

Aus der Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Ärztliche Direktorin: Univ.-Prof. Dr. med. T. Fehm

Der Deutsche Mittelweg in Nordrhein Westfalen

Eine retrospektive Datenerhebung des universitären interdisziplinären
Kinderwunschzentrums Düsseldorf – UniKiD

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin der Medizinischen
Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Tizia Karina Haase
geb. Kliebisch

2017

Als Inauguraldissertation gedruckt mit der Genehmigung der Medizinischen
Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.:

Dekan: Herr Univ.-Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Referentin: Frau Prof. Dr. med. Alexandra P. Bielfeld

Korreferentin: Frau Priv.-Doz. Dr. med. Marion Rapp

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht

Geburtshilfe und Frauenheilkunde, Thieme-Verlag, 2016

- Kliebisch, T.K., et al., *The German Middleway as Precursor for Single Embryo Transfer. A Retrospective Data-analysis of the Dusseldorf University Hospital's Interdisciplinary Fertility Centre - UniKiD*. Geburtsh Frauenheilk, 2016. **76**(6): p. 690-698
- Deutsche Version: https://www.thieme-connect.de/media/gebfra/201606/supmat/10-1055-s-0042-105747-sup_gf1053.pdf

I. Zusammenfassung

Der Deutsche Mittelweg (DMW) stellt die liberale Auslegung des Embryonenschutzgesetzes (ESchG) dar und beinhaltet die Kultur von bis zu 6 Eizellen über eine maximale Dauer von 5 Tagen bis zum Entwicklungsstadium der Blastozyste. Dieses Verfahren wird seit 2011 im Universitären interdisziplinären Kinderwunschzentrum Düsseldorf (UniKiD) im berufsrechtlichen Umfeld der Ärztekammer Nordrhein angewendet.

Ziel des DMWs ist es, einerseits die Schwangerschaftsraten zu erhöhen bzw. konstant zu halten bei gleichzeitiger Reduktion der Mehrlingsschwangerschaften aufgrund von ART. So sollen nicht nur die gesundheitlichen Risiken für Mütter und Kinder sondern auch bei einer geringeren Behandlungsdauer der Patientinnen die monetäre und psychische Belastung reduziert werden.

Um den DMW optimal anwenden zu können, bedarf es Handlungsalgorithmen. Einerseits aus medizinischer Sicht, damit beispielsweise genügend Eizellen generiert werden können und dementsprechend die Medikation adäquat gewählt wird, andererseits muss die Anzahl der weiterkultivierten Eizellen möglichst gut geplant werden, um die gewünschte Zahl der zu transferierenden entwicklungsfähigen Embryonen zu erhalten.

Während die deutschen Reproduktionsmediziner durch das Embryonenschutzgesetz (ESchG) stark in ihren Möglichkeiten eingeschränkt sind, dürfen ausländische Kollegen den elektiven *single embryo transfer* (eSET) nicht nur durchführen, sondern werden gesetzlich zum Teil sogar dazu verpflichtet. Somit sollte eine Überarbeitung des ESchGs überdacht werden, um deutsche Patienten nicht zu benachteiligen.

II. Abkürzungsverzeichnis

A

ART – *Assisted reproductive technologies* – Techniken der assistierten Reproduktion

ASRM – *American Society for Reproductive Medicine* – Amerikanische Gesellschaft für Reproduktionsmedizin

C

CC – Clomifencitrat

D

DMW – Deutscher Mittelweg

D.I.R – Deutsches IVF-Register

DET – *Double embryo transfer* – Transfer von zwei Embryonen

E

EG – Experimentalgruppe

ESchG – Embryonenschutzgesetz

eSET – *elective single embryo transfer* – gezielter Transfer eines Embryos

ET – Embryotransfer

F

FSH – follikelstimulierendes Hormon

rFSH – rekombinantes follikelstimulierendes Hormon

G

GnRH – Gonadotropin-Releasing-Hormon

H

hCG – humanes Choriongonadotropin

hMG – humanes Menopausengonadotropin

HFEA – *Human Fertilisation and Embryology Authority* – Behörde für Fertilisation und Embryologie

I

ICM – *Inner cell mass* – Innere Zellmasse

ICSI – Intrazytoplasmatische Spermieninjektion

IUI – Intrauterine Insemination

IVF – In vitro Fertilisation

K

KG - Kontrollgruppe

L

LH – luteinisierendes Hormon

rLH – rekombinantes luteinisierendes Hormon

M

MESA – mikrochirurgische epididymale Spermienaspiration

P

PID - Präimplantationsdiagnostik

2PN-Stadium – imprägnierte Eizelle im 2-Pronukleus-Stadium

S

SET – single embryo transfer – Transfer eines Embryos

SSW – Schwangerschaftswoche

T

TE – *trophectoderm cells* – Zellen des Trophektooderms

TESE – testikuläre Spermienextraktion

U

UniKiD – Universitäres interdisziplinäres Kinderwunschzentrum Düsseldorf

III. Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1 Die Rolle der Reproduktionsmedizin in unserer Gesellschaft	1
1.1.1 Das Deutsche IVF- Register	1
1.1.2 Geburtentrends in Deutschland	2
1.1.3 Ungewollte Kinderlosigkeit	3
1.1.4 Infertilität	4
1.2 Methoden in der Reproduktionsmedizin	5
1.2.1 Intrauterine Insemination	5
1.2.2 In vitro Fertilisation	6
1.2.3 Eingesetzte Medikamente	6
1.2.4 ICSI	7
1.2.5 Qualität der Embryonen	8
1.2.6 Beobachtung der Entwicklung	8
1.2.7 Kryokonservierung von 2PN-Stadien	9
1.3 Kulturverfahren	10
1.3.1 Standardkultur	10
1.3.2 Blastozystenkultur	10
1.4 Deutscher Mittelweg (DMW)	12
1.4.1 Embryonenschutzgesetz	12
1.4.2 Auslegung des ESchGs im Rahmen des DMW	13
1.4.3 Bisherige Handlungsalgorithmen	13
1.5 Blick ins Ausland	14
1.5.1 <i>single and double embryo transfer</i>	14
1.5.2 <i>single embryo transfer</i> im Ausland	15
1.5.3 Eingang des <i>single embryo transfer</i> in die Gesetzgebung	17
2. Ziele der Arbeit	19
3. Publizierte Originalarbeit	20
4. Diskussion	45
4.1 Der lange Weg zum Wunschkind	45
4.2 Die informierte Patientin	46
4.3 Das Patientinnenkollektiv	47
4.3.1 Hohes Alter und lang gehegter Kinderwunsch	48
4.3.2 Der Faktor „Mann“	49
4.3.3 Antagonistenprotokoll	50
4.3.4 Beurteilung des Entwicklungspotenzials	51
4.3.5 Mehrlinge	53
4.4 <i>state of the art</i>: Embryokultur	54
4.5 Der Mittelweg als Wegbereiter des SET	56
5. Schlussfolgerungen	59
6. Literatur- und Quellenverzeichnis	60
7. Anhang	64
Danksagung	64
Eidesstattliche Versicherung	65

1. Einleitung

1.1 Die Rolle der Reproduktionsmedizin in unserer Gesellschaft

1.1.1 Das Deutsche IVF- Register

Jedes Jahr erscheint der Jahresbericht des Deutschen IVF-Registers (D.I.R, In vitro Fertilisation; IVF), das 1982 gegründet wurde und seitdem alle Daten der in Deutschland reproduktionsmedizinisch tätigen Einrichtungen prospektiv sammelt und auswertet. Diese Datensammlung dient der Qualitätsauswertung, -sicherung und -steigerung der Kinderwunschkliniken.

Dass es sich bei dem Gebiet der Reproduktionsmedizin nicht mehr um ein kleines Fachgebiet innerhalb der Humanmedizin und -biologie handelt, zeigt die Fülle der bis heute in Kinderwunschkliniken gezeugten und geborenen Kinder. Weltweit sind bis zum Jahr 2014 etwa 5 Millionen Kinder durch eine künstliche Befruchtung geboren worden, davon allein in Deutschland über 225.000. Durchschnittlich hatten die über 50.000 behandelten Frauen im Jahr 2014 1,66 Behandlungszyklen. Bei normaler ovarieller Funktion führte eine IVF in 36,2% der Fälle und ICSI in 34,5% der Fälle zum Eintreten einer Schwangerschaft [1].

Durch die Datenerhebung des D.I.R ist es außerdem möglich, Trends zu erkennen, z.B. hinsichtlich des Alters der Patientinnen. Während 1996 nur jede dritte Frau älter als 35 Jahre alt war, betraf dies 2014 bereits mehr als die Hälfte aller Frauen. Mit steigendem mütterlichen Alter nimmt die Qualität und Quantität der Eizellen erheblich ab, was außerdem mit einer höheren Rate an kindlichen Fehlbildungen einhergeht. Allgemein gilt, dass ab dem 36. Lebensjahr die Erfolgswahrscheinlichkeit einer künstlichen Befruchtung deutlich vermindert ist [1].

1.1.2 Geburtentrends in Deutschland

Deutschland verfügt über immer besser ausgebildete Frauen, dementsprechend steigt das Alter der Frau bei Geburt des ersten Kindes. Mit steigendem Alter sinkt nicht nur die Fertilität, sondern auch die Anzahl der insgesamt geborenen Kinder pro Frau.

Die Geburtenziffer liegt seit Jahren auf einem konstant niedrigen Niveau von 1,38 Kindern pro Frau. Die altersspezifische Geburtenziffer ist die Relation zwischen der Zahl der von Müttern eines bestimmten Alters geborener Kinder und der Zahl aller Frauen dieses Alters. Die zusammengefasste Geburtenziffer bezieht sich auf eine hypothetische Kohorte von 35 aufeinanderfolgenden Jahrgängen (Frauen im Alter zwischen 15 und 49 Jahren). Dementsprechend ist die Geburtenziffer eine Größe, die nicht isoliert betrachtet werden darf, da sie nie die endgültige Kinderanzahl der Frauenkohorte widerspiegeln kann (Kohortenfertilität) [2].

Die Kohortenfertilität hat beständig abgenommen. Der Hauptgrund liegt an dem zunehmenden Alter der Erstgebärenden (1970 im Durchschnitt 24 Jahre und 2012 29 Jahre). Gerade Frauen, die früh ihr erstes Kind gebären, sind potentiell Mütter mehrerer Kinder. Damit sich die Kohortenfertilität in den nächsten Jahren auf einem Niveau von 1,5 bis 1,6 stabilisieren kann, sollte der Zeitpunkt der Geburt nicht noch weiter aufgeschoben werden, da aufgeschobene Geburten im Alter nur bedingt nachgeholt werden können [2].

Auch die Geburtenanzahl in Deutschland geht kontinuierlich zurück, was nicht nur auf das höhere Alter der Erstgebärenden zurückzuführen ist, sondern auch darauf, dass die Jahrgänge potentieller Mütter im Alter von Mitte 20 bis Mitte 30 schwächer als vorherige Jahrgänge sind [2].

Im Gegensatz zu 2008 nahm der Anteil der Frauen ohne Kind bei allen Frauen im Alter von 40 und 44 Jahren innerhalb von 4 Jahren von 20 auf 22 % zu. Somit sind 22% der Frauen zwischen 40 und 44 (Jahrgänge 1968 bis 1972) im Jahr 2012 kinderlos. 1990 waren es nur halb so viele [2].

Eine nennenswerte Veränderung ist bei der Kinderlosenquote der Akademikerinnen zu verzeichnen. Während westdeutsche Frauen der Jahrgänge 1963 und 1967 zu 30% kinderlos blieben, Nicht-Akademikerinnen waren zu 20% kinderlos, zeigte sich zwischen 2008 und 2012 ein positiver Trend, da die Jahrgänge 1968 bis 1973 nicht zu einem höheren Kinderlosenanteil tendierten, wie bisher [2].

1.1.3 Ungewollte Kinderlosigkeit

Bei einer wie oben erwähnten Kinderlosenquote von 22% bei 40- bis 44-Jährigen im Jahr 2012 stellt sich die Frage, wie viele hierbei auf eine ungewollte Kinderlosigkeit zurückzuführen sind [2]. Ungewollte Kinderlosigkeit betreffe laut des Bundesministeriums für Familien jedes 6. bis 7. Paar in Deutschland, das dann auf die fachliche Expertise einer Kinderwunschklinik angewiesen sei [3].

Bei der großangelegten Allensbach-Umfrage 2006 zeigte sich, dass nur 8% der erwachsenen Deutschen zwischen 25 und 59 Jahren ausdrücklich keine Kinder wollten [4].

Insgesamt waren 30,3% zu diesem Zeitpunkt kinderlos, davon hatten 42,6% einen aktuellen Kinderwunsch. 13% der Personen mit aktuellem Kinderwunsch wurden nicht schwanger, wovon es 62% länger als ein Jahr vergeblich versucht und 52% bereits ärztlichen Rat eingeholt hatten. Neben der Gruppe der Kinderlosen hatten außerdem 15% der Befragten, die bereits Eltern geworden waren, einen aktuellen Kinderwunsch. Insgesamt handelte es sich um 12,8 Millionen Menschen zwischen 25 und 59 Jahren in Deutschland mit unerfülltem Kinderwunsch, wovon bei 2 Millionen keine Schwangerschaft eingetreten war und 1,4 Millionen es bereits mehr als 1 Jahr versucht hatten (**Abb. 1**) [4].

Allensbach-Umfrage zum Kinderwunsch im Jahre 2006

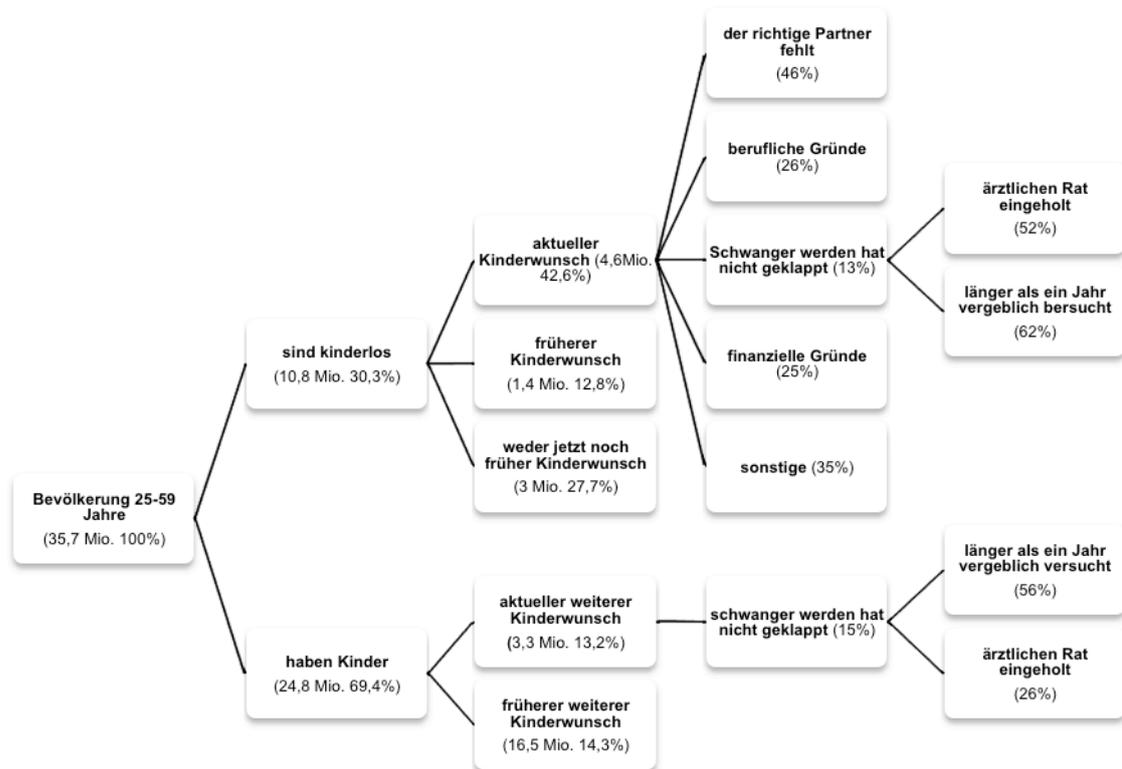


Abb. 1 Modifizierte Ergebnisse der Allensbach-Umfrage im Überblick. Die jeweiligen Gruppen wurden gleich 100 Prozent gesetzt und die darauf folgenden prozentualen Angaben beziehen sich auf diese Gesamtheit. Bei den Angaben zum aktuellen Kinderwunsch waren Mehrfachnennungen möglich [4].

1.1.4 Infertilität

Ohne medizinische Unterstützung wird eine 25-Jährige Frau mit einer Wahrscheinlichkeit von 23% im ersten Zyklus schwanger, eine 35-jährige Frau nur noch mit 16% [5]. Insgesamt kann aber davon ausgegangen werden, dass nach einem Jahr ungeschützten Geschlechtsverkehrs 80 – 90% der Paare eine Schwangerschaft erreichen und von den verbliebenen Paaren 5 – 15% im darauffolgenden Jahr. Von Infertilität kann gesprochen werden, wenn nach 12 Monaten keine Schwangerschaft eingetreten ist, obwohl das Paar regelmäßig ungeschützten Geschlechtsverkehr möglichst kurz vor der Ovulation hat und die Frau unter 35 Jahre alt ist. Bei Frauen über 35 Jahre kann die Diagnose bereits nach 6 Monaten gestellt werden [6].

Mögliche Gründe für eine Infertilität sind beispielsweise Infektionen, endokrine Störungen, genetisch bedingte Störungen, anatomische Anomalien, Tumore

sowie Sterilität bei bekannten Grunderkrankungen und Lebensstilfaktoren. Sowohl auf weiblicher als auch auf männlicher Seite ist somit eine umfassende Anamnese unabdingbar.

Therapiemöglichkeiten ergeben sich in vielen Bereichen und reichen von einer Änderung des Lebensstils über die medikamentöse und/oder operative Therapie der Grunderkrankung und enden häufig in weiterführenden Behandlungsmaßnahmen im Sinne von assistierten reproduktiven Techniken (ART), wobei diese von konservativen Sterilitätstherapien unterschieden werden, da es sich bei konservativen Therapien um rein medikamentöse Therapien handelt.

1.2 Methoden in der Reproduktionsmedizin

1.2.1 Intrauterine Insemination

Die intrauterine Insemination (IUI) ist die erste Stufe der reproduktionsmedizinischen Methoden bei unerfülltem Kinderwunsch, wenn die konservativen Behandlungsmaßnahmen nicht zum Erfolg geführt haben und das Paar noch relativ jung ist. Indikationen für eine IUI sind eine leicht reduzierte Spermienqualität oder ein pathologischer Postkoitaltest. Auch bei idiopathischer Sterilität kann eine IUI angewendet werden.

Bei einer IUI handelt es sich um das Einbringen von aufgereinigtem Ejakulat mittels Katheter in das Cavum uteri. Drei Voraussetzungen müssen dafür erfüllt sein. Erstens muss die Funktion der Tuben ungestört und ein adäquater Aufbau des Endometriums erfolgt sein, zweitens muss es zum Zeitpunkt der Ovulation geschehen (medikamentös induziert oder spontan) und drittens muss die Qualität und Quantität der Spermien angemessen sein.

Die Aufarbeitung der Spermien kann vor Einbringung beispielsweise durch die *Swim-up*-Technik erfolgen, wobei die Spermien in ein Kulturmedium überführt werden, in dem dann keine Prostaglandine, Zelldebris und Keime mehr vorhanden sind.

Die Insemination kann entweder im Spontanzzyklus oder nach ovarieller Stimulation beispielsweise durch Clomifencitrat oder Gonadotropine erfolgen. Die Gabe von humanem Choriongonadotropin (hCG) zur Induktion der Ovulation ist sinnvoll, um die zeitlichen Abläufe der IUI optimieren zu können.

Die durchschnittlichen Erfolgsraten der IUI werden mit etwa 10% angegeben und 80% der Schwangerschaften treten in den ersten 3-4 Behandlungszyklen auf [6].

1.2.2 In vitro Fertilisation

Bei einer IVF handelt es sich um ein extrakorporales Verfahren, das 1978 das erste Mal erfolgreich von Steptoe und Edwards eingesetzt wurde [7]. Die typischen Indikationen sind Funktionsstörungen der Tuben, ein leicht eingeschränktes Spermogramm und die Erfolglosigkeit von konservativen Verfahren bzw. IUI.

Nach ovarieller Stimulation und Ovulationsinduktion erfolgt die Eizellpunktion. Im Labor erfolgt die eigentliche IVF und Kultivierung der gewonnen Embryonen und schließlich erfolgt der intrauterine Embryotransfer und die Lutealphasensubstitution.

1.2.3 Eingesetzte Medikamente

Um möglichst gute Schwangerschaftsraten erzielen zu können, müssen mehrere Eizellen gewonnen und befruchtet werden. Während anfangs Stimulationen mit Clomifencitrat (CC) oder humanem Menopausengonadotropin (hMG) favorisiert wurden, werden heutzutage vor allem Gonadotropine wie biotechnologisch hergestelltes rekombinantes FSH (rFSH) und rekombinantes LH (rLH) eingesetzt, wodurch optimalerweise 8-10 Eizellen gewonnen werden können. Um eine sogenannte „*kontrollierte Hyperstimulation*“ des Ovars zu erreichen, können unterschiedliche Behandlungsprotokolle angewendet werden. Allen gemein ist die Gabe von Gonadotropinen, die entweder im langen oder kurzen Agonistenprotokoll oder im Antagonistenprotokoll verabreicht werden. GnRH-Agonisten und -Antagonisten unterscheiden

hinsichtlich ihrer Wirkung an der Hypophyse. Der Einsatz von GnRH-Agonisten führt zu einem anfänglichen „*Flare-up*“-Effekt. Das luteinisierende Hormon (LH) steigt anfänglich im Serum. Danach erfolgt die Sekretionshemmung über die „*Down-Regulation*“ der Rezeptoren. Bei GnRH-Antagonisten kommt es zu einer unmittelbaren Blockade der Rezeptoren und somit zu einem schnelleren Sekretionsabfall von LH und follikelstimulierendem Hormon (FSH).

Die Induktion der Ovulation erfolgt mit hCG oder einem GnRH-Agonisten und 36 Stunden nach der Medikamentengabe die Follikelpunktion. Während anfangs die Follikelpunktion noch laparoskopisch erfolgte, kann heutzutage in Kurznarkose oder Analgosedierung eine transvaginale, sonographisch gesteuerte Punktion stattfinden. Dabei wird jeder einzelne Follikel dargestellt und mit einer feinen Kanüle punktiert. Über eine elektronisch gesteuerte Vakuumpumpe kann dann der Inhalt des Follikels und die Oozyte in einem Auffangröhrchen gesammelt werden.

Bei ausreichender Qualität und nach Aufarbeitung der Spermien werden diese mit Oozyten in vitro kultiviert. Die Anzahl und die Dauer der Embryonenkultur ist abhängig davon, ob das Standardverfahren oder neuere Verfahren wie der *deutsche Mittelweg* (DMW) angewendet werden.

Da durch die Verabreichung von Gonadotropinen eine relative Corpus-luteum-Insuffizienz induziert wird, muss die Lutealphase unterstützt werden. Heutzutage gilt als Goldstandard die Gabe von intravaginalem Progesteron, um die Schwangerschaft adäquat zu unterstützen bis die Plazenta die Gestagenproduktion ab der 10.-12. Schwangerschaftswoche übernehmen kann [6],[8].

1.2.4 ICSI

Da die Fertilisationsrate bei einer IVF von der Spermienqualität abhängt, stellt ein sehr stark eingeschränktes Spermogramm bzw. eine Azoospermie eine Indikation für eine ICSI dar. Entweder werden im Ejakulat nur wenig qualitativ hochwertige Spermien gefunden oder im Ejakulat sind keinerlei Spermien

nachweisbar und diese können nur durch ein operatives Verfahren im Sinne einer Aspiration aus dem Nebenhoden (mikrochirurgische epididymale Spermienaspiration; MESA) oder aus dem Hoden (testikuläre Spermienextraktion; TESE) gewonnen werden.

IVF und ICSI unterscheiden sich dementsprechend in der Art der Befruchtung. Beide Methoden finden *in vitro* statt, aber während bei der IVF die Befruchtung spontan verläuft, wird bei der ICSI mithilfe einer Pipette das ausgewählte Spermium direkt in das Zytoplasma der Oozyte eingebracht [9]. Hinsichtlich der Erfolgsraten unterscheiden sich IVF und ICSI nicht wesentlich voneinander, beide zeigen Schwangerschaftsraten im Bereich von 30% [6].

1.2.5 Qualität der Embryonen

Es können unterschiedliche Bewertungskriterien herangezogen werden, um die Qualität der sich entwickelnden Embryonen abzuschätzen. Bisher erfolgt die Bewertung nach morphologischen Kriterien, da sich die Untersuchung der Morphokinetik oder ein Aneuploidiescreening noch nicht durchgesetzt haben.

Im Allgemeinen gilt, dass an Tag 1 zwei Polkörper und 2 Pronuklei sichtbar sein sollten, um eine erfolgte Befruchtung nachzuweisen. An Tag 2 sollte ein 2 bis 4-Zell-Stadium und an Tag 3 ein 8-Zell-Stadium erreicht sein. An Tag 4 sollte das Morula- und an Tag 5 das Blastozysten-Stadium erreicht sein [10].

1.2.6 Beobachtung der Entwicklung

Herkömmlicherweise werden einmal am Tag die Embryonen aus dem Inkubator entnommen und ihre morphologische Qualität unter dem Mikroskop beurteilt. Seit einigen Jahren geht die Entwicklung immer mehr zu automatisierten, geschlossenen Inkubatoren (z.B. „EmbryoScope™“ der Fa. Unisense Fertilitatech). Diese Systeme ermöglichen durch eingebaute Kameras das sogenannte „*time-lapse*“-Verfahren, wobei während der Kultur so viele Bildaufnahmen gemacht werden, dass die Entwicklung im Zeitraffer nachverfolgt werden kann, ohne dass die Embryonen aus dem Inkubator entnommen werden müssen. Die Embryonen sind so weniger Licht-,

Temperatur- und Sauerstoffschwankungen ausgesetzt [6, 11, 12]. **Abb. 2** zeigt die Aufnahme einer Blastozyste in einem solchen geschlossenen System.

Blastozyste im „EmbryoScope™“



Abb. 2 Aufnahme einer Blastozyste im „EmbryoScope™“ der Fa. Unisense Fertilitatech des IVF-Labors des UniKiDs.

1.2.7 Kryokonservierung von 2PN-Stadien

Da zum Teil mehr Eizellen (meistens 5-10) gewonnen werden als Embryonen transferiert werden (1 bis maximal 3), fallen häufig überzählige Eizellen im 2-Pronukleus-Stadium (2PN-Stadien) an, die dann kryokonserviert (Vitrifizierung) und in einem folgenden Behandlungszyklus transferiert werden können. In diesem Stadium gilt die Eizelle definitionsgemäß noch nicht als im Embryonalstadium befindlich [6]. Die Kryokonservierung von 2PN-Zellen entspricht immer noch der Routine in Deutschland und ist auf das Embryonenschutzgesetz (ESchG) zurückzuführen [13].

1.3 Kulturverfahren

1.3.1 Standardkultur

In den letzten Jahren war im Rahmen der ART das Standardverfahren etabliert, dass maximal 3 2PN-Stadien nach einer Kulturdauer von 2-3 Tagen intrauterin zurück transferiert werden.

Da bei diesem Verfahren vermehrt 2, zum Teil aber auch 3 Embryonen transferiert werden, kommt es dementsprechend häufiger zu Mehrlingsschwangerschaften. Im Deutschen IVF-Register (D.I.R) wurden die Geburten in Abhängigkeit von der Anzahl der transferierten Embryonen in den Jahren 2000 – 2013 aufgeführt. Bei den IVFs kam es bei einem Transfer von 2 Embryonen in 22,25% der Fälle zu der Geburt von Zwillingen und in 0,38% der Fälle zu der Geburt von Drillingen. Bei einem Transfer von 3 Embryonen traten zu 27,26% Zwillinge, zu 4,24% Drillinge und 0,07% Vierlinge auf.

Im Rahmen von ICSI-Behandlungen traten bei einem Transfer von 2 Embryonen zu 21,08% Zwillinge, zu 0,34% Drillinge und zu 0,01% Vierlinge auf. Durch 3 Embryonen gebaren die Frauen zu 22,09% Zwillinge, zu 3,03% Drillinge und zu 0,03% Vierlinge [1].

Hierbei ist zu beachten, dass in die Datenerhebung des D.I.R die Zahlen aller deutschen Kinderwunschkliniken einfließen und Länder wie beispielsweise Bayern bereits seit 2008/2010 die Kultur von Blastozysten (siehe unten) anwenden.

1.3.2 Blastozystenkultur

17 Jahre nachdem das erste künstlich gezeugte Kind das Licht der Welt erblickte (Louise Joy Brown, *25.07.1978), schafften es 1995 Edwards und Brody, eine eingetretene Schwangerschaft durch den Transfer einer Blastozyste zu beschreiben und nicht wie zuvor durch den Transfer von früheren Entwicklungsstadien. Lange war die Kultur bis zum Stadium der Blastozyste nicht möglich, da die entsprechenden Kulturmedien nicht komplex genug waren und die natürliche Entwicklung des Embryos nicht genügend unterstützten [14].

Während beim Standardverfahren maximal 3 Eizellen über 2 bis 3 Tage kultiviert werden und anschließend maximal 3 Embryonen im 4- bis 8-Zell-Stadium transferiert werden, werden beim DMW in Nordrhein 5 bis 6 Eizellen kultiviert und der Transfer von maximal 2 Eizellen im 8-Zell- oder Blastozysten-Stadium findet dann am 3. – 5. Tag statt. Der Transfer einer Blastozyste sollte gerade bei jüngeren Patientinnen mit guten Chancen auf das Eintreten einer Schwangerschaft präferiert werden, um das Risiko von Mehrlingsschwangerschaften zu reduzieren. Die restlichen Embryonen befinden sich dann entweder bereits in einem Entwicklungsarrest oder sie werden der Kryokonservierung zugeführt [6].

Genau wie die vorausgegangenen Furchungsteilungen wird auch die Qualität der Blastozyste anhand ihres morphologischen Aussehens beurteilt, meistens nach dem *Scoring*-System nach Gardner und Schoolcraft, das 1999 entwickelt und rasch von den meisten IVF-Zentren übernommen wurde. Obwohl nicht alle Aspekte der Blastozysten-Morphologie abgedeckt werden, ist es sehr hilfreich hinsichtlich der Klassifikation des Expansionsgrades der Blastozyste und der Beurteilung des morphologischen Aussehens der inneren Zellmasse (*inner cell mass; ICM*) und der Zellen des Trophektoderms (*trophectoderm cells; TE*) **Abb. 3** [14].

Blastozyste im „EmbryoScope™“, farbig markiert



Abb. 3 Aufnahme einer Blastozyste im „EmbryoScope™“ des IVF-Labors des UniKiDs, farbig markiert sind die innere Zellmasse (ICM) und die Zellen des Trophektoerms (TE).

1.4 Deutscher Mittelweg (DMW)

1.4.1 Embryonenschutzgesetz

Das ESchG ist am 01.01.1991 in Kraft getreten und regelt die missbräuchliche Anwendung von Fortpflanzungstechniken, die missbräuchliche Verwendung menschlicher Embryonen, das Verbot der Geschlechtswahl, den Einsatz von Präimplantationsdiagnostik (PID), das Verbot von eigenmächtigen Befruchtungen; Embryoübertragungen und Befruchtung nach dem Tode, das Verbot der künstlichen Veränderung menschlicher Keimbahnzellen, das Verbot zu klonen oder Chimären bzw. Hybride zu erzeugen, die Begriffsbestimmung, den Arztvorbehalt, die freiwillige Mitwirkung, den Verstoß gegen den Arztvorbehalt und die Bußgeldvorschriften bei Verstößen gegen das ESchG [13].

Für die heutigen Reproduktionsmediziner ist die Auslegung des ESchGs hinsichtlich §1, Absatz 1 von führendem Interesse, der präventiv gegen geplante Vorratsbefruchtungen wirken soll. Nach §1 soll bestraft werden, wer innerhalb eines Zyklus mehr als 3 Eizellen befruchtet (Nr. 3) und wer mehr Eizellen einer Frau befruchtet, als ihr in diesem Zyklus zurückgegeben werden sollen (Nr. 5) [13].

1.4.2 Auslegung des ESchGs im Rahmen des DMW

Der DMW stellt nun die liberale Auslegung des ESchGs dar. Kernaussage dieser liberalen Auslegung ist die Annahme, dass der Gesetzgeber bei §1, Absatz 1, Nr. 3 und Nr. 5 bereits von unterschiedlichen Entwicklungsstadien der Eizellen ausgegangen ist und es sich bei ihnen nicht um eine Einheit, sondern um zwei voneinander getrennte Aussagen handelt. Der Versuch, eine Eizelle zu befruchten (Eizelle im 2PN-Stadium) führt nicht automatisch zu einer befruchteten, entwicklungsfähigen Eizelle (Embryo, vgl. §8 Absatz 1 ESchG), die transferiert werden kann. Ebenfalls hat nicht jede befruchtete Eizelle die Kapazität zu einem entwicklungsfähigen Embryo zu werden. Da diese Entwicklungsfähigkeit erst festgestellt werden muss, ist nicht davon auszugehen, dass dies §1, Absatz 1, Nr. 5 verbietet. Damit ist Nr. 5 nicht automatisch an die sogenannte „Dreierregel“ von Nr. 3 gebunden, wobei immer noch gilt, dass Vorratsbefruchtungen zu vermeiden sind.

Daraus wird ersichtlich, warum vom *Mittelweg* gesprochen wird. Einerseits scheint die Reproduktionsmedizin nicht an eine starre Zahl von 3 hinsichtlich der Befruchtung von Eizellen gebunden zu sein, andererseits dürfen nicht zu viele entwicklungsfähige Eizellen entstehen, da dann eine geplante Vorratsbefruchtung unterstellt werden kann, die in Deutschland nicht zulässig ist [15].

1.4.3 Bisherige Handlungsalgorithmen

Um diesem *Mittelweg* gerecht zu werden, bedarf es Handlungsalgorithmen wie sie beispielsweise von *Frommel* 2007 (**Tabelle 1**) aufgestellt wurden, damit möglichst wenig überzählige Embryonen entstehen. Falls es dennoch zu der Entstehung von entwicklungsfähigen, aber überzähligen Embryonen kommen sollte, können diese der Kryokonservierung zugeführt werden [15].

Der *Mittelweg* bedeutet somit, dass die individuellen Merkmale einer Patientin entscheidend sind, wie viele Eizellen kultiviert werden sollten (**Tabelle 1**). Die Beratung des Paares und die klinische Erfahrung des Arztes spielen ganz wesentlich in diesen Entscheidungsprozess mit ein. Würden beispielsweise bei

älteren Patientinnen nur 2-3 Eizellen kultiviert, könnte in vielen Fällen kein Blastozystentransfer stattfinden, da gerade ältere Eizellen zu einem größeren Prozentsatz im Entwicklungsarrest verharren. Dementsprechend werden mit steigendem Alter mehr Eizellen kultiviert. Außer des Alters haben auch Größen wie die ovarielle Reserve und die individuelle Anamnese der Patienten einen Einfluss auf die Anzahl der kultivierten Eizellen.

Durch den Einsatz spezieller Inkubatoren wie z.B. des oben genannten „EmbryoScope™“ der Fa. Vitrolife konnte die Beobachtung und Auswahl der geeigneten Eizellen zusätzlich verbessert werden.

Algorithmus des ART-Verlaufs

Ebene	
Gameten	Eizelle + Samenzelle, Befruchtung durch IVF/ICSI
2-PN-Zellen	<ul style="list-style-type: none"> • Anzahl der weiterkultivierten 2PN-Zellen wird individuell nach ESchG festgesetzt (§ 1.1.5 ESchG) • 3-PN-Zellen und 2-PN-Zellen mit Z-Scoring > Z3 werden verworfen • eventuell überzählige 2PN-Zellen werden kryokonserviert
Embryo, Tag 2-3	<ul style="list-style-type: none"> • entwicklungsfähige Embryonen werden bis zu max. 2 transferiert (§ 1.1.3 ESchG) oder mehr Embryonen weiterkultiviert • eventuell überzählige Embryonen werden kryokonserviert (§§ 2.1/2.2/9.3/12.1 ESchG) • nicht entwicklungsfähige Embryonalstadien werden verworfen (§§ 1.1.5/8.1/8.2 ESchG)
Blastozyste, Tag 5	<ul style="list-style-type: none"> • entwicklungsfähige Blastozysten werden bis zu max. 1 (2) transferiert (§ 1.1.3 ESchG) • überzählige Embryonen werden vitrifiziert (§§ 2.1/2.2/9.3/12.1 ESchG) • nicht entwicklungsfähige Embryonalstadien werden verworfen (§§ 1.1.5/8.1/8.2 ESchG)

Tabelle 1 Modifizierte Darstellung des Handlungsalgorithmus des ART-Verlaufs [15].

1.5 Blick ins Ausland

1.5.1 *single and double embryo transfer*

Beim *single embryo transfer* (SET), der zum Teil auch als *elective single embryo transfer* (eSET) beschrieben wird, handelt es sich um das einzige Verfahren, bei dem nachgewiesen werden konnte, dass es die Zahl der

Mehrlingsschwangerschaften effektiv reduzieren kann [16]. Aufgrund dessen handelt es sich beim eSET mittlerweile um ein führendes Verfahren im Bereich der Reproduktionsmedizin im Ausland und findet inzwischen Eingang in die jeweiligen Behandlungsempfehlungen der Kinderwunschzentren übergeordneten Institutionen. Darüber hinaus findet es sogar in manchen Ländern bereits Eingang in die jeweilige Gesetzgebung.

Dabei ist es den ausländischen Kollegen erlaubt, nach einer Auswahl nur einen qualitativ hochwertigen Embryo im Stadium der Blastozyste oder einen *cleavage stage* Embryo (früher Grad der Furchungsteilung) zu transferieren, obwohl eventuell mehr als ein qualitativ hochwertiger Embryo erzeugt wurde. Überzählige Embryonen werden regelhaft der Kryokonservierung zugeführt. Dieses Verfahren reduziert einerseits das Risiko von Mehrlingsschwangerschaften, während gleichzeitig akzeptable Schwangerschaftsraten erreicht werden.

In Anlehnung an SET wird auch oft von *double embryo transfer* (DET) gesprochen, wenn zwei qualitativ hochwertige Embryonen transferiert werden.

In drei großen Metaanalysen wurde der *cleavage stage* eSET mit DET verglichen und alle Studien kamen zu ähnlichen Schlussfolgerungen. Die Geburtenraten von SET beliefen sich auf 26% im Gegensatz zu DET mit 43%. Allerdings wurden nur frische Zyklen berücksichtigt und der Transfer von zuvor kryokonservierten Embryonen ging nicht mit ein, wodurch DET statistisch gesehen, profitiert haben könnte [17-19]. In einer Studie, die eSET und DET von Blastozysten untersuchte, wurden fortgeführte Schwangerschaftsraten von 61% versus 76% erreicht, wobei es im Rahmen von DET zu 47% Zwillingsgraviditäten kam versus 0% im Rahmen von eSET [20].

1.5.2 *single embryo transfer* im Ausland

Amerika als Land der unbegrenzten Möglichkeiten hat sich in den vergangenen Jahren mit der Anzahl der transferierten Embryonen kaum zurückgehalten, um herausragende Schwangerschaftsraten, gerade auch bei älteren Patientinnen zu erzielen. In den USA wurden 2000 noch in mehr als dreiviertel der Fälle 3

oder mehr Embryonen transferiert. Bereits im Jahr 1998 wurden von der *American Society for Reproductive Medicine* (ASRM) Handlungsempfehlungen herausgegeben, die bis heute ständig überprüft und überarbeitet werden. In den darauffolgenden Jahren konnte zwar die Rate an Transfers mit 3 oder mehr Embryonen deutlich gesenkt werden, wodurch es vor allem zu weniger Drillingsschwangerschaften kam, nichtsdestotrotz konnte die Rate an Zwillingschwangerschaften nicht reduziert werden, da der Anteil an DETs konstant hoch blieb. Doch auch in Amerika wird der SET immer häufiger angewendet. 2009 wurde in Amerika in der Gruppe der Patientinnen unter 35 Jahren in 10% der Fälle ein SET durchgeführt, was einem jährlichen Zuwachs von 1-2% entspricht, da es sich vor 2002 noch um weniger als 1% SETs handelte [21].

Großbritannien führte 2009 durch das unabhängige Institut *Human Fertilisation and Embryology Authority* (HFEA) eine Politik ein, die Kinderwunschzentren dazu ermutigen sollte, eSET in die klinische Routine zu übernehmen, was allerdings nur bis 2013 für alle Kinderwunschzentren verbindlich war. Durch diesen Schritt konnte die Rate an Mehrlingsschwangerschaften von 24% in 2009, auf 20% in 2010 und auf 15% in 2011 gesenkt werden. 2013 lag die Rate an Mehrlingsschwangerschaften in GB bei 16,3%. Auch andere Institutionen als HFEA unterstützen das Ziel, die Rate an Mehrlingsschwangerschaften in naher Zukunft unter 10% halten zu können und nennen diese Initiative „*One at a Time*“. Im 2014 veröffentlichten Bericht der HFEA wurden bei 51% der ART-Zyklen zwei Embryonen transferiert und in 27% der Fälle ein eSET durchgeführt, während die Lebendgeburtrate konstant blieb [22].

Schweden ist eines der führenden Länder auf dem Gebiet der Etablierung des SET und führt die Liste mit 69,9% SETs an, was durchaus dem Fakt geschuldet sein kann, dass in diesem Land der SET Eingang in die Gesetzgebung gefunden hat. Bei der Auswertung des nationalen Gesundheitsregisters konnten die Schweden darlegen, dass das Risiko von Tod und Morbidität im Neonatalalter signifikant reduziert werden konnte, nachdem SET eingeführt wurde [23].

1.5.3 Eingang des *single embryo transfer* in die Gesetzgebung

Dass die Einführung des SET auch im gesellschaftlichen Interesse ist, zeigt sich daran, dass dieser zum Teil in die Gesetzgebung unterschiedlicher Länder bereits eingegangen ist. **Tabelle 2** zeigt eine Auflistung der Handhabung in den unterschiedlichen Nationen, wobei zwischen Gesetzen und Handlungsempfehlungen unterschieden werden kann. Auch die Handlungsempfehlungen werden teilweise vom Gesetzgeber herausgegeben, da es landesspezifisch ist, ob es sich um eine staatliche oder eine unabhängige Institution handelt, die den reproduktionsmedizinisch tätigen Zentren übergeordnet ist.

Handhabung in den verschiedenen Nationen

Land	Handlungsempfehlung oder Gesetzgebung
Australien	Handlungsempfehlung, eSET <35 Jahre und im Rahmen des ersten Zyklus, max. 2 Embryonen <40 Jahre
Belgien	Gesetz, <36 muss der erste Zyklus ein eSET sein
Dänemark	kein Gesetz
Deutschland	ESchG siehe oben
Estland	Gesetz, max. 3
Finnland	kein Gesetz
Frankreich	Gesetz, max. 2, >2 klinische Begründung
Griechenland	Handlungsempfehlung, max. 3 <40, max. 4 >40
Indien	Handlungsempfehlung, max. 3
Italien	Gesetz schränkt die Anzahl der Eizellen ein, die befruchtet werden dürfen, alle befruchteten Eizellen müssen transferiert werden
Japan	Handlungsempfehlung, max. 2
Kanada	Handlungsempfehlung, eSET <35 und bei Patientinnen mit guter Prognose zwischen 36 und 37, verpflichtender eSET geplant
Luxemburg	kein Gesetz
Neuseeland	Handlungsempfehlung, eSET < 35 in den ersten zwei Zyklen, max. 2 <40
Niederlande	kein Gesetz
Norwegen	kein Gesetz
Österreich	Gesetz schränkt die Anzahl der Eizellen ein, die befruchtet werden dürfen, alle befruchteten Eizellen müssen transferiert werden

Portugal	Gesetz enthält Anweisung, dass der Transfer mehrerer Embryonen allgemein zu vermeiden ist
Schweden	Gesetz, generell ist SET zu präferieren, wenn nicht besondere Umstände vorliegen
Schweiz	Gesetz schränkt die Anzahl der Eizellen ein, die befruchtet werden dürfen, alle befruchteten Eizellen müssen transferiert werden
Türkei	Gesetz, <35 soll eSET, >35 soll DET favorisiert werden
Ungarn	Gesetz, max. 3, >3 klinische Begründung
USA	Handlungsempfehlung der ASRM differenziert nach Alter, Prognose und Entwicklungsstadium der Eizellen, zielt aber allgemein darauf ab die Rate an Mehrlingsschwangerschaften stetig zu reduzieren

Tabelle 2 Auflistung der unterschiedlichen Handlungsempfehlungen oder der Gesetze bezüglich des SET in den unterschiedlichen Nationen [22].

2. Ziele der Arbeit

Ziel der Arbeit war die Auswertung des DMW, der 2011 im Universitären Interdisziplinären Kinderwunschzentrums Düsseldorf (UniKiD) eingeführt wurde. Außerdem galt es herauszuarbeiten, inwieweit die Patientinnen vom Einsatz des DMW im Gegensatz zum Standardverfahren profitieren können und welche Handlungsalgorithmen zu möglichst hohen Schwangerschaftsraten führen und gleichzeitig das Risiko von Mehrlingsschwangerschaften reduzieren können.

Da das ESchG sehr restriktiv ist und die deutschen Reproduktionsmediziner ihren internationalen Kollegen nicht uneingeschränkt im Sinne des SET folgen können, muss in Deutschland der *Mittelweg* gegangen werden. Da der DMW in Anlehnung an SET etabliert wird, stellt sich die Frage, ob er nicht auch der Wegbereiter des SET in Deutschland sein kann. Die Ergebnisse der klinisch retrospektiven Arbeit wurden im Journal *Geburtshilfe und Frauenheilkunde* unter dem Titel „Ebnet der DMW den Weg zum *single embryo transfer*?“ publiziert und folgen auf den nächsten Seiten [24].

3. Publierte Originalarbeit

Veröffentlichung durch den Georg Thieme Verlag am 25.10.2016 genehmigt.

Kliebisch et al., The German Middleway as Precursor for Single Embryo Transfer. A Retrospective Data-analysis of the Düsseldorf University Hospital's Interdisciplinary Fertility Centre – UniKiD, Geburtshilfe Frauenheilkd 2016; 76(06): 690-698, DOI: 10.1055/s-0042-105747 © Georg Thieme Verlag KG Stuttgart · New York

Ebnet der DMW den Weg zum *single embryo transfer*? Eine retrospektive Datenerhebung des universitären interdisziplinären Kinderwunschzentrums Düsseldorf - UniKiD

The german middleway as precursor for *single embryo transfer*? A retrospective data collection of the university based fertility clinic Düsseldorf - UniKiD

Kliebisch Tizia Karina¹, Bielfeld Alexandra Petra², Krüssel Jan Steffen^{2§}, Baston-Büst Dunja Maria²

¹ Medical Research School der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität;

² Universitätsklinikum der Heinrich-Heine-Universität, Frauenklinik, Universitäres interdisziplinäres Kinderwunschzentrum Düsseldorf (UniKiD); Moorenstr. 5, 40225 Düsseldorf

§ corresponding author: Jan Steffen Krüssel

Zusammenfassung

Einleitung

Deutsche Kinderwunschpatienten erscheinen im internationalen Vergleich aufgrund der restriktiven Vorgaben des Embryonenschutzgesetzes (ESchG) und des Verbots der Auswahl eines „Top-Embryo“ benachteiligt. Die Durchführung des Deutschen Mittelwegs (DMW) erlaubt nun eine liberale Interpretation des ESchG im Sinne der Kultur mehrerer Vorkernstadien (2PN-Stadien).

Material und Methoden

Retrospektive Kohortenstudie mit 2 Behandlungszyklen im Rahmen einer assistierten Reproduktion mit n=400 Patientinnen im Alter zwischen 21 und 45 Jahren, die entweder 2x konservativ oder 1x konservativ und 1x liberal nach DMW behandelt wurden.

Ergebnisse

Eine Schwangerschaft konnte in der DMW-Gruppe in 35% der Fälle, in der Kontrollgruppe in 31% erzielt werden. Die Geburtenrate lag in der Kontrollgruppe bei 28,5% und in der DMW-Gruppe bei 30,5%. Die meisten Schwangerschaften resultierten aus der Kultur von 4 x 2PN-Stadien.

Schlussfolgerung

Im Vergleich zum Vorzyklus einer Patientin der DMW-Gruppe kam es zu signifikant höheren Schwangerschafts- und Geburtenraten bei gleichzeitig signifikant gestiegenem Alter und signifikant weniger transferierten Embryonen. Entscheidende Einflussfaktoren waren die Anzahl der generierten 2PN-Stadien und die Qualität der transferierten Embryonen. Somit ist davon auszugehen, dass gerade ältere Patientinnen mit einer ausreichenden ovariellen Reserve vom DMW bzw. vom Transfer von weniger Embryonen mit möglichst hoher Qualität profitieren.

Schlüsselwörter: ART, Deutscher Mittelweg, ESchG, Blastozyste

Einleitung

Etwa 10% aller Paare im reproduktiven Alter sind von ungewollter Kinderlosigkeit betroffen [25]. Die deutsche Reproduktionsmedizin ist durch nationale gesetzliche Rahmenbedingungen, wie dem Embryonenschutzgesetz (ESchG) und in manchen Landesärztekammerbereichen dem ärztlichen Berufsrecht im europäischen und internationalen Vergleich stärker reglementiert wenn es darum geht, neue Wege im Bereich der Reproduktionsmedizin einzuschlagen. In anderen Ländern, wie z.B. Belgien und Schweden, ist der „elective single embryo transfer“ (eSET) , wobei ein einzelner Embryo aus allen in einem Stimulationszyklus generierten Embryonen ausgewählt und zurückgegeben wird, rechtlich möglich und vom Gesundheitswesen sogar gewünscht [26].

Da nach dem deutschen ESchG von 1990 keine Vorratsbefruchtungen zulässig sind, soll somit die regelhafte Entstehung überzähliger Embryonen vermieden werden [27]. Damit wird in Deutschland meist nicht die Kultur aller gewonnen Eizellen während eines Behandlungszyklus durchgeführt, sondern es werden im südlichen Bundesgebiet seit ca. 2008/2009 im Sinne des Deutschen Mittelwegs (DMW) so viele Eizellen nach Rücksprache mit dem Paar über das 2Pronukleus-Stadium (2PN-Stadium) hinaus kultiviert, um dann im Verlauf anhand der Entwicklung der einzelnen Embryonen 2 entwicklungsfähige identifizieren zu können [28]. Viele reproduktionsmedizinische Zentren kultivieren noch heute klassisch nach der sog. „Dreierregel“ und somit maximal 3x2PN-Stadien, da einer Frau maximal 3 Embryonen pro Zyklus übertragen werden dürfen [27]. Eine juristische Sichtweise ist, dass trotz dieser liberalen Auslegung des ESchG nicht dieselben Verhältnisse in Deutschland herrschen, wie z.B. in vielen europäischen Nachbarländern, in denen die Kollegen häufig alle befruchteten Eizellen kultivieren, um gezielt nur einen optimal entwickelten Embryo zu transferieren. Bei dieser Auswahl des „Top-Embryos“ kommt es in den meisten Fällen zur Entstehung überzähliger Embryonen, so dass dieser sogenannte elektive *single-embryo-transfer* (eSET) in Deutschland nicht durchgeführt werden könne [15]. Dieser Sachverhalt ist auf das seit 1991 bestehende ESchG zurückzuführen, das festlegt, keine Vorratsbefruchtungen zuzulassen und somit überzählige Embryonen zu vermeiden [27]. Aktuelle

Daten zeigen allerdings eindrucksvoll, dass in 85% der untersuchten Stimulationszyklen nur 1-2 entwicklungsfähige Embryonen bei der Kultur von bis zu 6x 2PN entstehen und somit der Sorge einer Embryonen-Vorratshaltung zu große Bedeutung zukommen mag [29].

Wenn nun die drei wichtigsten Einflussfaktoren in Bezug auf das Eintreten einer Schwangerschaft betrachtet werden, nämlich das Alter der Patientin, die Anzahl der transferierten Embryonen und die „Qualität“ bzw. die Entwicklungsfähigkeit des Embryos, fällt auf, dass deutsche Reproduktionsmediziner bisher nur durch den Transfer mehrerer Embryonen gute Schwangerschaftsraten erzielen konnten, mit dem damit verbundenen Risiko von Mehrlingsschwangerschaften. Dass dieses Risiko beispielsweise in der Gruppe der 30 bis 34-Jährigen Patientinnen beim Transfer von zwei Embryonen besonders hoch ist, konnte der Jahresbericht des Deutschen IVF-Registers (DIR) 2013 zeigen, wobei 20,10% der Geburten in den Jahren 2000 - 2012 Zwillings- und 0,41% Drillingsgeburten waren [30].

Der DMW (sog. „Deutscher Mittelweg“) versucht nun, durch eine liberale Auslegung des ESchG auch in Deutschland die Behandlungsergebnisse zu verbessern, indem durch die *in vitro* Kultur mehrerer Embryonen versucht wird, diejenigen mit dem größten Entwicklungspotenzial auszuwählen und der Patientin spätestens im Blastozystenstadium **gegebenenfalls** auch als Transfer eines einzelnen Embryos zurückzugeben.

In dem nachfolgenden Artikel soll dargelegt werden, inwieweit sich die Standard-Zyklen der künstlichen Befruchtung von dem Verfahren des „DMW“ unterscheiden und ob die Einführung des „DMW“ 2011 im UniKiD zu signifikant höheren Schwangerschaftsraten, weniger Mehrlingsschwangerschaften und somit zu einer deutlichen Reduktion der gesundheitlichen und monetären Belastung der behandelten Paare geführt hat. Besonderes Augenmerk legen wir auf die Frage, welche Patientengruppe überhaupt vom DMW profitieren kann bzw. welche Handlungsalgorithmen den Erfolg des DMW vorhersagen können. Dies ist insbesondere wichtig, um die Frage klären zu können, ob der im UniKiD, in den meisten anderen Zentren in Nordrhein und in mehreren

Zentren im Bereich anderer Landesärztekammern angewandte DMW den Weg zum *single-embryo-transfer* ebnen kann.

Material und Methodik

Ethikvotum

Die Arbeit wurde mit Genehmigung der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf unter der Studiennummer 4245 angefertigt.

Beschreibung der Verfahren

Nach ausführlicher Anamnese des Paares, gynäkologischer Untersuchung und Bestimmung der relevanten Hormonparameter bei der Patientin sowie kompletter andrologischer Diagnostik beim Mann wurde die Indikation zur reproduktionsmedizinischen Therapie (*in vitro* Fertilisation [IVF] oder intrazytoplasmatische Spermiuminjektion [ICSI]) gestellt und Behandlungsabläufe, relevante Risiken und mögliche Komplikationen mit dem Paar besprochen. Daraufhin folgte die medikamentöse Vorbehandlung im Sinne eines kurzen/langen Agonistenprotokolls oder eines Antagonistenprotokolls mit hCG-Gabe zur Ovulationsinduktion und Eizellpunktion.

Nach der Befruchtung mittels IVF oder ICSI wurden im konservativen ART-Zyklus (Kontrollgruppe) maximal 3 x 2PN-Stadien für eine 2-3 tägige Kultur bis zum Transfer eingesetzt, während im DMW-Zyklus maximal 6 x 2PN-Stadien für eine 2-5 tägige *in vitro* Kultur gewählt wurden.

Ein- und Ausschlusskriterien

In diese retrospektive Kohortenstudie wurden 400 Patientinnen im Alter von 21 bis 45 Jahren eingeschlossen, die im Rahmen einer assistierten Reproduktion (IVF oder ICSI) mindestens zweimal in den Jahren 2006 bis 2013 behandelt wurden und entweder der Kontroll- (n=200, KG) oder der Experimentalgruppe (n=200, EG) zugeordnet wurden. Voraussetzung war außerdem, dass der betrachtete Behandlungszyklus nicht abgebrochen wurde. Betrachtet wurden

die beiden letzten Behandlungen (1. Zyklus=KG1, 2. Zyklus=KG2 vs. 1. Zyklus=EG1 und 2. Zyklus=EG2 (im Folgenden wird EG2 als DMW bezeichnet)). Ausgeschlossen wurden Patientinnen, die nur im Sinne des DMW behandelt wurden, was vor allem in den Behandlungsjahren 2011-2013 dazu führte, dass viele der behandelten Patientinnen nicht in die Auswertung einfließen konnten.

Die Einschlusskriterien der EG entsprachen mindestens einer Behandlung mit dem Standard-Verfahren (EG1) und einer mit dem DMW-Verfahren (DMW). Die Einschlusskriterien der KG entsprachen mindestens zwei Standardzyklen (KG1 und KG2). Durch diesen Match der Gruppen war es nicht nur möglich, KG vs. EG zu vergleichen, sondern auch einen vorherigen Zyklus einer Patientin mit dem darauffolgenden Zyklus derselben Patientin im Sinne einer internen Kontrolle zu untersuchen.

Bei einer Patientin, die beispielsweise der EG zugeordnet wurde und insgesamt viermal behandelt wurde, zweimal mit jedem Verfahren, wurde nur der jeweils letzte Standard- und der letzte DMW-Zyklus mit allen Parametern erfasst. Wenn es sich um eine Patientin der KG handelte, wurden die beiden letzten Standard-Zyklen erfasst. Dieses Vorgehen wurde gewählt, um einer positiven Vorselektion des Patientenkollektivs vorzubeugen und Patientinnen mit unterschiedlich vielen Behandlungszyklen einheitlich zu untersuchen.

Erfasste Parameter

Folgende Parameter wurden bei den Patientinnen betrachtet:

Alter der Patientin, Anzahl Jahre des Kinderwunsches, Body-Mass-Index (BMI), die Anzahl bereits geborener Kinder, Aborte und Abrasionen, die andrologischen Befunde des Partners, die Art der Befruchtungsmethode (IVF oder ICSI), das Punktions- und Transferdatum und die Protokollart.

Zusätzlich bestimmt wurden:

- basale Hormonwerte zwischen 3. und 5. Zyklustag:
 - luteinisierendes Hormon (LH)
 - Follikel stimulierendes Hormon (FSH)
 - Anti Müller Hormon (AMH)

- Thyroidea-stimulierendes-Hormon (TSH)
 - Testosteron
 - Prolaktin
 - Dehydroepiandrosteron-Sulfat (DHEA-S)
 - LH/FSH-Quotient (berechnet)
- am Tag der Gabe von humanem Choriongonadotropin (hCG) zur Ovulationsinduktion:
- Östradiol (E₂) und
 - luteinisierendes Hormon (LH)

Dokumentiert und ausgewertet wurden zusätzlich:

- die Medikamente im Rahmen der Stimulation:

- rekombinantes follikelstimulierendes Hormon (rFSH)
- rekombinantes luteinisierendes Hormon (rLH)
- HMG
- rekombinantes humanes Choriongonadotropin (rhCG)
- Corifollitropin alfa
- HCG
- Gonadotropin-Releasing-Hormon-Agonisten (GnRH-Agonisten)
- Gonadotropin-Releasing-Hormon-Antagonisten (GnRH-Antagonisten)
- ggf. Kontrazeptivum im Vorzyklus
- ggf. Schilddrüsenhormonsubstitution
- ggf. Gabe von Antikoagulantien

Weitere betrachtete Parameter waren die Anzahl der punktierten Eizellen und deren Qualität im Verlauf der Behandlung (defekte Eizellen, Germinal Vesikel (GV), 1. Meiotische Teilung erreicht (MI), nachgereifte Eizellen (N), 2. Meiotische Teilung erreicht (MII) und nach der Befruchtung (2PN)), die Anzahl der kryokonservierten 2PNer, der kultivierten 2PNer, der geplanten und transferierten Embryonen und die Qualität der Embryonen (*Embryograding*). Der erste hCG-Wert wurde 13 Tage nach dem Punktionsdatum bestimmt und weitere 7 Tage später der zweite hCG-Wert. Das Ergebnis des ersten

Ultraschalls, eine eventuelle Gemini-Anlage mit ihren Besonderheiten wie *vanishing twins* und schließlich die Einzelheiten der Geburt (Schwangerschaftsdauer, Geschlecht, Gewicht, Auffälligkeiten, Modus) bzw. die Anzahl geborener Kinder wurden erhoben.

Zu den anamnestisch erhobenen Parametern gehörten Behandlungen außerhalb unseres Zentrums, abgebrochene Behandlungen in der Vorgeschichte mit dem jeweiligen Grund (Überstimulationssyndrom (OHSS), fehlende 2PNER); Anzahl der Zyklen mit Geschlechtsverkehr zum optimalen Zeitpunkt (VZO), der intrauterinen Inseminationen (IUI), der *in vitro* - Fertilisationen (IVF), der intrazytoplasmatischen Spermieninjektionen (ICSI), der Kryotransfers; demographische Faktoren wie Familienstand und Nikotinkonsum; gynäkologische Behandlungen wie Laparoskopien (LSK), Hysteroskopien (HSK), Chromopertubationen; gynäkologische Krankheitsbilder wie Endometriose, Myome, das Syndrom der polycystischen Ovarien (PCO) und Lage der Gebärmutter.

Statistische Analyse

Die Berechnungen und statistischen bzw. deskriptiven Analysen dieser Arbeit wurden mit dem Statistikprogramm IBM SPSS *Statistics Version 22.0.0.0* und unter Nutzung der fachlichen Expertise der .05 Statistikberatung Düsseldorf durchgeführt.

Zur statistischen Auswertung wurden der T-Test und der Levene-Test (Vergleich von Mittelwerten) verwendet, außerdem der Qui-Quadrat-Test nach Pearson, Mann-Whitney-Test und Wilcoxon-Test (Gruppenanalysen) und ANOVA-Analysen (lineare Regressionsanalysen) bzw. der Omnibus-Test (logistische Regressionsanalysen). Zusätzlich wurden Korrelationsanalysen durchgeführt. Als statistisch signifikant galt ein $p < 0.05$.

Ergebnisse

Deskriptive Statistik der Hauptzielgrößen

Bei den Hauptzielgrößen handelte es sich um die Schwangerschaftsrate (fortlaufende Schwangerschaft mit ansteigendem hCG und positivem Ergebnis

im ersten Ultraschall), Geburtenrate (Geburt eines oder mehrerer Kinder) und die absolute Anzahl geborener Kinder.

Eine Schwangerschaft konnte in KG1 in 18% (1.hCG \bar{x} [Mittelwert]=152mU/ml, 2.hCG \bar{x} =2373mU/ml, n=36), in EG1 in 16,5% (1.hCG \bar{x} =86mU/ml, 2.hCG \bar{x} =1384mU/ml, n=33), in KG2 in 31% (1.hCG \bar{x} =146mU/ml, 2.hCG \bar{x} =2366mU/ml, n=62) und in der DMW-Gruppe in 35% (1.hCG \bar{x} =222mU/ml, 2.hCG \bar{x} =2530mU/ml, n=70) der Fälle erzielt werden.

Die Geburtenrate entsprach der Anzahl geborener Kinder in KG1 und lag bei 5,5% (11 von n=200 Punktionen) und in EG1 bei 5% (10 von n=200). Die Geburtenrate in KG2 lag bei 28,5% (57 von n=200) und die absolute Anzahl geborener Kinder bei 66. In der DMW-Gruppe lag die Geburtenrate bei 30,5% (61 von n=200) und die absolute Anzahl geborener Kinder betrug 75.

Grafisch dargestellt sind die Hauptzielgrößen (Schwangerschaftsrate, Geburtenrate, Anzahl geborener Kinder) in **Abb. 4 und 5**. Eingeschlossen in die Auswertung wurden nur Patientinnen, die entweder im ersten oder zweiten Zyklus eine fortlaufende Schwangerschaft erreicht haben. Biochemische Schwangerschaften wurden nicht berücksichtigt.

Schwangerschafts- und Geburtenrate je Behandlungsgruppe

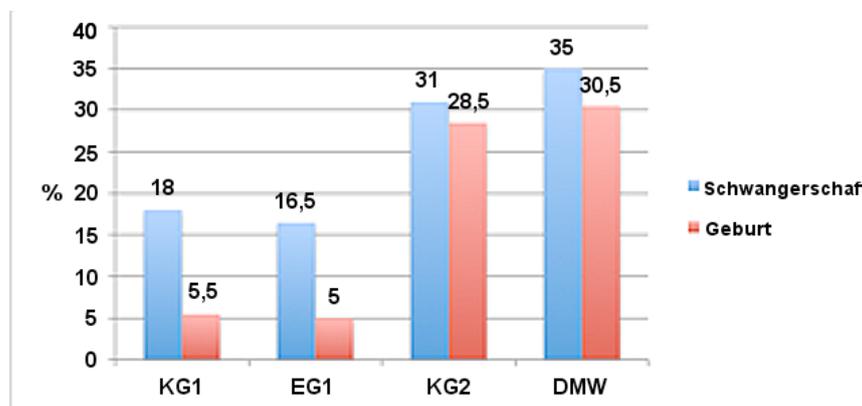


Abb. 4 Darstellung der Schwangerschafts- und Geburtenrate in Prozent je Behandlungsgruppe. Prozentangaben beziehen sich auf n=200, als Schwangerschaft wurde ein positiver 1. und 2. hCG-Wert ohne laborchemischen Abfall definiert.

Absolute Zahl der geborenen Kinder

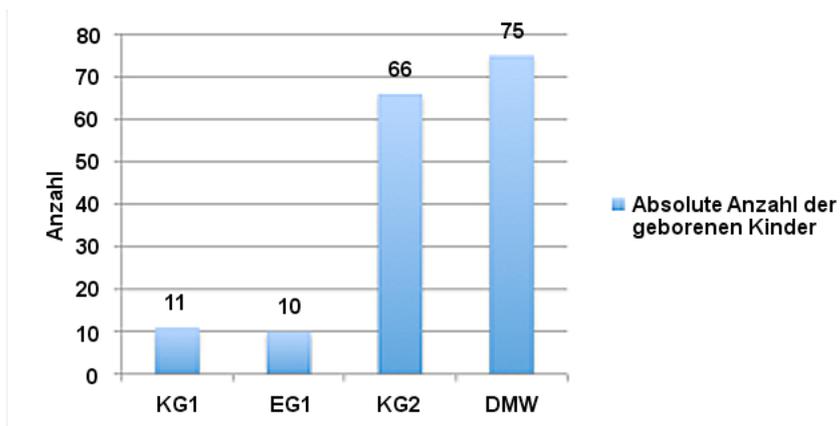


Abb. 5 Darstellung der absoluten Anzahl der geborenen Kinder in den unterschiedlichen Behandlungsgruppen.

Darstellung der Gruppengleichheit und gleichbleibende Parameter KG gegen EG

Diese Parameter beziehen sich auf das Ende der Datenerhebung und somit nicht auf einen einzelnen Behandlungszyklus der Patientin. Es wurde nur zwischen KG und EG unterschieden, um die Gleichheit der Gruppen darzustellen.

Es konnte nachgewiesen werden, dass sich KG und EG hinsichtlich der Gesamtanzahl der ART-Zyklen (IVF und ICSI), des VZO, der IUI, der Anzahl der Kryotransfere, des Rauchverhaltens, dem Auftreten eines OHSS, fehlender 2PN-Zellen, abgebrochener Behandlungen, Familienstand, Auftreten von Endometriose, HSKs, Chromopertubationen, dem Vorhandensein von Myomen, Uteruslage und dem Auftreten von PCO in der Anamnese nicht signifikant unterschieden.

Signifikant unterschieden sich die Gruppen jedoch hinsichtlich der Anzahl der DMW-Zyklen ($EG=1,44\pm 0,77$, $p=0,000$), da nur in der EG der DMW angewendet wurde, außerdem hinsichtlich der Anzahl der Kryotransfere ($KG=1,05\pm 1,39$, $EG=1,61\pm 1,82$, $p=0,001$) und der Anzahl der LSKs in der Anamnese ($KG=30,5\%$, $EG=40\%$, $p=0,047$).

Darstellung der Gruppengleichheit und Vergleich des ersten Zyklus KG1 gegen EG1

Im Rahmen des ersten Zyklus wurden beide Gruppen im Sinne des Standardverfahrens behandelt, wodurch auch hier die Gruppengleichheit nachgewiesen werden konnte. In Bezug auf das Alter; BMI; E₂- und LH-Wert bei hCG-Gabe; die Gabe von rFSH, rFSH+rLH, GnRH-Agonisten und – Antagonisten; Laborwerte (LH/FSH, AMH, TSH, Testosteron, LH, DHEA); Anzahl Eizellen MI; kultivierte 2PN; transferierte und kultivierte Embryonen; 2. hCG; der Differenz zwischen Punktions- und Transfertag und Transfer- und Geburtstag; der Qualität des ersten, zweiten und dritten Embryos; dem Ergebnis des 1. Ultraschalls und der Schwangerschafts- und Geburtenrate, sowie der Anzahl geborener Kinder, konnte bewiesen werden, dass sich die Gruppen nicht signifikant voneinander unterscheiden.

Signifikant unterschieden sich die Gruppen im Bezug auf die Gabe von FSH (KG=2509±1357 IE, EG=2070±1058 IE, p=0,0003), den Prolaktin-Wert (KG=14,52±7,34, EG=16,18±7,54, p=0,031), den FSH-Wert (KG=8,32±4,14, EG=7,24±3,48, p=0,006), der Anzahl der punktierten Eizellen (KG=7,75±3,82, EG=9,12±4,05, p=0,001), Eizellen MII (KG=6,02±3,38, EG=7,21±3,60, p=0,001), 2PN (KG=3,77±2,47, EG=4,88±2,88, p=0,001), kryokonservierte 2PN (KG=1,40±2,20, EG=2,46±2,91, p=0,000), 1.hCG (KG=151,58±181,95, EG=83,43±59,86, p=0,046) und die ART-Form (KG=88,5% ICSI, EG=80% ICSI, p=0,020).

Gruppenvergleich und Vergleich des zweiten Zyklus KG2 gegen EG2 (DMW)

Die Hauptzielgrößen unterschieden sich nicht signifikant voneinander, dennoch konnten höhere Schwangerschaftsraten (+4%), Geburtenraten (+2%) und eine größere Anzahl geborener Kinder (+9) erzielt werden, obwohl signifikant weniger Embryonen transferiert wurden (KG=1,96±0,62, EG=1,83±0,38, p=0,009) (**Tabelle 3**).

Gruppenvergleich KG2 gegen EG2 (DMW)

	KG2 (n = 200)	DMW (n = 200)	p-Wert
Alter	36,94 ± 4,03 (200)	36,45 ± 3,86 (200)	
BMI	23,39 ± 4,01 (199)	22,88 ± 3,91 (200)	
E ₂ bei hCG-Gabe in pg/ml	1827 ± 1358 (200)	1702 ± 1124 (200)	
LH bei hCG-Gabe in µIU/ml	3,90 ± 2,84 (200)	3,34 ± 3,18 (200)	
Gesamtdosis FSH in IE	2505 ± 1419 (200)	1987 ± 1158 (200)	<.05
GnRH-Antagonist in mg	0,52 ± 0,76 (70)	0,77 ± 0,81 (103)	<.05
GnRH-Agonist in mg	4,93 ± 4,09 (128)	3,30 ± 3,70 (97)	
LH/FSH-Quotient in µIU/ml	0,87 ± 0,44 (193)	0,90 ± 0,38 (191)	
AMH in µg/l	2,00 ± 2,76 (124)	1,99 ± 1,98 (169)	
TSH in µIU/ml	1,72 ± 0,82 (197)	1,92 ± 1,87 (193)	
Testosteron in ng/ml	0,27 ± 0,18 (195)	0,25 ± 0,16 (190)	
Prolaktin in ng/ml	15,14 ± 12,09(190)	15,83 ± 7,57 (190)	
FSH in µIU/ml	8,32 ± 4,02 (193)	7,04 ± 2,32 (192)	<.05
LH in µIU/ml	6,27 ± 2,54 (196)	6,05 ± 2,51 (194)	
DHEA in µg/l	141,24 ± 69,87 (191)	151,34 ± 70,85 (192)	
Eizellenanzahl	7,6 ± 4,36 (200)	9,89 ± 3,96 (200)	<.05
Eizellen MI	0,87 ± 1,16 (104)	0,99 ± 1,33 (102)	
Eizellen MII	5,84 ± 3,59 (200)	7,88 ± 3,50 (200)	<.05
2PN	3,82 ± 2,68 (200)	5,36 ± 2,90 (200)	<.05
Für die Kultur geplante 2PN	2,22 ± 0,49 (200)	5,18 ± 0,95 (200)	<.05
Kultivierte 2PN	2,01 ± 0,63 (200)	3,96 ± 1,40 (200)	<.05
Transferierte Embryonen	1,96 ± 0,62 (200)	1,83 ± 0,38 (200)	<.05
1. hCG in mU/ml	145,78 ± 122,59 (62)	221,52 ± 458,98 (62)	
2. hCG mU/ml	2365,75 ± 1740,55 (62)	2529,6 ± 1915,91 (62)	
Differenz zwischen Punktion und Transfer (Transfertag)	2,31 ± 0,46 (200)	3,93 ± 1,18 (200)	<.05
Differenz zwischen Transfer und Geburt (Schwangerschafts-dauer)	254,95 ± 15,39 (57)	245,56 ± 23,20 (61)	<.05
Qualität, 1. Embryo	(200)	(198)	<.05
A	48% (96)	67,5% (135)	
B	43% (86)	22% (44)	
C	9% (18)	9,5% (19)	
Qualität, 2. Embryo	(156)	(161)	
A	32,5% (64)	43,5% (87)	
B	34,5% (69)	21% (42)	
C	11,5% (23)	16% (32)	
Qualität, 3. Embryo	(33)	(0)	<.05
A	24% (8)		
B	55% (18)		
C	21% (7)		
Blastozysten (A) und Morulastadien (C) bei Qualität enthalten.			
ART-Form (ICSI)	92% (184)	81,5% (163)	<.05
1. US	(62)	(70)	
Einling	74% (46)	71% (50)	
Zwilling	21% (13)	23% (16)	
Abort	5% (3)	6% (4)	
Schwangerschaft	31% (62)	35% (70)	
Geburt	28,5% (57)	30,5% (61)	
Anzahl geborener Kinder	66	75	

Tabelle 3 Demografische Angaben und deskriptive Statistik unter Angabe der Anzahl der Patienten (n) für DMW-Gruppe gegen konservative Behandlung. Darstellung von Mittelwerten \pm Standardabweichung oder Prozentangaben, in Klammern werden absolute Häufigkeiten angegeben mit $p < .05$.

Gruppenvergleich und Vergleich des ersten mit dem zweiten Zyklus einer Patientin EG1 gegen EG2 (DMW)

Da es sich bei diesem Vergleich um unterschiedliche Zyklen einer individuellen Patientin handelte, einmal im Standardverfahren (EG1) und einmal im DMW-Verfahren (EG2), konnte dargestellt werden, dass die Patientinnen signifikant von dem neuen Verfahren profitieren konnten, trotz des zwangsläufig signifikant steigenden Alters der Patientinnen (EG1=35,43 \pm 3,99, EG2=36,45 \pm 3,86, $p=0,000$). Es konnten signifikant höhere Schwangerschaftsraten (+18,5%) und höhere Geburtenraten (+25,5%) erzielt werden, obwohl signifikant weniger Embryonen transferiert wurden (EG1=1,97 \pm ,46, EG2=1,83 \pm 0,38, $p=0,000$) (Tabelle 4).

Gruppenvergleich EG1 gegen EG2 (DMW)

	EG1	EG2 (DMW)	p-Wert
Alter	35,43 \pm 3,99 (200)	36,45 \pm 3,86 (200)	<.05
BMI	22,83 \pm 3,98 (200)	22,88 \pm 3,91 (200)	
E ₂ bei hCG-Gabe in pg/ml	1976 \pm 1292 (197)	1702 \pm 1124 (200)	<.05
LH bei hCG-Gabe in μ IU/ml	3,91 \pm 3,50 (197)	3,34 \pm 3,18 (200)	
Gesamtdosis FSH in IE	2070 \pm 1058 (200)	1987 \pm 1158 (200)	
GnRH-Antagonist	0,44 \pm 0,70 (69)	0,77 \pm 0,81 (103)	<.05
GnRH-Agonist	5,28 \pm 3,93 (141)	3,30 \pm 3,70 (97)	<.05
LH/FSH-Quotient in μ IU/ml	0,93 \pm 0,48 (192)	0,90 \pm 0,38 (191)	
AMH in μ g/l	2,20 \pm 1,98 (192)	1,99 \pm 1,98 (169)	<.05
TSH in μ IU/ml	1,87 \pm 0,98 (193)	1,92 \pm 1,87 (193)	
Testosteron in ng/ml	0,26 \pm 0,17 (190)	0,25 \pm 0,16 (190)	<.05
Prolaktin in ng/ml	16,18 \pm 7,54 (190)	15,83 \pm 7,57 (190)	
FSH in μ IU/ml	7,24 \pm 3,48 (192)	7,04 \pm 2,32 (192)	
LH in μ IU/ml	6,41 \pm 3,97 (194)	6,05 \pm 2,51 (194)	
DHEA-S in μ g/l	152,07 \pm 71,79 (191)	151,34 \pm 70,85 (192)	
Eizellenanzahl	9,12 \pm 4,05 (200)	9,89 \pm 3,96 (200)	<.05
Eizellen MI	0,85 \pm 1,17 (98)	0,99 \pm 1,33 (102)	
Eizellen MII	7,21 \pm 3,60 (197)	7,88 \pm 3,50 (200)	<.05
Für die Kultur geplante 2PN	2,11 \pm 0,37 (200)	5,18 \pm 0,95 (200)	<.05
Kryokonservierte 2PN	2,46 \pm 2,91 (108)	1,06 \pm 2,08 (53)	<.05
Kultivierte 2PN	2,03 \pm 0,49 (199)	3,96 \pm 1,40 (200)	<.05
Transferierte Embryonen	1,97 \pm 0,46 (200)	1,83 \pm 0,38 (200)	<.05
1. hCG in mU/ml	83,43 \pm 59,86 (36)	221,52 \pm 458,98 (62)	<.05
2. hCG mU/ml	1513,13 \pm 1327,49 (36)	2529,6 \pm 1915,91 (62)	<.05
Differenz zwischen Punktion und Transfer	2,35 \pm 0,48 (200)	3,93 \pm 1,18 (200)	<.05

(Transfertag)			
Differenz zwischen Transfer und Geburt (Schwangerschafts-dauer)	252,9 ± 12,78 (10)	245,56 ± 23,20 (61)	
Qualität, 1. Embryo	(200)	(198)	<.05
A	52% (104)	67,5% (135)	
B	39,5% (79)	22% (44)	
C	8,5% (17)	9,5% (19)	
Qualität, 2. Embryo	(175)	(161)	
A	27% (54)	43,5% (87)	
B	46% (92)	21% (42)	
C	12,5% (25)	16% (32)	
Qualität, 3. Embryo	(20)	(0)	<.05
A	25% (5)		
B	50% (10)		
C	25% (5)		
Blastozysten (A) und Morulastadien (C) bei Qualität enthalten.			
ART-Form (ICSI)	80% (160)	81,5% (163)	
1. US	(33)	(70)	<.05
Einling	42% (14)	71% (50)	
Zwilling	12% (4)	23% (16)	
Abort	46% (15)	6% (4)	
Schwangerschaft	16,5% (33)	35% (70)	<.05
Geburt	5% (10)	30,5% (61)	<.05
Anzahl geborener Kinder	10	75	<.05

Tabelle 4 Demografische Angaben und deskriptive Statistik unter Angabe der Anzahl der Patienten (n) für Patientinnen für die im zweiten Zyklus das DMW-Verfahren angewendet wurde. Darstellung von Mittelwerten ± Standardabweichung oder Prozentangaben, in Klammern werden absolute Häufigkeiten angegeben mit $p < .05$.

Regressionsanalysen EG1, KG2 und EG2 (DMW)

Einfluss der Embryonenqualität auf eine eingetretene Schwangerschaft

Die Berechnung einer multiplen logistischen Regression mit der Qualität (A bis C) des ersten, zweiten und dritten transferierten Embryos als Prädiktoren zur Vorhersage einer eingetretenen Schwangerschaft erfolgte ebenfalls.

In EG1 lag die Gesamtvarianzaufklärung der multiplen logistischen Regression bei $X^2(6) = 19,9$ $p < .01$. Signifikanter Prädiktor war die Qualität des zweiten Embryos ($p < .05$).

Die Gesamtvarianzaufklärung der multiplen logistischen Regression in KG2 lag bei $X^2(6) = 28,13$, $p < .01$, wobei sich als signifikante Prädiktoren die Qualität des ersten Embryos ($p < .01$) und die des zweiten Embryos ($p < .01$) erwiesen haben. Währenddessen konnte in EG2 kein signifikanter Zusammenhang dargestellt werden.

Einfluss des Ultraschall-Ergebnisses auf eine Geburt

In EG1 ($\chi^2(3)= 106,77, p<.01$), KG2 ($\chi^2(3)= 190,67,p<.01$) und EG2 ($\chi^2(3)= 178,77, p<.01$) konnte der erste Ultraschall als signifikanter Prädiktor für die Vorhersage einer Geburt bestimmt werden.

Regressionsanalysen EG2 (DMW)

Einfluss kultivierter 2PN-Stadien und des Alters der Patientinnen auf die Anzahl der generierten Blastozysten

Die Gesamtvarianzaufklärung der multiplen linearen Regression lag bei $R^2=.25$ ($F=32,67,p<.01$). Als signifikanter Prädiktor hat sich die Anzahl kultivierter 2PN-Zellen ($\beta=.49,p<.01$) erwiesen.

Einfluss der Anzahl kultivierter 2PN-Stadien auf das erste Ultraschallergebnis in der 7. SSW

In KG2 kam es insgesamt in 23% zu intakten Einlingsgraviditäten. 2,5% traten nach der Kultur von 1, 14% bei der Kultur von 2 und 6,5% bei der Kultur von 3 x 2PN- auf. Es kam außerdem zu 6,5% intakten Geminigraviditäten, die sich zu 6% auf die Kultur von 2 und zu 0,5% auf die Kultur von 3 x 2PN-Stadien verteilten.

In EG2 kam es in 24,5% der Fälle zu einer Einlingsgravidität, wobei 1% nach der Kultur von 1, 2% bei der Kultur von 2, 2,5% bei der Kultur von 3, 7,5% bei der Kultur von 4, 7% bei der Kultur von 5 und 4,5% bei der Kultur von 6 2PN-Stadien eintraten. Die Rate von 8% an Geminigraviditäten verteilte sich zu 0,5% auf die Kultur von 2, zu 6,5% auf die Kultur von 4 und zu jeweils 0,5% auf die Kultur von 5 bzw. 6 x 2PN-Stadien (**Tabelle 5**).

Gruppenvergleich KG2 gegen EG2 (DMW)

		Anzahl kultivierter 2PNER (2. Zyklus) * 1. Ultraschall (2. Zyklus)							
KG2 und EG2 (DMW)		1. Ultraschall (2. Zyklus)				Total			
			kein Ultraschall	intakt, Einling	intakt, Zwilling	Abort			
KG2	Anzahl kultivierter 2PNER	1	Count	34	5	0	0	39	
		% of Total	17,0%	2,5%	0,0%	0,0%	19,5%		
	2	Count	78	28	12	3	121		
		% of Total	39,0%	14,0%	6,0%	1,5%	60,5%		
	3	Count	26	13	1	0	40		
		% of Total	13,0%	6,5%	,5%	0,0%	20,0%		
	Total	Count	138	46	13	3	200		
		% of Total	69,0%	23,0%	6,5%	1,5%	100,0%		
	EG2 (DMW)	Anzahl kultivierter 2PNER	1	Count	7	2	0	0	9
			% of Total	3,5%	1,0%	0,0%	0,0%	4,5%	
2		Count	24	4	1	0	29		
		% of Total	12,0%	2,0%	,5%	0,0%	14,5%		
3		Count	20	5	0	0	25		
		% of Total	10,0%	2,5%	0,0%	0,0%	12,5%		
4		Count	39	15	13	2	69		
		% of Total	19,5%	7,5%	6,5%	1,0%	34,5%		
5		Count	19	14	1	0	34		
		% of Total	9,5%	7,0%	,5%	0,0%	17,0%		
6		Count	24	9	1	0	34		
		% of Total	12,0%	4,5%	,5%	0,0%	17,0%		
Total		Count	133	49	16	2	200		
		% of Total	66,5%	24,5%	8,0%	1,0%	100,0%		

Tabelle 5 Kreuztabelle. Darstellung des ersten Ultraschallergebnisses in der 7. SSW abhängig von der Anzahl der kultivierten 2PNER in KG2 und EG2 (DMW).

Diskussion

Die Einführung des DMW ist ein weiterer Schritt, trotz der restriktiven deutschen Gesetzgebung die Schwangerschaftsraten im Rahmen der ART zu erhöhen. Wir konnten darlegen, dass dieselbe Patientin vom neuen Verfahren signifikant profitieren kann. In Bezug zum vorangegangenen Therapiezyklus wurden signifikant höhere Schwangerschafts- und Geburtenraten erzielt und das, obwohl die Patientinnen signifikant älter waren und signifikant weniger Embryonen transferiert wurden. Hier zeigte sich deutlich, dass letzten Endes die Anzahl der generierten 2PN-Stadien und die Qualität der transferierten Embryonen die entscheidenden Kriterien waren.

Dadurch, dass mehr Embryonen kultiviert wurden, konnte die Anzahl der transferierten Embryonen gesenkt werden bei gleichzeitig höheren Schwangerschafts- und Geburtenraten. Dabei spielte nicht der Transfertag, sondern die Qualität der Embryonen die entscheidende Rolle. Dass die Qualität auch die entscheidende Rolle bei der kumulativen Lebendgeburtenrate im Rahmen des eSET spielt, konnte in einer anderen Arbeit ebenfalls nachgewiesen werden, wobei die Odds-Ratio bei dem Vorhandensein von ≥ 3 Top-Embryonen 2,66 betrug [31].

Eine bessere Morphologie des Trophektoderms, ein niedrigeres Patientenalter und ein möglichst gutes Entwicklungsstadium der Blastozyste haben auch in einer amerikanischen Studie die klinische Schwangerschafts- und Lebendgeburtrate am stärksten beeinflusst. Deshalb sollten in erster Linie die Morphologie des Trophektoderms und das Blastozystenstadium dazu benutzt werden, den besten Embryo für den Transfer auszuwählen. Das Blastozystenstadium war mit Lebendgeburtraten von 50% (*hatching*), 49,5% (*expanded*) und 36,7% (*early*) assoziiert [32].

Auch in einer weiteren Studie konnte nachgewiesen werden, dass das Alter und die Zahl der Topembryonen signifikant mit dem Eintreten einer klinischen Schwangerschaft nach eSET assoziiert ist. Der eSET sollte außerdem laut dieser Studie vorzugsweise an Tag 3 durchgeführt werden [33].

Es müssen Handlungsalgorithmen entwickelt werden, um den Erfolg einer DMW-Behandlung vorhersagen zu können. Die Anzahl kultivierter 2PNER hatte einen stärkeren Einfluss auf die Gewinnung von Blastozysten als das Alter. Daraus folgt, dass gerade ältere Patientinnen durch die Einführung des DMW profitieren, wenn genug Eizellen gewonnen und kultiviert werden können.

Es konnte gezeigt werden, dass die Kultur von 4 x 2PN-Stadien im Rahmen des DMW zu den höchsten Schwangerschaftsraten geführt hat. Insgesamt 14% der 32,5% erreichten Schwangerschaften gingen auf die Kultur von 4 x 2PN-Stadien zurück. 12,5% der erreichten Schwangerschaften resultierten aus der Kultur von >4 x 2PN-Stadien.

Dass die Kultur von 4 x 2PN-Stadien die höchste Schwangerschaftsrate erzielt, kann einerseits durch Patientinnen mit besserer Prognose erklärt werden. Andererseits wird dieser mögliche statistische Bias relativiert, denn in diese Gruppe fielen auch Patientinnen mit schlechterer Prognose, wenn die Anzahl an geplanten zu kultivierenden 2PN von 6 nicht erzielt werden konnte. Bei der Kultivierung von 2PN-Stadien im Sinne des DMW muss selbstverständlich immer in Betracht gezogen werden, dass überzählige Embryonen entstehen können, die dann mittels Vitrifikation einzufrieren sind. Da diese Rate möglichst gering ausfallen soll, muss nach sorgfältiger Anamnese und unter Einbezug vorheriger Stimulationen und Transfere – hier ist die Anzahl der transferierten Embryonen guter Qualität entscheidend - für jede Patientin individuell entschieden werden.

Einige Blutwerte und Medikamentengaben konnten als Prädiktoren identifiziert werden. Statistisch betrachtet war es vorteilhaft, einen möglichst hohen E₂-Wert zu erzielen bei vorab gemessenem hohem AMH-Wert und ein möglichst niedriges LH, wenn viele Eizellen generiert werden sollten.

Hohe Dosen und folglich lange Stimulationen mit Urofollitropin+Lutropin und GnRH-Antagonisten konnten als negative Prädiktoren für die Eizellanzahl bestimmt werden. Dieses Patientinnenkollektiv wies niedrige AMH-Werte und eine schlechte ovarielle Antwort auf die Stimulation auf als Begründung für die lange Dauer der Stimulation unter Nutzung des Antagonisten-Protokolls. Dass ein langes Agonistenprotokoll, welches bis 2012 den Großteil der Stimulationen ausmachte, verglichen mit dem Antagonistenprotokoll besser zur Gewinnung einer größeren Anzahl reifer Follikel im Rahmen einer kontrollierten ovariellen

Stimulation geeignet ist, konnten auch andere Arbeitsgruppen abbilden [34]. Deutlich spiegeln die Daten hinsichtlich der verwendeten FSH-Dosis den Shift vom Agonisten- zum Antagonistenprotokoll wider [35]. Außerdem konnte gezeigt werden, dass bei Anwendung des eSET höhere Implantationsraten (OR 1,36) und eine höhere Lebendgeburt rate (OR 1,33) durch GnRH-Agonisten resultierten [36]. Klinisch besteht auf Seiten des Agonistenprotokolls die Gefahr des ungebremst verlaufenden ovariellen Hyperstimulationssyndroms (OHSS), da zur finalen Eizellreifung hCG appliziert werden muss. Bei Anwendung des Antagonistenprotokolls lässt sich das Auftreten eines OHSS durch Nutzung des physiologischen LHs ausgelöst durch die Gabe eines GnRH-Agonisten stark reduzieren [37] [38]. Neben der absoluten Anzahl reifer Follikel zählen beim Vergleich von Agonisten- und Antagonistenprotokoll weitere wichtige klinische Parameter: klinische und fortlaufende Schwangerschaft, Abortrate, Lebendgeburt rate. Für diese Parameter konnten bislang keine signifikanten Unterschiede zwischen den Protokollen manifestiert werden [38].

Gleichzeitig darf nicht vergessen werden, dass nicht jede Patientin automatisch von einem Blastozysten transfer profitiert. Bisher konnte zwar nachgewiesen werden, dass es einen leicht signifikanten Vorteil hinsichtlich der Lebendgeburt rate gab, wenn an Tag 5 bis 6 ein Blastozysten transfer stattfand, gleichzeitig konnten aber bei Transfers an Tag 2 bis 3 kumulativ höhere Schwangerschaftsraten erzielt werden [39]. Dieses Resultat sei dadurch erklärbar, dass einerseits im Rahmen der klassischen ART-Zyklen mehr Kryotransfere stattgefunden haben und andererseits die Rate an abgebrochenen Behandlungen im Sinne der Absage eines Transfers geringer gewesen sei [39]. Gerade bei Patientinnen mit einer geringen ovariellen Reserve bzw. einer schlechten Prognose sollte der Einsatz des eSET kritisch betrachtet werden, da diese Patientinnen zum Teil mit einem schlechteren Behandlungsergebnis rechnen müssten [40].

Im Rahmen des eSET konnte die *American Society for Reproductive Medicine* (ASRM) bereits 2012 folgende Feststellungen machen: eSET sollte vor allem Patientinnen mit einer guten Prognose bzw. Empfängerinnen von Eizellspenden angeboten werden. IVF-Zentren sollten den eSET nur vorantreiben, wenn die Patienten angemessen informiert sind. Fortschritte im Bereich der

Embryonenselektion, z.B. durch *time-lapse* Verfahren, sollten außerdem die Anwendung des eSET erhöhen [21].

Umso wichtiger ist es, eine gut informierte und vor allem individualisierte Entscheidung zu treffen, ob die Anwendung des DMWs bei einer individuellen Patientin sinnvoll ist.

Die Datenerhebung war retrospektiv und unizentrisch, womit die Übertragbarkeit auf andere Zentren nur eingeschränkt möglich ist. Methodisch gesehen bot es einen Vorteil, den vorangegangenen Therapiezyklus einer Patientin mit dem darauffolgenden Zyklus zu vergleichen, da dadurch eine interne Kontrolle stattfinden konnte. Nichtsdestotrotz hat dieses Verfahren die Ergebnisse auch beeinflusst, da nur Patientinnen eingeschlossen wurden, die noch in mindestens einem weiteren Zyklus behandelt wurden. Patientinnen, die direkt im ersten Zyklus im Sinne des DMW behandelt wurden wobei es sofort zum Eintreten einer Schwangerschaft kam, wurden somit ausgeschlossen. Dies erklärt die extrem niedrigen Schwangerschaftsraten der Vorzyklen sowohl in der KG als auch in der EG, die dementsprechend auch nicht dem normalen Durchschnitt des DIR und auch des eigenen Zentrums entsprechen, da methodenbedingt fast ausschließlich Patientinnen eingeschlossen wurden, welche im ersten Therapiezyklus nicht schwanger geworden waren, bzw. einen Abort hatten.

Zusätzlich wurden durch das Auswahlverfahren gerade ältere Patientinnen (KG2=37, EG2/DMW=36,5 Jahre) mit vergleichsweise vielen Zyklen betrachtet (KG=3,76, EG=3,75 ART-Zyklen pro Patientin) und einem langjährig bestehendem Kinderwunsch (KW) (KG2=3,65±2,28, EG2/DMW=4,96±2,36). Zum Teil führten frühere Kinderwunschbehandlungen bereits zum Erfolg. 28,5% der Frauen in KG2 hatten bereits Kinder und 22,5% der DMW-Gruppe. In KG2 waren davon 16% auf eine erfolgreiche KW-Behandlung zurückzuführen, in der DMW-Gruppe 12,5%.

Wenn man nun damit von einem Patientinnenkollektiv ausgeht, dass vergleichsweise lange bis zum Eintreten einer Schwangerschaft gebraucht hat und stark negativ selektiert ist, sind die Schwangerschafts- und Geburtenraten in der DMW-Gruppe sehr vielversprechend und sprechen für eine höheren Erfolg der Therapie bei geänderten Vorgehen.

Die Ergebnisse konnten darlegen, dass einzelne Patientinnen von dem Verfahren profitiert haben. Die Gruppen hatten allerdings mit 61 vs. 70 Schwangerschaften (31% vs. 35% Schwangerschaftsrate) zu geringe statistische Power, um darzulegen, dass die EG signifikant im Gegensatz zur KG profitiert. Letzten Endes konnten hier nur Trends in Richtung des DMW aufgezeigt werden, was durch eine Betrachtung eines größeren Kollektivs oder der reinen Betrachtung von einzelnen Zyklen gelöst werden könnte.

Da aber in beiden Gruppen nur Zyklen betrachtet wurden, bei denen auch ein Embryotransfer stattfand, sind gerade unsere Ergebnisse hinsichtlich der Zielparame-ter (Qualität der Embryonen, Schwangerschaftsrate usw.) sehr konstant.

Dass die Rate an Mehrlingsschwangerschaften durch den DMW sinkt, konnten wir aufgrund eines zu kleinen Patientinnenkollektivs nicht darstellen.

Bereits 2006 wurde in einer niederländischen Studie suggeriert, dass eSET möglichst bei allen Patienten angewendet werden sollte, um Mehrlingsschwangerschaften zu verhindern. Damals fand sich allerdings die Schwangerschaftsrate gleichzeitig halbiert [41].

Inzwischen konnte bewiesen werden, dass gerade Patientinnen, die älter als 35 Jahre sind und eine Behandlung im Sinne des eSET und erweiterter Embryonenselektion im Sinne eines genetischen Screenings vor Embryotransfer bekommen, signifikant seltener mit Mehrlingen schwanger wurden (6,8 versus 21%) und es gleichzeitig zu einer signifikant höheren Lebendgeburt- rate pro Embryotransfer (17 versus 10,6%) kam. Allerdings war es für diese Studie nötig, eine erweiterte Politik hinsichtlich der Embryonenselektion, ein optimiertes Kultursystem, Kryokonservierung und ein Aneuploidie-Screening an Blastozysten mit Analyse von 24 Chromosomen einzusetzen [42].

Dass Mehrlingsschwangerschaften durch eSET im Gegensatz zum *double embryo transfer* (DET) mit einer Rate von 35% Mehrlingsschwangerschaften deutlich reduziert werden können, konnte inzwischen auch dargestellt werden [43].

Auch andere Arbeitsgruppen konnten die Sinnhaftigkeit des eSET durch Risikominimierung bei gleichbleibenden Erfolgen der IVF-Behandlung darlegen [44].

Doch was ist zu tun, wenn die Patienten trotz des Risikos einer Mehrlingsschwangerschaft auf den Transfer mehrerer Embryonen bestehen, um die Chance auf eine Schwangerschaft innerhalb eines Behandlungsversuches zu erhöhen bzw. sich bewusst für die Geburt von Zwillingen entscheiden? Die Patienten sollten durch das Konzept des *shared-decision-making* dazu befähigt werden, eine autonome Entscheidung treffen zu können. Dazu sollten sie möglichst gut über die Risiken einer Mehrlingsschwangerschaft und die finanzielle Mehrbelastung aufgeklärt werden [45].

Im Laufe der Behandlung ändere sich aber auch die Einstellung der Patienten im Bezug auf eine Zwillingsschwangerschaft. Die Präferenz werde in der Regel angepasst. Während bereits schwangere Patienten eher das präferieren, was sie erwarten (Einling oder Zwilling), präferieren Patienten vor dem Embryotransfer zu einem höheren Prozentsatz eine Zwillingsschwangerschaft, um ihren Kinderwunsch möglichst bald zu erfüllen [46]. Hier zeigt sich, dass eine ausführliche Beratung von hoher Wichtigkeit ist.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass der DMW die Schwangerschaftswahrscheinlichkeit erhöht. Die ursprüngliche Intention, bei verbesserten Schwangerschaftsraten auch das Mehrlingsrisiko mit den damit verbundenen gesundheitlichen, persönlichen und finanziellen Implikationen zu verringern, lässt sich aber nur umsetzen, wenn die Anzahl der transferierten Embryonen weiter reduziert wird.

Nordeuropa, Australien und Japan sind immer stärker darum bemüht, den eSET dauerhaft zu etablieren, um die hohen Rate an Mehrlingsschwangerschaften zu reduzieren, bei gleichzeitig weiterhin hohen Schwangerschaftsraten. Länder wie Schweden, Finnland und Belgien haben gezeigt, dass die Rate an Mehrlingsschwangerschaften auf unter 10% reduziert werden kann bei ansonsten tendenziell gleichbleibenden Raten an Mehrlingen von ~20% in vielen europäischen Ländern [47, 48] In Schweden sind Reproduktionsmediziner dazu verpflichtet, nur einen Embryo zu transferieren,

wenn nicht außergewöhnliche Umstände vorliegen. In Belgien muss der erste Zyklus einer unter 36-Jährigen Patientin ein eSET sein. In Finnland gibt es bisher keine gesetzlichen Maßgaben [22].

In Deutschland gilt weiterhin, dass keine routinemäßige Vorratshaltung an Embryonen beabsichtigt stattfinden soll.

Durch die Anwendung des DMW hätten nun auch deutsche Reproduktionsmediziner die Möglichkeit, höhere Schwangerschaftsraten bei reduziertem Mehrlingsrisiko zu erzielen, doch lässt sich dies nur umsetzen, wenn dabei in Kauf genommen wird, überzählige entwicklungsfähige Embryonen einzufrieren. Initial wird mit der Intention gehandelt, der Patientin nach eingehender, individueller Aufklärung und Zustimmung einen entwicklungsfähigen Embryo unter Berücksichtigung der Erfahrungen aus vorherigen ART-Zyklen zu transferieren. Da sich die Qualität der in der Stimulation herangereiften Eizellen durchaus von Zyklus zu Zyklus unterscheiden kann, muss die Patientin über die Notwendigkeit des Einfrierens entwicklungsfähiger Embryonen aufgeklärt sein, falls sich die für die Kultur avisierte Anzahl zur Übertragung eines entwicklungsfähigen Embryos als zu hoch erweisen sollte.

Das ESchG von 1990 ist auch in diesem Punkt dringend reformationsbedürftig. Da nur der Gesetzgeber die Möglichkeit hat, diese elementaren Fragen am Beginn des menschlichen Lebens zu regeln, sollte ein dem Stand der medizinischen Forschung und Wissenschaft entsprechendes Fortpflanzungsmedizinengesetz, das nicht als Mediator für die unbegrenzte Embryonenkultur und -vorratshaltung angesehen werden darf, dringend auf den Weg gebracht werden.

Schlussfolgerung

Der DMW ist eine gute Möglichkeit, gerade bei Patientinnen mit einer ausreichenden ovariellen Reserve die Schwangerschaftsrate zu erhöhen. Er sollte dann in Betracht gezogen werden, wenn genügend Eizellen generiert werden können, da Patientinnen signifikant von dem Transfer weniger Embryonen mit möglichst hoher Qualität profitieren.

Interessenkonflikt

Die Autoren erklären, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Danksagung

Wir bedanken uns bei .05 Statistikberatung - Diplom-Psychologen Hoffmann Ostapczuk Ullrich Partnerschaftsgesellschaft, Düsseldorf, für die statistische Analyse und Hilfestellung.

1. Snick HK, Snick TS, Evers JL et al. The spontaneous pregnancy prognosis in untreated subfertile couples: the Walcheren primary care study. *Hum Reprod* 1997; 12: 1582-1588
2. Diedrich K, Strowitzki T, Kentenich H. Stand der Reproduktionsmedizin in Deutschland. *Geburtsh Frauenheilk* 2010; 70: 355-360
3. Bundesministerium der Justiz. Gesetz zum Schutz von Embryonen (Embryonenschutzgesetz - ESchG). Embryonenschutzgesetz vom 13. Dezember 1990 (BGBl. I S. 2746), das zuletzt durch Artikel 1 des Gesetzes vom 21. November 2011 (BGBl. I S. 2228) geändert worden ist
4. Bals-Pratsch M DR, Frommel M. Wandel in der Implementation des Deutschen Embryonenschutzgesetzes. *JRE* 2010; 7: 87-95
5. Frommel M. Deutscher Mittelweg in Anwendung des Embryonenschutzgesetzes (ESchG) mit einer an den aktuellen wissenschaftlichen Kenntnisstand orientierten Auslegung der für die Reproduktionsmedizin zentralen Vorschrift des § 1, Abs. 1, Nr. 5 ESchG. *J Reproduktionsmed Endokrinol* 2007; 4: 27-33
6. Cupisti S, Muller A, Hildebrandt T et al. Culture of Individually Required Number of 2-Pronuclei-Stage Oocytes - Patient Participation in Decision-Making is in Accordance with the Aim of Avoiding Surplus Embryo Freezing. *Geburtshilfe Frauenheilkd* 2014; 74: 157-160
7. Das Jahrbuch des Deutschen IVF-Registers 2013. *J Reproduktionsmed Endokrinol* 2014; 11: 6 - 51
8. Niinimäki M, Veleva Z, Martikainen H. Embryo quality is the main factor affecting cumulative live birth rate after elective single embryo transfer in fresh stimulation cycles. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2015; 194: 131-135
9. Thompson SM, Onwubalili N, Brown K et al. Blastocyst expansion score and trophectoderm morphology strongly predict successful clinical pregnancy and live birth following elective single embryo blastocyst transfer (eSET): a national study. *J Assist Reprod Genet* 2013; 30: 1577-1581
10. Sifer C, Sermondade N, Poncelet C et al. Biological predictive criteria for clinical pregnancy after elective single embryo transfer. *Fertil Steril* 2011; 95: 427-430
11. Shrestha D, La X, Feng HL. Comparison of different stimulation protocols used in in vitro fertilization: a review. *Ann Transl Med* 2015; 3: 137

12. Das Jahrbuch des Deutschen IVF-Registers 2011. *J Reproduktionsmed Endokrinol* 2012; 9 (6): 453-484
13. Grow D, Kawwass JF, Kulkarni AD et al. GnRH agonist and GnRH antagonist protocols: comparison of outcomes among good-prognosis patients using national surveillance data. *Reprod Biomed Online* 2014; 29: 299-304
14. Devroey P PN, Blockeel C. An OHSS-Free Clinic by segmentation of IVF treatment. *Hum Reprod* 2011; 26: 2593-2597
15. Al-Inany HG YM, Aboulghar M, Broekmans FJ, Sterrenburg MD, Smit JG, Abou-Setta AM. Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted reproductive technology (Review) *The Cochrane Library* 2011
16. Glujovsky D, Blake D, Farquhar C et al. Cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in assisted reproductive technology. *Cochrane Database Syst Rev* 2012; 7: CD002118
17. Gleicher N, Kushnir VA, Barad DH. Is it time for a paradigm shift in understanding embryo selection? *Reprod Biol Endocrinol* 2015; 13: 3
18. Practice Committee of Society for Assisted Reproductive T, Practice Committee of American Society for Reproductive M. Elective single-embryo transfer. *Fertil Steril* 2012; 97: 835-842
19. van Montfoort AP, Fiddellers AA, Janssen JM et al. In unselected patients, elective single embryo transfer prevents all multiples, but results in significantly lower pregnancy rates compared with double embryo transfer: a randomized controlled trial. *Hum Reprod* 2006; 21: 338-343
20. Ubaldi FM, Capalbo A, Colamaria S et al. Reduction of multiple pregnancies in the advanced maternal age population after implementation of an elective single embryo transfer policy coupled with enhanced embryo selection: pre- and post-intervention study. *Hum Reprod* 2015, DOI: 10.1093/humrep/dev159
21. Prados N, Quiroga R, Caligara C et al. Elective single versus double embryo transfer: live birth outcome and patient acceptance in a prospective randomised trial. *Reprod Fertil Dev* 2014, DOI: 10.1071/RD13412
22. Ismail L, Mittal M, Kalu E. IVF twins: buy one get one free? *J Fam Plann Reprod Health Care* 2012; 38: 252-257
23. Ezugwu E, der Burg SV. Debating Elective Single Embryo Transfer after in vitro Fertilization: A Plea for a Context-Sensitive Approach. *Ann Med Health Sci Res* 2015; 5: 1-7
24. Fiddellers AA, Nieman FH, Dumoulin JC et al. During IVF treatment patient preference shifts from singletons towards twins but only a few patients show an actual reversal of preference. *Hum Reprod* 2011; 26: 2092-2100
25. Kupka MS, Ferraretti AP, de Mouzon J et al. Assisted reproductive technology in Europe, 2010: results generated from European registers by ESHREdagger. *Hum Reprod* 2014; 29: 2099-2113
26. Kupka MS, D'Hooghe T, Ferraretti AP et al. Assisted reproductive technology in Europe, 2011: results generated from European registers by ESHREdagger. *Hum Reprod* 2016; 31: 233-248
27. Harbottle S, Hughes C, Cutting R et al. Elective Single Embryo Transfer: an update to UK Best Practice Guidelines. *Hum Fertil (Camb)* 2015; 18: 165-183

4. Diskussion

4.1 Der lange Weg zum Wunschkind

Psychische Belastung durch erfolglose Behandlungsversuche?

Dass der Weg zum Wunschkind beschwerlich sein und lange dauern kann, ist unumstritten. Mit jedem erfolglosen Behandlungszyklus steigt die Frustration, die psychische Belastung insbesondere der Frau und nicht zuletzt die finanzielle Belastung der behandelten Paare. Andere Faktoren, wie das steigende Alter und die damit verbundene Erschöpfung der ovariellen Reserve spielen außerdem eine entscheidende Rolle, wenn es um den Behandlungserfolg geht. Mehr Zyklen steigern selbstverständlich die kumulative Erfolgswahrscheinlichkeit, doch fordern sie auch ihren körperlichen, seelischen und monetären Preis.

Studien konnten belegen, dass Paare die Diagnose Infertilität als schlimmste Erfahrung ihres Lebens beschrieben und es entweder als anstrengend oder als extrem anstrengend empfanden [49, 50]. Zusätzlich konnte beschrieben werden, dass die psychiatrische Morbidität signifikant mit der Anzahl der Behandlungen und dem weiblichen Geschlecht in der gesamten Studienpopulation, genauso wie mit dem Typ und der Länge der Infertilität in der Referenzgruppe, assoziiert war. Die Anzahl der Behandlungszyklen war signifikant höher bei den Patientinnen, die psychosomatische Behandlungen in Anspruch nahmen [50].

In einer anderen Studie zeigten infertile Frauen eine Zunahme in den Eigenschaften Angst und Depressivität im Vergleich mit fertilen Frauen. Angst und Depression waren bei den Frauen, deren IVFs erfolglos blieben, signifikant stärker ausgeprägt als bei den erfolgreich behandelten Frauen. Außerdem zeichnete sich ein Trend hinsichtlich der Zunahme des psychologischen Stresses mit der Dauer der Behandlung ab. Zudem konnte gerade in der Anfangsphase die stärkste Symptomatik auf der Depressionsskala nachgewiesen werden [51].

Die Studien sind sich also weitestgehend einig, dass Infertilität bei Frauen eine

schwere Krise hervorruft und zum Teil emotional gleichzusetzen ist mit dem Tod eines nahen Angehörigen oder der Diagnose einer schweren Krankheit. Außerdem nimmt der durch viele erfolglose Behandlungen induzierte Stress einen hohen Stellenwert ein und im Verlauf immer weiter zu. Dabei darf nicht der Fehler begangen werden, diesen Stress als Ursache für die Infertilität zu werten und gerade bei fehlendem organischen Korrelat für die Infertilität die Diagnose „psychisch bedingte Fertilitätsstörung“ zu stellen. Ein derartige Diagnose wird den emotionalen Druck auf die behandelten Paare nur noch verstärken [10].

Durch einen verstärkten Einsatz des *Mittelweges* kann die Schwangerschaftsrate bei einer guten Eizellreserve der Patientin sehr gut gesteigert werden, dies führt über eine Reduktion der Zyklen auch zu einer Reduktion der psychischen Belastung der Patientinnen. Durch eine gute Aufklärung gerade am Anfang der Behandlung, könnten weitere Ängste genommen und Stress gemindert werden.

4.2 Die informierte Patientin

Ein gut informiertes Paar, ein gutes Vertrauensverhältnis zum Reproduktionsmediziner und eine geteilte Entscheidungsfindung ist besonders wichtig. Die folgenden Faktoren müssen besondere Beachtung finden, vor allem wenn es um die Festlegung des optimalen Handlungsalgorithmus für das jeweilige Paar geht.

Viele Patientinnen fragen bewusst nach dem DMW bzw. nach der Blastozystenkultur, eventuell bestehen sie sogar auf diesem Verfahren. Doch nicht bei allen ist das Verfahren anzuraten. Hier muss eine genaue Aufklärung erfolgen, ob in Anbetracht der individuellen Faktoren genug Eizellen gewonnen und lang genug kultiviert werden können. Gerade bei älteren Patientinnen mag die Eizellreserve dafür nicht mehr ausreichend sein.

Falls man sich mit dem Paar für den *Mittelweg* entschieden hat und genug Eizellen generiert werden konnten, erfolgt die Weiterkultivierung der gewünschten Anzahl (im UniKiD max. 6) von 2PNern. Die restlichen 2PNer

werden der Kryokonservierung zugeführt. Falls in diesem Rahmen max. 2 Embryonen erzeugt werden, wird die Patientin darüber informiert, dass bessere Erfolgsaussichten bestehen, wenn diese auch frühzeitig zurückgegeben werden. Bei mehr als 2 Embryonen erfolgt die weitere Kultur. Nicht entwicklungsfähige Embryonalstadien können schlussendlich verworfen werden, eventuell entstehende überzählige Embryonen können vitrifiziert werden und 1 bzw. max. 2 Embryonen können übertragen werden [15].

Die Möglichkeit, überzählige Embryonen zu erzeugen, muss mit dem Paar ausführlich erörtert werden. Auch in einem späteren Kryo-Zyklus können die Patientinnen gute Schwangerschaftsraten erzielen.

In Anbetracht des Alters der Patientin und um Mehrlingsschwangerschaften zu verhindern, sollte gerade jüngeren Patientinnen der Transfer von nur einem Embryo angeraten werden. Zwar werden die Schwangerschaftsraten durch den Transfer nur eines Embryos etwas gemindert, dies geschieht jedoch zugunsten der Reduktion des Mehrlingsrisikos, da gerade jüngere Frauen ein höheres Risiko haben, dass sich zwei Embryonen implantieren.

Beim Mittelweg handelt es sich um eine liberale Auslegung des ESchGs. Das Risiko liegt dabei auf Seiten des behandelnden Mediziners, der bisher nur mit Duldung seiner jeweiligen Ärztekammer und einer juristischen Beratung handelt. Auch darüber sollten die Paare informiert sein.

4.3 Das Patientinnenkollektiv

Da einige Patientinnenkollektive stärker vom DMW profitieren dürften als andere, lohnt es sich, dieses Kollektiv vor allem hinsichtlich der bisher formulierten Handlungsalgorithmen näher zu betrachten.

Wie in unserer Studie beschrieben, handelt es sich um zwei Studiengruppen KG (Kontrollgruppe) und EG (Experimentalgruppe), unterteilt in jeweils zwei Behandlungszyklen pro Gruppe (KG1 und KG2, EG1 und EG2). Der jeweils erste Zyklus jeder Gruppe bildet das Standardverfahren ab, der zweite Zyklus

der KG entspricht ebenfalls dem Standardverfahren, der zweite Zyklus der EG entspricht dem DMW-Verfahren (EG2=DMW).

Zusätzlich zu den in der Veröffentlichung dargestellten Parametern, wurden weitere Daten erfasst, die aufgrund zu geringer Fallzahlen nicht in die statistische Auswertung eingegangen sind ($n < 30$), die dargestellten Prozentangaben beziehen sich immer auf die Grundgesamtheit einer Gruppe mit $n=200$.

Die folgenden Tabellen geben Auskunft über die Vorbehandlungen der Patientinnen, den andrologischen Status des Partners, vorausgegangene Aborte, Abrasionen oder Geburten, Medikamentengaben und die Eizellqualität inklusive des Z-Scorings nach Scott.

4.3.1 Hohes Alter und lang gehegter Kinderwunsch

Dieses Patientinnenkollektiv war im gesamtdeutschen Vergleich nicht nur überdurchschnittlich alt (durchschnittliches Alter 35,17 Jahre zwischen 1997 und 2014 in Deutschland) mit 36,45 Jahren in der DMW-Gruppe, sondern hegte auch seit langer Zeit einen Kinderwunsch. Die DMW-Patientinnen hatten durchschnittlich seit 4,96 Jahren einen Kinderwunsch (**Tabelle 6**), im Vergleich dazu erhielten die Patientinnen in Deutschland im Jahr 2010/2011 nach 3,7 Jahren ihre erste Kinderwunschbehandlung. Somit handelte es sich um ein Patientinnenkollektiv, das nicht oder lange erfolglos behandelt wurde [1]. In Anbetracht dieses Sachverhaltes konnten gute Schwangerschaftsraten, sowohl in KG2, als auch in EG2 erzielt werden. Zusätzliche Nebenergebnisse der Patientinnen sind in **Tabelle 7** aufgeführt.

Kinderwunschdauer in Jahren

	KG1	KG2	EG1	EG2 (DMW)
Kinderwunsch (Jahre)	3,83 ±2,32	4,68 ±2,40	3,65 ±2,28	4,96 ±2,36
Bereits geb. Kinder				
insgesamt	24%	28,5%	17,5%	22,5%
durch ART	11,5%	16%	6,5%	12,5%
Z.n. Abort	28,5%	36%	27,5%	38,5%
Z.n. Abrasio	18%	22,5%	17%	21%
TESE	2,5%	2,5%	6,5%	6,5%
PKD	5,5%	7%	2%	5%

Tabelle 6 Der Kinderwunsch ist in Mittelwerten ± Standardabweichung dargestellt, die restlichen Werte sind in Prozent angegeben (n=200).

Nebenbefunde der Patientinnen

Nebenbefunde	KG	EG
Z.n. Zystektomie	3%	10%
Z.n. EUG	3,5%	2,5%
Z.n. Konisation	4%	5%
Thrombophilie	10%	4%
Uterusanomalien	6%	4,5%

Tabelle 7 In erster Anamnese erhobene Nebenbefunde der Patientinnen in Prozent (n=200).

4.3.2 Der Faktor „Mann“

In der EG hatten insgesamt 78% der Männer ein eingeschränktes Spermogramm, unter einer Azoospermie litten 6%. Genauere Informationen bezüglich der Andrologie liefert **Tabelle 8**. Zu 81,5% wurde in der DMW-Gruppe eine ICSI durchgeführt. Damit war die Spermogrammqualität deutlich häufiger eingeschränkt im Vergleich zu den Ergebnissen des D.I.R. 2014 zeigten 55,5% der behandelten Männer ein eingeschränktes Spermogramm und nur knapp 4% eine Azoospermie im Rahmen einer ICSI [1].

Spermiogramm der Männer

Spermiogramm	KG	EG (DMW)
Normozoospermie	9 %	15,5 %
Kryptozoospermie	1 %	0,5 %
Oligozoospermie	1,5 %	1 %
Asthenozoospermie	3,5 %	7 %
Teratozoospermie	3 %	0,5 %
Asthenoteratozoospermie	29,5 %	20,5 %
OAT-Syndrom	51 %	48,5 %
Azoospermie	1,5 %	6 %

Tabelle 8 Ergebnisse der Spermiogramme in Prozent (n=200).

4.3.3 Antagonistenprotokoll

Hinsichtlich der Protokollart unterschieden sich KG2 und EG2 deutlich, in KG2 erhielten 35,5% ein Antagonistenprotokoll, während es 52% in EG2 waren. Nicht nur die hiesige Arbeitsgruppe, sondern auch andere Arbeitsgruppen konnten darlegen, dass ein langes Agonistenprotokoll besser geeignet ist als das Antagonistenprotokoll, um eine größere Anzahl an Follikeln zu generieren. Trotz eines stärkeren Einsatzes des Antagonistenprotokolls konnten durch den DMW höhere Schwangerschafts- und Geburtenraten erzielt werden [24, 34, 36].

Tabelle 9 stellt den Einsatz der unterschiedlichen Behandlungsprotokolle in den Gruppen dar, **Tabelle 10** stellt zusätzliche Medikamentengaben dar.

Agonisten- und Antagonistenprotokolle

Protokollart	KG1	KG2	EG1	EG2 (DMW)
Agonist, kurz	26,5%	25,5%	24%	25%
Agonist, lang	48,5%	39%	46%	23%
Antagonist	25%	35,5%	30%	52%

Tabelle 9 Darstellung der Protokollart in Prozent (n=200).

Zusätzliche Medikamentengaben

Medikation	KG1	KG2	EG1	EG2 (DMW)
Zusätzliche Kontrazeption	40%	31,5%	35%	17%
Antikoagulation	12%	17%	8%	11%
Schilddrüsenhormon-Substitution	30%	31,5%	21,5%	23,5%

Tabelle 10 Darstellung der zusätzlich zu den Medikamenten der Stimulation verordneten Medikamente in Prozent (n=200).

4.3.4 Beurteilung des Entwicklungspotenzials

Während die wichtigste Einflussfaktoren für das Eintreten einer Schwangerschaft in dieser Arbeit die Anzahl der generierten 2PN-Zellen und die Qualität der transferierten Embryonen waren [24], spielt auf dem Weg dorthin auch das Z-Scoring nach Scott eine Rolle, wobei das Entwicklungspotential der Oozyte beurteilt wird. Die Z-Scores unserer Patientinnen sind in **Tabelle 11** dargestellt und werden aufgrund von morphologischen Kriterien der Oozyten hinsichtlich der Symmetrie der Vorkerne und der darin befindlichen Nukleoli vergeben.

Ein Z1-Score wird bei der gleichen Anzahl (3-7), Größe und Polarisierung der Nukleoli in den Vorkernen vergeben, während ein Z2-Score dieselben Kriterien aufweist, allerdings die Nukleoli nicht polarisieren. Bei einem Z3-Score handelt es sich um entweder eine unterschiedliche Anzahl und/oder nicht-polarisierende Nukleoli in den Vorkernen und bei einem Z4-Scoring sind die Vorkerne entweder unterschiedlich groß oder nicht aneinander gelagert.

Da die Nukleoli dynamisch sind, handelt es sich allerdings um eine Momentaufnahme und heutzutage gilt dieses Scoring-System eher als veraltet [52].

Z-Scores der Patientinnen

	KG1	KG2	EG1	EG2 (DMW)
Eizellen				
defekt	29,5%	27%	28%	31%
Germinalvesikel	34%	29,5%	29,3%	28,5%
nachgereift	3%	2,5%	6,5%	9%
Z-Scoring nach Scott				
Z1				
1	31,5%	34,5%	33%	37,5%
2	27%	27%	31,5%	19,5%
3	1%	3%	1,5%	0,5%
Z2				
1	27%	28%	30%	36,5%
2	6,5%	8,5%	9%	12,5%
3	1%	0	1,5%	0
Z3				
1	25,5%	23%	23,5%	28%
2	13%	9,5%	6,5%	6,5%
3	1%	0,5%	0,5%	0,5%
Z4				
1	8%	4,5%	2,5%	3%
2	0	0	0	0
3	0	0	0	0

Tabelle 11 Darstellung des Z-Scorings nach Scott bei unserem Patientinnenkollektiv in Prozent (n=200).

Sinnvoller erscheint die Beurteilung der Embryonen tageweise unter Beobachtung der Teilungen. **Tabelle 12** stellt die absoluten Häufigkeiten der unterschiedlichen Qualitäten der Eizellen bzw. Embryonen dar. Dabei wird ersichtlich, dass nicht nur auf Ebene des Embryos die Qualität beurteilt wurde, sondern bereits viel früher eine Auswahl stattfand, die immer durch die Anzahl der kultivierten 2PN-Stadien beschränkt ist. Dadurch wird ersichtlich, dass eine

größere Anzahl an kultivierten 2PNern schon zu einem früheren Zeitpunkt den Grundstein für ein Gelingen des DMW legt.

Absolute Häufigkeit der Qualitäten von Eizellen und Embryonen

	KG2	EG2 (DMW)	p-Wert
Eizellanzahl	7,6 ± 4,36 (200)	9,89 ± 3,96 (200)	< 0.05
MII	5,84 ± 3,59 (200)	7,88 ± 3,50 (200)	< 0.05
Kultivierte 2PN	2,01 ± 0,63 (200)	3,96 ± 1,40 (200)	< 0.05
Qualität, 1. Embryo	(200)	(198)	< 0.05
A	48% (96)	67,5% (135)	
B	43% (86)	22% (44)	
C	9% (18)	9,5% (19)	
Qualität, 2. Embryo	(156)	(161)	< 0.05
A	32,5% (64)	43,5% (87)	
B	34,5% (69)	21% (42)	
C	11,5% (23)	16% (32)	
Qualität, 3. Embryo	(33)	(0)	< 0.05
A	4% (8)		
B	9% (18)		
C	3,5% (7)		

Tabelle 12 Darstellung von Mittelwerten ± Standardabweichung (n=200) oder Prozentangaben (n=200), in Klammern werden absolute Häufigkeiten angegeben, bei der Berechnung der Mittelwerten wurde n=200 zugrunde gelegt. Modifiziert und ergänzt [24].

4.3.5 Mehrlinge

Obwohl in EG2 signifikant weniger Embryonen transferiert wurden, zeigte sich eine minimal höhere Rate an Mehrlingsschwangerschaften. In KG2 kam es in 6,5% der Fälle zu einer Geminigravidität, in EG2 in 8% der Fälle. Um das Risiko der Mehrlingsschwangerschaften mit den daraus resultierenden gesundheitlichen Risiken (geringeres Geburtsgewicht, geringere Geburtsgröße,

höherer Anteil an Sectiones, höherer Anteil an Neugeborenen mit Intensivpflichtigkeit) zu reduzieren, muss folglich eine weitere Reduktion der Anzahl der transferierten Embryonen stattfinden, obwohl in der DMW-Gruppe bereits signifikant weniger Embryonen transferiert wurden (KG2 $1,96 \pm 0,62$, EG2 $1,83 \pm 0,38$, $p < .05$). [24].

4.4 state of the art: Embryokultur

Eine aktuelle Einordnung des DMWs im nationalen und im internationalen Vergleich erscheint erforderlich, da er immer häufiger in Deutschland angewendet wird und der Grundgedanke dem des SET im Ausland entspricht. SET hat im Ausland einen immer höheren Stellenwert und geht mittlerweile auch in die Gesetzgebung der jeweiligen Länder ein. Der Gedanke, dass ein ähnliches Verfahren durch die Gesetzgebung anderer Länder gefördert und durch die deutsche Gesetzgebung eher eingeschränkt wird, sollte diskutiert werden.

Die Anwendung des DMW erreicht mittlerweile immer mehr IVF-Zentren in Deutschland. Während Bayern und Baden-Württemberg einst Vorreiter auf diesem Gebiet waren, folgen nun die Reproduktionsmediziner in immer mehr Bundesländer, wobei offensichtlich durch die jeweiligen Landesärztekammern keine berufsrechtlichen Bedenken gegen die Anwendung des DMW bestehen. Da die Blastozystenkultur immer stärker verbreitet ist, hat sie mittlerweile auch Einzug in die Datenerhebung des D.I.R gefunden, dort erstmals 2014. Dementsprechend werden seit 2013 Zyklen mit 5-6tägiger Kultur von einer 2-3tägigen Kultur unterschieden. 2013 wurden in Deutschland im Rahmen von frischen ART-Zyklen zu 74% Transfers an Tag 2-3 und zu 26% Transfers an Tag 5-6 bzw. Tag 4-5 durchgeführt. 2014 stieg der Anteil der verlängerten Kultur nur unwesentlich auf 28% an [1].

Unter dem Gesichtspunkt der Anwendung des DMW sollte bei diesen Zahlen eine gewisse Ungenauigkeit beachtet werden, da die Trennschärfe zwischen den beiden Verfahren nicht immer gegeben ist. Allerdings gilt allgemein, dass der DMW zwar eine Auswahl von entwicklungsfähigen Embryonen impliziert,

aber nicht zwangsläufig die Blastozysten-Kultur. Bei Anwendung des DMW kommt es einerseits auch zu Transfers an Tag 2-3, da die Anzahl oder Qualität der Embryonen ein längeres Zuwarten nicht sinnvoll erscheinen lässt, andererseits entspricht die Anzahl der kultivierten Embryonen auch manchmal genau der Anzahl der transferierten Embryonen, da nicht mehr Eizellen generiert werden konnten. Allgemein gilt, dass eine Blastozystenkultur natürlich nur dann sinnvoll ist, wenn mehr Eizellen kultiviert werden können als letzten Endes Embryonen transferiert werden sollen, um über die verlängerte Kultur Embryonen mit Entwicklungspotential identifizieren zu können.

Diese Ungenauigkeit in der Trennschärfe der Verfahren ist auch in dieser Datenerhebung nicht ausgeblieben, allerdings in anderer Art. In dieser Arbeit war die Zuordnung unabhängig von der tatsächlichen Kulturdauer und dafür abhängig davon, ob die Anwendung des DMW geplant war oder nicht. Durchschnittlich konnten in der DMW-Gruppe $3,96 \pm 1,40$ 2PN-Stadien kultiviert werden und sie wurden im Mittel an Tag $3,93 \pm 1,18$ transferiert, was bisher sehr guten Ergebnissen entspricht, wenn bedacht wird, dass auch Patientinnen eingeschlossen wurden, bei denen der DMW geplant, aber *de facto* aufgrund einer zu geringen Eizellanzahl nicht durchgeführt werden konnte [24].

Ein Vorteil dieser Studie ist, dass ein unselektiertes Patientinnenkollektiv betrachtet wird und die Studie auf diese Weise eher die Behandlungsrealität abbildet. Ein Nachteil ist, dass dadurch der eigentliche Behandlungserfolg durch den DMW zu gering eingeschätzt werden könnte.

Hinsichtlich der Kulturdauer ist in Deutschland inzwischen eine Tendenz zur längeren Kultur zu beobachten, hinsichtlich der Anzahl der transferierten Embryonen ist allerdings noch keine wirkliche Veränderung hinsichtlich einer Reduktion der transferierten Embryonen sichtbar. Dementsprechend muss hier auch eher von der Blastozystenkultur als vom *Mittelweg* die Rede sein, wenn dieser im Rahmen des eSET beschrieben wird.

Die Schwangerschaftsrate pro Transfer konnte so erhöht werden, tendenziell konnte allerdings auch gezeigt werden, dass eine längere Kultur eher zu einer höheren Mehrlingsrate geführt hat, solange weiterhin mehr als ein Embryo transferiert wurde. Sowohl in frischen, als auch in Zyklen mit zuvor

kryokonservierten Eizellen, kam es, wie es in **Abb. 6** ersichtlich ist, zu deutlich höheren Schwangerschaftsraten [1].

Zahl der transferierten Embryonen und Schwangerschaftsrate



Abb. 6 Graphische Darstellung der durchschnittlichen Anzahl der transferierten Embryonen, klinische Schwangerschaftsrate pro Embryotransfer (ET) in Prozent und Mehrlingsrate jeweils für ART-Zyklen mit frischen oder zuvor kryokonservierten Eizellen [1].

Wie in der Einleitung bereits erwähnt, kann nur eine Reduktion der transferierten Embryonen zu niedrigeren Mehrlingsraten führen, während die verlängerte Kultur allein ohne Reduktion tendenziell eher zu höheren Raten an Mehrlingsschwangerschaften führt [1, 16].

In dieser Arbeit konnte die Anzahl der transferierten Embryonen signifikant gesenkt werden und zwar von durchschnittlich $1,96 \pm 0,62$ transferierter Embryonen in der Standardgruppe (KG2) auf $1,83 \pm 0,38$ Embryonen in der DMW-Gruppe (EG2). Zu signifikant weniger Mehrlingsschwangerschaften kam es dadurch allerdings nicht, was sich durch die relativ geringe Stichprobenanzahl erklären lässt. Nur 0,5% der Patientinnen in KG1, 6,5% in KG2, 2,5% in EG1 und 8% in EG2=DMW gebaren Zwillinge [24].

4.5 Der Mittelweg als Wegbereiter des SET

Weiterhin im Raum steht die Frage nach der internationalen Einordnung des deutschen ESchGs. Während der Großteil der westlichen Länder Gesetze verfasst hat, um (e)SET dauerhaft in der Reproduktionsmedizin zu etablieren, wirkt das deutsche ESchG veraltet.

Der Gedanke, eine Vorratsbefruchtung zu verhindern, sollte nicht über dem Gedanken stehen, gesundheitliche Risiken für Kinderwunschpatientinnen und ihre Kinder zu mindern. Dass Mehrlingsschwangerschaften im Rahmen von künstlichen Befruchtungen erhebliche Risiken mit sich bringen und dass die Zahl möglichst effektiv verringert werden muss, ist medizinisch konsentiert.

Was steckt hinter dem Gedanken der Vorratsbefruchtung? Wollte der Gesetzgeber eine Vorratsbefruchtung verhindern, damit nicht unzählige Embryonen erzeugt werden, die nicht transferiert werden, da es moralisch und ethisch nicht vertretbar ist, da es sich um entwicklungsfähige menschliche Embryonen handelt? Oder wollte der Gesetzgeber durch das Verbot der Vorratsbefruchtung verhindern, dass ein Pool von entwicklungsfähigen Embryonen erzeugt wird, die eventuell zu Forschungszwecken genutzt werden könnten?

Im Rahmen des *Mittelweges* wird lediglich im Sinne des Patientenwohls versucht, möglichst gute Schwangerschaftsraten bei einer gleichzeitigen Reduktion des Mehrlingsrisikos zu erzielen. Um eine Art der Vorratsbefruchtung handelt es sich dabei nicht und bisher scheint dies der einzige Weg zu sein, ausländischen Kollegen zumindest teilweise nachfolgen zu können. Beim DMW handelt es sich also wortwörtlich um den bisher einzigen mittleren Weg, der wie das Wort impliziert einen Kompromiss darstellt.

Das deutsche ESchG bedarf insgesamt einer Novellierung. Dass entwicklungsfähige Embryonen geschützt werden müssen, da es sich um entstehendes Leben handelt, steht außer Frage. Nichtsdestotrotz sollte über den Eingang des SET in das ESchG diskutiert werden, da deutsche Patienten im internationalen Vergleich im Bereich der Reproduktionsmedizin nicht benachteiligt sein sollten. Zu Zeiten der demographischen Krise, zu Zeiten von freien, gebildeten, arbeitenden und selbstbestimmten Frauen, die heutzutage ihren Kinderwunsch immer später umsetzen, sollte es im Sinne der Gesellschaft und damit im Sinne des Gesetzgebers sein, dass Kinderwunschkliniken nicht zugunsten von guten Schwangerschaftsraten gesundheitliche Risiken für Mütter und Kinder in Kauf nehmen müssen. Stattdessen sollte das ESchG novelliert werden, da der Stellenwert und der

Bedarf an reproduktionsmedizinischen Behandlungen in den nächsten Jahren sicher nicht abnehmen wird.

Der DMW stellt somit den Wegbereiter des SET da, findet inzwischen auch immer häufiger Anwendung, ist allerdings ohne Novellierung des ESchG derart stark eingeschränkt, dass er dem SET, wie er in anderen europäischen Ländern durchgeführt wird, niemals in Gänze nachfolgen können wird.

5. Schlussfolgerungen

Der DMW kann zu höheren Schwangerschaftsraten führen und das Mehrlingsrisiko bei adäquater Anwendung verringern.

Ebenfalls kann durch Anwendung des DMW eine höhere Schwangerschaftsrate und weniger Mehrlinge erreicht werden und die monetäre, körperliche und seelische Belastung der behandelten Paare vermindern.

Um den DMW zu optimieren, bedarf es Handlungsalgorithmen im Sinne von einer Optimierung der medikamentösen Therapie und einer Optimierung der Auswahl der Patientinnen, da nicht alle gleich stark von ihm profitieren.

Da der Missbrauch des DMWs im Sinne des Gesetzgebers verhindert werden soll, bedarf es Handlungsalgorithmen, damit die Intention einer Vorratsbefruchtung ausgeschlossen werden kann.

Wenn der DMW in die klinische Routine übernommen wird, bedarf es minimal der flächendeckenden Rechtssicherheit des Verfahrens, maximal bedarf es des Eingangs des DMWs oder SETs in die deutsche Gesetzgebung.

Bei eindeutiger internationaler Studienlage sollte die Diskussion angeregt werden, den DMW bzw. SET nicht nur zu erlauben, sondern eventuell auch zu fördern bzw. in maximaler Ausprägung verpflichtend für ein gewisses Patientenkollektiv zu machen.

Mit wachsender Inanspruchnahme von Kinderwunschkliniken werden Verfahren wie der DMW einen immer größeren Stellenwert in der Gesellschaft einnehmen.

6. Literatur- und Quellenverzeichnis

1. *Das Jahrbuch des Deutschen IVF-Registers 2014.* J Reproduktionsmed Endokrinol, 2015. **12 (1)**: p. 6-55.
2. Pöttsch, O., J. Weinmann, and T. Haustein, *Geburtstrends und Familiensituation in Deutschland 2012.* Statistisches Bundesamt, 2013: p. 4 - 73.
3. Wippermann, C., *Kinderlose Frauen und Männer. Ungewollte und gewollte Kinderlosigkeit im Lebenslauf und Nutzung von Unterstützungsangeboten.* 2014: Berlin: Bundesministerium für Familie, Senioren, Frauen und Jugend - Referat Öffentlichkeitsarbeit.
4. Sütterlin, S. and I. Hoßmann, *Ungewollt kinderlos - Was kann die moderne Medizin gegen den Kindermangel in Deutschland tun?* Berlin-Institut für Bevölkerung und Entwicklung, 2007.
5. Gnoth, C., *Natürliche Fertilität eines Paares und epidemiologische Aspekte der Subfertilität.* Bundesgesundheitsbl, 2013. **56**: p. 1633-1641.
6. Keck, C., *Kinderwunschbehandlung in der gynäkologischen Praxis.* 2014: Georg Thieme Verlag KG. 23-345.
7. Steptoe, P.C. and R.G. Edwards, *Birth after the reimplantation of a human embryo.* Lancet, 1978. **2(8085)**: p. 366.
8. Diedrich, K., *Gynäkologie und Geburtshilfe.* 2007: Springer Medizin Verlag. 3-620.
9. Breckwoldt, M., M. Kaufmann, and A. Pfeleiderer, *Gynäkologie und Geburtshilfe.* 2007: Georg Thieme Verlag KG. 1-516.
10. Diedrich, K., M. Ludwig, and G. Griesinger, *Reproduktionsmedizin.* 2012: Springer Medizin
11. Armstrong, S., et al., *Time-lapse in the IVF-lab: how should we assess potential benefit?* Hum Reprod, 2015. **30(1)**: p. 3-8.
12. Racowsky, C., P. Kovacs, and W.P. Martins, *A critical appraisal of time-lapse imaging for embryo selection: where are we and where do we need to go?* Assist Reprod Genet, 2015. **32(7)**: p. 1025-30.
13. *Gesetz zum Schutz von Embryonen (Embryonenschutzgesetz - ESchG).* Embryonenschutzgesetz vom 13. Dezember 1990 (BGBl. I S. 2746), das zuletzt durch Artikel 1 des Gesetzes vom 21. November 2011 (BGBl. I S. 2228) geändert worden ist: Bundesministerium der Justiz.
14. Hardarson, T., L. Van Landuyt, and G. Jones, *The blastocyst.* Hum Reprod, 2012. **27(No. S1)**: p. pp. i72-i91.
15. Frommel, M., *Deutscher Mittelweg in Anwendung des Embryonenschutzgesetzes (ESchG) mit einer an den aktuellen wissenschaftlichen Kenntnisstand orientierten Auslegung der für die Reproduktionsmedizin zentralen Vorschrift des § 1, Abs. 1, Nr. 5 ESchG.* J Reproduktionsmed Endokrinol, 2007. **4(1)**: p. 27-33.
16. Coetsier, T. and M. Dhont, *Avoiding multiple pregnancies in in-vitro-fertilisation: who's afraid of single embryo transfer? .* Hum Reprod, 1998. **13**: p. 2663-4.

17. Pandian, Z., et al., *Number of embryos for transfer following in-vitro fertilisation or intra-cytoplasmic sperm injection*. Cochrane Database Syst Rev, 2009. **CD003416**.
18. Gelbaya, T.A., I. Tsoumpou, and L.G. Nardo, *The likelihood of live birth and multiple birth after single versus double embryo transfer at the cleavage stage: a systematic review and meta-analysis*. Fertil Steril, 2010. **94**(3): p. 936-45.
19. McLernon, D., et al., *Clinical effectiveness of elective single versus double embryo transfer: meta-analysis of individual patient data from randomised trials*. BMJ, 2010. **341**(c6945).
20. Gardner, D., et al., *Single blastocyst transfer: a prospective clinical trial*. Fertil Steril, 2004. **81**: p. 551-5.
21. Practice Committee of Society for Assisted Reproductive, T. and M. Practice Committee of American Society for Reproductive, *Elective single-embryo transfer*. Fertil Steril, 2012. **97**(4): p. 835-42.
22. Harbottle, S., et al., *Elective Single Embryo Transfer: an update to UK Best Practice Guidelines*. Hum Fertil (Camb), 2015. **18**(3): p. 165-183.
23. Kallen, B., et al., *Trends in delivery and neonatal outcome after in vitro Fertilisation in Sweden: data for 25 years*. Hum Reprod, 2010. **25**: p. 1026-1034.
24. Kliebisch, T.K., et al., *The German Middleway as Precursor for Single Embryo Transfer. A Retrospective Data-analysis of the Dusseldorf University Hospital's Interdisciplinary Fertility Centre - UniKiD*. Geburtsh Frauenheilk, 2016. **76**(6): p. 690-698.
25. Snick, H.K., et al., *The spontaneous pregnancy prognosis in untreated subfertile couples: the Walcheren primary care study*. Hum Reprod, 1997. **12**(7): p. 1582-8.
26. Diedrich, K., T. Strowitzki, and H. Kentenich, *Stand der Reproduktionsmedizin in Deutschland*. Geburtsh Frauenheilk, 2010. **70**: p. 355-360.
27. *Gesetz zum Schutz von Embryonen (Embryonenschutzgesetz - ESchG)*. 1990.
28. Bals-Pratsch M, D.R., Frommel M, *Wandel in der Implementation des Deutschen Embryonenschutzgesetzes*. JRE 2010. **7**(2): p. 87-95.
29. Cupisti, S., et al., *Culture of Individually Required Number of 2-Pronuclei-Stage Oocytes - Patient Participation in Decision-Making is in Accordance with the Aim of Avoiding Surplus Embryo Freezing*. Geburtshilfe Frauenheilkd, 2014. **74**(2): p. 157-160.
30. *Das Jahrbuch des Deutschen IVF-Registers 2013*. J Reproduktionsmed Endokrinol, 2014. **11**(Sonderheft 1): p. 6 - 51.
31. Niinimaki, M., Z. Veleva, and H. Martikainen, *Embryo quality is the main factor affecting cumulative live birth rate after elective single embryo transfer in fresh stimulation cycles*. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2015. **194**: p. 131-135.
32. Thompson, S.M., et al., *Blastocyst expansion score and trophectoderm morphology strongly predict successful clinical pregnancy and live birth following elective single embryo blastocyst transfer (eSET): a national study*. J Assist Reprod Genet, 2013. **30**(12): p. 1577-81.
33. Sifer, C., et al., *Biological predictive criteria for clinical pregnancy after elective single embryo transfer*. Fertil Steril, 2011. **95**(1): p. 427-30.

34. Shrestha, D., X. La, and H.L. Feng, *Comparison of different stimulation protocols used in in vitro fertilization: a review*. *Ann Transl Med*, 2015. **3**(10): p. 137.
35. *Das Jahrbuch des Deutschen IVF-Registers 2011*. *J Reproduktionsmed Endokrinol*, 2012. **9** (6): p. 453-84.
36. Grow, D., et al., *GnRH agonist and GnRH antagonist protocols: comparison of outcomes among good-prognosis patients using national surveillance data*. *Reprod Biomed Online*, 2014. **29**(3): p. 299-304.
37. Devroey P, P.N., Blockeel C, *An OHSS-Free Clinic by segmentation of IVF treatment*. *Hum Reprod*, 2011. **26**(10): p. 2593-2597.
38. Al-Inany HG, Y.M., Aboulghar M, Broekmans FJ, Sterrenburg MD, Smit JG, Abou-Setta AM, *Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted reproductive technology (Review)* *The Cochrane Library*, 2011(5).
39. Glujovsky, D., et al., *Cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in assisted reproductive technology*. *Cochrane Database Syst Rev*, 2012. **7**: p. CD002118.
40. Gleicher, N., V.A. Kushnir, and D.H. Barad, *Is it time for a paradigm shift in understanding embryo selection?* *Reprod Biol Endocrinol*, 2015. **13**: p. 3.
41. van Montfoort, A.P., et al., *In unselected patients, elective single embryo transfer prevents all multiples, but results in significantly lower pregnancy rates compared with double embryo transfer: a randomized controlled trial*. *Hum Reprod*, 2006. **21**(2): p. 338-43.
42. Ubaldi, F.M., et al., *Reduction of multiple pregnancies in the advanced maternal age population after implementation of an elective single embryo transfer policy coupled with enhanced embryo selection: pre- and post-intervention study*. *Hum Reprod*, 2015.
43. Prados, N., et al., *Elective single versus double embryo transfer: live birth outcome and patient acceptance in a prospective randomised trial*. *Reprod Fertil Dev*, 2014.
44. Ismail, L., M. Mittal, and E. Kalu, *IVF twins: buy one get one free?* *J Fam Plann Reprod Health Care*, 2012. **38**(4): p. 252-7.
45. Ezugwu, E. and S.V. der Burg, *Debating Elective Single Embryo Transfer after in vitro Fertilization: A Plea for a Context-Sensitive Approach*. *Ann Med Health Sci Res*, 2015. **5**(1): p. 1-7.
46. Fiddlers, A.A., et al., *During IVF treatment patient preference shifts from singletons towards twins but only a few patients show an actual reversal of preference*. *Hum Reprod*, 2011. **26**(8): p. 2092-100.
47. Kupka, M.S., et al., *Assisted reproductive technology in Europe, 2010: results generated from European registers by ESHREdagger*. *Hum Reprod*, 2014. **29**(10): p. 2099-113.
48. Kupka, M.S., et al., *Assisted reproductive technology in Europe, 2011: results generated from European registers by ESHREdagger*. *Hum Reprod*, 2016. **31**(2): p. 233-48.
49. Freeman, E.W., et al., *Emotional and psychosocial factors in follow-up of women after IVF-ET treatment. A pilot investigation*. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 1987. **66**(6): p. 517-21.
50. Guerra, D., et al., *Psychiatric morbidity in couples attending a fertility service*. *Hum Reprod*, 1998. **13**(6): p. 1733-6.

51. Kee, B.S., B.J. Jung, and S.H. Lee, *A study on psychological strain in IVF patients*. J Assist Reprod Genet, 2000. **17**(8): p. 445-8.
52. Greuner, M., et al., *Charakterisierung des morphologischen Entwicklungspotenzials von der Oozyte bis zum Embryo*. J Reproduktionsmed Endokrinol, 2012. **9**(1): p. 13-19.

7. Anhang

Danksagung

Hiermit möchte ich mich bei Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Jan-Steffen Krüssel, Frau Univ.-Prof. Dr. med. Alexandra Bielfeld und Frau Dr. rer. nat. Dunja Baston-Büst für die Vergabe des interessanten Themas und die wunderbare Betreuung bedanken, außerdem bei Frau Dr. rer. nat. Sarah Pour für die moralische Unterstützung und dafür, dass sie mich stets im Labor willkommen hieß.

Herrn Bernd Graudejus und Herrn Esa Pasanen möchte ich für die jahrelange Betreuung meines Hundes danken, ohne die ich nie so entspannt hätte lernen und arbeiten können.

Außerdem möchte ich mich bei meinen Eltern, Beata und Dieter Kliebisch, und meiner Schwester Eva bedanken, die mich immer bedingungslos unterstützt haben.

Diese Arbeit widme ich meinem geliebten Ehemann John David Haase.

Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere an Eides statt, dass die Dissertation selbstständig und ohne unzulässige fremde Hilfe erstellt worden ist und die hier vorgelegte Dissertation nicht von einer anderen Medizinischen Fakultät abgelehnt worden ist.

Monheim am Rhein, den 01.09.2017

Tizia Karina Haase