durch die begrenzten finanziellen Ressourcen nicht durchführbar sein. Man muss sich auch darüber klar sein, dass im Endeffekt auch solche Studien nur geeignet sein werden, *cut-off level* zu definieren, die dann in einer weiteren prospektiven Studie hinsichtlich ihrer Fähigkeit der Prädiktion eines schweren OHSS geprüft werden müssten.

V. Zusammenfassung

Obwohl das OHSS in seiner schwersten Form selten auftritt, ist es eine iatrogene, ernst zu nehmende Komplikation im Rahmen der Sterilitätsbehandlung, die potentiell lebensbedrohlich enden kann.

Da sich grundlegende Veränderungen im Gefäßkompartiment vollziehen, sind derzeitige Untersuchungen auf vasoaktive Substanzen fokussiert. Hier ist besonders VEGF als ein wichtiger Faktor zur Entstehung des OHSS hervorzuheben.

Unser prospektiver Studienansatz mit mehrfachen, definierten Blutentnahmen sollte im Wesentlichen klären, ob sich anhand verschiedener Zytokinverläufe im stimulierten Vollblut ein Parameter finden lässt, dem während des Stimulationszyklus ein Voraussagewert für die Entwicklung eines OHSS, einer Schwangerschaft und für ein Mehrlingsrisiko zukommt, bzw. inwieweit die mildesten Formen des OHSS, die teilweise lediglich durch Darstellung von Aszites oder leicht vergrößerten Ovarien charakterisiert sind, zu erwarten und durch Konzentrationsänderung der untersuchten Zytokine vorhersagbar wären.

Da die Inzidenz eines schweren OHSS erfreulicherweise gering ist, konnten wir dies nicht als Zielparameter wählen. Die Aszitesbildung – als mildeste Form eines OHSS und Zeichen einer erhöhten Gefäßpermeabilität im Rahmen der ovariellen Stimulation – aber war signifikant mit erhöhten bzw. erniedrigten Werten von Estradiol, VEGF, IL-8 und ggf. auch TNF- α zum Zeitpunkt der hCG-Gabe bzw. der Follikelpunktion assoziiert.

Die in der vorliegenden Studie untersuchten Parameter IL-6, IL-8, VEGF und TNF- α eignen sich allerdings im Vergleich mit den etablierten Parametern unserer Meinung nach nicht, ein sich entwickelndes OHSS rechtzeitig erkennen zu können, um von der Patientin Schaden abzuwenden. Das relativ späte Auftreten der Veränderung dieser Zytokine erst am Tag der hCG-Gabe oder der Follikelpunktion bedeutet, dass zu diesem Zeitpunkt bereits die wesentlichen Schritte zur Entwicklung des Krankheitsbildes abgelaufen bzw. gebahnt sind. Es lässt sich dann nicht mehr therapeutisch oder prophylaktisch intervenieren. Da die routinemäßige Bestimmung der Zytokine und des Tumornekrosefaktors

kostenaufwendig sind, empfehlen sich nach wie vor die klassischen Methoden der Estradiolbestimmung, der transvaginalen Ultraschalluntersuchung sowie das klinische Leitbild der Patientin, um die Risiken einzugrenzen, bis ein besserer Weg gefunden wird.

Wir empfehlen zur definitiven Klärung der Bedeutung von Zytokin-Bestimmungen als prospektiven Marker eines OHSS einen prospektiven, multizentrischen Studienansatz, in den Patientinnen, die nach einem einheitlichen Stimulationsprotokoll stimuliert worden sind, eingehen. Zu den in unserer Studie herausgearbeiteten Zeitpunkten (Tag der hCG-Gabe und Tag der Follikelpunktion) sollte neben den Parametern VEGF, TNF- α , IL-8, und E₂ die Bestimmung der Leberfunktion (Transaminasen), die IgE-Bestimmung bzw. Histaminliberation einheitlich, möglichst in einem Zentrallabor, erfolgen.

VI. Literaturverzeichnis

1. Abramov Y, Elchalal U, Schenker JG: Obstetric outcome of *in vitro* fertilized pregnancies complicated by severe ovarian hyperstimulation syndrome: a multicenter study. *Fertil Steril* 1998; 70: 1070-1076
2. Abramov Y, Barak V, Nisman B, Schenker J: Vascular endothelial growth factor plasma levels correlate to the clinical picture in severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril* 1997; 67(2): 261-265
3. Abramov Y, Schenker J, Lewin A, Friedler S, Nisman B, Barak V: Plasma inflammatory cytokines correlate to the ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum Reprod* 1996;11: 1381-1386
4. Aboulghar MA, Mansour RT, Serour GI, El Helw BA, Shaarawy M: Elevated levels of interleukin-2, soluble interleukin-2 receptor alpha, interleukin-6, soluble interleukin-6 receptor and vascular endothelial growth factor in serum and ascitic fluid of patients with severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Europ J Obstet Gynecol and Reprod Biol* 1999; 87: 81-85
5. Adashi E: The potential relevance of cytokines to ovarian physiology: The emergent role of resident ovarian cells in white blood cell series. *Endocrinol Rev* 1990; 11: 454-464
6. Agrawal R, Chimusoro K, Payne N, Van der Spuy Z, Jacobs HS: Severe ovarian hyperstimulation syndrome: serum and ascitic fluid concentrations of vascular endothelial growth factor. *Curr Opin Obstet Gynecol* 1997; 9:141-144
7. Agrawal R, Tan S, Wild S, Sladkevicius P, Engmann L, Payne N, Bekir J, Campbell S, Conway G, Jacobs H: Serum vascular endothelial growth factor concentrations in vitro fertilization cycles predict the risk of ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril* 1999; 71(2): 287-293
8. Al-Inany H, Aboulghar M: GnRH antagonist in assisted reproduction: a Cochrane review. *Hum Reprod* 2002; 17:0847-885

9. Alpizar E, Spizer LJ: Effects of interleukin-6 on proliferation and follicle-stimulating hormone-induced Estradiol production by bovine granulosa cells in vitro: dependence on size of follicle. *Biol Reprod* 1993; 49: 38-43
10. Andus T, Gross V, Holstege A, Weber M, Ott M, Gerok W: Evidence for the production of high amounts of IL-6 in the peritoneal cavity of patients with ascites. *J Hepatol* 1992; 15: 378-381
11. Arici A, Oral E, Bukulmez O, Buradagunta S, Engin O, Olive D: Interleukin-8 expression and modulation in human preovulatory follicles and ovarian cells. *Endocrinology* 1996; 137: 3762-3769
12. Artini PG, Monti , Fasciani A, Tartaglia ML, D`Ambrogio G, Genazzi AR: Correlation between the amount of follicle-stimulating hormone administered and plasma and follicular fluid vascular endothelial growth factor concentrations undergoing in vitro fertilization. *Gynecol Endocrinol* 1998; 12:243-247
13. Artini PG, Fasciani A, Monti M, Luisi S, D`Ambrogio G, Genazzani A: Changes in a vascular endothelial growth factor levels and the risk of ovarian hyperstimulation syndrome in women enrolled in an in vitro fertilization program. *Fertil Steril* 1998; 70(3): 560-564
14. Artini PG, Monti M, Fasciani A, Battaglia C, D`Ambrogio G, Genazzani A: Vascular endothelial growth factor, interleukin-6 and interleukin-2 in serum and follicular fluid of patients with ovarian hyperstimulation syndrome. *Eur J Obstet Gynecol and Reprod Biol* 2002; 101: 169-174
15. Asch RH, Li HP, Balmaceda JP, Weckstein LN, Stone SC: Severe ovarian hyperstimulation syndrome in assisted reproductive technology- definition of high risk groups. *Hum Reprod* 1991; 6: 1395-1399
16. Balasch J, Carmona F, Llach J et al.: Acute prerenal failure and liver dysfunction in a patient with severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum Reprod* 1990; 5: 348-351
17. Ben-Av P, Crofford LJ, Wilder RL, Hela T: Induction of vascular endothelial growth factor expression in synovial fibroblasts by prostaglandin E and

interleukin-1: a potential mechanism for inflammatory angiogenesis. *FEBS Lett* 1995; 372: 83-87

18. Blankenstein J, Shalev J, Saadon T, Kukia EE, Rabinovici J, Pariente C, Lunenfeld B, Serr DM, Mashiach S: Ovarian hyperstimulation syndrome: prediction by number and size of preovulatory follicles. *Fertil Steril* 1987; 47: 597-602
19. Bodis J, Torok A, Tinnenberg HR: LH/FSH ratio as a predictor of ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum Reprod* 1997; 12: 869-870
20. Borenstein R, Elhalah V, Lunenfeld B, et al.: Severe ovarian hyperstimulation syndrome: A reevaluated therapeutic approach. *Fertil Steril* 1989; 5: 791-795
21. Brinsden PR, Wada I, Tan SL, Balen A, Jacobs HS: Diagnosis, prevention and management of ovarian hyperstimulation syndrome. *Br J Obstet Gynecol* 1995; 102: 767-772
22. Buyalos RP, Watson JM, Martinez-Maza O: Detection of interleukin-6 in human follicular fluid. *Fertil Steril* 1992; 57: 1230-1234
23. Casper RF: Ovarian hyperstimulation: effects of GnRH analogues. Does triggering ovulation with gonadotropin releasing hormone analogue prevent severe ovarian hyperstimulation syndrome? *Hum Reprod* 1996; 11: 1144-1146
24. Charnock-Jones D, Sharkey A, Rajput-Williams J, et al.: Identification et localization of alternately spliced mRNAs for Vascular endothelial growth factor in human uterus and estrogen regulation in endometrial carcinoma cell lines. *Biol Reprod* 1993; 48: 1120-1128
25. Chen CD, Wu MY, Chen HF, Chen SU, Ho HN, Yang YS: Prognostic importance of serial cytokine changes in ascites and pleural effusion in women with severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril* 1999; 72(2): 286-292
26. Chen CD, Chen HF, Lu HF: Value of serum and follicular fluid cytokine profile in the prediction of moderate or severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum Reprod* 2000; 15: 1037-1042

27. Conolly D, Olander J, Heuvelmann D, Nelson R, Monsell R, Siegel N, Haymore B, Leimgruber R, Feder J: Human Vascular permeability factor. *J Biol Chem* 1989; 264: 20017-20024
28. Coy D, Horvath A, Nekola M, Coy E, Ercheigyi J, Schally A: Peptide antagonists of LH-RH: large increases in antioovulatory activities produced by basic D-amino-acids in the six position. *Endocrinol* 1982; 110: 1445-1447
29. Cremisi HD, Mitch WE: Profound hypotension and sodium retention with the ovarian hyperstimulation syndrome. *Am J Kidney Dis* 1994; 24: 854-857
30. Cullinan-Bove K, Koos RD: Vascular endothelial growth factor/ vascular permeability factor expression in the rat uterus; rapid stimulation by estrogen correlates with estrogen-induced increases in uterine capillary permeability and growth. *Endocrinol* 1993; 829-837
31. Danninger B, Brunner M, Obruca A, Feichtinger W: Prediction of ovarian hyperstimulation syndrome by ultrasound volumetric assessment (corrected) of baseline ovarian volume prior to stimulation. *Hum Reprod* 1996; 11: 1597-1599
32. Daya S: Updated meta-analysis of recombinant follicle-stimulating hormone (FSH) versus urinary FSH for ovarian stimulation in assisted reproduction. *Fertil Steril* 2002; 77: 711-714
33. Davis E, Hellebaum AA: Observations on the experimental use of gonadotrophin extracts in the human female. *J Clin Endocrinol* 1944; 4: 400-409
34. Delbaere A, Bergmann P, Gerty-Decoster C, et al.: Angiotensin II immunoreactivity is elevated in ascites during severe ovarian hyperstimulation syndrome: Implications for pathophysiology and clinical management. *Fertil Steril* 1994; 62: 731-737
35. Delbaere A, Bergmann PJ, Gervy-Decoster C, Deschodt-Lanckman M, de-Maertelaer V, Straoukine M, Camus M, Englert Y: Increased angiotensin II in ascites during severe ovarian hyperstimulation syndrome: role of early

- pregnancy and ovarian gonadotropin stimulation. *Fertil Steril* 1997; 67(6): 1038-1045
36. Delvigne A, Demoulin A, Smitz J, Donnez J, Koninckx P, Dhont M, Englert Y, Delbeke L, Darcis L, Gordts S et al.: The ovarian hyperstimulation syndrome in in-vitro fertilization: a Belgian multicentric study. I. Clinical and biological features. *Hum Reprod* 1993a; 8: 1353-1360
37. Delvigne A, Dubois M, Battheu B, Bassil S, Meuleman C, De Sutter P, Rodesch C, Janssens P, Remacle P, Gordts S et al.: The ovarian hyperstimulation syndrome in in-vitro fertilization: a Belgian multicentric study. II. Multiple discriminant analysis for risk prediction. *Hum Reprod* 1993b; 8: 1361-1366
38. Devroy P. GnRH agonists. *Fertil Steril* 2000; 73: 15-17
39. Dourron N, Williams D: Prevention and treatment of ovarian hyperstimulation syndrome sem. *Reprod Endocrinol* 1996; 14: 355-365
40. Elchalal U, Schenker JG: The pathophysiology of ovarian hyperstimulation syndrome- views and ideas. *Hum Reprod* 1997; 12: 1129-1137
41. Enskog A, Henriksson M, Unander M, Nilsson L, Brännström M: Prospective study of the clinical and laboratory parameters of patients in whom ovarian hyperstimulation syndrome develops during controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1999; 71(5): 808-814
42. Enskog A, Nilsson L, Brannstrom M: Peripheral blood concentrations of inhibin B are elevated during gonadotrophin stimulation in patients who later develop ovarian OHSS and inhibin A are elevated after OHSS onset. *Hum Reprod* 2000; 15: 532-538
43. Enskog A, Nilsson L, Brännström M: Plasma levels of free vascular endothelial growth factor₁₆₅ (VEGF₁₆₅) are not elevated during gonadotropin stimulation in in vitro fertilization (IVF) patients developing ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS): results of a prospective cohort study with matched controls. *Eur J Obstet Gynecol* 2001; 96: 196-201

44. Farhi J, Weissman A, Steinfeld Z, Shorer M, Nahum H, Levran D: Estradiol supplementation during the luteal phase may improve the pregnancy rate in patients undergoing in vitro fertilization-embryo transfer cycles. *Fertil Steril* 2000; 73: 761-766
45. Fauser BC, de Jong D, Oliiviennes F, Wramsby H, Tay C, Itskovitz-Eldor J, van Hooren HG: Endocrine profiles after triggering of final oocyte maturation with GnRH agonist after cotreatment with the GnRH antagonist Ganirelix during ovarian hyperstimulation for *in vitro* fertilization. *J Clin Endocrinol and Metabol* 2002; 87(2): 709-715
46. Felberbaum R, Reissmann T, K pker W, Bauer O, Al-Hasani S, Diedrich K: Fertilization rate and amount of human menopausal gonadotropin needed in controlled ovarian hyperstimulation under low dose gonadotropin releasing hormone antagonist treatment. *Hum Reprod* 1995; 10: 8-14
47. Fernandez L, Twickler J, Mead A: Neovascularization produced by angiotensin II. *J Lab Clin Med* 1985; 1105: 219-223
48. Ferrara N, Houck K, Jakeman LB et al.: The vascular endothelial growth factor family of polypeptides. *J Cell Biol* 1991; 47: 211-218
49. Findlay J: Angiogenesis in reproductive tissues. *J Endocrinol* 1986; 11: 357-366
50. Forman R, Ross C, Frydman R, Barlow D, Egan D: Severe ovarian hyperstimulation syndrome using agonists of gonadotropin-releasing hormone for *in-vitro* fertilization: a European series and a proposal for prevention. *Fertil Steril* 1990; 53: 502-509
51. Fournet N, Surrey E, Kerin J et al.: Internal jugular vein thrombosis after ovulation induction with gonadotropin. *Fertil Steril* 1991; 56: 354-356
52. Friedlander MA, Loret de Mola JR, Goldfarb JM: Elevated levels of interleukin-6 in ascites and serum from women with ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril* 1993; 60: 826-833
53. Friedmann CI; Danforth DR, Herbosa-Encarnacion C: Follicular fluid vascular endothelial growth factor concentrations are elevated in women of

- advanced reproductive age undergoing ovulation induction. *Fertil Steril* 1997, 68: 607-612
54. Geva E, Lessing J, Lerner-Geba L, Azem F, Yovel I, Amit A: Elevated levels of interleukin-6 in the follicular fluid at the time of oocyte retrieval for *in vitro* fertilization may predict the development of early-form ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril* 1997; 68: 133-137
55. Geva E, Jaffe RB: Role of vascular endothelial growth factor in ovarian physiology and pathology. *Fertil Steril* 2000; 74(3): 429-438
56. Golan A, Ron-El R, Herman A, Weinraub Z, Soffer Y, Caspi E: Ovarian hyperstimulation syndrome following D-Trp-6 luteinizing-releasing hormone microcapsules and menotropin for *in vitro* fertilization. *Fertil Steril* 1988; 50: 912-916
57. Golan A, Ron-El R, Herman A, Soffer Y, Weinraub Z, Caspi E: Ovarian hyperstimulation syndrome: an update review. *Obstet Gynecol Surv* 1989; 44: 430-440
58. Gordon JD, Mesiano S, Zaloudek CJ, Jaffe RB: Vascular endothelial growth factor localization in human ovary and Fallopian tubes: possible role in reproductive function and ovary cyst formation. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 353-359
59. Gorospe WC, Hughes FM Jr, Spangelo BI: Interleukin-6: Effects on and production by rat granulosa cells in vitro. *Endocrinol* 1992; 130: 1750-1752
60. Gorospe WC, Spangelo BL: Interleukin-6: potential roles in neuroendocrine and ovarian function. *Endocr J* 1993; 1: 3-9
61. Hirano T, Yasukawa K, Harada H, Taga T, Watanabe Y, Matsuda T, Kashiwamura S, Nakajima K, Koyama K, Iwamatsu A, Tsunasawa S et al.: Complementary DNA for a novel human interleukine (BSF-2) that induces B lymphocytes to produce immunoglobulin. *Nature* 1986; 324: 73-75
62. Hornig C, Weich HA: Soluble VEGF receptors. *Angiogenesis* 1999; 3: 33-39
63. Imoedemhe DA, Chan RC, Sique AB, Pacpaco EL, Olazo AB: A new approach to the management of patients at risk of ovarian hyperstimulation in an *in-vitro* fertilization

64. Itskovitz-Eldor J, Kol S, Lewit N, Saeley JE: Ovarian origin of plasma and peritoneal fluid prorenin in early pregnancy and in patients with ovarian hyperstimulation syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82(2): 461-464
65. Kamat BR, Brown LF, Manseau EJ, Senger DR, Dvorak HF: Expression of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor by human granulosa and theca lutein cells. Role in corpus luteum development. *Am J Pathol* 1995; 46: 157-165
66. Keck C, Neulen J, Breckwoldt M: Das ovarielle Überstimulationssyndrom. *Geburtsh u Frauenheilk* 1994; 54: 315-320
67. Keck C, Rajabi Z, Pfeifer K, Bettendorf H, Brandstetter T, Breckwoldt M: Expression of interleukin-6 and interleukin-6 receptors in human granulosa lutein cells. *Mol Hum Reprod* 1998; 4: 1071-1076
68. Keck C, Geisthövel F: Long term FSH-Therapie zur Behandlung der Sterilität beim "gonadotropin-hypersensitiven" Ovar. *Geburtshilfe und Frauenheilkunde* 1999; 59: 215-219
69. Keck C, Rajabi Z, Barleon B: Interaction between interleukin-6 (IL-6) and vascular endothelial growth factor-A (VEGF-A) in human granulosa lutein cells - Effects of rh-FSH and hCG. *Geburtsh Frauenheilk* 2002; 62: 887-893
70. Kendall R, Thomas K: Inhibition of vascular endothelial growth factor activity by an endogenously encoded soluble receptor. *Proc Nat Acad Science* 1993; USA 90/22: 10705-10709
71. Kendall RL, Wang G, Thomas KA: Identification of a natural soluble form of the vascular endothelial growth factor receptor, FLT-1, and its heterodimerization with KDR. *Biochem Res Comm* 1996; 226: 324-328
72. Kodama H, Takeda S, Fukuda J, Miya H, Shimizu Y, Murata M, Tanaka T: Activation of plasma kinin system correlates with severe coagulation disorders in patients with ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum Reprod* 1997; 12: 891-895
73. Kol S: Luteolysis induced by a gonadotropin-releasing hormone agonist is the key to prevention of ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril* 2004; 81(1): 1-5

74. Krasnow J, Berga S, Guzick D, Zeleznik A, Yeo K: Vascular permeability factor and vascular endothelial growth factor in ovarian hyperstimulation syndrome: a preliminary report. *Fertil Steril* 1996; 65(3): 552-555
75. Lainas T, Petsas G, Stavropoulou G, Alexopoulou E, Iliadis G, Minaretzis D: Administration of methylprednisolone to prevent severe ovarian hyperstimulation syndrome in patients undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2002; 78(3): 529-533
76. Lee A, Christenson L, Patton P, Burry K, Stouffer R: Vascular endothelial growth factor production by human luteinized granulosa cells in vitro. *Hum Reprod* 1997; 12: 2756-2761
77. Lee A, Christenson L, Stouffer R, Burry K, Patton P: Vascular endothelial growth factor levels in serum and follicular fluid of patients undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1997; 68: 305-311
78. Levin E, Rosen G, Cassidenti D, Yee B, Meldrum D, Wisot A, Pedram A: Role of vascular endothelial growth factor in ovarian hyperstimulation syndrome. *J Clin Invest* 1998; 102: Nr. 11: 1978-1985
79. Lewis CG, Warnes GM, Wang XJ, Matthews CD: Failure of body mass index or body weight to influence markedly the response to ovarian hyperstimulation syndrome in normal cycling women. *Fertil Steril* 1990; 53: 1097-1099
80. Lipitz S, Grisaru D, Achiron R, et al.: Spontaneous ovarian hyperstimulation mimicking an ovarian tumor. *Hum Reprod* 1996; 11: 720-721
81. Loret de Mola J, Flores J, Baumgardner G, Goldfarb J, Gindlesperger V, Friedlader M: Ovarian hyperstimulation syndrome: pre-ovulatory serum concentrations of interleukin-6, interleukin-1 receptor antagonist and tumor necrosis factor- α cannot predict its occurrence. *Hum Reprod* 1996a; 11: 1377-1380
82. Loret de Mola J, Flores J, Baumgardner G, Goldfarb J, Gindlesperger V, Friedlader M: Elevated interleukin-6 levels in the ovarian hyperstimulation syndrome: Ovarian immunohistochemical localization of interleukin-6 signal. *Obstet Gynec* 1996 b; 87: 581-587

83. Ludwig M, Bauer O, Lopens A, et al.: Serum concentration of vascular endothelial growth factor cannot predict the course of severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum Reprod* 1998a; 13: 30-32
84. Ludwig M, Gembruch U, Bauer O, Diedrich K: Ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS) in a spontaneous pregnancy with fetal and placental triploidy: information about the general pathophysiology of OHSS. *Hum Reprod* 1998b; 13: 2082-2087
85. Ludwig M, Jelkmann W, Bauer O., Diedrich K: Prediction of severe ovarian hyperstimulation syndrome by free serum vascular endothelial growth factor concentration on the day of human chorionic gonadotrophin administration. *Hum Reprod* 1999; 14: 2437-2441
86. Ludwig M, Katalinic A, Diedrich K: Use of GnRH antagonists in ovarian stimulation for assisted reproductive technologies compared to the long protocol. Meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet* 2001; 265: 175-182
87. Loukides J, Loy R, Edwards R, Hong J, Visintin I, Polan M: Human follicular fluids contain tissue macrophages. *J Clin Endocrinol* 1990; 71, 1363-1367
88. Loumaye E: The control of endogenous secretion of LH by gonadotropin-releasing hormone agonists during ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization and embryo transfer. *Hum Reprod* 1990; 5: 357-76
89. Loumaye E, Engrand P, Howles CM, O'Dea L: Assessment of the role of serum luteinizing hormone and estradiol response to follicle stimulating hormone on in vitro fertilization treatment outcome. *Fertil Steril* 1997; 67: 889-899
90. Lyons CA, Wheeler CA, Frishman GN, Hackett RJ, Seifer DB, Hanning RV: Early and late presentation of the ovarian hyperstimulation syndrome: two distinct entities with different risk factors. *Hum Reprod* 1994; 9: 792-799
91. Maloney JP, Silliman CC, Ambruso DR, Wang J, Tudor RM, Voelkel NF: In vitro release of vascular endothelial growth factor during platelet aggregation. *Am J Physiol* 1998; 257: 1054-1061
92. Mathur R, Hayman G, Bansal A, Jenkins J: Serum vascular endothelial growth factor levels are poorly predictive of subsequent ovarian

- hyperstimulation syndrome in highly responsive women undergoing assisted conception. *Fertil Steril* 2002; 78(6): 1154-1158
93. McClure N, Haly D, Rogers P, Sullivan J, Beaton L, Haning R, Conolly D, Robertson D: Vascular endothelial growth factor as capillary permeability agent in ovarian hyperstimulation syndrome. *The Lancet* 1994; 344: 235-236
94. McElhinney B, Ardill J, Caldwell C, Lloyd F, McClure N: Variations in serum vascular endothelial growth factor binding profiles and the development of ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril* 2002; 78(2): 286-290
95. Meirow D, Schenker J, Rosler A: Ovarian hyperstimulation syndrome with low estradiol in non-classical 17-alpha-hydroxylase, 17-20lyase deficiency: what is the role of estrogens? *Hum Reprod* 1996; 11: 2119-2121
96. Moohan JM, Curcio, K, Leoni M, Healy D, Hurley V: Low intraovarian vascular resistance: a marker for severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril* 1997; 67(4): 728-732
97. Morris RS, Wong IL, Kirkman E, Gentschein E, Paulson RJ: Inhibition of ovarian-derived prorenin to angiotensin cascade in the treatment of ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum Reprod* 1995; 10: 1355-1358
98. Navot D, Margalioth E, Laufer N, et al.: Direct correlation between plasma renin activity and severity of the ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril* 1987; 48: 57-61
99. Navot D, Relou A, Birkenfeld A, Rabinowitz R, Brzezinski A, Margalioth EJ: Risk factors and prognostic variables in the ovarian hyperstimulation syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1988; 159: 210-215
100. Navot D, Bergh PA, Laufer N: Ovarian hyperstimulation syndrome in novel reproductive technologies: prevention and treatment. *Fertil Steril* 1992; 58: 249-261
101. Neulen J, Zhaoping Y, Raczek S, Weinder K, Keck C, Weich HA et al.: Human chorionic gonadotropin dependent expression of vascular endothelial growth factor in human granulosa cells and importance in

- ovarian hyperstimulation syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80: 1967-1971
102. Ong A, Eisen V, Rennie D, et al.: The pathogenesis of the ovarian hyperstimulation syndrome (OHS): A possible role for ovarian renine. *Clin Endocrinol* 1991; 34: 43-49
103. Pellicer A, Albert C, Mercader A, Bonilla-Musoles F, Remohi J, Simón C: The pathogenesis of ovarian hyperstimulation syndrome: in vivo studies investigating the role of interleukine-1- β , interleukin-6, and vascular endothelial growth factor. *Fertil Steril* 1999, 71: 482-489
104. Pepper M, Ferrara N, Orci L, Montesano R: Potent synergism between vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor in the induction of angiogenesis in vitro. *Biochem. Biophys. Res Commun* 1991; 189: 824-831
105. Phillips HS, Hains J, Leung DW, Ferrara N: Vascular endothelial growth factor is expressed in rat corpora lutea. *Endocrinol* 1990; 127: 965-967
106. Pride S, Yuen B, Moan Y et al.: Relationship of gonadotropin-releasing hormone, danazol, and prostaglandin blockade to ovarian enlargement and ascites formation of the ovarian hyperstimulation syndrome in the rabbit. *Am J Obstet Gynec* 1986; 154: 1155-1160
107. Ravindranath N, Little-Ihrig L, Phillips HS, Ferrara N, Zeleznik AJ: Vascular endothelial growth factor messenger ribonucleic acid expression in the primate ovary. *Endocrinol* 1992; 131: 254-260
108. Revel A; Levy Y, Antebi E et al.: Characterization of intraperitoneal factors involved in severe OHSS. *Gynecol Endocrinol* 1995; 9: FC70
109. Revel A, Amit A, Barak V, Levy Y, Anteby E, Abramov Y, Schenker JJ: Characterization of intraperitoneal cytokine and nitrites in women with severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril* 1996; 66: 66-71
110. Rinaldi ML, Spirtos NJ: Chest tube drainage of pleural effusion correcting abdominal ascites in a patient with severe ovarian hyperstimulation: A case report. *Fertil Steril* 1995; 63: 1114-1117

111. Rizk B, Aboulghar M, Smitz J, Ron-El R: The role of vascular endothelial growth factor and interleukins in the pathogenesis of severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum Reprod* 1997; Update 3: 255-266
112. Robertson D, Sellek K, Suikkari A, Hurley V, Moohan J, Healy D: Urinary vascular endothelial growth factor concentrations in women undergoing gonadotropin treatment. *Mol Hum Reprod* 1995; 10: 2478-2482
113. Rosen GF, Lew MW: Severe ovarian hyperstimulation in a spontaneous singleton pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 165(5 Pt 1):1312-1313.
114. Rydberg E, Pedersen-Bjergaard K: Effect of serum gonadotropin and chorionic gonadotropin on the human ovary. *JAMA* 1943; 121: 1117-1122
115. Ryley NG, Forman R, Barlow D, Fleming KA, Trowell JM et al.: Liver abnormality in ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum Reprod* 1990; 5(8):938-43.
116. Schenker JG, Weinstein D: Ovarian hyperstimulation syndrome: a current survey. *Fertil Steril* 1978; 30: 255-268
117. Schenker JG, Ezra Y: Complications of assisted reproductive techniques. *Fertil Steril* 1994; 61: 411-422
118. Schmutzler R, Diedrich K: Basic and clinical aspects of GnRH-Agonists in reproduction. *Int J Gynec Obstet* 1990; 32: 311-324
119. Senger D, Galli S, Dvorak A, Peruzzi C, Harvey V, Dvorak H: Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid. *Science* 1983; 219: 983-985
120. Serour GI, Aboulghar M, Mansour R, Sattar MA, Amin Y, Aboulghar H: Complications of medically assisted conception in 3500 cycles. *Fertil Steril* 1998; 70: 638-642
121. Shifren J, Doldi N, Ferrara N, Mesiano S, Jaffe R: In the human fetus vascular endothelial growth factor is expressed in epithelial cells and myocytes but not vascular endothelium: implications for a mode of action. *J Cell Endocrinol Metab* 1994; 79: 316-322
122. Shweiki D, Itin A, Soffer D, Keshet E: Vascular endothelial growth factor induced by hypoxia-initiated angiogenesis. *Nature* 1992; 359: 843-845

123. Stanger J, Yovich I: Reduced in vitro fertilization of human oocytes from patients with raised basal luteinizing hormone levels during the follicular phase. *B J Obstet Gynec* 1985; 92: 385-93
124. Steptoe P, Edwards R: Birth after reimplantation of a human embryo. *Lancet* 1978; 11:366
125. Tibi C, Alvarez S, Cornet D, Antoine JM, Gomes AC, Salat-Baroux J: Prédiction des hyperstimulation ovariennes. *Contracept Fertil Sex* 1989; 17: 751-752
126. Trounson A, Leeton J, Wood C, Webb J, Wood J: Pregnancies in human by fertilization in vitro and embryo transfer in the controlled ovulation cycle. *Science* 1981; 212: 681
127. Waltenberg J, Claesson-Welsh L, Siegbahn A, Shibuya M, Heldin C: Different signal transduction properties of KDR and FLT-1, two receptors of vascular endothelial growth factor. *J Biol Chem* 1994; 169: 26899-26995
128. Winkler J, Pinkes H, Tadir Y, et al: Acute decline in renal function as a consequence of ovarian hyperstimulation syndrome. *Nephron* 1992; 60: 104-107
129. Whelan JG, Vlahos NF: The ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril* 2000; 73: 883-896
130. Yamamoto S, Konishi I, Tsuruta Y, Nanbu K, Mandai M, Kuroda H, Matsushita K, Hamid AA, Yura Y, Mori T: Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) during folliculogenesis and corpus luteum formation in the human ovary. *Gynecol Endocrinol* 1997; 11: 371-381
131. Yan Z, Weich HA, Bernart W, Breckwoldt M, Neulen J: Vascular endothelial growth factor (VEGF) messenger nucleic acid (mRNA) expression in luteinized human granulosa cells in vitro. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 77: 1723-1725
132. Zosmer A, Katz Z, Lancet M, et al.: Adult respiratory syndrome complicating ovarian hyperstimulation. *Fertil Steril* 1987; 47: 524-526

VII. Danksagung

Mein herzlicher Dank gilt Frau Oberärztin Dr. med. B. Pfüller und Herrn Dr. med. T. Schreiner, Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe der Charité, Berlin, Campus Mitte, Abteilung für Reproduktionsmedizin, für die Auswahl des interessanten Themas dieser Arbeit. Frau OÄ Dr. Pfüller hat früh mein Interesse an dem Fach Gynäkologie geweckt und mit ihrem gesamtem Team eine Atmosphäre geschaffen, in der es mir großen Spaß gemacht hat zu arbeiten.

Verbunden mit meinem Wechsel an die Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein habe ich in Herrn PD Dr. med. M. Ludwig einen kompetenten Betreuer in Lübeck gefunden. Ihm schulde ich großen Dank für die wissenschaftliche Beratung, verlässliche Hilfe und motivierende Unterstützung, die Datenauswertung, die Diskussion der Ergebnisse und abschließend diese Arbeit insgesamt auch mit Hilfe der modernsten Kommunikationsmittel über große räumliche Distanzen fertig zu stellen.

Mein Dank gilt außerdem Herrn Katalinic vom Institut für Krebsepidemiologie in Lübeck für seine Beratung bei der statistischen Auswertung.

Besonders danke ich den freundlichen und erfahrenen Schwestern der Kinderwunsch-Sprechstunde der Gynäkologischen Poliklinik der Charité, Berlin, Campus Mitte sowie Frau Korch als betreuender MTA im Hormonlabor, die bei der Koordination und Durchführung der Arbeit sehr behilflich waren.

An dieser Stelle möchte ich mich recht herzlich bei Herrn Prof. K. Diedrich für die freundliche Aufnahme an der Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein in Lübeck und damit für die Möglichkeit, die Promotion zum Abschluss zu bringen, bedanken.

Ich danke meiner Familie und meinem lieben Freund, die mich immer darin unterstützt haben, nicht nur meine beruflichen Wünsche Wirklichkeit werden zu lassen und mir mit bereichernden Diskussionen Denkanstöße geben.

VIII. Abkürzungsverzeichnis

ARDS	Acute Respiratory Distress Syndrome
BMI	Body Mass Index
COS	kontrollierte ovarielle Stimulation
DHEA-S	Dihydroepiandrosteronsulfat
E ₂	Estradiol
ET	Embryonentransfer
FoPu	Follikelpunktion
FSH	follikelstimulierendes Hormon
fT ₃	freies Trijodthyronin
GIFT	Gamete Intrafallopian Tube Transfer
GnRH	Gonadotropin-Releasinghormon
hCG	humanes Choriogonadotropin
hMG	humanes Menopausengonadotropin
ICSI	Intracytoplasmale Spermieninjektion
IgE	Immunglobulin E
IVF	In Vitro Fertilisation
IL-6	Interleukin-6
IL-8	Interleukin-8
LH	luteinisierendes Hormon
mRNA	messenger RNA
OHSS	Ovarian Hyperstimulation Syndrome
PCOS	polyzystisches Ovar Syndrom
PGE ₂	Prostaglandin E ₂
PGI ₂	Prostaglandin I ₂
PRL	Prolaktin
(rh-)FSH	rekombinantes humanes follikelstimulierendes Hormon
SHGB	sexualhormonbindendes Globulin
TNF- α	Tumornekrosefaktor- α
TSH	thyreoidestimulierendes Hormon
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
VPF	vaskulärer Permeabilitätsfaktor
WHO	World Health Organization

 ULRIKE WIEGANK

Biographische Daten

Geburtsdatum: 31. August 1971

Geburtsort: Stralsund

Ausbildung

1988-1990 Gymnasium H.-v.-Helmholtz-Gymnasium, Potsdam

1990-1993 Diplomstudiengang Chemie Freie Universität zu Berlin

1993-2000 Studium der Humanmedizin Humboldt-Universität zu Berlin

§ 09/93-09/95 Vorklinik

§ 09/95-09/99 Klinik

§ 09/96-09/97 Herz-Kreislauf-Forschung am Max-Delbrück-Zentrum für
Molekularbiologie, Berlin-Buch

§ 08/98-10/98 Ausbildung in der Abt. für Gynäkologie und Geburtshilfe, Portiuncula
Hospital, Ballinasloe, Irland

§ 10/99-08/00 Praktisches Jahr

§ 03/00-05/00 Ausbildung an der Medizinischen Universitätsklinik des Kantonsspitals
Bruderholz, Basel-Land, Schweiz

1999-2002 Ärztin im Praktikum

Klinik für Frauenheilkunde, Charité, Campus Virchow-Klinikum, Berlin,
Prof. Dr. med. W. Lichtenegger

Seit 2002 Assistenzärztin

§ 06/02-07/02 Frauenklinik des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf,
Prof. Dr. med. Jänicke

§ 10/02-09/04 Frauenklinik des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus
Lübeck, Prof. Dr. med. K. Diedrich