

Klinik für Urologie und Kinderurologie der Universität Ulm

(Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. Richard Hautmann)

**Einflussfaktoren von Seiten des Mannes
auf den Erfolg einer in-vitro-Fertilisation
mit intracytoplasmatischer Spermieninjektion (ICSI)**

**Dissertation
zur Erlangung des
Doktorgrades der Medizin
der Medizinischen Fakultät der
Universität Ulm**

vorgelegt von

Katja Dorn

aus

Bad Waldsee

2007

Amtierender Dekan: Prof. Dr. Klaus-Michael Debatin

1. Berichterstatter: PD Dr. Björn Volkmer

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Thomas Paiss

Tag der Promotion: 26.Oktober 2007

Inhaltsverzeichnis:

Seite

Abkürzungsverzeichnis

1. Einleitung und Fragestellung **1**

1.1	Häufigkeit und Verteilung der Infertilität	1
1.2	Männliche Sub- bzw. Infertilität	1
1.3	Assistierte Fertilisierung	3
1.4	Kryokonservierung in der Fertilitätsklinik	8
1.5	Fragestellung	9

2. Material und Methodik **10**

2.1	Untersuchungskollektiv	10
2.2	ICSI-Behandlung	11
2.3	Datenerfassung und Statistik	17

3. Ergebnisse **18**

3.1	Patientenkollektiv	18
3.2	Vergleich der Ergebnisse der Gruppen	23
3.3	Einfluss der Risikofaktoren und Voroperationen auf die Punktionsergebnisse	25

3.4	Auswirkung des Nativpräparates und der Histologie auf die Zahl der befruchteten Eizellen und die daraus entstehende Schwangerschaftsrate	31
3.5	Befruchtete Eizellen und Schwangerschaftsraten bei Patienten mit MESA (Vergleich zur TESE-Nativ mit >15 Spermien)	34
3.6	Einfluss verschiedener Risikofaktoren des Mannes auf die Befruchtungsrate	36
<u>4. Diskussion</u>		41
4.1	Allgemeines	41
4.2.1	Vergleich der einzeitigen und zweizeitigen Gruppe	42
4.2.2	Auswirkungen der Vorselektion der Patienten in die ein- und zweizeitige Gruppe	42
4.2.3	Kryokonservierung des MESA- und TESE-Materials	43
4.3	Einfluss präoperativer Parameter auf das Befruchtungsergebnis	45
4.4	Befruchtete Eizellen und Schwangerschaftsraten bei Patienten mit TESE	48
4.5	Befruchtete Eizellen und Schwangerschaftsraten bei Patienten mit MESA	52
4.6	Einfluss verschiedener Risikofaktoren des Mannes auf die Befruchtungsrate	55
4.7	Ausblick	60
<u>5. Zusammenfassung</u>		61
<u>6. Literaturangaben</u>		63

Abkürzungsverzeichnis:

CBAVD	kongenitale bilaterale Aplasie des Vas deferens
EZ	einzeitig
FSH	Follikelstimulierungshormon
GnRH	Gonadotropin Releasing Hormon
HMG	humanes Pausen Gonadotropin
Hoden-PE	Probeexcision aus dem Hoden
ICSI	intracytoplasmatische Spermieninjektion
IVF	in-vitro-fertilisation
LH	Luteinisierungshormon
MESA	mikrochirurgische epididymale Spermienaspiration
OAT	Oligoasthenoteratozoospermie
OP	Operation
o.B.	ohne Befund
PE	Probeexcision
PESA	perkutane epididymale Spermienaspiration
PZD	partielle Zonadissektion
SUZI	subzonale Spermieninjektion
TESE	testikuläre Spermienextraktion
WHO	World Health Organisation
ZZ	zweizeitig

1. Einleitung und Fragestellung

1.1 Häufigkeit und Verteilung der Infertilität

In einer Partnerschaft wird laut WHO von einer Infertilität gesprochen, wenn nach 24 Monaten ungeschütztem Geschlechtsverkehr keine Konzeption eintritt. In den Industrieländern wird davon ausgegangen, dass zwischen 8 und 17 % aller Partnerschaften ungewollt kinderlos bleiben, speziell in Deutschland spricht man von 15 bis 20 % (13).

Die Ursachen einer sterilen Partnerschaft liegen, je nach Literatur, in 30-50% der Fälle bei der Frau, in 30-50% beim Mann, bei bis zu 30% kann es an beiden Partnern liegen und in 10-15% bleiben sie ungeklärt.

1.2 Männliche Sub- bzw. Infertilität

Die Subfertilität oder Infertilität des Mannes kann unterschiedlicher Ätiologie sein. Bei der Abklärung hat die Untersuchung des Ejakulates eine zentrale Bedeutung. Um eine Vergleichbarkeit der Analysen zu gewährleisten, wurde von der WHO eine Empfehlung zur Standardisierung der Untersuchungstechnik und der Analysenbeschreibung erlassen (Tabelle 1-3).

Die Standardisierung der Analyse beginnt bereits mit der Instruktion des Patienten bezüglich der einzuhaltenden Karenzzeit von 2-7 Tagen (6). Das Ejakulat soll in sterilen Gefäßen durch Masturbation gewonnen und unmittelbar danach untersucht werden.

Tabelle 1: Normozoospermie nach WHO (1994)

Volumen	>2,0 ml
pH-Wert	=7,2-7,8
Spermakonzentration	>2x10 ⁶ /ml
Gesamtpermienzahl	>4x10 ⁶ /ml
Motilität	>50% mit Vorwärtsbeweglichkeit >25% mit schneller linearer Beweglichkeit
Morphologie	>30% normal geformte Spermien

Legende: WHO = Weltgesundheitsorganisation

Tabelle 2: Beschreibende Terminologie der Ejakulatbefunde entsprechend WHO-Richtlinien (1994)

Normozoospermie	Normale Ejakulatbefunde
Oligozoospermie	< 20 Mio. Spermatozoen/ml
Asthenozoospermie	< 50% Spermatozoen mit progressiver Beweglichkeit
Teratozoospermie	< 30% Spermatozoen mit normaler Morphologie
Oligoasthenoteratozoospermie (OAT)	Kombination aller 3 oben genannten Defekten
Azoospermie	Keine Spermatozoen im Ejakulat
Parvisemie	Ejakulatvolumen < 2 ml
Aspermie	Kein Ejakulat

Legende: WHO = Weltgesundheitsorganisation

Tabelle 3: Gradeinteilung der Oligoasthenoteratozoospermie (OAT) (13)

Parameter	OAT Grad I	OAT Grad II	OAT Grad III
Konzentration Mio/ml	< 20-1	< 10-5	< 5
Motilität (%)	< 50-30	< 30-20	< 20-0
Morphologie (%)	< 30	< 10	< 10

Legende: OAT = Oligoasthenoteratozoospermie

Die Ursachen der steigenden männlichen Infertilität sind bis heute noch nicht sicher erklärbar, es lassen sich bei 30% der Patienten keine sicheren Infertilitätsfaktoren identifizieren (53) (Tabelle 4). Diskutiert werden schädliche Umwelteinflüsse, vor allem hohe Belastungen an Schadstoffen, aber auch veränderte Lebensgewohnheiten (13, 90). Zu den Schadstoffen zählen hauptsächlich Nikotin, Alkohol, Drogen, Medikamente (z.B. Hormonpräparate, Neuroleptika, H2-Blocker, Diuretika...), Schwermetalle (z.B. Blei, Quecksilber, Kupfer), organische Lösungsmittel, Insektizide und Pestizide.

Bekanntere Störungen der männlichen Fertilität können zentral, genetisch, entzündlich, immunologisch, neurogen, funktionell, psychisch, durch Fehlbildungen oder auch tumorbedingt sein (14).

Tabelle 4: Ursachen der männlichen Subfertilität

Idiopathische Subfertilität	1,7 %
Varikozele	16,6 %
Infektionen (subklinisch)	9,0 %
Hypogonadismus	8,9 %
Lageanomalie der Testes	8,5 %
Störungen der Samendeposition	5,8 %
Allgemeine Erkrankungen	5,0 %
Immunologische Faktoren	4,2 %
Hodentumoren	2,3 %
Obstruktionen	1,5 %
Rest	6,6 %

1.3 Assistierte Fertilisierung

1.3.1 Geschichtlicher Überblick

Die assistierte Fertilisierung ist in der Medizin ein relativ junges Teilgebiet. Zwar wurden schon 1880 erste Versuche der in-vitro-Fertilisation an Tieriezellen unternommen (63), doch scheiterten diese Experimente an den geringen Kenntnissen des richtigen Mediummilieus (16). In den 30er Jahren wurden zahlreiche Experimente an menschlichen Eizellen durchgeführt. Es kam sogar zur Befruchtung einiger Eizellen, die aber nie transferiert wurden. (14). 1959 wurde in den USA erstmals über die erfolgreiche Geburt nach in-vitro-Fertilisation (IVF) mit Embryotransfer bei Hasen berichtet (Chang 1959).

Seit dieser Zeit wurden in vielen Ländern intensiv geforscht und experimentiert, bis 1978 mit der Geburt des ersten Kindes nach erfolgreicher in-vitro-Fertilisation (IVF) und anschließendem Embryonttransfer eine neue Ära der Reproduktionsmedizin begann (80)

Mit der Methode der in-vitro-Fertilisation konnte jedoch lange Zeit nur die weibliche Sterilität behandelt werden. Schwere morphologische und funktionelle Störungen der Spermatozoen galten als nicht therapierbar, da bei der konventionellen IVF das Spermium „selbständig“ in die Eizelle eindringen muß. Das Durchdringen der Zona pellucida ist jedoch für motilitätseingeschränkte Spermien nahezu unmöglich. Ebenso wird die sogenannte immunologische Sterilität, bei der die Spermaantikörper das Eindringen des Spermatozoons in die Eizelle verhindert, für den Misserfolg der konventionellen IVF

verantwortlich gemacht. Diese Paare mussten entweder auf Spendersperma zurückgreifen oder ihr Kinderwunsch blieb unerfüllt.

Erst nach der Entwicklung verschiedener mikromanipulatorischer Techniken an Eizellen, um die Barriere „Zona pellucida“ zu überwinden (55), konnte Patienten mit hochgradigen Fertilitätseinschränkungen geholfen werden.

1.3.2 Mikromanipulatorische Techniken

Partielle Zonadisektion (PZD): die Zona pellucida der Oozyte wird in einem begrenzten Areal mechanisch oder mittels Laser eröffnet, so daß den Spermatozoen mit eingeschränkter Qualität die Fusion mit dem Oolema und die Fertilisierung der Eizelle erleichtert werden. Die Struktur der Eizellen wird nicht beeinträchtigt und das Spermium nicht direkt manipuliert (41). Die PZD hat sich zur Erleichterung der Spermienpenetration nicht bewährt, da die Schwangerschaftsrate bei nur 5 % lag (36).

Subzonale Spermieninjektion (SUZI): es werden mittels einer Mikropipette 5-20 motile Spermien unter die Zona pellucida in den perivitellinen Raum injiziert. Dadurch wird ein direkter Kontakt zum Oolema hergestellt, der Weg durch die Zona pellucida entfällt und die Fertilisation wird erleichtert (42). Auch hier waren die Fertilisationsraten relativ niedrig und lagen bei nur 16 % (21)

Intracytoplasmatische Spermieninjektion (ICSI) (Abbildung 1): bei dieser Methode werden die letzten Barrieren zum Zytoplasma durchbrochen, indem das Spermatozoon direkt in das Zytoplasma der Eizelle injiziert wird. Dies ist die invasivste, aber mit einer Befruchtungsrate von bis zu 60 % die weitaus erfolgreichste Methode.(59)

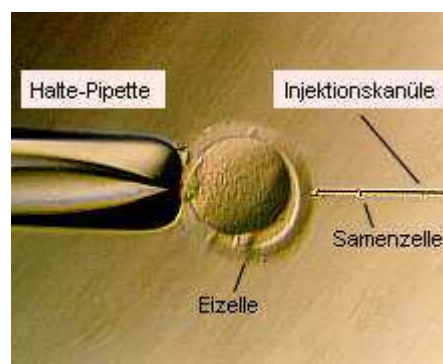


Abbildung 1: Mikroskopischer Befund bei der intracytoplasmatischen Spermieninjektion

1.3.3 Indikationen für die ICSI

Die ICSI empfiehlt sich besonders bei hochgradigen andrologischen Fertilitätseinschränkungen. Besonders bei schwerer Teratozoospermie mit normaler Spermatozoenmorphologie unter 5% sowie bei Oligoasthenoteratozoospermiesyndrom Grad III ist der Erfolg mit der normalen IVF sehr gering, laut einer Studie von Alpüstün et al (1993) liegt die Schwangerschaftsrate dort bei 5,1% (1).

Desweiteren wird das Indikationsspektrum für die ICSI erweitert durch die immunologische Sterilität, sowie die Fälle erfolgloser klassischer IVF-Therapie trotz Gewinnung reifer Oozyten. Außerdem sollte bei schweren akrosomalen Funktionsstörungen eine ICSI diskutiert werden.

1.3.4 Operative Spermengewinnung (MESA und TESE)

Bei Patienten mit Azoospermie oder schwerer Kryptozoospermie, aber auch bei Aspermie ist die operative Spermengewinnung oft unvermeidlich (Tabelle 5).

Tabelle 5: Indikation zur MESA und TESE im Rahmen der ICSI: Ursachen nichtobstruktiver und obstruktiver Azoospermie:

-	Vasektomie
-	Kongenitale bilaterale Aplasie des Vas deferens (CBAVD)
-	Inoperable Obstruktion
-	Epididymis- bzw. Duktusaplasie
-	Refertilisierungsversager
-	Kombination mit Vasovasotomie (Kryokonservierung)
-	Bilaterale Läsion des Ductus deferens
-	Kryptorchismus (wenn nicht rechtzeitig behandelt)
-	Spermatozele
-	Genetische Faktoren (z.B. Klinefelter-Syndrom, 47 XXY)
-	Postentzündliche Veränderungen (z.B. Mumpsorchitis, Epididymitis, Prostatavesikulitis)
-	Idiopathische Faktoren (z.B. Sertolli-cell-only-Syndrom, spermatogenetischer Arrest)
-	Immunologische Faktoren
-	Iatrogene Faktoren (Chemotherapeutika, ionisierende Strahlen)
-	Exogenen Faktoren (Wärme, Umweltfaktoren)
-	Medikamentös nicht therapierbare Ejakulationsstörungen

Legende: ICSI = intracytoplasmatische Spermieninjektion

MESA = Mikrochirurgische Epididymale Spermienaspiration

TESE = Testikuläre Spermienaspiration

Bei der MESA (Mikrochirurgische Epididymale Spermienaspiration) wird unter dem OP-Mikroskop gezielt ein Nebenhodenkanälchen eröffnet und die austretende Flüssigkeit aspiriert. Im Rahmen der TESE (Testikuläre Spermienextraktion) wird an verschiedenen Stellen die Tunica albuginea eröffnet und Hodengewebe zur enzymatischen Aufarbeitung entnommen, falls im Nebenhoden keine Spermien gefunden werden (11, 72).

Über die Technik der MESA wurde erstmals 1985 von Temple-Smith et al. berichtet. Die ersten erfolgreichen Schwangerschaften konnten 1987 im Rahmen der klassischen IVF erzielt werden, allerdings betrug die Schwangerschaftserfolgsrate lediglich 1,1% (72). Nach Einführung der ICSI konnten die Fertilisierungs- und Schwangerschaftsraten nach MESA signifikant auf 57 bzw. 32 % gesteigert werden (14, 18).

Eine weitere wertvolle Alternative zur Spermengewinnung für alle Indikationen stellt die TESE dar. Devroy et al (9) berichtete 1994 über eine Fertilisationsrate von 45 % nach ICSI durch TESE.

Nicht nur mit ausgereiften Spermien lässt sich die TESE/ICSI mit Erfolg durchführen. Antinori berichtete 1997 über erfolgreiche ICSI mit runden Spermatozoen. Die Schwangerschaftsrate betrug 10 % (3).

MESA/TESE und ICSI können am selben Tag stattfinden (einzeitig), oder nach Kryokonservierung der Spermien zeitlich unabhängig voneinander (zweizeitig).

1.3.5 Vorhersagewerte einer erfolgreichen operativen Spermengewinnung

Bei etwa 25-30 % der MESA/TESE-Patienten ist es nicht möglich, Spermien zu extrahieren. Leider konnten bisher keine eindeutigen Parameter gefunden werden, die eine erfolgreiche Spermengewinnung voraussagen könnten (51).

Es wird kontrovers diskutiert, welche Vorhersagewerte ein erhöhtes FSH im Serum oder ein geringeres Hodenvolumen haben. Ebenso gibt es Für und Wider für eine diagnostische Hodenbiopsie.

Im Lehrbuch für Andrologie von Nieschlag wird der FSH-Wert im Serum als „Spiegel der Spermatogenese“ angesehen, der die Hodenbiopsie ersetzen soll. Auch Foresta (22) beschreibt 1995 in seiner Studie einen Zusammenhang von FSH, Hodenvolumen und Histologie. Doch weder in der Studie von Devroey et al., 1995 (11), noch in der von Kahraman et al. 1996 (34) konnten diese Aussagen über den FSH-Wert bestätigt werden. Es bestanden zwar bei einigen Patienten erhöhte FSH-Werte, bei denen keine Spermien gefunden wurden, doch gab es ebenso viele, bei denen der FSH-Spiegel im Normbereich lag und keine Spermien zu finden waren. Das selbe Ergebnis gab es in Bezug auf das Hodenvolumen, so dass in diesen Studien weder ein erhöhter FSH-Spiegel, noch ein geringes Hodenvolumen ein Vorhersagewert über das Vorhandensein von Spermien ist (34).

Der Vorhersagewert der Hodenbiopsie ist ebenfalls kein sicherer Faktor, da in vielen Fällen ein mosaikartiger Untergang des Hodenparenchyms zu verzeichnen ist mit dem Nebeneinander von nahezu normaler Spermiogenese und einem Sertoli-cell-only-Syndrom (46). Deshalb erscheint eine singuläre Biopsie nicht aussagekräftig genug.

Die Vorhersagekraft der einzelnen Parameter ist relativ gering, so dass es sehr schwierig ist, ein bestimmtes Patientengut von der assistierten Fertilisierung auszugrenzen.

1.4 Kryokonservierung in der Fertilitätsklinik

1.4.1 Indikation zur Kryokonservierung von Spermien

Schon in der Mitte des 19. Jahrhunderts wurden die ersten Samenbanken für die Rinderzucht eingerichtet. Gleichzeitig erwog man, die Ejakulate von Soldaten einzufrieren, um in ihrem Todesfall die Möglichkeit der Befruchtung ihrer Frauen zu erhalten (14).

Heute wird die Kryokonservierung von Humansperma und Hodengewebe zur Anlage einer Zeugungsreserve verwendet. Insbesondere, wenn sich Patienten einem fertilitätsreduzierendem Eingriff, wie z.B. bei malignen Erkrankungen oder einer Vasektomie unterziehen.

1.4.2 Technik der Kryokonservierung

1.4.2.1 Kryokonservierung von Spermien

Zuerst werden die Spermien präpariert. Das heißt, es werden motile von immotilen oder toten Spermien getrennt, um nach dem Auftauen der Spermienproben eine ausreichende Anzahl motiler Samenzellen zur Verfügung zu haben. Es wurden mehrere Verfahren entwickelt, unter anderem die heute gebräuchlichste Swim-up-Technik. Perez-Sanchez et al konnten 1994 zeigen, dass dies zur Verbesserung der Ejakulatqualität nach dem Wiederauftauen führt (36).

Die Kryokonservierung erfolgt nach einem definierten Einfrierprotokoll. Ein Gemisch aus der Samenprobe und dem kryoprotektiven Medium wird stufenweise auf eine Temperatur von -196°C abgekühlt. Anschließend werden die Proben in flüssigem Stickstoff gelagert. Durch den Einfriervorgang werden die Samenzellen extremen Temperaturveränderungen ausgesetzt, was zu Schädigungen der Spermienmorphologie und -funktion führt (50). Deshalb wurden schützende Kryoprotektiva entwickelt, die den Ionenfluss der Zelle beeinflussen, und somit die Eiskristallbildung hemmen (50). Auch das Stufenschema des Einfriervorgangs soll die Schädigung der Spermien verhindern. Trotzdem lässt sich die Spermienqualität durch die Kryokonservierung nicht vollständig erhalten. Die Spermienmotilität ist nach dem Einfrieren um ca. 60-70 % vermindert (35), so dass die Wahrscheinlichkeit eines Schwangerschaftseintrittes durch Insemination des Kryospermas deutlich reduziert ist. In diesen Fällen kann zur ICSI-Behandlung geraten werden.

1.4.2.2 Kryokonservierung von Hodengewebe

Um den Patienten mehrere Eingriffe am Hoden zu ersparen, sollte beim ersten Behandlungszyklus keine Schwangerschaft eingetreten sein, besteht auch mit TESE-Material die Möglichkeit der Kryokonservierung. Des Weiteren kann der Partnerin des Patienten eine unnötige Stimulation erspart bleiben, sollten keine Spermien zu finden sein. Auch bei der Kryokonservierung von TESE-Material gibt es Protokolle über Aufarbeitung, Medium und Einfriergeschwindigkeit. Doch trotz intensiver Forschung der letzten Jahre gibt es noch kein ideales Protokoll um die Spermienqualität voll zu erhalten. (46). Das größte Problem in der Kryokonservierung des TESE-Materials besteht darin, dass die meist ohnehin eingeschränkte Spermienanzahl und –motilität noch stärker reduziert wird. Somit besteht die Gefahr, nach dem Auftauvorgang keine motilen Spermien zu finden. Da eine Färbung der Spermien zur Selektion der unbeweglichen von den bereits toten Spermien in Deutschland nicht erlaubt ist, hängt die Erfolgsrate der assistierten Fertilisierung von der Anzahl noch motiler Spermien ab.

1.5 Fragestellung

Vorzug des einzeitigen Vorgehens (MESA/TESE und ICSI) ist die Hypothese der besseren Spermienqualität durch Vermeidung der Schäden und Spermienverluste durch die Kryokonservierung. Dies soll besonders bei Patienten mit mehreren Risikofaktoren für eine schlechte Spermienqualität die Befruchtungswahrscheinlichkeit erhöhen. Nachteil des einzeitigen Vorgehens ist dagegen der erhöhte logistische Aufwand und das Risiko der frustranen Stimulation der Partnerin, falls intraoperativ kein Spermienachweis gelingt.

Aus dieser Situation heraus ergeben sich folgende Fragestellungen:

- Welche Faktoren beeinflussen die Ergebnisse der MESA/TESE aus Sicht der Männer (FSH, Hodenvolumen, Nikotinkonsum, Alter der Patienten) ?
- Ist es notwendig Patienten mit mehreren Risikofaktoren oder Voroperationen einzeitig zu operieren ?
- Haben Risikofaktoren oder Voroperationen einen Einfluss auf die Histologie und die Nativpräparate ?
- Welche Auswirkung hat der Befund der Histologie und des Nativpräparats auf die Zahl der befruchteten Eizellen ?

- Welche Folgen hat der Befund der Histologie und des Nativpräparats auf die Schwangerschaftsrate ?
- Haben Patienten, die nur eine MESA bekommen haben, eine bessere Schwangerschaftsrate? Ist die Zahl der befruchteten Eizellen höher als bei Patienten mit TESE ?

2. Material und Methodik

2.1 Untersuchungskollektiv

2.1.1 Patientenkollektiv

Der retrospektive Untersuchungsraum erstreckt sich über 5 Jahre (1995-1999).

Das Patientengut besteht aus infertilen Paaren, die an der Urologischen Universitätsklinik Ulm in Zusammenarbeit mit dem Institut für Reproduktionsmedizin Prof. Sterzik/Dr. Gagsteiger in Ulm behandelt wurden. Während dieser Zeit wurden 129 Männer durch MESA/TESE operiert, davon 82 einzeitig und 47 zweizeitig. Bei den Frauen erfolgten 149 Stimulationszyklen, wobei sich einige bis zu vier Mal dieser Behandlung unterzogen.

2.1.2 Anamneseerhebung

An der Urologischen Universitätsklinik Ulm wurde eine umfassende Anamneseerhebung durchgeführt, zur Feststellung besonderer Risikofaktoren für eine Infertilität und schlechte Spermienqualität. Als Risikofaktoren gelten vor allem der Kryptorchismus, Entzündungen im Urogenitalbereich, Mumps, Nikotin, kongenitale bilaterale Aplasie des Vas deferens (CBAVD), Hodentorsion, Klinefelter-Syndrom, Traumata und Varikozelen.

Zur klinischen Untersuchung gehörte die Palpation von Hoden und Nebenhoden zum Ausschluss von Tumoren oder postentzündlichen/entzündlichen Veränderungen, zur Abschätzung des Hodenvolumens und zur Beurteilung der Tastbarkeit eines Ductus deferens. Mittels Valsalva-Manöver wurde überprüft, ob eine Varikozele vorliegt. Außerdem wurde routinemäßig eine digital-rektale Tastuntersuchung der Prostata durchgeführt. Grundsätzlich erfolgte eine Ganzkörper-Untersuchung, um nach Hinweisen für Anomalien/Mißbildungen zu suchen. Obligate Zusatzuntersuchungen waren die Hodensonografie zur Bestimmung des Hodenvolumens, zum Nachweis von Varikozelen und zum Ausschluss eines Hodentumors und der transrektale Ultraschall zum Nachweis der Samenblasen und zum Ausschluss von Prostatazysten. Eine Sonographie des Abdomens, um z.B. nach Nierenmissbildungen (Nierenagenesie bei gleichzeitiger Ductus deferens-Aplasie) zu suchen, war ebenfalls obligat.

Laborchemisch wurde neben einem Routinelabor auch die Hormonparameter LH, FSH, Prolaktin und Testosteron bestimmt. Zusätzlich wurde bei allen Patienten ein Hodentumorscreening (Alpha-Fetoprotein und β -HCG) durchgeführt.

Außerdem wurde, wie gesetzlich vorgeschrieben, bei allen Paaren eine genetische Untersuchung vorgenommen, die bei den Männern mit Verdacht auf eine kongenitale bilaterale Aplasie des Vas deferens (CBAVD) auf spezielle Mutationen (Cystische Fibrose) ausgeweitet wurde.

2.1.3 Patienteneinteilung

Unter Berücksichtigung aller Daten und einer Risikoabschätzung wurde gemeinsam mit den Paaren das Operationsverfahren festgelegt. Zumeist wurde Patienten mit normalen Hormonparametern, normalem Hodenvolumen und einer Vasektomie in der Vorgeschichte zum zweizeitigen Verfahren geraten. Bei Patienten mit mehreren Risikofaktoren, das heißt, bei erhöhten Hormonparametern und/oder geringem Hodenvolumen, bei Nikotinabusus, Kryptorchismus, Varikozelen oder mehreren Voroperationen wurde ein einzeitiges Verfahren empfohlen.

Dieses Vorgehen beruht auf der Erfahrung, dass nach Kryokonservierung ein großer Teil von Spermien zugrunde geht (37, 46, 84). Da eine Färbung der Spermien zur Selektion der unbeweglichen von den bereits toten Spermien in Deutschland nicht erlaubt ist, hängt die Erfolgsrate der assistierten Fertilisierung von der Anzahl noch motiler Spermien ab, die gerade bei Patienten mit einer nicht-obstruktiven Azoospermie stark eingeschränkt sein kann. Um dieses Risiko zu umgehen wurde eine Vorselektion des Patientenkollektivs durchgeführt. Bei Patienten ohne bzw. mit wenigen Risikofaktoren oder obstruktiver Azoospermie sind meist genügend motile Spermien sowohl vor, als auch nach Kryokonservierung vorhanden.

2.2 ICSI-Behandlung

2.2.1 Spermengewinnung und Aufbereitung

Primär wurde bei allen Patienten zuerst eine MESA geplant, da dieser Eingriff weniger invasiv für den Patienten war. Gelang es nicht, Spermien zu aspirieren, wurde in gleicher Sitzung eine TESE durchgeführt. Patienten, die bereits voroperiert waren, und bei denen bekannt war, dass kein MESA-Material vorhanden war, erhielten gleich eine TESE.

2.2.1.1 Praktisches Vorgehen bei MESA und TESE

Nach skrotaler Inzision und Durchtrennung aller Subcutanschichten wurde der Hoden freigelegt und aus dem Skrotalfach luxiert. Anschließend wurde der Ductus deferens aufgesucht, freipräpariert und durchtrennt. Aus diesem versuchte man, Spermien zu aspirieren. Gelingt dies nicht, oder waren zu wenig Spermien vorhanden, wurde der Nebenhoden freipräpariert. Dort versuchte man ebenfalls, an verschiedenen Stellen der Nebenhodenkanälchen Spermien zu aspirieren. War auch dies nicht erfolgreich, wurden die Hüllen des Nebenhoden verschlossen und die TESE durchgeführt.

Es erfolgte die Durchtrennung der Tunica albuginea und die Entnahme von Gewebeproben (TESE) an 5 verschiedenen Stellen im Hodenbereich. Dabei wurde das Hodengewebe meist in 3 Portionen entnommen. Die erste Portion ging zur Histologie, die zweite wurde als Direktpräparat im OP untersucht und die dritte kam zur Verarbeitung ins Labor, wo sie entweder kryokonserviert oder direkt zur ICSI verwendet wurde.

Nach sorgfältiger Blutstillung wurden die Hodenhüllen verschlossen, der Hoden ins Skrotalfach versenkt und vernäht.

2.2.1.2 Untersuchung und Aufbereitung des TESE-Materials

Ein Drittel des Biopsates ging, aufbewahrt in Bouhinscher-Lösung, zur histologischen Untersuchung zur Beurteilung der Spermiogenese. Diese wurde prozentual eingeteilt (Tabelle 6):

Tabelle 6: Einteilung der Spermiogenese im histologischen Präparat der TESE:

Spermiogenese:	> 70% = normale Spermiogenese
	20-70% = reduzierte Spermiogenese
	< 20% = partielles Sertolli-cell-only-Syndrom

Legende: TESE = Testikuläre Spermienaspiration

Im Operationssaal wurde das zweite Drittel direkt unter dem Mikroskop untersucht. Dabei wurden mit 40-facher Vergrößerung 10 Gesichtsfelder ausgezählt, um festzustellen, ob überhaupt Spermien vorhanden sind.

Das letzte Drittel wurde in Nährmedium in das ICSI-Labor transportiert. Dort wurden die Biopsate in Quinn`s Spermwash Medium (HEPES enthaltendes Medium) gewaschen, um anschließend das Hodengewebe in Kulturschälchen zu überführen. Das Gewebe wurde mit

zwei Deckgläsern vorsichtig auseinandergezogen, um die Spermien aus den Hodenkanälchen zu befreien. Das zerkleinerte Hodengewebe wurde in Falcon-Röhrchen gegeben. Dazu kam 1 ml Quinn`s Spermwash Medium und Enzyme : Collagenase Typ IV (Sigma C 5128) 1000 Einheiten/ml

Elastase Typ IIA (Sigma 2674)	15 Einheiten/ml
Dnase (Sigma crude DN25)	25 ug/ml

Nach dreißigminütiger Inkubation bei 37°C wurde das Medium bei 1900 Upm für 15 Minuten zentrifugiert. Der Überstand wurde abpipettiert und das Pellet zweimal mit Quinn`s Spermwash Medium gewaschen. Nach dem letzten Waschgang wurde das Pellet in ca. 0,1-0,2 ml IVF Medium resuspendiert und für ICSI verwendet oder kryokonserviert. Aus einem kleinen Teil der TESE-Suspension wurde der Nativbefund erstellt. Es wurden unter dem Mikroskop 10 Gesichtsfelder ausgezählt. Auch hier erfolgte die Einteilung in drei Gruppen (Tabelle 7):

Tabelle 7: Einteilung des Nativpräparate nach Spermien pro Gesichtsfeld:

Gruppe 1:	kein oder ein Spermium pro Gesichtsfeld im Mikroskop
Gruppe 2:	weniger als fünf Teils motile, teils immotile Spermien pro Gesichtsfeld
Gruppe 3:	mehr als 15 teils motile Spermien im Gesichtsfeld

2.2.2 Kryokonservierung:

Die TESE-Suspension wurde mit gleichem Volumen Gefriermedium (Irvine Scientific) versetzt. Dann werden die Gefrierhalme (MiniTüb) mit ca. 0,1 ml TESE-Suspension gefüllt und eingefroren (Tabelle 8).

Tabelle 8: Einfriervorgang bei der Kryokonservierung

Rampe Nr.	Einfriergeschwindigkeit °C/min	Endtemperatur
1	-10°C/min	+4°C
2	-2°C/min	-8°C
3	0°C/min	-8°C
4	-1°C/min	-30°C
5	-50°C/min	-196°C

Danach wurden die gefrorenen TESE-Suspensionen in flüssigem Stickstoff gelagert, um bei Bedarf aufgetaut zu werden.

Der Auftauvorgang fand bei Zimmertemperatur statt.

2.2.3 Ovarielle Stimulation und Ovulationsinduktion

Bei der ovariellen Stimulation lässt man mehrere Follikel heranreifen, um genügend befruchtungsfähige Oozyten für die Fertilisierung in vitro zu erhalten. Hierzu stehen mehrere Therapieschemata zur Verfügung.

In unserer Studie wurde sowohl HMG, als auch FSH und rekombinantes FSH verwendet. Um einen vorzeitigen LH-Anstieg und somit eine vorzeitige Ovulation unreifer Eizellen zu verhindern, wurde eine Down-Regulation der Hypophyse mit GnRH-Agonisten im Vorzyklus durchgeführt. Die Down-Regulation erfolgte meist am 21. Zyklustag, wobei die Verabreichung meist als intramuskuläre Depotinjektion erfolgte.

Im Anschluss an die nach 10 bis 14 Tagen eintretende Abbruchblutung wurde mit der HMG- bzw. FSH-Stimulation in Form von Depotpräparaten oder Nasensprays begonnen. Als begleitendes Monitoring wurden ab dem 8.-10. Tag täglich eine sonografische Follikulometrie durchgeführt. Je nach Befund wurden zusätzlich die Östradiol- und LH-Spiegel im Serum bestimmt. War der Durchmesser des Leitfollikels bei 18 bis 20 mm, wurde die Ovulation mit 10 000 IE HCG induziert.

2.2.4 Follikelpunktion und Oozytenpräparation

Die Follikelpunktion erfolgte 36 Stunden nach der Ovulationsinduktion. Diese wurde in Vollnarkose unter Ultraschallkontrolle transvaginal durchgeführt. Nach Darstellung der einzelnen Follikel konnten diese mittels Punktionskanüle unter Sogwirkung eines Vakuumpumpsystems aspiriert werden.

Unter dem Mikroskop wurden die Eizellen aus dem Aspirat isoliert und mit Hilfe einer Tuberkulinspritze und Kanüle von umgebenden Cumuluszellen befreit. Nach Inkubation der Eizellen in Hyaluronidase-Lösung für 30 Sekunden, wurden sie in Gamete-Medium gespült. Danach wurden die Eizellen nach Reifegrad sortiert. Es wurden nur Eizellen, die ein Polkörperchen (Metaphase II) enthalten, weiterverwendet. Bis zur ICSI-Prozedur wurden die Eizellen im Brutschrank bei 37°C in einem Kulturmedium gelagert.

2.2.5 Intrazytoplasmatische Spermieninjektion

Zur Mikroinjektion wurde ein Invertmikroskop, verbunden mit Phasenkontrastobjektiven, elektrischen Mikromanipulatoren und Mikroinjektoren verwendet. Sie fand bei 37°C statt. Die Eizelle wurde zur Spermieninjektion an einer Haltepipette arretiert. Dabei wurde sie so fixiert, dass sich das Polkörperchen bei 12 oder 6 Uhr befand, um den Spindelapparat bei der Injektion nicht zu verletzen.

Das Spermium, wurde durch einen kurzen Schlag mit einer Pipette auf das Schwanzteil immobilisiert und in die Injektionspipette aufgenommen. Die Spermieninjektion in die Oozyte erfolgte bei 3 oder 9 Uhr.

Nach der Injektion wurden die Oozyten in Hams F-10-Medium umgesetzt und im Brutschrank aufbewahrt. Nach 16 bis 18 Stunden untersuchte man die Oozyten auf Vorhandensein von Vorkernen. Diejenigen, die keine Zellteilung zeigten, wurden als unbefruchtet eingestuft und verworfen.

Zeigten mehr als 3 Oozyten Vorkernstadien oder wollten die Paare weniger als 3 Embryonen transferieren, wurden die verbleibenden Oozyten kryokonserviert oder vernichtet. Da das Embryonenschutzgesetz, die Übertragung von mehr als 3 Embryonen verbietet, muß dies im Vorkernstadium geschehen. Die Kryokonservierung bietet außerdem den Vorteil, daß der Patientin bei weiteren Zyklen eine Stimulation und Punktion erspart bleibt.

Nach weiteren 24 Stunden Inkubation der übrigen Oozyten wurden die Embryonen nach Qualität der Zellteilung beurteilt und in 3 Qualitätsstufen eingeteilt (Tabelle 9).

Tabelle 9: Qualitätsstufen (Grading) der Embryonen nach der Qualität der Zellteilung:

Grad 1:	regelmäßige, gerade (4-,6-,8-Zellstadium) Furchung
Grad 2:	unregelmäßige, gerade Furchung
Grad 3:	unregelmäßige, ungerade Furchung

2.2.6 Embryonentransfer, Corpus-luteum-Phase, Schwangerschaft

Nach insgesamt 42 bis 46 Stunden Inkubation erfolgte der Embryonentransfer. Die Embryonen wurden in einen weichen, dünnen Katheter geladen und durch den Führungskatheter über den inneren Muttermund in die Mitte des Cavum uteri eingebracht.

Ab dem ersten Posttransfertag erhielten die Patientinnen Progesteron oder eine Kombination von Progesteron/HCG zur Unterstützung der Corpus-luteum-Phase.

Nach zwei Wochen wurde mittels HCG-Bestimmung eine Schwangerschaft bestätigt (HCG >50U/l) oder ausgeschlossen.

Dabei wurde als erfolgreiche ICSI die chemische (positiver HCG-Test) und die klinische Schwangerschaft (kindlichen Herztöne) gewertet.

2.3 Datenerfassung und Statistik

Die männlichen und weiblichen Daten wurden getrennt in dem jeweiligen Institut aufbewahrt und nach Absprache in eine gemeinsame Access-Datenbank aufgenommen.

Die Zusammenführung und Auswertung der Daten erfolgte in einer Exel-Datenbank.

Die Statistik wurde in einer univariaten Analyse mit dem Chi-Quadrat-Test durchgeführt.

3. Ergebnisse

3.1 Patientenkollektiv

Im Untersuchungszeitraum wurden bei 121 Männern eine MESA/TESE durchgeführt. Bei 16 Patienten konnte genügend Material zur ICSI durch alleinige MESA gewonnen werden, 12 Männer unterzogen sich nur einer TESE und bei 93 wurde die Kombination der Verfahren angewandt. 98 Männer mussten beidseitig operiert werden, um genügend Material zu gewinnen.

Bei 69 Patienten wurde das einzeitige Verfahren angewandt, dabei wurden bei 8 Patienten keine Spermien gefunden. Bei der zweizeitigen Methode waren es 52 Patienten. Nach dem Auftauen der Nativpräparate konnten jedoch zusätzlich bei 11 Patienten keine oder keine überlebenden Spermien mehr gefunden werden. (Tabelle 10)

Tabelle 10: Aufteilung des Patientenkollektiv:

	MESA	TESE	MESA+TESE	Gesamt
Einzeitig	10	6	53	69
- unilateral	10	5	25	40
- bilateral	0	1	28	29
Zweizeitig	6	6	40	52
- unilateral	6	3	14	23
- bilateral	0	3	26	29
Gesamt	16	12	93	121

Legende: MESA = Mikrochirurgische Epididymale Spermienaspiration

TESE = Testikuläre Spermienaspiration

3.1.1 Gruppeneinteilung und Behandlung der Frauen

Bei den Frauen fanden insgesamt 149 Stimulationszyklen statt.

69 Frauen unterzogen sich der einzeitigen Behandlung, wobei 26 auch in der zweizeitigen Gruppe vertreten sind, nachdem die einzeitige Behandlung keinen Erfolg gezeigt hatte.

Fünf Frauen sind in der einzeitigen Gruppe doppelt vertreten.

67 Frauen wurden in der zweizeitigen Gruppe stimuliert, davon unterzogen sich 19 Frauen bis zu vier Mal der Behandlung. (Tabelle 11)

Bei zwei Frauen (eine einzeitig, eine zweizeitig) konnten keine Eizellen punktiert werden. Bei vier Paaren der einzeitigen Gruppe teilten sich die Eizellen nicht. Patienten der zweizeitigen Gruppe kamen im Beobachtungszeitraum nicht zur ICSI.

Das Durchschnittsalter der Frauen betrug in der einzeitigen Gruppe 31,2 Jahre, in der zweizeitigen 31,9 Jahre.

Weder in der ovariellen Stimulation, noch in Follikelpunktion oder der Lutealphasenunterstützung unterschieden sich die Behandlungsmethoden.

Die Anzahl der befruchtungsfähigen Eizellen betrug in der einzeitigen Gruppe 573 Eizellen, in der zweizeitigen Gruppe 511 Eizellen. Es teilten sich einzeitig 174 Eizellen und zweizeitig 141 Eizellen. Der statistische Vergleich mit dem Chi-Quadrat-Test zwischen den befruchteten Eizellen der einzeitigen und zweizeitigen zeigte mit $p = 0,828$ keine statistische Relevanz.

In der einzeitigen Gruppe wurden 124 befruchtete Eizellen transferiert. Dabei entstanden 15 Schwangerschaften, was 23,4 % entspricht. Bei den 133 transferierten Eizellen in der zweizeitigen Gruppe kamen 18 Schwangerschaften zustande. Dies sind auf die Anzahl der Personen bezogen 22,9 %. Somit konnten auch hier keine Unterschiede der einzeitigen und zweizeitigen Gruppe aufgezeigt werden. (Tabelle 12)

Tabelle 11: Übersicht Patientenkollektiv

	einzeitig	zweizeitig
Anzahl Paare	56	41
Anzahl Stimulationszyklen Frau	64	79

Tabelle 12: Ergebnisse der Stimulation und Befruchtung der Eizellen

	einzeitig	zweizeitig
Anzahl der gewonnenen Eizellen	767	680
Anzahl der befruchtungsfähigen Eizellen	573	511
Anzahl der geteilten Eizellen	174	141
Anzahl der transferierten Eizellen	124	133
Schwangerschaften in %	23,4	22,9
Schwangerschaften Anzahl Patientinnen	15	18

Nach der Befruchtung und Teilung der Eizellen wurde die Qualität der Teilung in einem Embryonengrading festgelegt. Eine gute Qualität entsprach einer regelmäßigen Furchungsteilung, das heißt, alle Kernhüllen besaßen die gleiche Größe. Bei einer mittleren

Qualität gab es zwei Kernhüllen von unterschiedlicher Größe und bei einer schlechten Qualität waren alle Kernhüllen unterschiedlich groß.

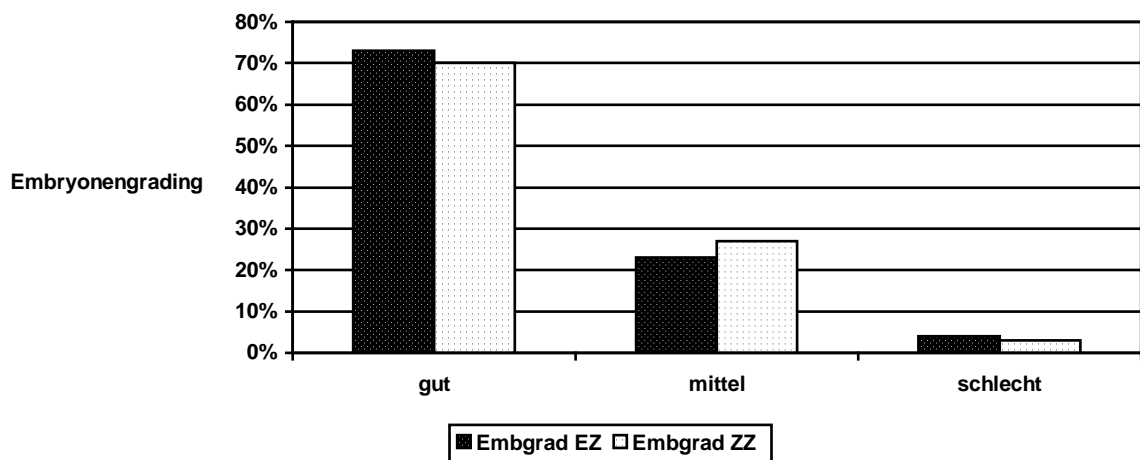


Abbildung 2: Qualität der Eizellen (Embryonengrading)

Legende: Embgrad = Embryonengrading

EZ = einzeitig

ZZ = zweizeitig

Bei der einzeitigen Gruppe betrug die Anzahl der gut geteilten Eizellen 73 %, 23 % teilten sich mäßig gut und 4% teilten sich schlecht. Ein ähnliches Ergebnis ergab die zweizeitige Gruppe, mit 70 % regelmäßig geteilten Eizellen 27 % mäßig und 3 % schlecht geteilten Eizellen. (Abbildung 2, EZ = einzeitig, ZZ = zweizeitig).

Die Qualität der Eizellteilung war in der einzeitigen und zweizeitigen Gruppe vergleichbar.

3.1.2 Gruppeneinteilung der Männer

Wie bereits unter 2.1.2 und 2.1.3 beschrieben, wurden die Männer nach Risikoabschätzung in die ein- oder zweizeitige Gruppe eingeteilt.

Das Alter der einzeitigen Gruppe lag im Durchschnitt bei 34,2 Jahren, in der zweizeitigen bei 36,1 Jahren. Die Hodenvolumina waren mit 9,8 ml links und 10,3 ml rechts mit denen der zweizeitigen Gruppe mit 9,5 ml links und 10,8 ml rechts vergleichbar (Tabelle 13). Auch die Laborwerte mit dem FSH (9,7 und 8,9 mIU/ml), dem LH (4,0 und 3,9 mIU/ml) und dem Prolaktin (6,0 und 6,4 ng/dl) unterschieden sich nicht signifikant. Einzig der Testosteronwert mit 208 ng/dl in der einzeitigen Gruppe und 400 ng/dl in der zweizeitigen Gruppe unterschieden sich (Tabelle 14).

Tabelle 13: Parameter in den unterschiedlichen Gruppen (+Standardabweichung)

	einzeitig	zweizeitig
Alter	34,2 Jahre (\pm 5,66)	36,1 Jahre (\pm 6,67)
Hodenvolumen links	9,8 ml (\pm 5,40)	9,5 ml (\pm 4,47)
Hodenvolumen rechts	10,3 ml (\pm 5,95)	10,8 ml (\pm 5,18)

Tabelle 14: Laborwerte (Mittelwerte)

	einzeitig	zweizeitig
Testosteron	208 ng/dl (\pm 164,12)	400 ng/dl (\pm 139,56)
FSH	9,7 mlU/ml (\pm 7,95)	8,9 mlU/ml (\pm 8,49)
LH	4,0 mlU/ml (\pm 2,73)	3,9 mlU/ml (\pm 3,16)
Prolaktin	6,0 ng/dl (\pm 4,11)	6,4 ng/dl (\pm 4,57)

Legende: FSH = Follikelstimulierungshormon

LH = Luteinisierungshormon

3.1.3 Risikofaktoren bei den Männern

Die Patienten wurden nach 12 Risikofaktoren befragt und nach Information über die verschiedenen Behandlungsmethoden entsprechend in die ein- oder zweizeitige Gruppe eingeteilt. Patienten mit mehreren oder besonders schwerwiegenden Risikofaktoren kamen nach Rücksprache mit den Patienten meist in die einzeitige Gruppe, da nur wenige Paare ein bestimmtes Vorgehen wünschten. So war die Gruppenverteilung nicht homogen. Diese Einteilung erfolgte aufgrund der Annahme, dass bei Patienten mit mehreren Risikofaktoren weniger und schlechtere Spermien zu finden sind. Diese wenigen Spermien wollte man nicht der Kryokonservierung und damit einer weiteren Schädigung aussetzen.

Es waren 7 Patienten die an Tumoren litten. In unserem Patientenkollektiv fanden sich keine Patienten nach Hodentrauma (Abbildung 3) .

55 Patienten hatten keine Risikofaktoren. 70 Patienten wiesen einen Risikofaktor auf. Bei 10 Patienten fanden sich zwei Risikofaktoren und bei 2 Patienten lagen drei Risikofaktoren vor.

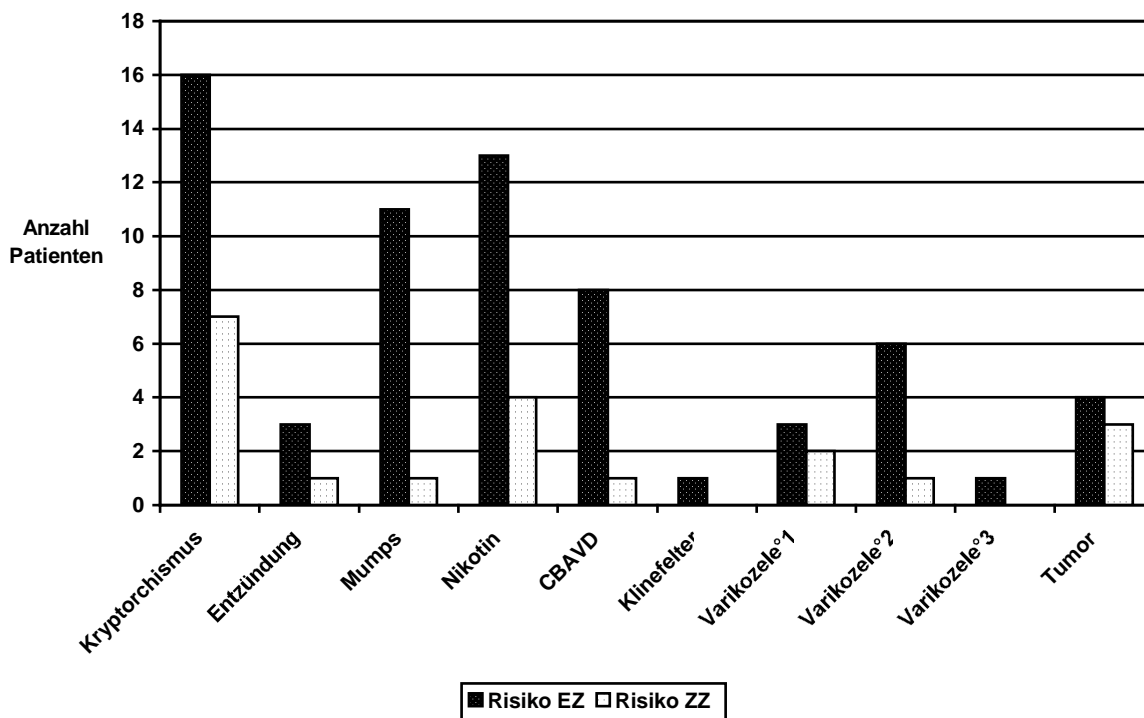


Abbildung 3: Einteilung der Risikofaktoren

Legende: CBAVD = kongenitale bilaterale Aplasie des Vas deferens

EZ = Einzeitig

ZZ = Zweizeitig

3.1.4 Voroperationen bei den Männern

Ein weiteres wichtiges Kriterium zur Einteilung in die Gruppen waren die Voroperationen. Zu den Voroperationen zählten die Hodenbiopsie, die Vasektomie, die Leistenchirurgie, die Funikulolyse, die Semikastratio, die MESA/TESE, eine Varikozelenoperation, eine Orchidopexie, die Kollikulusresektion, eine Vaso-Vasostomie, eine PESA und eine Prostataoperation. Hier wurde bei einer oder mehreren Voroperationen die einzeitige Gruppe bevorzugt.

31 Patienten der einzeitigen Gruppe unterzogen sich einer Hodenbiopsie. An zweiter Stelle kam die MESA/TESE und zuletzt die Funkulolyse (Abbildung 4).

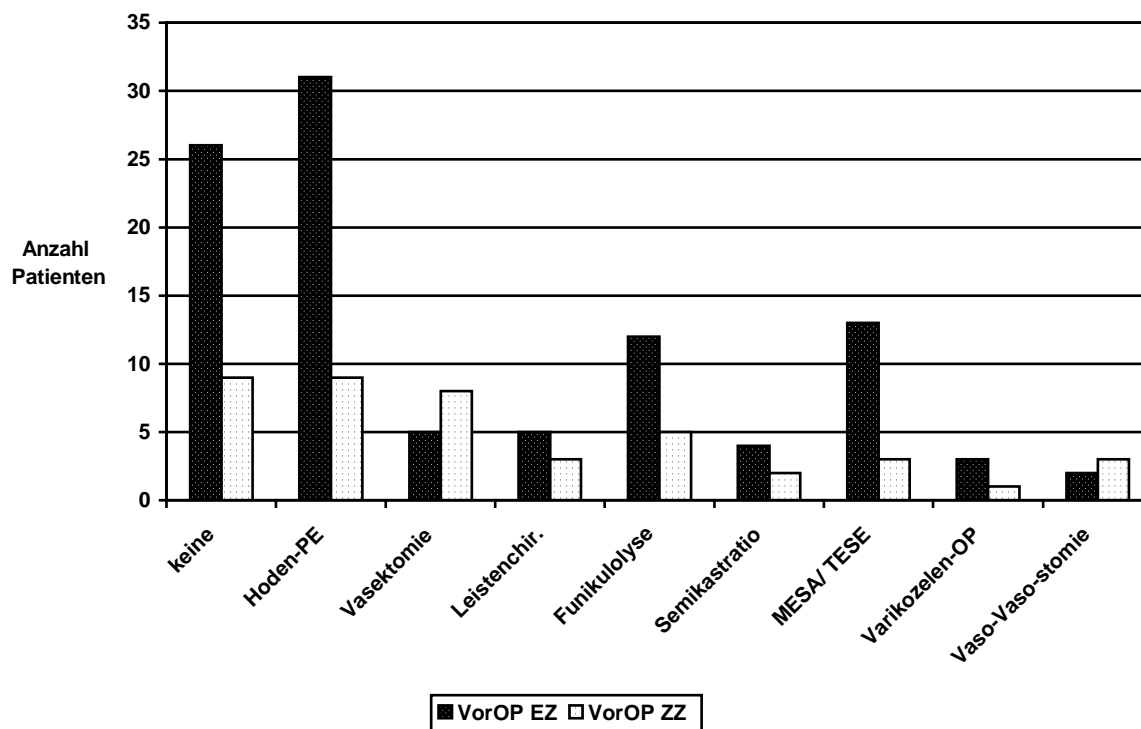


Abbildung 4: Patienten mit Voroperationen

Legende: Vor-OP = Voroperation

EZ = einzeitig

ZZ = zweizeitig

Hoden-PE = Probeexcision aus dem Hoden

Leistenchir. = Leistenchirurgie

MESA = mikrochirurgische epididymale Spermienaspiration

TESE = testikuläre Spermienaspiration

Varikozelen-OP = Varikozelenoperation

3.2 Vergleich der Ergebnisse der Gruppen

3.2.1 Vergleich der Nativpräparate

Die Ergebnisse der Nativpräparate wurden in drei verschiedene Gruppen eingeteilt.

In Gruppe eins war kein oder ein Spermium pro Gesichtsfeld im Mikroskop zu finden. In der zweiten Gruppe gab es weniger als fünf teils motile, teils immotile Spermien und in Gruppe drei waren mehr als 15 teils motile Spermien vorhanden.

In der einzeitigen Gruppe hatten 49 % der Patienten weniger als ein Spermium pro Gesichtsfeld vorzuweisen. 27 % hatten weniger als 5 Spermien pro Gesichtsfeld und 24 % wiesen mehr als 15 Spermien pro Gesichtsfeld auf. Dagegen waren es 34 % bei der zweizeitigen Gruppe, die weniger als ein Spermium pro Gesichtsfeld hatten, 20 % mit

weniger als 5 Spermien pro Gesichtsfeld und 46 % mit mehr als 15 Spermien pro Gesichtsfeld (Abbildung 5).

Aufgrund der Risikoabschätzung hatte die einzeitige Gruppe die schlechtere Ausgangslage, so dass zu erklären ist, dass die Qualität der Präparate in der einzeitigen Gruppe bedeutend schlechter ist.

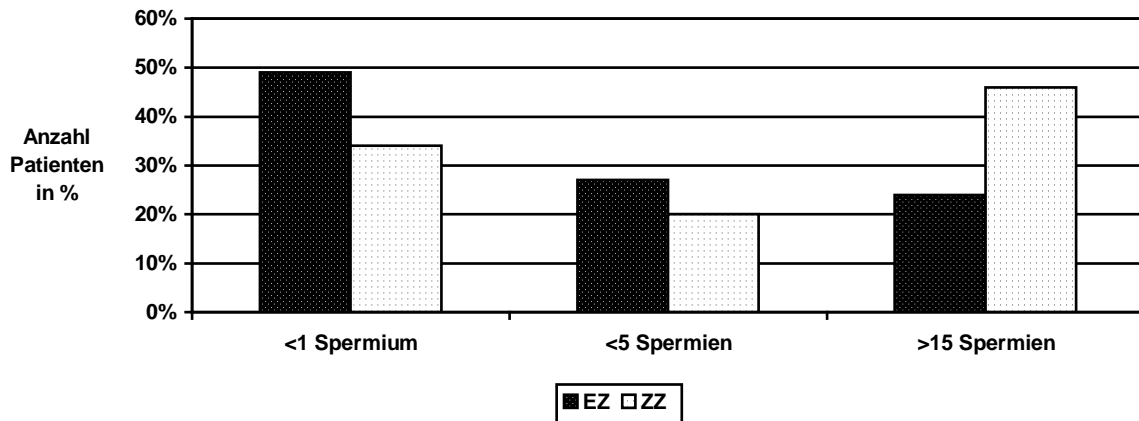


Abbildung 5: Vergleich der Nativpräparate in Prozent (Spermien pro Gesichtsfeld)

Legende: EZ = einzeitig

ZZ = zweizeitig

3.2.2 Vergleich der histologischen Befunde

Auch die Einteilung der histologischen Befunde erfolgte in drei Gruppen. Um ein größeres Patientenkollektiv zu erhalten, wurde die Einteilung der histologischen Befunde auf drei Gruppen beschränkt.

Die histologischen Befunde der Gruppe eins waren ohne Befund, das heißt, die Spermio-genese war vollkommen in Ordnung. In Gruppe zwei war die Spermio-genese auf 20-70 % beschränkt, und in der dritten Gruppe handelte es sich um einen Spermatogenese-arrest oder um ein Sertoli-cell-only-Syndrom.

Die histologischen Befunde der Patienten in der einzeitigen Gruppe waren bei nur 6 % in Ordnung, dagegen waren sie in der zweizeitigen Gruppe bei 26 % einwandfrei. Eine Spermio-genese zwischen 20-70 % hatten 58 % der Patienten der einzeitigen Gruppe und 48 % der zweizeitigen. Der Spermatogenese-arrest trat bei 36 % der einzeitig operierten auf und bei 26 % bei zweizeitig operierten (Abbildung 6).

Da die Gruppen außer bei den Risikofaktoren und den Voroperationen keine Inhomogenität aufweisen, wurden diese Parameter hinsichtlich ihres Vorhersagewertes untersucht.

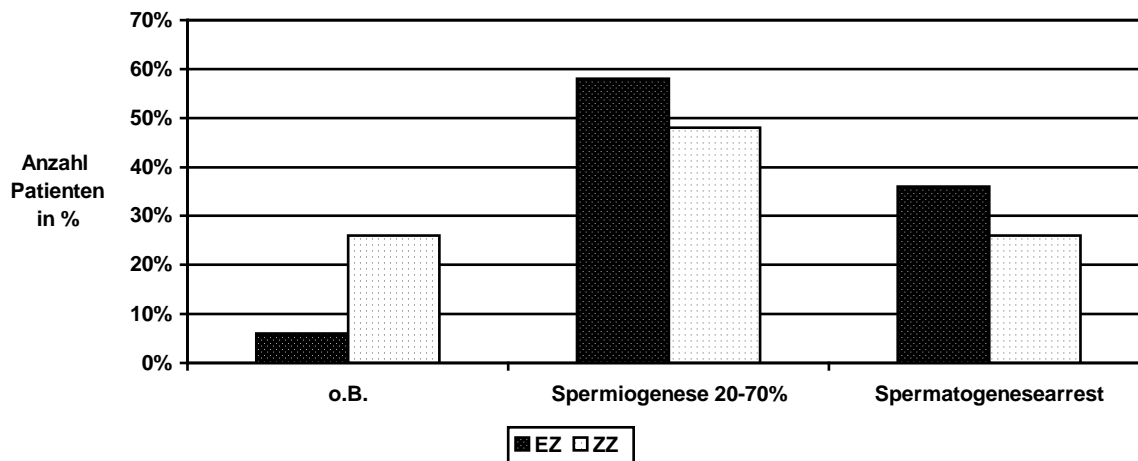


Abbildung 6: Vergleich der Histologie (Anzahl der Patienten in Prozent)

Legende: EZ = einzeitig

ZZ = zweizeitig

o.B. = ohne Befund

3.3 Einfluss der Risikofaktoren und Voroperationen auf die Punktionsergebnisse

Um ein größeres Patientenkollektiv zu erhalten, wurde die ein- und zweizeitige Gruppe zusammengefasst. So wurden winzige Splittergruppen vermieden und es konnten sinnvolle und relevante Ergebnisse erfasst werden.

Als besonders beeinträchtigende Risikofaktoren wurden der Kryptorchismus und die Varikozele definiert.

Bei den Voroperationen wurde die Gruppe auf Operationen direkt am Hoden beschränkt. Dazu gehörten Probiopsien am Hoden (Hoden-PE), die Funikulolyse, die Semikastratio und eine vorhergegangene MESA/TESE.

3.3.1 Einfluss der Risikofaktoren Kryptorchismus und Varikozele auf den Nativbefund

Es waren 14 Patienten, die unter einem Kryptorchismus litten. 9 davon wurden im Kindesalter operiert, jedoch zeigte weder der Nativbefund noch der histologische Befund einen signifikanten Unterschied zwischen einer früheren und einer nicht durchgeführten Operation. Auch die Befruchtungs- und Schwangerschaftsrate war bei beiden vergleichbar. Von den 14 Patienten war bei 61 % das Nativpräparat schlecht, das heißt, es war weniger als ein Spermium pro Gesichtsfeld vorhanden. Bei 22 % waren weniger als fünf Spermien pro Gesichtsfeld zu finden und nur bei 17 % der Patienten waren mehr als 15 Spermien pro Gesichtsfeld vorhanden.

13 Patienten hatten eine Varikozele. Von den 13 Patienten unterzogen sich 6 einer Varikozelen-OP. Alle operierten Patienten zeigten im Nativbefund weniger als ein Spermium pro Gesichtsfeld. Bei 70 % aller Varikozelen-Patienten war weniger als ein Spermium pro Gesichtsfeld zu finden und jeweils 15 % Spermien pro Gesichtsfeld waren bei den anderen zwei Gruppen vorhanden (Abbildung 7).

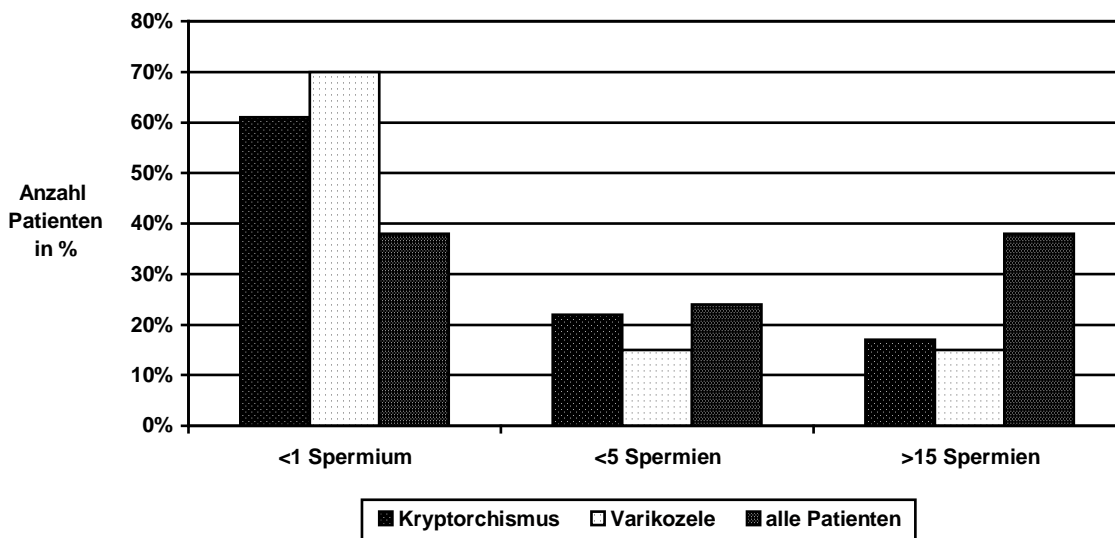


Abbildung 7: Einfluss von Kryptorchismus und Varikozelen auf den Nativbefund (Spermien pro Gesichtsfeld)

3.3.1.1 Einfluss der Varikozelen-OP auf den Nativbefund

Um zu sehen, ob die Varikozelen-OP einen Einfluss auf den Nativbefund hat, im Vergleich zu Patienten mit Varikozele ohne OP, werden diese Patientengruppen hier einzeln aufgegliedert.

Von den sechs Patienten nach Varikozelen-OP hatten zwei Patienten weniger als ein Spermium pro Gesichtsfeld. Bei den sieben Patienten ohne Operation waren es fünf mit weniger als einem Spermium pro Gesichtsfeld. Weniger als 5 Spermien pro Gesichtsfeld hatten 4 Patienten mit und 1 Patient ohne Operation. Ein Patient mit Operation, sowie einer ohne, hatten mehr als 15 Spermien pro Gesichtsfeld im Nativbefund (Abbildung 8).

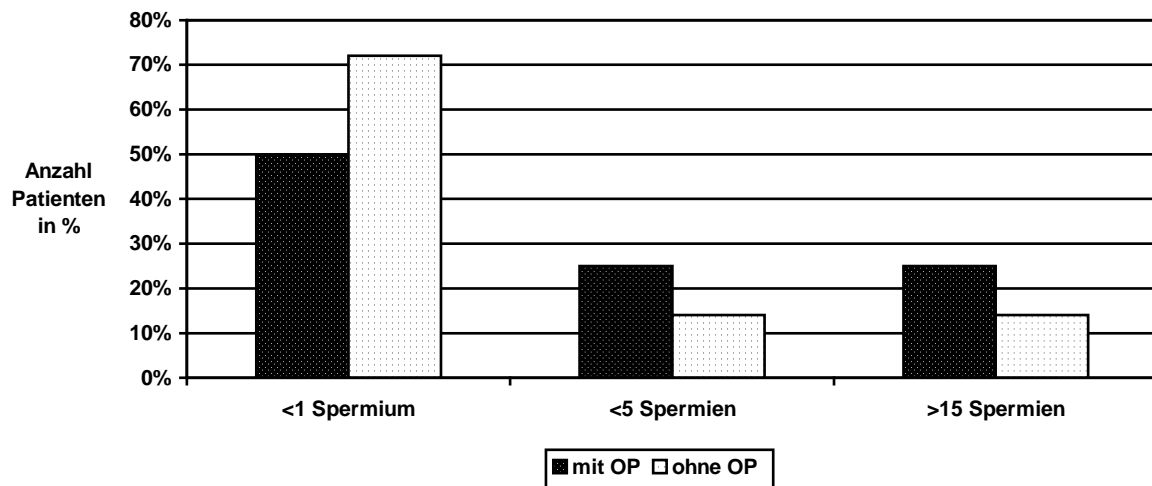


Abbildung 8: Einfluss der Varikozelen-Operation versus keiner OP auf den Nativbefund (Spermien pro Gesichtsfeld)

Legende: OP = Operation

Da diese Patientengruppe sehr klein ist, lässt sich kein abschließendes Urteil darüber bilden, ob eine Operation bei einer Varikozele Vorteile für eine spätere Fruchtbarkeit bringt.

3.3.2 Einfluss der Risikofaktoren auf den histologischen Befund

Der histologische Befund der Patienten mit Kryptorchismus zeigte folgende Ergebnisse: bei 35 % war der histologische Befund o.B., 39 % hatten eine eingeschränkte Spermio-genese und 26 % zeigten ein Sertoli-cell-only-Syndrom oder ein Spermatogenese-arrest.

Patienten mit Varikozele hatten nur zu 13 % einen histologischen Befund, der unauffällig war. 31 % erwiesen eine eingeschränkte Spermio-genese und 56 % hatten ein Sertoli-cell-only-Syndrom oder ein Spermatogenese-arrest.

Im Vergleich zu allen Patienten, mit und ohne Risikofaktor (ausgenommen Kryptorchismus und Varikozele), fällt auf, dass bei 56% der Patienten mit Varikozele ein Spermatogenese-arrest vorliegt. Der Vergleichswert bei den anderen Patienten liegt bei 25%. Beim Kryptorchismus sind es nur 26 % mit Spermatogenese-arrest. Aber die eingeschränkte Spermio-genese liegt bei 39 % relativ hoch (Abbildung 9).

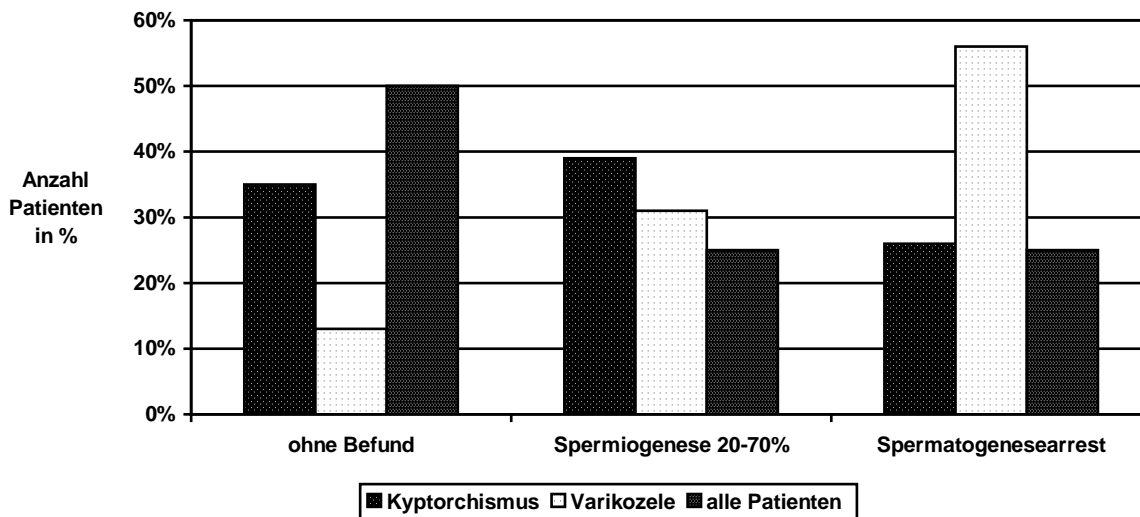


Abbildung 9: Einfluss von Kryptorchismus und Varikozelen auf den histologischen Befund

Sowohl Kryptorchismus, als auch Varikozelen haben einen negativen Einfluss auf die Nativpräparate. Der negative Einfluss des Kryptorchismus auf den histologischen Befund ist jedoch geringer, als der der Varikozele.

3.3.2.1 Einfluss der Varikozelen-OP auf den histologischen Befund

Ob eine Varikozelenoperation einen Einfluss auf den histologischen Befund hat, wird nachfolgend dargestellt.

Drei der Patienten mit OP hatten einen Spermato-genese-arrest, vier der Patienten ohne Operation. Eine Spermato-genese von 20-70 % wiesen drei der Patienten mit, dagegen zwei ohne Operation auf. Bei jeweils einem Patienten mit und ohne Operation war der Nativbefund o.B. (Abbildung 10).

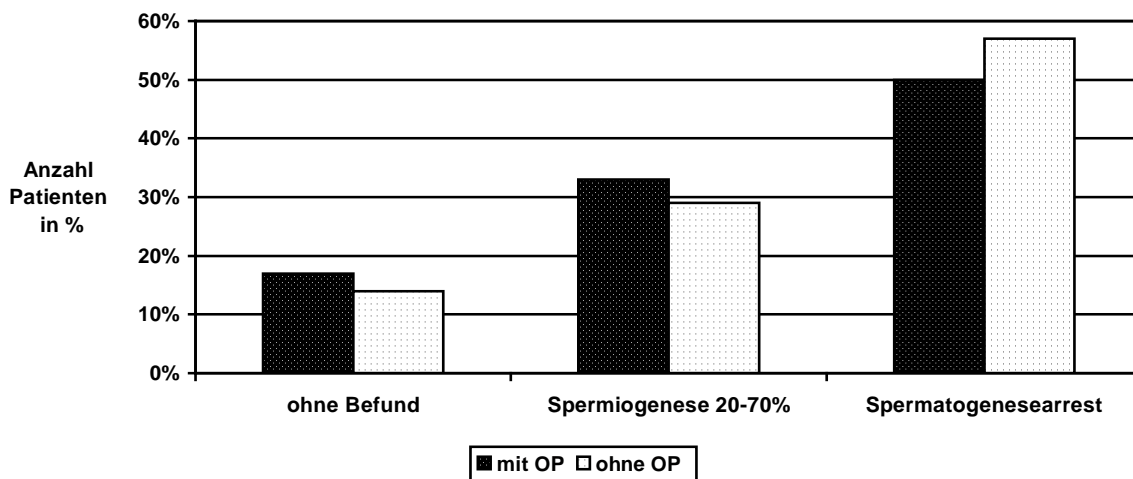


Abbildung 10: Einfluss der Varikozelen-Operation auf den histologischen Befund

Legende: OP = Operation

3.3.3 Einfluss der Voroperationen auf den Nativbefund

Es wurden 36 Patienten am Hoden voroperiert. Bei den meisten Operationen handelte es sich um eine vorhergegangene Probebiopsie der Hoden oder um eine MESA/TESE. Die dort gefundenen Nativbefunde unterschieden sich kaum von den in letzter Sitzung gewonnenen Ergebnissen. Bei den anderen Voroperationen, z.B. Vasektomie oder Varikozelen-OP, waren keine Nativbefunde zum Vergleich vorhanden.

7 Patienten unterzogen sich mehreren Operationen, bei denen sich der Nativbefund jedoch nicht wesentlich änderte.

26 % hatten weniger als ein Spermium pro Gesichtsfeld, bei 37 % waren weniger als 5 Spermien pro Gesichtsfeld vorhanden und bei 37 % waren über 15 Spermien pro Gesichtsfeld zu finden (Abbildung11).

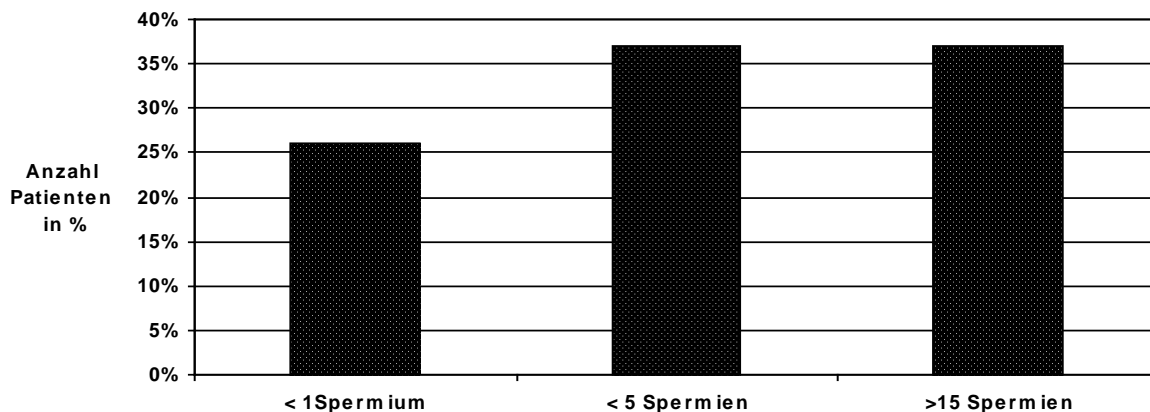


Abbildung 11: Einfluss von Voroperationen auf den Nativbefund (Spermien pro Gesichtsfeld)

3.3.4 Einfluss der Voroperationen auf den histologischen Befund

Der histologischen Befund der voroperierten Patienten war bei 21 % ohne Befund, bei 77% war die Spermiogenese zwischen 20-70 % und nur bei 2 % war ein Spermatogenese-arrest zu finden. Auch hier war bei den mehrfach voroperierten keine weitere Verschlechterung der Ergebnisse zu finden (Abbildung 12).

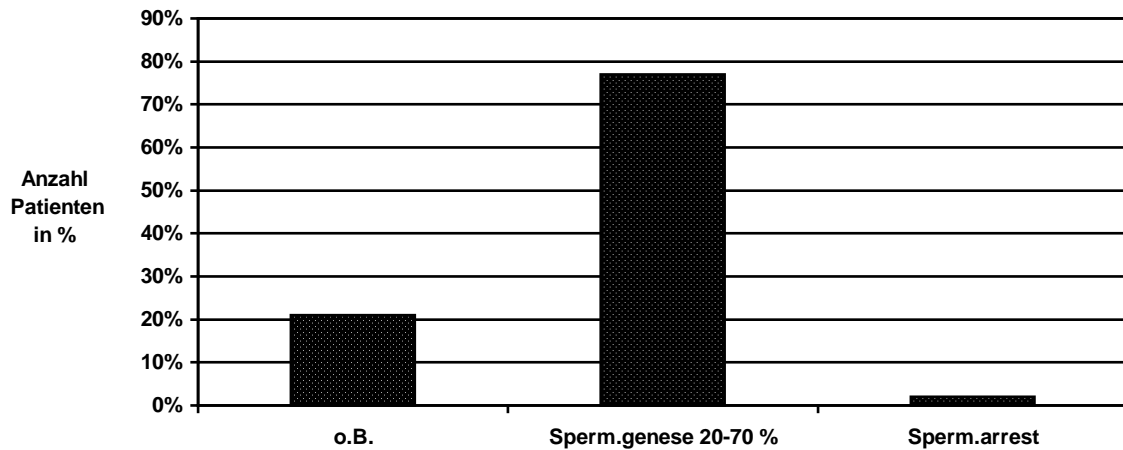


Abbildung 12: Einfluss von Voroperationen auf den histologischen Befund

Legende: o.B. = ohne Befund

Sperm. = Spermiogenese

Sperm.arrest = Spermatogenese-arrest

In diesen Untersuchungen scheinen die Voroperationen keine großen Auswirkungen auf Histologie und Nativpräparate zu haben.

3.4 Auswirkung des Nativpräparates und des histologischen Befundes auf die Zahl der befruchteten Eizellen und die daraus entstehende Schwangerschaftsrate

Auch hier wurden, um ein größeres Patientenkollektiv zu erhalten, die einzeitige und die zweizeitige Gruppe zusammengefasst, ebenso wurde mit der Gruppe der Frauen verfahren. Es wurde die Anzahl der Eizellen, die verwendbaren Eizellen, die Teilungsrate, die Anzahl der transferierten Embryonen und die Schwangerschaftsrate mit der jeweiligen Histologie bzw. des Nativpräparates in Relation gesetzt, so dass die Durchschnittswerte (pro Anzahl der Personen) zu vergleichen waren.

3.4.1 Auswirkungen des Nativpräparates auf die Zahl der befruchteten Eizellen und die Schwangerschaftsraten

Bei den Patienten mit weniger als einem Spermium pro Gesichtsfeld konnten 372 Eizellen verwendet werden. Es teilten sich 79 Eizellen. Dies entspricht im Durchschnitt pro Patient 1,8 Eizellen.

In der Gruppe mit weniger als fünf Spermien pro Gesichtsfeld standen 223 Eizellen zur Verfügung. Davon teilten sich 87 Eizellen, was durchschnittlich 2,6 Eizellen pro Patient entspricht.

Die Patientengruppe mit über 15 Spermien pro Gesichtsfeld hatte 452 Eizellen, wovon sich 138 teilten (durchschnittlich 2,3 Eizellen pro Patient) (Tabelle 15).

Im Chi-Quadrat-Test zeigt sich mit $p = 0,521$ kein statistisch signifikanter Einfluß der Spermiedichte im Nativpräparats auf die Rate der Eizellteilung.

Tabelle 15: Auswirkung der Spermiedichte im Nativpräparat auf die geteilten Eizellen (Spermien pro Gesichtsfeld)

Nativpräparat	Gesamtmenge Eizellen (Durchschnitt)	verwendbare Eizellen (Durchschnitt)	geteilte Eizellen (Durchschnitt)	Relation geteilte Eizellen/verwendbare Eizellen (%)
< 1 Spermien	487 (11,1)	372 (8,5)	79 (1,8)	21 %
< 5 Spermien	299 (8,8)	223 (6,6)	87 (2,6)	39 %
>15 Spermien	616 (10,1)	452 (7,4)	138 (2,3)	31 %

In der Gruppe mit weniger als einem Spermium pro Gesichtsfeld wurden 25 % der Patientinnen schwanger. Dies entspricht 15 % der transferierten Eizellen. Bei weniger als 5 Spermien pro Gesichtsfeld lag die Schwangerschaftsrate bei 15 % der Patientinnen und somit trat bei 8 % der befruchteten Eizellen eine Schwangerschaft ein. 26 % der Patientinnen mit mehr als 15 Spermien pro Gesichtsfeld wurden schwanger, das heißt, 14% der befruchteten Eizellen führte zu einer Schwangerschaft (Tabelle 16).

Tabelle 16: Auswirkung der Spermiedichte des Nativpräparats auf die Rate transferierter Eizellen und die Schwangerschaftsrate (Spermien pro Gesichtsfeld)

Nativpräparat	geteilte Eizellen (Durchschnitt)	transferierte Eizellen (Durchschnitt)	Schwangerschafts- rate (%- Anteil/Patienten)	Relation Schwangerschafts- rate/transferierte Eizellen (%)
< 1 Spermien	79 (1,8)	71 (1,6)	11 (25%)	15 %
< 5 Spermien	87 (2,6)	62 (1,8)	5 (15%)	8 %
>15 Spermien	138 (2,3)	115 (1,9)	16 (26%)	14 %

Es teilten sich weniger Eizellen bei schlechteren Nativpräparaten, was eigentlich zu erwarten gewesen wäre (Tabelle 15). Jedoch sagt die Zahl der geteilten Eizellen nichts über die tatsächliche Schwangerschaftsrate aus, da auch bei schlechten Nativpräparaten vergleichbar viele Schwangerschaften eintreten können (Tabelle 16).

3.4.2 Auswirkungen des histologischen Befundes auf die Zahl der befruchteten Eizellen und die Schwangerschaftsraten

Bei gutem histologischen Befund teilten sich von 356 verwendbaren Eizellen 91. Bei einer Spermio-genese von 20-70 % waren es von 237 Eizellen 90 Eizellen die sich teilten und beim Spermatogenese-arrest teilten sich von 201 Eizellen 23 (Tabelle 17).

Es zeigte sich im Chi-Quadrat-Test kein signifikanter Einfluss des Ergebnisses der Histologie auf die Rate geteilter Eizellen ($p = 0,268$).

Tabelle 17: Auswirkung des Ergebnisses des histologischen Befundes auf die geteilten Eizellen

histologische Befunde	Mengen Eizellen (Durchschnitt)	verwendbare Eizellen (Durchschnitt)	geteilte Eizellen (Durchschnitt)	Relation geteilte Eizellen/verwendbare Eizellen (%)
o.B.	509 (10,8)	356 (7,6)	91 (1,9)	26 %
Spermiogenese 20-70%	325 (8,3)	237 (6,1)	90 (2,3)	38 %
Sp.arrest	267 (14,1)	201 (10,6)	23 (1,2)	11 %

Legende: o.B. = ohne Befund

Sp.arrest = Spermatogenese-arrest

Die Schwangerschaftsrate lag bei gutem histologischen Befund bei 21 %, was 12 % der transferierten Eizellen entspricht. Bei der Spermiogenese von 20-70 % waren es 10 % der Patientinnen, die schwanger wurden und 6 % der befruchteten Eizellen. Beim Spermatogenese-arrest lag die Schwangerschaftsrate bei 11 % der Patientinnen und bei 9 % der befruchteten Eizellen (Tabelle 18).

Tabelle 18: Auswirkung des Ergebnisses des histologischen Befundes auf die transferierten Eizellen/Schwangerschaftsrate

histologische Befunde	geteilte Eizellen (Durchschnitt)	transferierte Eizellen (Durchschnitt)	Schwangerschaftsrate (%-Anteil/Patienten)	Relation Schwangerschaftsrate/transferierte Eizellen (%)
o.B.	91 (1,9)	85 (1,8)	10 (21 %)	21 %
Spermiogenese 20-70%	90 (2,3)	72 (1,8)	4 (10 %)	10 %
Sp.arrest	23 (1,2)	22 (1,2)	2 (11 %)	11 %

Legende: o.B. = ohne Befund

Sp.arrest = Spermatogenese-arrest

3.5 Befruchtete Eizellen und Schwangerschaftsraten bei Patienten mit MESA (Vergleich zum TESE-Nativpräparat mit > 15 Spermien)

Ob Patienten, die sich nur einer MESA unterziehen mussten, eine bessere Prognose bezüglich der Befruchtung von Eizellen und daraus resultierender Schwangerschaft haben, soll in diesem Abschnitt ausgewertet werden.

Insgesamt gab es 16 Patienten, bei denen nach der MESA genügend Spermien (>15 Spermien/Gesichtsfeld) gefunden wurden, so dass keine TESE durchgeführt werden musste. Es wurden 27 Befruchtungszyklen durchgeführt.

Es waren insgesamt 252 Eizellen vorhanden, von denen 215 Eizellen verwendet werden konnten. 70 Eizellen teilten sich nach der Befruchtung. 51 befruchtete Eizellen wurden transferiert. Daraus entstanden 12 Schwangerschaften.

Der Vergleich wurde mit dem gleichwertigen Nativpräparat der TESE (>15 Spermien/Gesichtsfeld) geführt.

Es teilten sich im Durchschnitt 2,6 Eizellen je Patient nach der Befruchtung, das heißt 70 von 215 teilten sich. Beim TESE-Material teilten sich 2,3 Eizellen je Patient, also 138 von 452 (Tabelle 19). Die Zahl der transferierten Eizellen pro Patient ist mit jeweils 1,9 Eizellen gleich.

Tabelle 19: Auswirkungen MESA oder TESE (>15 Spermien/Gesichtsfeld) auf die geteilten Eizellen

	Menge Eizellen (Durchschnitt)	verwendbare Eizellen (Durchschnitt)	geteilte Eizellen (Durchschnitt)	Relation geteilte Eizellen/verwend- bare Eizellen (%)
MESA	252 (9,3)	215 (8,0)	70 (2,6)	33 %
TESE (>15 Spermien)	616 (10,1)	452 (7,4)	138 (2,3)	31 %

Legende: MESA = mikrochirurgische epididymale Spermienaspiration

TESE = testikuläre Spermienaspiration

Trotzdem kam es bei 75 % der MESA-Patientinnen zu einer Schwangerschaft (24 % der befruchteten Eizellen). Dagegen waren es bei TESE-Patienten nur 59 % der Patientinnen (14 % der befruchteten Eizellen)(Tabelle 20).

Tabelle 20: Auswirkungen MESA oder TESE (>15 Spermien/Gesichtsfeld) auf die Schwangerschaftsrate

	geteilte Eizellen (Durchschnitt)	transferierte Eizellen (Durchschnitt)	Schwanger- schaftsrate (%-Anteil/Pat.)	Relation Schwangerschafts- rate/transferierte Eizellen (%)
MESA	70 (2,6)	51 (1,9)	12 (75 %)	75 %
TESE (>15 Spermien)	138 (2,3)	115 (1,9)	16 (59 %)	59 %

Legende: MESA = mikrochirurgische epididymale Spermienaspiration

TESE = testikuläre Spermienaspiration

3.5.1 Befruchtete Eizellen und Schwangerschaftsraten bei Patienten mit MESA (Vergleich zum TESE-Nativpräparat allgemein)

Um Vergleiche mit der Weltliteratur anzustellen, wird hier noch ein Vergleich aller TESE-Patienten mit den MESA-Patienten aufgeführt.

Die durchschnittliche Zahl der verwendbaren Eizellen beträgt 8,0, bzw 7,2 pro Patient. Es teilten sich bei den MESA-Patienten 2,6 Eizellen und bei den TESE-Patienten 2,1 Eizellen je Patient. Das heißt, es teilten sich bei den MESA-Patienten 70 Eizellen von 215 und bei den TESE-Patienten 245 von 869 Eizellen (Tabelle 21).

Die statistische Auswertung mit dem Chi-Quadrat-Test zeigt mit $p = 0,039$ eine statistische Signifikanz, so dass bei der MESA eine bessere Befruchtungsraten erfolgte, als bei der TESE.

Tabelle 21: Auswirkung MESA oder TESE (alle Patienten) auf die geteilten Eizellen

	Menge Eizellen (Durchschnitt)	Verwendbare Eizellen (Durchschnitt)	Geteilte Eizellen (Durchschnitt)	Relation geteilte Eizellen/verwend- bare Eizellen (%)
MESA	252 (9,3)	215 (8,0)	70 (2,6)	33 %
TESE	1195 (10,3)	869 (7,2)	245 (2,1)	28 %

Legende: MESA = mikrochirurgische epididymale Spermienaspiration

TESE = testikuläre Spermienaspiration

Es wurden 10 Patientinnen nach MESA schwanger, was 55 % der Patientinnen entspricht und 24 % der transferierten Eizellen. Nach TESE wurden 28 Patientinnen schwanger, dies entspricht 21 % der Patientinnen und 10 % der geteilten Eizellen (Tabelle 22).

Tabelle 22: Auswirkungen MESA oder TESE (alle Patienten) auf die Schwangerschaftsrate

	Geteilte Eizellen (Durchschnitt)	Transferierte Eizellen (Durchschnitt)	Schwangerschafts rate (%- Anteil/Pat.)	Relation Schwangerschafts rate/transferierte Eizellen (%)
MESA	70 (2,6)	51 (1,9)	12 (75 %)	33 %
TESE	245 (2,1)	206 (1,8)	21 (18 %)	10 %

Legende: MESA = mikrochirurgische epididymale Spermienaspiration

TESE = testikuläre Spermienaspiration

3.6 Einfluss verschiedener Risikofaktoren des Mannes auf die Befruchtungsrate

Da wir die Patienten zum einzeitigen oder zweizeitigen Vorgehen vorselektiert haben, möchten wir hier noch untersuchen, ob die Risikofaktoren Grunderkrankungen, Nikotinkonsum, geringes Hodenvolumen oder erhöhtes FSH einen Einfluss auf die Befruchtungsrate darstellen. Zusätzlich untersuchen wir noch den Einfluss des Alters auf die Befruchtungsrate. Ob Patienten mit Kryptozoospermie eine bessere Befruchtungsrate aufweisen als die mit Azoospermie wird zusätzlich untersucht.

Die Zahl der Schwangerschaften werden hier nicht mehr untersucht, da wie bei den obigen Untersuchungen nachgewiesen wurde, dass zu viele Einflussfaktoren der Frau zum tragen kommen, um aussagekräftige Untersuchungsergebnisse zu erhalten.

3.6.1 Einfluss der Grunderkrankung des Hodens (Varikozele und Kryptorchismus) auf die Befruchtungsrate

Es waren 13 Patienten mit Varikozele. Diese unterzogen sich 26 Befruchtungszyklen. Es standen 249 Eizellen zur Verfügung, davon wurden 199 verwendet und 41 Eizellen teilten sich. Bei den 14 Patienten mit Kryptorchismus waren es 23 Befruchtungszyklen, davon wurden 170 Eizellen befruchtet und 45 Eizellen teilten sich (Tabelle 23).

Tabelle 23: Einfluss von Varikozele und Kryptorchismus auf die Befruchtungsrate

	Menge Eizellen (Durchschnitt)	Verwendbare Eizellen (Durchschnitt)	Geteilte Eizellen (Durchschnitt)
Varikozele	249 (9,6)	199 (7,7)	41 (1,6)
Kryptorchismus	227 (9,9)	170 (7,4)	45 (1,9)

Die statistische Auswertung mit dem Chi-Quadrat-Test zeigt mit $p = 0,229$ keine statistische Relevanz. Das heißt, Kryptorchismus oder Varikozele haben keinen Einfluss auf die Befruchtungsrate der Eizellen.

3.6.2 Einfluss des Nikotinkonsums auf die Befruchtungsrate

Bei 11 Patienten wurde ein Nikotinkonsum angegeben. Diese Patienten wurden in 15 Zyklen behandelt. Von 148 Eizellen konnten 117 verwendet werden. Davon teilten sich 31 Eizellen (Tabelle 24).

Tabelle 24: Einfluss von Nikotinkonsum auf die Befruchtungsrate

	Menge Eizellen (Durchschnitt)	Verwendbare Eizellen (Durchschnitt)	Geteilte Eizellen (Durchschnitt)
Kein Nikotinkonsum	967 (7,3)	635 (4,8)	284 (2,2)
Nicotinkonsum	148 (9,9)	117 (7,8)	31 (2,1)

Auch hier zeigt die statistische Auswertung mit dem Chi-Quadrat-Test mit $p = 0,260$ keinen negativen Einfluss auf die Befruchtungsrate.

3.6.3 Einfluss von erhöhten FSH-Werten auf die Befruchtungsrate

42 Patienten hatten einen normalen FSH-Wert, bei 31 Patienten waren die Werte erhöht. Die 42 Patienten unterzogen sich 86 Befruchtungszyklen. Dabei wurden 654 Eizellen befruchtet, 213 davon teilten sich. Bei erhöhten FSH-Werten wurden 57 Befruchtungszyklen durchgeführt, 430 Eizellen befruchtet und 102 teilten sich (Tabelle 25).

Tabelle 25: Einfluss von FSH-Werten auf die Befruchtungsrate

	Menge Eizellen (Durchschnitt)	Verwendbare Eizellen (Durchschnitt)	Geteilte Eizellen (Durchschnitt)
FSH normal	863 (10,0)	654 (7,6)	213 (2,5)
FSH erhöht	584 (10,2)	430 (7,5)	102 (1,8)

Legende: FSH = Follikelstimulierungshormon

Der Chi-Quadrat-Test zeigt mit $p = 0,387$ keinen statistisch signifikanten Einfluss von erhöhten FSH-Werten auf die Befruchtungsraten.

3.6.4 Einfluss vom Hodenvolumen auf die Befruchtungsrate

Das Hodenvolumen wurde unter 12 ml als erniedrigt definiert. Es fanden 39 Zyklen bei normalem Hodenvolumen statt. Davon kam es bei 399 verfügbaren Eizellen zu 311 Befruchtungen. Bei 38 Zyklen war das Hodenvolumen einseitig erniedrigt, 394 Eizellen wurden befruchtet und 299 teilten sich. 67 Zyklen wurden bei erniedrigtem Hodenvolumen durchgeführt, dabei wurden 604 Eizellen befruchtet. Es teilten sich 474 Eizellen (Tabelle 26).

Tabelle 26: Einfluss vom Hodenvolumen auf die Befruchtungsrate

Hodenvolumen	Menge Eizellen (Durchschnitt)	Verwendbare Eizellen (Durchschnitt)	Geteilte Eizellen (Durchschnitt)
beidseits normal	416 (10,7)	399 (10,2)	311 (8,0)
eine Seite niedrig	409 (10,8)	394 (10,4)	299 (7,9)
beidseits niedrig	622 (9,3)	604 (9,0)	474 (7,1)

Auch hier zeigt sich im Chi-Quadrat-Test mit $p = 0,121$ keine statistische Relevanz vom Einfluss des Hodenvolumens auf die Befruchtungsrate.

3.6.5 Einfluss der Azoospermie versus Kryptozoospermie auf die Befruchtungsrate

Da bei der Kryptozoospermie noch Zellen unterschiedlichen Reifegrades im Spermogramm zu finden sind, dagegen bei der Azoospermie keine Zellen mehr vorhanden sind, wollten wir wissen, ob diese Unterschiede einen Einfluss auf die Befruchtungsrate haben.

Es waren 67 Patienten mit Azoospermie, dabei wurden 131 Befruchtungszyklen durchgeführt. Von 985 Eizellen kam es bei 292 zu einer Befruchtung. 6 Patienten hatten eine Kryptozoospermie in der Anamnese. Es wurden 12 Zyklen mit 99 Eizellen durchgeführt, davon teilten sich 23 (Tabelle 27).

Tabelle 27: Einfluss von Azoospermie versus Kryptozoospermie auf die Befruchtungsrate

	Menge Eizellen (Durchschnitt)	Verwendbare Eizellen (Durchschnitt)	Geteilte Eizellen (Durchschnitt)
Azoospermie	1326 (10,1)	985 (7,5)	292 (2,2)
Kryptozoospermie	121 (10,1)	99 (8,3)	23 (1,9)

Der Chi-Quadrat-Test mit $p = 0,085$ zeigt keinen statistisch signifikanten Unterschied auf die Rate der Eizellteilung, ob eine Azoospermie oder eine Kryptozoospermie bestand.

3.6.6 Einfluss des Alters des Mannes auf die Befruchtungsrate

Die Einteilung des Alters erfolgte in 10-Jahres-Schritten. Es waren 11 Patienten unter 30 Jahren, bei 22 Zyklen teilten sich von 174 Eizellen 47. Bei den 45 Patienten zwischen 30 und 40 Jahren erfolgten 92 Befruchtungszyklen mit 670 Eizellen. Davon teilten sich 190 Eizellen. Die 14 Patienten zwischen 40 und 50 Jahren unterzogen sich 24 Befruchtungszyklen, 269 Eizellen standen zur Verfügung, 53 teilten sich. Bei den 3 Patienten über 50 Jahren wurden in 6 Zyklen 33 Eizellen befruchtet, wobei sich 18 teilten (Tabelle 28).

Tabelle 28: Einfluss des Alters des Mannes auf die Befruchtungsrate

Alter Mann	Menge Eizellen (Durchschnitt)	Verwendbare Eizellen (Durchschnitt)	Geteilte Eizellen (Durchschnitt)
Unter 30 Jahren	267 (12,1)	174 (7,9)	47 (2,1)
30 – 39 Jahre	895 (9,7)	670 (7,3)	190 (2,1)
40 – 49 Jahre	269 (11,2)	207 (8,6)	53 (2,2)
Ab 50 Jahre	44 (7,3)	33 (5,5)	18 (3,0)

Hier zeigte die Statistik ein überraschendes Ergebnis. Mit einer Signifikanz von $p = 0,009$ im Chi-Quadrat-Test zeigte sich mit zunehmendem Alter ein besseres Befruchtungsergebnis.

4. Diskussion

4.1 Allgemeines

Künstliche Befruchtung in Verbindung mit der intrazytoplasmatischen Spermieninjektion wurde zum Durchbruch für jene Patientenpaare, denen mit konventioneller IVF aufgrund schlechter Samenparameter bisher nicht geholfen werden konnte. Die ICSI ist eine effektive Technik, um gute Fertilisierungs- und Schwangerschaftsraten bei der Motilität und Morphologie zu erreichen (43, 60).

Die MESA und die TESE mit anschließender ICSI geben Paaren, die noch vor einigen Jahren als unfruchtbar galten, die Möglichkeit, ein eigenes Kind zu bekommen. Die Indikation zur MESA und TESE liegt dann vor, wenn andere weniger invasive Schritte zur Spermengewinnung nicht existieren.

Da die Fertilisierungs- bzw. die Schwangerschaftsraten laut Literatur zwischen 50-60% bzw. 20-30% liegen (4, 9, 27, 52, 77) liegt es nahe, in den Fällen, in denen die Spermien operativ gewonnen werden müssen, das MESA- und TESE-Material zu kryokonservieren, um mehrere Befruchtungszyklen stattfinden zu lassen. In unserem Kollektiv liegt die Fertilisierungsrate bei 34% und die Schwangerschaftsrate bei 27%.

Bevor nun Vergleiche mit anderen Studien angestellt werden, muss noch erklärt werden, weshalb oft sehr große Unterschiede in den Ergebnissen der verschiedenen Studien, auch im Vergleich mit unseren Zahlen vorliegen.

Ein ICSI-Zyklus wird bei uns wie folgt definiert: Alle befruchteten Eizellen aller Paare wurden addiert und durch die Zahl der Paare dividiert, so dass ein prozentualer Wert aller Paare zustande kommt. Das selbe Verfahren wurde bei der Schwangerschaftsrate angewandt. In anderen Studien wird meist das einzelne Paar betrachtet und entweder eine oder keine Befruchtung/Schwangerschaft gezählt, egal wie viele Eizellen vorhanden waren. Das heißt, bei uns wird die Fertilisationsrate pro Eizelle definiert, in den meisten anderen Studien pro ICSI-Zyklus.

Zur besseren Erklärung ein Beispiel:

Paar 1: 00000 (5 Eizellen, 2 befruchtet) = positiver Zyklus

Paar 2: 000 (3 Eizellen, 0 befruchtet) = negativer Zyklus

Paar 3: 00000000 (8 Eizellen, 4 befruchtet) = positiver Zyklus

Fremdliteratur: 2 von 3 Befruchtungen = 66 %

Eigene Ergebnisse: 6 von 16 Befruchtungen = 37 %

Somit ist es manchmal nicht möglich, die Zahlen der einzelnen Studien zu vergleichen.

4.2.1 Vergleich der einzeitigen und zweizeitigen Gruppe

Wie im Kapitel Material und Methodik erklärt, kamen die ein- und zweizeitigen Gruppen zustande. Trotz Vorselektion waren die Gruppen vergleichbar.

Das Durchschnittsalter der Frauen betrug 31,2 Jahre in der einzeitigen und 31,9 Jahre in der zweizeitigen Gruppe. Die Anzahl der befruchtungsfähigen Eizellen war mit 573 in der einzeitigen und 511 in der zweizeitigen Gruppe ebenfalls vergleichbar.

Auch die Gruppe der Männer unterschied sich kaum. Das Durchschnittsalter lag bei 34,2 Jahren in der einzeitigen und bei 36,1 Jahren in der zweizeitigen Gruppe. Das Hodenvolumen, FSH, LH und Prolaktin waren in beiden Gruppen vergleichbar. Einzig der Testosteronwert unterschied sich mit 208 ng/dl in der einzeitigen und mit 400 ng/dl in der zweizeitigen Gruppe deutlich. Die Gruppen differierten also nahezu nur bei den Risikofaktoren.

4.2.2 Auswirkungen der Vorselektion der Patienten in die ein- und zweizeitige Gruppe

Die Vorselektion der Patientengruppen zeigte sowohl in den Nativpräparaten, als auch in der Histologie eindeutige Ergebnisse. Die zweizeitige Gruppe hatte sowohl im Nativpräparat als auch in der Histologie deutlich bessere Werte.

So war im Nativpräparat die Anzahl der Patienten mit weniger als einem Spermium pro Gesichtsfeld in der einzeitigen Gruppe mit 49 % sehr hoch. Dagegen hatten 46 % der Männer in der zweizeitigen Gruppe über 15 Spermien pro Gesichtsfeld (Tabelle 29).

Tabelle 29: Vergleich der Nativpräparate (Spermien pro Gesichtsfeld)

	<1 Spermium	< 5 Spermien	> 15 Spermien
Einzeitig	49 %	27 %	24 %
Zweizeitig	34 %	20 %	46 %

In der zweizeitigen Gruppe hatten 26 % eine gute Spermio-genese, bei 48 % war die Spermio-genese eingeschränkt und bei 26 % lag ein Spermato-genese-arrest oder ein Sertolli-cell-only-Syndrom vor (Tabelle 30).

Tabelle 30: Vergleich der histologischen Befunde (Spermiogenese)

	ohne Befund	Spermiogenese 20-70 %	Spermatogenese- arrest
Einzeitig	6 %	58 %	36 %
Zweizeitig	26 %	48 %	26 %

4.2.3 Kryokonservierung des MESA- und TESE -Materials

Das Problem der Kryokonservierung liegt darin, dass oftmals vorher motile Spermien durch das Auftauen zugrunde gehen (31, 32, 37, 46, 84).

In unserer Studiengruppe konnte bei 11 von 52 Patienten, die vor der Kryokonservierung motile Spermien aufwiesen, nachher keine oder keine überlebenden Spermien gefunden werden.

Die Teilungsrate der Eizellen, die mit „frischem“ MESA/TESE-Material liegt bei 30 % (174 von 573 Eizellen), die der kryokonservierten liegt bei 28 % (141 von 511 Eizellen). Es wurden in der einzeitigen Gruppe 124 Eizellen transferiert und es kam zu einer Schwangerschaftsrate von 23,4 %. In der zweizeitigen Gruppe wurden 133 Eizellen transferiert. Die Schwangerschaftsrate lag bei vergleichbaren 22,9 %.

Mit diesen Zahlen lässt sich sagen, dass bei ausreichender Spermienzahl die Methode der Befruchtung (einzeitig oder zweizeitig) egal ist. Allerdings muss in Betracht gezogen werden, dass wie oben erwähnt, bei 11 Patienten nach dem Auftauen keine Spermien mehr gefunden werden konnten. Diese Patienten sind in den oben genannten Zahlen nicht aufgeführt. Außerdem teilten sich mit den kryokonservierten Spermien weniger Eizellen. Dies kann daran liegen, dass diese Spermien die Kryokonservierung nicht überlebt haben, was bei den nicht motilen Spermien nicht auftrat.

Bei diesem Ergebnis könnte davon ausgegangen werden, dass es nicht ratsam ist, nur auf die zweizeitige Methode zurückzugreifen, sondern primär beide Partner am gleichen Tag zu operieren, um die Gefahr des Spermienverlusts bei ohnehin geringer Spermienzahl zu vermeiden.

Doch zeigen sich zum gegenwärtigen Zeitpunkt noch widersprüchliche Ergebnisse (Tabelle 31). Oates et al (56), so wie Wu et al. (93) konnten in ihren Studien keinen signifikanten Unterschied der Befruchtungs- und Schwangerschaftsrate nach Kryokonservierung aufzeigen. (56). Bei Sperling et al. traten deutlich mehr Befruchtungen und Schwangerschaften mit frischem Material auf (79), Devroey ermittelte eine verminderte Teilungsrate der Oozyten mit kryokonservierten Spermatozoen, wobei wie in unserem Ergebnis die Fertilisationsrate gleich blieb (10). Bei Ben Rhouma war die

Befruchtungsrate bei kryokonserviertem und frischem Material vergleichbar, die Schwangerschaftsrate lag jedoch beim kryokonservierten Material mit 5 % unter der mit frischem Material (4).

Eine Studie von Fukunaga zeigt, dass die Schwangerschaftsrate von aufgetauten Spermien bei nichtobstruktiver Azoospermie signifikant geringer war, als bei obstruktiver Azoospermie (25). So lag diese bei nicht-obstruktiver Azoospermie bei 9,1% und bei obstruktiver bei 46,2 %. Ansonsten stellte er keinen signifikanten Unterschied zwischen frischen und gefrorenen Spermien fest.

Auch Wald et al (88), sowie Konc et al (40) untersuchten die Befruchtungs- und Schwangerschaftsrate von frischen und kryokonservierten Spermien. Bei beiden zeigte sich keinerlei Unterschied zwischen den zwei Studiengruppen (40, 88).

Hauser et al untersuchte die Motilität der Spermien, sowie die Befruchtungsrate bei frischen und kryokonserviertem ICSI-Material. Dabei fand er heraus, dass die Motilität der Spermien nach der Kryokonservierung deutlich eingeschränkt war. Doch war die Befruchtungsrate in beiden Gruppen vergleichbar.(30)

Wood et al (92) verglich die Befruchtungs- und Schwangerschaftsrate von Nebenhoden- und Hodenmaterial, sowie von frischem und kryokonserviertem Material. Er fand keinen Unterschied in der Befruchtungs- und Schwangerschaftsrate des Nebenhodenmaterials nach Kryokonservierung im Vergleich zum frischen Material. Doch war die Befruchtungsrate von kryokonserviertem Hodenmaterial deutlich schlechter als die des frischen. Die Schwangerschaftsrate war jedoch vergleichbar.

Tabelle 31: Vergleich der Ergebnisse durch kryokonservierte und direkte Befruchtung

	Kryokonserviert			Direkte Befruchtung		
	Zyk- len	Befruchtungs- rate	Schwanger- schaftsrate	Zyk- len	Befruchtungs- rate	Schwanger- schaftsrate
Oates (56)	11	30 % / EZ	9 % / EZ	18	20 % / EZ	0 % / EZ
Sperling (79)	28		39,2 % / Zy	69		20,2 % / Zy
Ben Rhouma (4)	28	61,7 % / Zy	25 % / Zy	32	61,9 % / Zy	29,1 % / Zy
Fukunaga (25)	24	54,5 % / Zy	29,2 % / Zy	28	58,1 % / Zy	32,1 % / Zy
Wald (88)	280	60 % / Zy	27,3 % / Zy	38	55,1 % / Zy	27 % / Zy
Hauser (30)	13	41,1 % / Zy	15,4 % / Zy	13	44,9 % / Zy	18,2 % / Zy
Wood (92)	18	52 % / Zy	27 % / Zy	18	71 % / Zy	11 % / Zy
Eigene Ergebnisse	79	28 % / EZ	23,4 % / EZ	64	30 % / EZ	22,9 % / EZ

Legende: EZ = Eizellen

Zy = Zyklen

4.3 Einfluss präoperativer Parameter auf das Befruchtungsergebnis

Bisher sind keine Faktoren bekannt, die das Ergebnis der ICSI-Behandlung vorhersagen könnten. In mehreren Studien wurde versucht, einen Zusammenhang zwischen erhöhtem FSH-Spiegel, dem tesikulären Volumen und dem Biopsieresultat einen Zusammenhang zu finden (10, 34, 54, 68, 70). Doch konnten in keiner von ihnen prädiktive Faktoren gefunden werden. Diese Parameter werden in unserer Studie in den folgenden Kapiteln erörtert. Zuerst betrachteten wir andere eventuell wichtigen Risikofaktoren, wie den Kryptorchismus und die Varikozele. Dieser Untersuchungsansatz entstand auf der Basis der Daten unserer vorselektierten Patienten, da bei unseren zweizeitig operierten Patienten weniger Risikofaktoren vorlagen und dadurch bessere Nativ- und Histologiepräparate zu finden waren. Außerdem wurden Voroperationen direkt am Hoden als beeinflussenden Faktor betrachtet, da von Schütte (67) große Parenchymnarben nach TESE beschrieben wurden.

4.3.1 Einfluss der Risikofaktoren auf das Nativpräparat

Von den 121 Männern litten 14 an einem Kryptorchismus und 13 an einer Varikozele. Im Vergleich mit dem Nativpräparat aller Männer, ausgeschlossen derer mit Kryptorchismus oder Varikozele) konnte ein deutlich schlechteres Ergebnis der Präparate nachgewiesen werden. So hatten insgesamt 25 % aller Männer weniger als 1 Spermium pro Gesichtsfeld im Nativbefund. Dagegen waren es 61 % bei den Männern mit Kryptorchismus und 70 % bei denen mit einer Varikozele. Im Hinblick auf dieses Ergebnis kann behauptet werden, dass der Kryptorchismus, sowie die Varikozele, als wichtiger Vorhersagewert für den Erfolg der MESA/TESE Spermien zu finden ist.

Leider konnte trotz intensiver Recherche keine Bestätigung dieses Effekts in der Literatur gefunden werden, da sich die publizierten Studien hauptsächlich auf die histologischen Befunde stützten und die Nativpräparate außer acht lassen.

4.3.2 Einfluss der Risikofaktoren auf die histologischen Befunde

Überraschend anders war das Ergebnis jedoch im Hinblick auf die histologischen Befunde. Nur 34 % aller Patienten ohne Kryptorchismus und ohne Varikozele wiesen eine normale Spermio-genese auf. Bei den Patienten mit Kryptorchismus waren es 35 % und bei denen mit Varikozele 13 %. Die Spermio-genese lag bei 40 % aller Patienten zwischen 20-70%, beim Kryptorchismus bei 39 % und bei der Varikozele bei 31 %. Ein Spermatogenese-arrest lag bei 26 % der Patienten vor. Bei den Patienten mit Kryptorchismus waren es vergleichbare 26 % mit Spermatogenese-arrest. Mit 56 % Spermatogenese-arrest zeigte die Varikozele den schlechtesten Wert. Hier kann gesagt werden, dass im Vergleich zum Gesamtpatientengut der Kryptorchismus keinen Einfluss als Risikofaktor hat. Die Varikozele jedoch hat im Bezug auf die histologischen Befunde deutlich schlechtere Werte.

In einer Studie von Kadioglu et al zeigen 79 % der Patienten mit Varikozele einen normalen histologischen Befund. Von den restlichen 21 % hatten 60 % eine eingeschränkte Spermio-genese, 40% wiesen einen Spermatogenese-arrest auf (33)(Tabelle 32). Diese Daten weichen deutlich von den von uns gefundenen ab. Dies liegt daran, dass Kadioglu Patienten in seiner Studie hatte, die nach Varikozelen-OP auf natürliche Weise Kinder zeugen konnten, sich also keiner TESE unterziehen mussten. Zudem ist es fraglich, welcher Grad der Veränderung der Varikozele bei den Patienten von Kadioglu eingetreten war.

Foresta et al untersuchte Patienten mit Kryptorchismus, (22) die sich einer TESE unterziehen mussten. Dort fand er bei 50 % eine normale und bei 26 % eine eingeschränkte Spermio-genese. 24 % hatten einen Spermatogenese-arrest. Bei Fenichel et al waren die Ergebnisse bedeutend schlechter, da nur 7 % der Patienten eine normale Spermio-genese aufwiesen und bei 40 % war sie eingeschränkt (19). Ein Spermatogenese-arrest trat bei 53 % der Patienten auf (Tabelle 33).

Warum das Ergebnis bei den Patienten mit Kryptorchismus viel besser war als die der Nativpräparate und der histologischen Befunde der anderen Patienten blieb trotz intensiver Prüfung ungeklärt. Ebenfalls unerklärlich ist die Abweichung der Angaben in anderen Studien. Die einzige mögliche Erklärung könnte nach meiner Ansicht im unterschiedlichen Studienaufbau mit entsprechend geringeren oder höheren Fallzahlen liegen.

Tabelle 32: Einfluss des Kryptorchismus auf die histologischen Befunde

	Anzahl Patienten	ohne Befund.	Spermiogenese 20-70 %	Spermatogenese- arrest
Eigene Ergebnisse	14	35 %	39 %	26 %
Foresta (22)	42	50 %	26 %	24 %
Fenichel (19)	15	7 %	40 %	53 %

Tabelle 33: Einfluss der Varikozele auf die histologischen Befunde

	Anzahl Patienten	ohne Befund.	Spermiogenese 20-70 %	Spermatogenese- arrest
Eigene Ergebnisse	13	13 %	31 %	56 %
Kadioglu (33)	19	79 %	13 %	8 %

4.3.3 Einfluss der Voroperationen auf den Nativbefund

Manning et al. (48) sowie Schlegel et al (64) konnten nachweisen, dass es bei wiederholter TESE zu Minderperfusionen und Testosteronabfällen gekommen ist. Ebenfalls wurde von Schütte (67) beschrieben, dass es in Tierexperimenten zu großen Parenchymnarben gekommen ist, die dreimal so groß waren, wie die entnommenen Biopsien. Dies ist vor allem bei geringem Hodenvolumen zu beachten.

In Hinblick auf diese Studien wäre es naheliegend, alle Patienten mit Voroperationen am Hoden in die Gruppe derer mit speziellen Risikofaktoren aufzunehmen, da es wahrscheinlich ist, dass diese Patienten nur noch weniger verwertbares Hoden-Material besitzen.

Friedler et al (23) untersuchte, ob eine mehrmalige TESE, also mehrere Voroperationen am Hoden, auch noch zum Erfolg führen kann. Mehrere Operationen waren notwendig, wenn das komplette TESE-Material aufgebraucht war oder beim ersten Versuch kein Spermiennachweis möglich war. Wurden beim ersten Versuch keine Spermien gefunden, konnten oft beim zweiten und dritten TESE-Versuch Spermien zur ICSI gefunden und erfolgreiche Befruchtungszyklen durchgeführt werden. Dies zeigt, dass nach Voroperationen nicht zwingend eine Verschlechterung der Spermienqualität eintreten muss.

Vernaev et al (87) untersuchte ebenfalls Patienten mit mehrmaliger TESE. Auch hier konnten erfolgreiche Zyklen durchgeführt werden, selbst bei der sechsten TESE - Operation konnte noch genügend Material gefunden werden.

In unseren Ergebnissen zeigt sich, dass die Anzahl der Voroperationen keinerlei Einfluss auf den Nativbefund hat. Zum einen weichen die verschiedenen Nativbefunde des einzelnen Patienten kaum von seinen vorhergegangenen ab, zum anderen sind die Befunde im Vergleich zum Gesamtpatientenkollektiv nicht schlechter. So haben zum Beispiel 38 % des Gesamtkollektivs weniger als ein Spermium/Gesichtsfeld im Nativbefund, dagegen sind es bei den Patienten mit Voroperationen 26 %. 24 % aller Patienten haben weniger als 5 Spermien, dagegen 37 % derer mit Voroperationen. Mehr als 15 Spermien sind bei 38 % aller Patienten vorhanden und 37 % bei denen mit Voroperationen.

Der Vergleich der Histologie zeigt in unserer Studie ebenfalls keinen Unterschied zwischen voroperierten Patienten und nicht voroperierten. So haben 34 % aller Patienten eine günstige Histologie, bei den Voroperierten sind es 21 %. Die Spermiogenese zwischen 20-70% liegt bei den voroperierten Patienten mit 77% deutlich höher, als bei den nicht voroperierten Patienten mit 40%. 2 % der Voroperierten und 26 % aller nicht voroperierten Patienten haben einen Spermatogenese-arrest.

Fraglich ist, ob hier schon eine Vorselektion stattgefunden hat. So könnte es sein, dass bereits voroperierte Patienten mit sehr schlechten Nativ- und Histologiebefunden nicht mehr zu weiteren TESE- Operationen erschienen sind. Dies würde erklären, warum die Befunde so gut sind und kein Nachweis von Parenchymschäden oder zu geringe Hodenvolumina vorhanden sind. Ebenfalls wurden die Zeitabstände zwischen den Operationen in dieser Studie nicht berücksichtigt. Dies ist relevant, da bei kürzeren OP-Zeitabständen eventuell mehr Narbengewebe mit daraus resultierender schlechterer Histologie vorhanden ist, wie Schütte (67) beschrieb.

4.4 Befruchtete Eizellen und Schwangerschaftsraten bei Patienten mit TESE

4.4.1 Auswirkung des Nativpräparates auf die Zahl der befruchteten Eizellen und die Schwangerschaftsraten

In der Auswertung der Nativpräparate traten überraschende Ergebnisse auf. So teilten sich zwar bei schlechten Nativpräparaten weniger Eizellen als bei guten Nativpräparaten, doch die Schwangerschaftsrate war bei schlechten Nativpräparaten vergleichbar.

So liegt die Anzahl geteilter Eizellen bei weniger als einem Spermium pro Gesichtsfeld im Nativpräparat bei 21 %, bei weniger als fünf Spermien pro Gesichtsfeld im Nativpräparat

sind es 39 % und bei mehr als 15 Spermien pro Gesichtsfeld im Nativpräparat teilten sich 31 %. Statistisch gesehen liegt mit $p = 0,521$ (Chi-Quadrat-Test) kein Unterschied zwischen den Teilungsraten vor.

Die Schwangerschaftsrate wurde auf die transferierten Eizellen bezogen. Bei 25 % der Patienten mit weniger als einem Spermium pro Gesichtsfeld im Nativpräparat trat eine Schwangerschaft ein, das heißt, nach 44 Eitransfers kam es zu 11 Schwangerschaften. Mit 15 % bei weniger als 5 Spermien pro Gesichtsfeld im Nativpräparat liegt ein deutlich schlechterer Wert vor. (34 Eitransfers und 5 Schwangerschaften). Die Schwangerschaftsrate bei mehr als 15 Spermien pro Gesichtsfeld im Nativpräparat kann man mit ihren 25 % mit denen des schlechten Nativpräparates vergleichen. Hier kam es zu 11 Schwangerschaft nach 61 Eintransfers.

Vergleichbare Studien die diese Parameter analysierten, konnten nicht gefunden werden. Die meisten Studien beschäftigen sich mit der Auswirkung der Histologieresultate auf die Schwangerschaftsrate. Dies soll im nächsten Kapitel besprochen werden. Doch beschäftigten sich einige Autoren mit dem Zusammenhang der Morphologie der Spermien, das heißt, mit dem Vorhandensein normal geformter Spermien und deren Befruchtungsraten.

Da bei uns zumeist normal geformte Spermien verwendet wurden, können diese Studien als Vergleichsparameter herangezogen werden.

Tabelle 34: Einfluss des Nativpräparates/der Morphologie auf die Befruchtungsraten der Eizellen

	> 15 Spermien sehr gut	< 5 Spermien/gut	< 1 Spermium/schlecht
Eigene Ergebnisse	31,0 % / Eizelle	39,0 % / Eizelle	21,0 % / Eizelle
Svalander, 1996 (81)	61,6 % / Zyklus	66,8 % / Zyklus	61,9 % / Zyklus
Küpker, 1996 (39)	58,7 % / Zyklus	51,5 % / Zyklus	65,9 % / Zyklus

Tabelle 35: Einfluss des Nativpräparates/der Morphologie auf die Schwangerschaftsrate:

	> 15 Spermien/sehr gut	< 5 Spermien/ gut	< 1 Spermium/schlecht
Eigene Ergebnisse	25,0 % / Eizelle	15,0 % / Eizelle	25,0 % / Eizelle
Svalander, 1996 (81)	9,9 % / Zyklus	13,0 % / Zyklus	14,9 % / Zyklus

Svalander et al (81) teilten in ihrer Studie die morphologischen Kriterien in sehr gute (>14 % normale Spermatozoen), gute (1-14 % normale Spermatozoen) und in schlechte (<4 % Spermatozoen) Kategorien ein. Die Anzahl der geteilten Eizellen lag dort mit sehr guter Morphologie bei 61,6 %, bei guter Morphologie bei 66,8 % und bei schlechter

Morphologie bei 61,9 %. Die Schwangerschaftsrate weist 9,9 % bei sehr guter, 13 % bei guter und 14,9 % bei schlechter Morphologie auf. Hier ist auffallend, dass bei schlechter Morphologie eine bessere Schwangerschaftsrate auftritt, als bei sehr guter (Tabelle 34 und 35).

Die Ergebnisse der beiden Studien zeigen, dass das Nativpräparat/Morphologie keinen Vorhersagewert auf eine eintretende Schwangerschaft hat. Die Erklärung für die Ergebnisse von Svalander ist dort die eventuell schlechte Oozytenqualität der Frau oder die Verarbeitung der Spermatozoen vom Laborpersonal. Diskutiert wird, dass bei schlechterer Morphologie sorgfältiger ausgewählt und bearbeitet wird, als bei entsprechend guten Voraussetzungen. Vielleicht hat aber das Nativpräparat überhaupt keine Aussagekraft, weil der Faktor Frau eine zu große Rolle spielt.

Küpker et al (39) teilte die Morphologie der Spermien wie folgt ein: Anteil von Spermien mit normaler Morphologie: <10%, <5% und 0%. Dort ermittelte er die befruchteten Eizellen. Bei weniger als 10% Spermien mit normaler Morphologie hatte er eine Befruchtungsrate von 58,7%, bei weniger als 5% Spermien mit normaler Morphologie lag sie bei 51,5% und bei 0% Spermien mit normaler Morphologie waren es 65,9%. Somit kann man auch hier keinen Vorhersagewert der Morphologie der Spermien aufzeigen. Eine Aufschlüsselung der Schwangerschaftsrate fand in unserer Studie nicht statt.

Dafopoulos (7) untersuchte die Befruchtungsrate von motilen versus immotilen Spermien. Mit 67,8 % versus 49,8 % zeigten die immotilen Spermien eine deutlich schlechtere Befruchtungsrate.

Die schlechteren Ergebnisse in unserer Studie erklären sich durch die, wie bereits in Kapitel 4.1 beschriebenen, unterschiedlichen statistischen Auswertungen der Patientendaten.

4.4.2 Auswirkungen des histologischen Befundes auf die Zahl der befruchteten Eizellen und die Schwangerschaftsraten

Um herauszufinden, ob die histologischen Befunde einen Einfluss auf die Befruchtungsrate der Eizellen und die Schwangerschaftsrate haben, wurde auch hier der prozentuale Anteil der geteilten Eizellen im Vergleich zum histologischen Befund ausgewertet. Ebenso war das Vorgehen bei der Schwangerschaftsrate.

Auch hier kann kein Vorhersagewert zwischen gutem und schlechtem histologischem Befund auf das Ergebnis der ICSI gefunden werden. Die Teilungsrate der Eizellen bei normalem histologischem Befund liegt bei 26 %, bei der Spermiogenese zwischen 20-70%

sind es 38 % und beim Spermatogenese-arrest liegt sie bei 11 %. Bei $p = 0,268$ im Chi-Quadrat-Test zeigten diese Werte keine statistische Relevanz.

Die Schwangerschaftsrate beträgt 21 % bei normaler Spermiogenese, 10 % bei einer Spermiogenese von 20-70% und 11 % beim Spermatogenese-arrest.

Tabelle 36: Einfluss des histologischen Befundes auf die Befruchtungsrate der Eizellen

	ohne Befund	Spermiogenese 20-70%	Spermatogenese-arrest
Eigene Ergebnisse	26,0 % / Eizelle	38,0 % / Eizelle	11,0 % / Eizelle
Tournaye (83)	62,5 % / Zyklus	67,8 % / Zyklus	44,9 % / Zyklus
Harrer (29)	47,0 % / Zyklus	50,0 % / Zyklus	21,0 % / Zyklus

Tabelle 37: Einfluss des histologischen Befundes auf die Schwangerschaftsrate

	ohne Befund	Spermiogenese 20-70%	Spermatogenese-arrest
Eigene Ergebnisse	21,0 % / Eizelle	10,0 % / Eizelle	11,0 % / Eizelle
Tournaye (83)	21,6 % / Zyklus	22,5 % / Zyklus	16,1 % / Zyklus
Harrer (29)	40,0 % / Zyklus	50,0 % / Zyklus	66,3 % / Zyklus

Um bessere Vergleichswerte zu finden, wurden die histologischen Befunde anderer Studien wie in unserer Studie zusammengefasst, so dass nur drei Vergleichshistologien darzustellen sind (Tabelle 36 und 37).

Tournaye et al (83) veröffentlichte 1996 eine Studie mit 124 Männern, die sich einer TESE unterzogen und schlüsselte die Befruchtungsergebnisse nach dem jeweiligen histologischen Befund auf. Wie die Tabelle oben zeigt, liegt bei ihm Befruchtungs- und Schwangerschaftsrate beim Spermatogenese-arrest deutlich unter denen mit besserem histologischen Befund.

Auch bei Harrer (29) ist die Befruchtungsrate bei schlechtem histologischen Befund mit 21 % geringer als bei gutem mit 47 %. Jedoch liegt die Schwangerschaftsrate beim Spermatogenese-arrest mit 66,3 % deutlich über den Werten derer mit gutem histologischen Befund. Es ist außerdem überraschend, dass die Schwangerschaftsraten in dieser Studie so hoch sind. Vielleicht liegt das an der geringeren Fallzahl im Vergleich zu unserer Studie, da nur 22 Paare behandelt werden konnten. Hier könnte eine Vorselektion die Ergebnisse beeinflusst haben.

Tournaye et al (83) erklärt mögliche Differenzen zwischen schlechtem histologischen Befund und guter Befruchtungsrate damit, dass oft nur eine Hodenbiopsie histologisch

untersucht wird, aber mehrere Biopsien entnommen werden, in denen die histologischen Befunde eventuell andere Ergebnisse zeigen würden.

Diese breite Varianz der Resultate deutet darauf hin, dass der histologische Befund nur einen Einflussparameter darstellt, der in einem multifaktoriellen Geschehen nicht unbedingt nachvollziehbar sein muss.

4.5 Befruchtete Eizellen und Schwangerschaftsraten bei Patienten mit MESA

Um einen Vergleich zwischen den Patienten, die nur eine MESA bekommen haben, und denen, die sich einer TESE unterzogen haben, stellen zu können, wurden die MESA-Patienten gesondert betrachtet.

Bei 16 Patienten wurden 22 Befruchtungszyklen durchgeführt. Es konnten 215 Eizellen verwendet werden. Davon teilten sich 33 % nach Befruchtung. Es wurden 51 Eizellen transferiert, was 73 % der geteilten Eizellen entspricht. Daraus entstanden zwölf Schwangerschaften. Das heißt, 75 % der Patientinnen wurden schwanger und 24 % der transferierten Eizellen erzielten eine Schwangerschaft.

Silber et al (74) veröffentlichten 1994 einen Bericht über 17 MESA-ICSI-Zyklen in denen über eine Fertilisationsrate von 41 % und eine Schwangerschaftsrate von 47 % berichtet wurde. Tournaye et al (82) berichteten ebenfalls 1994 in ihrer Studie über 14 MESA-ICSI-Zyklen. Dort wurde eine Fertilisationsrate von 58 % und eine Schwangerschaftsrate von 35,7 % erreicht. Watkins et al (89) verglichen 1997 testikuläre mit epididymalen Spermien. In 72 MESA-ICSI-Zyklen kamen sie auf eine Fertilisationsrate von 67 %, die Schwangerschaftsrate war jedoch nur 12,5 %.

Schröder-Printzen (66) erreichte bei 33 ICSI-Zyklen mit MESA-Material eine Schwangerschaftsrate von 42,2 %. Die Fertilisationsrate wurde nicht veröffentlicht (Tabelle 38).

Tabelle 38: Vergleich verschiedener MESA-Ergebnisse

	Fertilisationsrate	Schwangerschaftsrate
Eigene Ergebnisse	33 % / Eizelle	24,0 % / Eizelle
Silber et al (74)	41 % / ICSI-Zyklus	47,0 % / ICSI-Zyklus
Tournaye et al (82)	58 % / ICSI-Zyklus	35,7 % / ICSI-Zyklus
Watkins et al (89)	67 % / ICSI-Zyklus	12,5 % / ICSI-Zyklus
Schröder-Printzen et al (66)		42,4 % / ICSI-Zyklus

Legende: MESA = mikrochirurgische epididymale Spermienaspiration

ICSI = intracytoplasmatische Spermieninjektion

4.5.1 Befruchtete Eizellen und Schwangerschaftsraten bei Patienten mit MESA im Vergleich zu TESE-Patienten

In unserem Ergebnisteil verglichen wir MESA-Patienten mit TESE-Patienten, die in ihrem Nativpräparat mehr als 15 Spermien pro Gesichtsfeld aufwiesen, um bessere Vergleiche anstellen zu können.

Bei den MESA-Patienten teilten sich 33 % der befruchteten Eizellen und 31 % waren es bei den TESE-Patienten. Schwangerschaftsrate pro transferierte Eizelle war bei der MESA 24 %, bei den TESE-Patienten waren es nur 14 %, das heißt, zehn Patientinnen wurden durch die MESA schwanger, dagegen 16 Patientinnen bei der TESE.

Nun verglichen wir noch alle TESE-Patienten mit den MESA-Patienten. Dort lag die Befruchtungsrate bei 28 % der Eizellen und die Schwangerschaftsrate bei 10 %. Beim Vergleich von MESA und TESE zeigen unsere Werte eine statistische Relevanz mit $p = 0,039$, so dass die MESA bessere Befruchtungsergebnisse ergibt, als die TESE.

Watkins et al (89) verglichen 1997, wie oben erwähnt, testikuläre mit epididymalen Spermien, das heißt, Patienten, die sich einer MESA oder einer TESE unterzogen. Seine Befruchtungsrate lag bei 67 % bei der MESA und 50 % bei der TESE. Die Schwangerschaftsrate betrug 29 % bei der MESA und 25 % bei der TESE. Dohle et al (15) berichtete 1998 über eine Befruchtungsrate von 54 % nach MESA und 36 % nach TESE. Die Schwangerschaftsrate betrug 41 % und 36 %. Silber et al fand 1995 (75) eine Fertilisierungsrate von jeweils 52 % bei der MESA und bei der TESE und eine Schwangerschaftsrate von 46 % bei MESA und 49 % bei TESE. Mansour et al (49) berichteten über eine Befruchtungsrate von 63 % und 59 %, die Schwangerschaftsrate betrug 35 % bei der MESA und 57 % bei der TESE (Tabelle 39).

Beim Vergleich der unterschiedlichen Studien muss auch hier dazugesagt werden, dass wir die Fertilisations- und Schwangerschaftsrate pro Eizelle und nicht pro ICSI-Zyklus ausgewertet haben, wie bereits im Kapitel 4.1 erklärt.

Tabelle 39: Vergleich der Befruchtungs- und Schwangerschaftsrate zwischen MESA und TESE

	Befruchtungs- rate MESA	Befruchtungs- rate TESE	Schwanger- schaftsrate MESA	Schwanger- schaftsrate TESE
Eigene Ergebnisse 1	33 % / Eizelle	31 % / Eizelle	24 % / Eizelle	14 % / Eizelle
Watkins et al (89)	67 % / Zyklus	50 % / Zyklus	29 % / Zyklus	25 % / Zyklus
Silber et al (75)	52 % / Zyklus	52 % / Zyklus	46 % / Zyklus	49 % / Zyklus
Mansour et al, (49)	63 % / Zyklus	59 % / Zyklus	35 % / Zyklus	57 % / Zyklus
Eigene Ergebnisse 2	33 % / Eizelle	28 % / Eizelle	24 % / Eizelle	10 % / Eizelle

Legende: MESA = mikrochirurgische epididymale Spermienaspiration

TESE = testikuläre Spermienaspiration

Schwarzer et al (69) fand keinen Unterschied zwischen MESA und TESE, wenn der Grund der Infertilität gleich war. Bei obstruktiver Azoospermie war die Befruchtungsrate jedoch deutlich besser als bei nichtobstruktiver Azoospermie.

Die Ergebnisse der unterschiedlichen Studien lassen keine Rückschlüsse zu, dass ein bestimmtes Verfahren eine höhere Erfolgsquote aufweist. Zwar sind die Befruchtungsraten nach MESA etwas höher als nach der TESE, jedoch bedingt eine hohe Fertilisierungsrate keine dazu proportional hohe Schwangerschaftsrate. Auch hier müssen Faktoren der Frau mit einbezogen werden. Vorteil der MESA liegt eindeutig darin, dass bei der Operation kein Hodengewebe verletzt wird und so die postoperativen Folgeerscheinungen, wie Hämatome und Narbenbildungen, oder Folgeschäden des Hodens, z.B. Hormonmangel, geringer gehalten werden können.

4.6 Einfluss verschiedener Risikofaktoren des Mannes auf die Befruchtungsrate

4.6.1 Einfluss der Grunderkrankung des Hodens (Varikozele und Kryptorchismus) auf die Befruchtungsrate

In 4.3.1 und 4.3.2 untersuchten wir bereits den Einfluss von Kryptorchismus und Varikozele auf die Histologie bzw. das Nativpräparat. Hier wollen wir untersuchen, ob bei Patienten mit einer Varikozele oder einem Kryptorchismus in der Vorgeschichte, eine Vorhersage über eine erfolgreiche Befruchtungsrate gemacht werden kann.

Es fanden 26 ICSI-Zyklen mit 199 Eizellen bei Patienten mit Varikozele statt. Davon teilten sich 41 Eizellen, was einer Befruchtungsrate von 20,6 % entspricht.

Bei Patienten mit Kryptorchismus wurden 170 Eizellen in 23 ICSI-Zyklen verwendet. Davon teilten sich 45 Eizellen. Dies entspricht einer Befruchtungsrate von 26,5 %.

In der Auswertung mit dem Chi-Quadrat-Test war mit $p = 0,229$ keine statistische Signifikanz auf den Einfluss der Grunderkrankungen Varikozele oder Kryptorchismus auf die Befruchtungsrate festzustellen.

Paasch (58) verglich in einer Studie 2004 ebenfalls die Befruchtungsrate von infertilen Patienten mit Kryptorchismus in der Vorgeschichte, mit infertilen Männern ohne Kryptorchismusanamnese. Im Gesamtkollektiv waren 10,1 % an Kryptorchismus erkrankt. Die Befruchtungsrate lag bei 20,6 %, wobei kein Unterschied vorhanden war, ob es ein uni- oder bilateraler Kryptorchismus war. Die Befruchtungsrate der anderen Patienten lag bei 46,1 %, was signifikant besser war. Er zeigte, dass ein Kryptorchismus in der Anamnese einen deutlich negativen Einfluss auf die Befruchtungsrate hat.

Raman (61) untersuchte 321 unfruchtbare Männer. Davon hatten 38 einen Kryptorchismus in der Anamnese. Von 347 Eizellen wurden 214 befruchtet, was 62 % entspricht. Bei den anderen Patienten mit nichtobstruktiver Azoospermie wurden von 1657 Eizellen 983 befruchtet. Dies entspricht einer Befruchtungsrate von 59 %, was keinen signifikanten Unterschied zu den Patienten mit Kryptorchismus aufzeigt. Zwar sind die Befruchtungsraten in dieser Studie deutlich besser als in unserer, welche aber wieder durch die unterschiedliche Auswertung der Ergebnisse zustande kommt (4.1). Doch bestätigt diese Studie unser Ergebnis insofern, als dass der Kryptorchismus keinen Einfluss auf die Befruchtungsrate hat.

Auch Vermaeue (86) fand in seiner Studie keinen Unterschied in der Befruchtungsrate zwischen Patienten mit Kryptorchismus im Vergleich mit Patienten bei denen eine nicht-obstruktive Azoospermie vorlag.

O'Brien (57) untersuchte Patienten mit Varikozele. Er fand keinen negativen Einfluss der Varikozele auf die Befruchtungs- und Schwangerschaftsrate.

4.6.2 Einfluss des Nikotinkonsums auf die Befruchtungsrate

In unserem Patientenkollektiv waren 11 Patienten, die einen Nikotinkonsum angaben. Von 117 Eizellen teilten sich 31, was durchschnittlich 2,1 Eizellen pro Patient entspricht. Bei der statistischen Auswertung mit dem Chi-Quadrat-Test zeigte sich mit $p = 0,260$ kein negativer Einfluss auf die Befruchtungsrate unter Nikotinkonsum.

Es wurden erst wenige Studien durchgeführt, die einen Einfluss des Nikotins in Verbindung mit ICSI prüften.

Zitzmann und Nieschlag (96) untersuchten den Einfluss der Rauchens auf den Erfolg von 203 ICSI-Behandlungen. Bezüglich der Fertilisation der Oozyten zeigte sich der Einflussfaktor Nikotin als nicht relevant. Jedoch wurde die Implantationsrate sowie die klinische Schwangerschaftsrate negativ durch Zigarettenrauchen seitens des potentiellen Vaters beeinflusst. Die Chance auf eine vergebliche ICSI-Behandlung war bei Rauchern gegenüber Nichtrauchern deutlich erhöht.

Eine weitere Studie von Zitzmann et al (94) bestätigte die Ergebnisse mit 957 ICSI-Zyklen, dass die Anzahl der durch Männer gerauchten Zigaretten mit dem schädlichen Einfluss auf die Schwangerschaftsrate zusammenhängt.

Diese Studien bestätigen unser Ergebnis mit dem Nikotinkonsum auf die Befruchtungsrate. Trotzdem sollte den potentiellen Vätern geraten werden, den Nikotinkonsum aufzugeben, da weitere Schäden auf Erbgut, auf die Partnerin durch Passivrauch und auf das evtl. ungeborene Kind nicht ausgeschlossen werden können, wie Zitzmann bereits bewies.

4.6.3 Einfluss von erhöhten FSH-Werten auf die Befruchtungsrate

Da das FSH einen induzierenden Einfluss auf die Spermatogenese in den Tubuli seminiferi besitzt, liegt es nahe, zu untersuchen, ob ein erhöhtes FSH mit einer niedrigen Befruchtungsrate korreliert ist.

In unserer Studiengruppe waren bei 31 Patienten die FSH-Werte erhöht. Die 31 Patienten unterzogen sich 57 Befruchtungszyklen. Von 430 Eizellen teilten sich 102. 42 Patienten

hatten einen FSH-Wert, der sich im Normbereich befand. Von 654 Eizellen teilten sich 213. In der statistischen Auswertung mit dem Chi-Quadrat-Test zeigte sich mit $p = 0,387$ keine statistische Relevanz auf die Befruchtungsrate bei erhöhten FSH-Werten. Allerdings fanden sich bei Patienten mit hohem FSH viele Patienten, bei denen überhaupt keine Spermien nachweisbar waren. Diese wurden in unserer Studie nicht berücksichtigt.

Kitamura et al (38) untersuchte den Zusammenhang vom Alter des Partners, dem FSH und dem Hodenvolumen auf eine erfolgreiche TESE und die Befruchtungsrate. Er untersuchte 44 Patienten mit nichtobstruktiver Azoospermie. Dabei fand er heraus, dass es keinen absoluten Vorhersagewert über eine Erfolgreiche TESE oder eine gute Befruchtungsrate gibt. Dies bestätigt auch unsere Ergebnisse.

Auch Tournaye et al (84) versuchte, einen Zusammenhang zwischen erhöhtem FSH und vermindertem Hodenvolumen auf eine erfolgreiche TESE/ICSI zu finden. Doch konnte auch hier kein Zusammenhang festgestellt werden. Einzig die Histopathologie stellte bei ihm einen Vorhersagewert dar. Zu dem selben Ergebnis kamen auch Seo und Ko (70), sowie Colpi et al (5) in ihren Veröffentlichungen.

Friedler et al (24) untersuchte, ob das Alter der Frau, Hoden- oder Nebenhodenmaterial, frisches oder kryokonserviertes Material und der FSH-Wert einen Einfluss auf die Befruchtungsrate haben. Einzig das höhere Alter der Frau stellte einen negativen Einfluss dar. Der FSH-Wert des Mannes zeigte keinen Zusammenhang auf die Befruchtungsrate.

Bei Zitzmann et al (95) konnte bei Patienten mit einem FSH-Wert über 20IU/l keine erfolgreiche ICSI durchgeführt werden. Somit deuten sie einen erhöhten FSH-Wert als Vorhersagewert für einen negativen Befruchtungszyklus.

4.6.4 Einfluss vom Hodenvolumen auf die Befruchtungsrate

Ob ein erniedrigtes Hodenvolumen (kleiner als 12 ml) einen Einfluss auf die Befruchtungsrate hat, soll hier diskutiert werden.

Bei normalem Hodenvolumen fanden 39 Zyklen mit 399 Eizellen statt. Davon teilten sich 311 Eizellen, was durchschnittlich 8,0 Eizellen entspricht. 38 Zyklen wurden bei einseitig erniedrigtem Hodenvolumen mit 394 Eizellen durchgeführt, dabei teilten sich 299 Eizellen (durchschnittlich 7,9 Eizellen). Von 604 Eizellen teilten sich 474 in 67 Zyklen bei Patienten mit beidseits verringertem Hodenvolumen. Dies entspricht durchschnittlich 7,1 geteilten Eizellen pro Zyklus. Im Durchschnitt teilten sich bei nicht verringertem Hodenvolumen mit 8,0 Eizellen mehr Eizellen, als bei vermindertem Hodenvolumen mit

7,1. Jedoch zeigt sich in der Auswertung mit dem Chi-Quadrat-Test mit $p = 0,121$ keine statistische Relevanz auf einen Einfluss des Hodenvolumens auf die Befruchtungsrate.

Dieses Ergebnis stimmt mit den unter 4.6.3 aufgeführten Studien (24, 38, 70, 84) überein, die ebenfalls kein Zusammenhang zwischen vermindertem Hodenvolumen und schlechter Befruchtungsrate finden konnten.

4.6.5 Einfluss der Azoospermie versus Kryptozoospermie auf die Befruchtungsrate

Bei der Kryptozoospermie finden sich Zellen unterschiedlichen Reifegrades im Spermogramm, die Gesamtzahl ist jedoch unter 1 Mio/ml. Bei der Azoospermie finden sich keine Spermatozoen im Ejakulat. Ob dieser Unterschied im Ejakulat auch einen Einfluss auf die Befruchtungsrate bei ICSI hat, wollten wir in diesem Kapitel untersuchen.

Bei den 67 Patienten mit Azoospermie wurden 131 Befruchtungszyklen durchgeführt, von 985 Eizellen teilten sich 292. 6 Patienten hatte eine Kryptozoospermie, es wurden 12 Zyklen durchgeführt, dabei teilten sich von 99 Eizellen 23.

Im Chi-Quadrat-Test findet sich mit $p=0,085$ kein statistischer Unterschied zwischen Patienten mit Azoospermie versus Patienten mit Kryptozoospermie. Mit unseren Auswertungen lässt sich sagen, dass weder Kryptozoospermie, noch Azoospermie einen Einfluss oder einen Vorhersagewert auf eine erfolgreiche Befruchtung haben.

Amer et al (2) suchte in seiner Studie Vorhersagewerte für eine erfolgreiche TESE. Er fand heraus, dass bei 83,7 % der Patienten mit runden Spermatozoen im Ejakulat eine erfolgreiche TESE stattfand. Nur in 22 % mit runden Spermatozoen im Ejakulat fand keine erfolgreiche TESE statt. Er schließt daraus, dass die Kryptozoospermie ein guter Vorhersagewert für eine erfolgreiche TESE ist.

4.6.6 Einfluss des Alters des Mannes auf die Befruchtungsrate

Da das Alter in allen Aktivitäten des Lebens eine große Rolle spielt, wollten wir noch den Einfluss des Alters des Mannes auf die Befruchtungsrate auswerten. Die Einteilung erfolgte in 10-Jahres-Schritten (<30, 30-39, 40-49, >50 Jahre).

Bei den 11 Patienten unter 30 Jahren teilten sich von 174 Eizellen 47 (durchschnittlich 2,1 Eizellen). Es teilten sich von 670 Eizellen 190 (durchschnittlich 2,1 Eizellen) bei den 45 Patienten zwischen 30 und 39 Jahren. Bei den 14 Patienten zwischen 40 und 49 Jahren teilten sich durchschnittlich 2,2 Eizellen, das heißt, von 207 teilten sich 53. Überraschend

war das Ergebnis bei den 3 Patienten über 50 Jahren. Dort teilten sich von 33 Eizellen 18, was durchschnittlich 3,0 Eizellen pro Zyklus entspricht.

In der statistischen Auswertung mit dem Chi-Quadrat-Test zeigt dies mit $p = 0,009$ eine statistische Relevanz, dass mit höherem Alter des Mannes die Befruchtungsrate steigt. Die Abweichung unserer Ergebnisse lässt sich am ehesten aus der kleinen Fallzahl erklären. Zudem unterzogen sich zwei von den drei Patienten über 50 Jahren in jüngeren Jahren einer Vasektomie, so dass hier keine primäre Infertilität bestand. Hier besteht eine Positivselektion.

Spandorfer et al (78) untersuchte in einer Studie mit 821 ICSI-Zyklen den Einfluss des Alters des Mannes auf die Morphologie, die Motilität, das Hodenvolumen und der Befruchtungsrate. Weder bei Morphologie und Spermienmotilität, noch die Befruchtungsrate der Eizellen hatte auf das Alter des Mannes einen Einfluss. Einzig das Hodenvolumen wurde mit zunehmendem Alter kleiner. Er fand jedoch heraus, dass ein Alter der Frau über 35 Jahren einen negativen Einfluss auf die Schwangerschaftsrate hat.

Schwarzer (68) fand in seiner Studie von 2003 mit 1079 ICSI-Zyklen keinen signifikanten Einfluss des Alters auf die Befruchtungsrate.

Ghanem (26) untersuchte den Einfluss des Alters von Mann und Frau sowie des FSH-Wertes auf die Befruchtungs- und Schwangerschaftsrate. Er konnte keinen statistischen Unterschied entdecken.

De La Rochebrochard (62) bewies in seiner Studie mit 6188 Europäern, dass Frauen über 35 eine höhere Infertilitätsrate aufwiesen. In Kombination mit einem Mann über 40 Jahren stieg dieses Risiko signifikant, was widersprüchlich zu unserem Ergebnis erscheint. In unserer Studie wurde das Alter der Frau allerdings nicht mitberücksichtigt. Waren es vielleicht extrem junge Frauen mit einem älteren Partner? Dies würde dann die Studie von De La Rochebrochard bestätigen, dass die Befruchtungsrate hauptsächlich vom Alter der Frau abhängt. Zudem ist unsere Fallzahl mit 3 Patienten über 50 Jahren sehr klein, um Vergleiche anstellen zu können.

4.7 Ausblick

Die künstliche Befruchtung hat sich im Laufe der Jahre deutlich weiterentwickelt. Die Bekämpfung der Sterilität wurde mit vielen verschiedenen Methoden erreicht. Leider lässt sich die Ursache der Sterilität oft nur sehr schwierig darstellen. Ebenso schwierig ist es, eine Prognose abzugeben, ob eine Erfüllung des Kinderwunsches möglich ist oder nicht.

Auch die Ergebnisse der vorliegenden Studie lassen keine sicheren Prognosefaktoren zu. Egal ob einzeitig oder zweizeitig operiert wird, ob das Nativpräparat und die Histologie gut oder schlecht sind, ob sich viele oder wenig Eizellen geteilt haben, gibt es keinen Faktor, der eine Schwangerschaft vorhersagen kann. Dies zeigt auch der Vergleich mit anderen Studien, die meist sehr unterschiedliche Ergebnisse vorzuweisen haben. Zu viele unbeeinflussbare Parameter spielen eine Rolle. Nicht nur erfassbare Parameter, wie Alter der Patienten, Hormonstatus, Infertilitätsursache etc. spielen bei der künstlichen Befruchtung eine Rolle. Auch nicht erfassbare Parameter, wie z.B. Ernährungsgewohnheiten, Lebensumstände, finanzielle Sicherheiten können eine Rolle spielen, die wir in unseren Studien nicht mit einbeziehen können. Diese unbeeinflussbaren Parameter könnten aber eine große Rolle in der Prognosestellung darstellen. Vielleicht wäre schon eine psychologische Hilfestellung der Paare, die unter großem psychischen Druck während der Therapie stehen, hilfreich. Dies wäre z.B. ein weiter zu untersuchender Punkt.

Des Weiteren kann an der Verfahrenstechnik der künstlichen Befruchtung mit Sicherheit noch gearbeitet werden. Die Verbesserung verschiedener Kryokonservierungs- sowie Aufbereitungsmethoden der Eizellen sowie der Spermien werden sicher zu weiteren Erfolgen der Therapie der Infertilität führen. Verbesserungen der Schwangerschaftsraten und Verminderung der Behandlungskosten wurden in neuerer Zeit durch die Kryokonservierung schon befruchteter Eizellen erreicht. Auch dieses Verfahren wird in naher Zukunft noch verbessert werden können.

5. Zusammenfassung

In der vorliegenden Studie wurden Prognosefaktoren eruiert, um eine erfolgreiche Behandlung mittels Mikrochirurgischer Epididymaler Spermienaspiration (MESA) oder einer Testikulären Spermienextraktion (TESE) eventuell vorhersagen zu können. Dabei ergaben sich folgende Fragestellungen: Werden Faktoren gefunden, die die MESA/TESE-Ergebnisse negativ beeinflussen, wie z.B. einen erhöhten FSH-Wert (Follikelstimulierungshormon-Wert), ein erniedrigtes Hodenvolumen, Nikotinkonsum, ein erhöhtes Alter, Voroperationen oder Vorerkrankungen am Hoden? Haben diese Faktoren einen Einfluss auf den histologischen Befund oder auf das Nativpräparat? Hat der histologische Befund oder das Nativpräparat einen Einfluss auf die Befruchtungs- oder Schwangerschaftsrate?

Zudem wurde untersucht, ob es sinnvoll ist, bei Patienten mit den oben genannten Risikofaktoren frisches Spermienmaterial zur Befruchtung zu nützen, um einen Spermienverlust nach Kryokonservierung zu verhindern.

In der retrospektiven Studie über 5 Jahre unterzogen sich 129 Männer einer MESA/TESE. Die Männer wurden nach Risikoprofil (auffällige Laborparameter oder Vorerkrankungen im Hodenbereich) in die ein- oder zweizeitige Gruppe eingeteilt. Das heißt, es wurde frisches oder kryokonserviertes Spermienmaterial verwendet.

Die Einteilung des histologischen Befundes wurde in 3 Gruppen vorgenommen (gute, mäßige, schlechte Spermio-genese), ebenso die des Nativbefundes (<1, <5, >15 Spermien/Gesichtsfeld).

77 Männer waren in der einzeitigen Gruppe, bei 8 konnten keine Spermien gefunden werden, 52 Männer unterzogen sich in der zweizeitigen Gruppe einer MESA/TESE. Nach der Kryokonservierung konnten bei 11 Patienten keine Spermien mehr gefunden werden. Letztendlich konnte bei insgesamt 69 Patienten die einzeitige Methode und bei 52 die zweizeitige Methode angewandt werden, wobei bei den zweizeitigen Patienten auch welche der ersten Gruppe vertreten waren.

Das Alter der Frau, die Anzahl der gewonnenen und der geteilten Eizellen waren in der ein- und zweizeitigen Gruppe vergleichbar. Die Qualität der Nativpräparate und der histologischen Befunde war in der einzeitigen Gruppe deutlich schlechter, jedoch konnten wir keinen signifikanten Unterschied der Befruchtungs- und Schwangerschaftsrate zwischen den zwei Gruppen aufzeigen. Dies zeigt, dass sich die Ansammlung mehrerer Risikofaktoren zwar negativ auf den Gewinn von gutem Spermienmaterial auswirkt, dies aber keinen Einfluss auf den Erfolg der Befruchtung hat.

Um den Einfluss von Risikofaktoren und Voroperationen auf die Punktionsergebnisse zu prüfen, wurden die ein- und zweizeitigen Gruppen zusammengefasst, um ein größeres Patientenkollektiv zu erhalten. Speziell wurden der Kryptorchismus und die Varikozele betrachtet. Auch hier zeigte sich eine prognostische Tendenz zum schlechteren histologischen Befund und zum schlechteren Nativpräparat. Die Auswirkung der Voroperationen scheint weder auf den histologischen Befund, noch auf das Nativpräparat einen Einfluss zu haben.

Als nächstes werteten wir die Auswirkung des Nativpräparates und des histologischen Befundes auf die Zahl der befruchteten Eizellen und die daraus entstehende Schwangerschaftsrate aus. Auch hier konnte kein statistisch relevanter Einfluss auf die Befruchtungs- und Schwangerschaftsrate festgestellt werden. Nun wurde noch verglichen, ob Patienten, die nur eine MESA zur Spermengewinnung benötigten eine bessere Prognose zur Eizellbefruchtung und daraus resultierender Schwangerschaft haben, als diejenigen, die sich einer TESE unterziehen müssen. Dort waren die Ergebnisse eindeutig zu Gunsten der MESA.

Ebenfalls wurde der Einfluss verschiedener Risikofaktoren auf die Befruchtungsrate untersucht. Diese waren der Kryptorchismus, die Varikozele, der Nikotinkonsum, ein erhöhter FSH-Wert, das Hodenvolumen, eine Azoospermie versus einer Kryptozoospermie und das Alter des Mannes. Keiner dieser Risikofaktoren führte zu einem signifikanten Unterschied in der Befruchtungsrate nur das Alter des Mannes. Wobei die Befruchtungsrate mit zunehmendem Alter des Mannes steigt. Dies ist aber durch die kleine Fallzahl der Patienten zu erklären.

Wir gelangen somit zum Endergebnis, dass vor allem bei Patienten mit Risikofaktoren ein schlechter histologischer Befund, sowie ein schlechtes Nativpräparat vorliegen. Es kann keine Vorhersage getroffen werden, ob eine Behandlung erfolgreich abgeschlossen werden kann, egal welche Risikofaktoren vorliegen, da selbst bei schlechter Histologie und bei schlechten Nativpräparaten gute Befruchtungsergebnisse vorliegen können.

Patienten, die bei einer MESA genügend Spermien haben, haben die besseren Erfolgsaussichten auf ein positives Befruchtungsergebnis.

Abschließend kann man sagen, dass es zu viele Faktoren gibt, die die künstliche Befruchtung beeinflussen, um irgendwelche Ausschlusskriterien einer Befruchtungsbehandlung zu treffen. Nicht nur das Spermienmaterial des Mannes garantiert eine erfolgreiche Behandlung, sondern auch andere Faktoren, wie die Psyche, Stress, Ernährungsgewohnheiten, etc. Des Weiteren wird an der Verfahrenstechnik zur künstlichen Befruchtung noch gearbeitet werden müssen.

6. Literaturangaben

1. **Alpüstün S, Al-Hasani S, Diedrich K:**
In vitro Fertilisation, Prognostische Faktoren.
Geburtshilfe Frauenheilkunde 53: 351 (1993)
2. **Amer M, Abd Elnasser T, El Haggag S, Mostofa T, Abdel-Malak G, Zohdy W:**
May-Grunwald-Giemsa stain for detection of spermatogenic cells in the ejaculate:
a simple predictive parameter for successful testicular sperm retrieval.
Human Reproduction 16: 1427-1432 (2001)
3. **Antinori S, Versaci C, Dani G:**
Fertilisation with human testicular spermatids; Four successful pregnancies.
Human Reproduction 12: 286-291 (1997)
4. **Ben Rhouma K, Marrakchi H, Khouja H, Attalah K, Ben Miled E, Sakly M:**
Outcome of intracytoplasmic injection of fresh and frozen-thawed testicular
spermatozoa. A comparative study.
The Journal of Reproductive Medicine 48: 349-354 (2003)
5. **Colpi GM, Piediferro G, Nerva F, Giaccetta D, Colpi EM, Piatti E:**
Sperm retrieval for intra-cytoplasmic sperm injection in non-obstructive
azoospermia.
The Italian journal of urology and nephrology 57: 99-107 (2005)
6. **Cooper TG, Keck C, Oberdieck U, Nieschlag E:**
Effects of multiple ejaculations after extended periods of sexual abstinence.
Human Reproduction 8: 1251-1258 (1993)
7. **Dafopoulos K, Griesinger G, Schultze-Mosgau A, Orief Y, Schopper B,
Nikolettos N, Diederich K, Al-Hasani S:**
Factors affecting outcome after ICSI with spermatozoa retrieved from
cryopreserved testicular tissue in non-obstructive azoospermia.
Reproduction Biomed Online 10: 455-460 (2005a)

- 8. Dafopoulos K, Griesinger G, Schultze-Mosgau A, Orief Y, Schopper B, Nikolettos N, Diederich K, Al-Hasani S:**
Cumulative pregnancy rate after ICSI with cryopreserved testicular tissue in non-obstructive azoospermia.
Reproduction Biomed Online 10: 461-466 (2005b)
- 9. Devroey P, Liu J, Nagy Z, Tournaye H, Silber SJ, van Steirteghem AC:**
Normal fertilisation of human oocytes after testicular sperm extraction and intracytoplasmatic sperm injection.
Fertility and Sterility 62: 639-641 (1994)
- 10. Devroey P, Liu J, Nagy Z, Tournaye H, Silber SJ, van Steirteghem AC:**
Pregnancies after testicular sperm extraction and intracytoplasmatic sperm injection in non-obstructive azoospermia.
Human Reproduction 10: 1457-1460 (1995)
- 11. Devroey P, Silber SJ, Nagy Z:**
Ongoing pregnancies and birth after intracytoplasmatic sperm injection with frozen-thawed epididymal spermatozoa.
Human Reproduction 10: 903-906 (1995)
- 12. Devroey P, Nagy Z, Tournaye H, Liu J, Silber SJ, van Steirteghem AC:**
Outcome of intracytoplasmatic sperm injection with testicular spermatozoa in obstructive and non-obstructive azoospermia.
Human Reproduction 11: 1015-1018 (1996)
- 13. Diederich K:**
Unerwünschte Kinderlosigkeit
In Differentialdiagnose und Geburtshilfe und Gynäkologie Band II.
Thieme Stuttgart S.84-100 (1991)
- 14. Diederich K:**
Weibliche Sterilität: Ursachen, Diagnostik, Therapie.
Springer-Verlag S.382, 438, 476, 582 (1998)

- 15. Dohle GR, Ramos L, Pieters MHEC, Braat DDM, Weber RFA:**
Surgical sperm retrieval and intracytoplasmic sperm injection as treatment of obstructive azoospermia.
Human Reproduction 13: 620-623 (1998)
- 16. Eckel H, Hennecke B, Jakubiczka S, Kropf S, Wieacker P, Allhoff EP, Kleinstein J:**
Wertigkeit des Hodenvolumens und der Serumkonzentration des Follikel-Stimulierenden Hormons als prädiktive Faktoren für die Testikuläre Spermatozoenextraktion (TESE).
Journal für Urologie und Urogynäkologie 6: 22-29 (2000)
- 17. Edirisinghe WT, Junk SM, Matson PL, Yovich JL:**
Changes in motility patterns during in vitro culture of fresh and frozen/thawed testicular and epididymal spermatozoa: implications for planning treatment by intracytoplasmic sperm injection.
Human Reproduction 11: 2474-2476 (1996)
- 18. ESHRE:**
European Society of Human Reproduction and Embryology.
(1991-1995)
- 19. Fenichel P, Rey R, Poggioli S, Donzeau M, Chevallier D, Pointis G:**
Anti-Müllerian hormone as a seminal marker for spermatogenesis in non-obstructive azoospermia.
Human Reproduction 14: 2020-2024 (1999)
- 20. Fishel S, Symonds E (Hrsg):**
In-vitro-Fertilisation: Past-Present-Future.
IRL Press Limited, S.1-16 (1986)
- 21. Fishel S, Timson J, Lisi F, Rinaldi L:**
Evaluation of 225 patients undergoing subzonal insemination for the procurement of fertilisation in vitro.
Fertility and Sterility 57: 840-849 (1992)

22. **Foresta C, Ferlin A, Betella A, Rossato M, Varotto A:**
Diagnostic and clinical features in azoospermia.
Clinical Endocrinology 43: 537-543 (1995) (21)
23. **Friedler S, Raziel A, Schachter M, Strassburger D, Bern O, Ron-El R:**
Outcome of first and repeated testicular sperm extraction and ICSI in patients with non- azoospermia.
Human Reproduction 17: 2356-2361 (2002 a)
24. **Friedler S, Raziel A, Strassburger D, Schachter M, Soffer Y, Ron-El R:**
Factors influencing the outcome of ICSI in patients with obstructive and non-obstructive azoospermia: a comparative study.
Human Reproduction 17: 3114-3121 (2002 b)
25. **Fukunaga N, Haigo K, Kyono K, Anrki Y:**
Efficiency of using frozen-thawed testicular sperm for multiple intracytoplasmic sperm injection.
Journal of Assisted Reproduction and Genetic 18: 634-637 (2001)
26. **Ghanem M, Bakr NI, Elgayaar MA, El Mongy S, Fathy H, Ibrahim AH:**
Comparison of the outcome of intracytoplasmic sperm injection in obstructive and non-obstructive azoospermia in the first cycle: a report of case series and meta-analysis.
Internatinal Journal of Andrology 28: 16-21 (2005)
27. **Giorgetti C, Chinochole JM, Hans E, Charles O, Franquebalme JP, Glowaczower E, Salzmann J, Terriou P, Roulier R:**
Crude cumulative delivery rate following ICSI using intentionally frozen-thawed testicular frozen-thawed testicular spermatozoa in 51 men with non-obstructive azoospermia.
Reproductive biomedicine online 11: 319-324 (2005)

- 28. Griffiths M, Kennedy CR, Rai J, Wilson L, Blacklock AR, Keay SD:**
Should cryopreserved epididymal or testicular sperm be recovered from obstructive azoospermic men for ICSI?
International Journal of Obstetrics and Gynaecology 111: 1289-1293 (2004)
- 29. Harrer M:**
Mikrochirurgische Epididymale Spermienaspiration (MESA) in Verbindung mit intrazytoplasmatischer Spermieninjektion (ICSI): Die Behandlungsmöglichkeiten bei schwerster männlicher Infertilität
Medizinische Dissertation, Universität Köln 2000
- 30. Hauser R, Yogev L, Amit A, Yavetz H, Botchan A, Azem F, Lessing JB, Ben-Yosef D:**
Severe hypo spermatogenesis in cases of no obstructive azoospermia: should we use fresh or frozen testicular spermatozoa ?
Journal of Andrology 26: 772-778 (2005)
- 31. Holden C, Fuscaldo G, Temple-Smith P, Hauser R:**
Frozen-thawed epididymal spermatozoa for intracytoplasmic sperm injection
Fertility and Sterility 67: 81-87 (1997)
- 32. Janzen N, Goldstein M, Schlegel PN, Palermo GD, Rosenwaks Z, Hariprashad J:**
Use of electively cryopreserved micro surgically aspirated epididymal sperm with IVF and intracytoplasmic sperm injection for obstructive azoospermia
Fertility and Sterility 75: 230 (2000)
- 33. Kadioglu A, Tefekli A, Cayan S, Kandirali E, Erdemir F, Tellaloglu S:**
Microsurgical inguinal varicocele repair in azoospermic men
Urology 57: 328-333 (2001)

34. **Kahraman S, Özgür S, Alatas C, Aksoy S, Tasdemir M, Balaban B, Biberoglu K, Schoysman R, Nijs M, Vanderzwalmen P:**
Fertility with testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection in non-obstructive azoospermic men
Human Reproduction 11: 756-760 (1996)
35. **Keck C, Nieschlag E:**
Kryokonservierung von Spermien als Zeugungsreserve für onkologische Patienten;
Der Internist 34: 775-780 (1993)
36. **Keck C, Neulen, Breckwoldt:**
Endokrinologie, Reproduktionsmedizin, Andrologie
Thieme-Verlag Stuttgart, S145, S.221 (1997)
37. **Kim ED, Gilbaugh JH, Patel VR, Turek PJ, Lipshulz LI:**
Testis biopsies frequently demonstrate sperm in men with azoospermia and significantly elevated follicle-stimulating hormone levels.
Journal für Urologie 157: 144-146 (1997)
38. **Kitamura M, Nishimura K, Miura H, Komori K, Koga M, Fujioka H, akeyama M, Matsumiya K, Okuyama A:**
Predictive factor for TESE (testicular sperm extraction)—ICSI (intracytoplasmic sperm injection) for non-obstructive azoospermia
Nippon Hinyokika Gakkai Zasshi 91: 589-594 (2000)
39. **Küpker W, Al-Hasani S, Diedrich K:**
Assisted fertilization - treatment of severe male subfertility
Andrologia 28: 37-42 (1996)
40. **Konc J, Kanyo K, Cseh S:**
Deliveries from embryos fertilized with spermatozoa obtained from cryopreserved testicular tissue.
Journal of assisted reproduction and genetics 23: 247-252 (2006)

- 41. La Sala GB, Valli B, Leoni S, Pescarini M, Martino F, Nicoli A:**
Testicular sperm aspiration (TESA) in 327 ICSI cycles.
International journal of fertility and women`s medicine 51: 177-182 (2006)
- 42. Laws-King A, Trounson A, Sathanantan H:**
Fertilisation of human oocytes by microinjection of a single spermatozoon under the zona pellucida.
Fertility and Sterility 48: 637 (1987)
- 43. Liu J, Tsai YL, Katz E, Compton G, Garcia JE, Baramki TA:**
Outcome of in vitro culture of fresh and frozen-thawed human testicular spermatozoa.
Human Reproduction 12: 1667-1672 (1997)
- 44. Lietz K, Steiner HP, Rupp S, Kniepeiß S:**
Ergebnisse von 5 Jahren ICSI.
Journal für Fertilität und Reproduktion 5: 20 (1999)
- 45. Ludwig M:**
Techniken der Reproduktionsmedizin: aktueller Stand und Zukunft.
Der Gynäkologe 35: 1253-1266 (2000)
- 46. Maier S, Löffler M, Gschwend J, Strehler E, Sterzik K, Hautmann R:**
Langzeitergebnisse der assistierten Fertilisierung.
Journal für Fertilität und Reproduktionsmedizin 2: 17-23 (2000)
- 47. Malter H, Cohen J:**
Partial zona dissection of the human oocyte; a non traumatic method using micromanipulation assist zona pellucida penetration.
Fertility and Sterility 51: 139-148 (1989)
- 48. Manning M, Jünemann KP, Alken P:**
Decrease in testosterone blood concentrations after testicular sperm extraction for intracytoplasmic sperm injection in azoospermic men.
Lancet 352: 9121 (1998)

- 49. Mansour RT, Fahmi I, Aboulghar MA, Ramzy AM, Serour GI, Amin Y:**
Intracytoplasmic sperm injection using micro surgically retrieved epididymal and testicular sperm.
Fertility and Sterility 65: 566-572 (1996)
- 50. Mazur P, Millet R:**
Permeability of human erythrocytes to glycerol in 1 and 2 M solutions at 0 degrees or 20 degrees.
Clinical Cryobiology 13: 507 (1976)
- 51. Mulhall J, Burgess C, Cunningham D, Carson R, Harris D, Oates R:**
Presence of mature sperm in testicular parenchyma of men with non-obstructive azoospermia prevalence an predictive factors.
Adult Urology 91-96 (1997)
- 52. Nagy Z, Joris H, Verheyen G, Tournaye H, Devroey P, van Steirteghem A:**
Correlation between motility of testicular spermatozoa, testicular histology and the outcome of intracytoplasmatic sperm injection.
Human Reproduction 13: 890-895 (1998)
- 53. Nieschlag E:**
Care for the infertile male (current therapie).
Clinical Endocrinology 38: 123-133 (1993)
- 54. Ng HY, Lau YL, Yeung SB, So WK, Tam PC, Ho PC:**
Testicular sperm extraction and intracytoplasmatic sperm injection in non-obstructive azoospermia.
Chinese Medicine Journal (English) 113: 246-250 (2000)
- 55. Ng SC, Bongso A, Sathananthan H, Ratnam S:**
Micromanipulation: ist relevance in vitro fertilisation.
Fertility and Sterility 53: 203-219 (1990)

- 56. Oates RD, Label SM, Harris DH, Pang S, Burgers CM, Carson RS:**
Efficacy of intracytoplasmic sperm injection using intentionally cryopreserved epididymal spermatozoa.
Human Reproduction 11: 133-138 (1996)
- 57. O'Brien JH, Bowles B, Kamal KM, Jarvi K, Zini A:**
Mikrosurgical varicocelectomie for infertile couples with advanced female age: natural history in the era of ART
Journal of Andrology 25: 939-943 (2004)
- 58. Paasch U, Thieme C, Grunewald S, Glander HJ:**
Electronic data base systems support the evaluation of male infertility factors, example cryptorchidism.
Urologic Internist 72: 154-161 (2004)
- 59. Palermo G, Joris H, Devroey P, van Steirthehem AC:**
Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte.
Lancet 340: 17-18 (1992)
- 60. Palermo G, Cohen JC, Alikani M, Adler A, Rosenwaks Z:**
Intracytoplasmic sperm injection: a novel treatment for all forms of male factor infertility.
Fertility and Sterility 63: 1231-1240 (1995)
- 61. Raman JD, Schlegel PN:**
Testicular sperm extraction with intracytoplasmic sperm injection is successful for the treatment of no obstructive azoospermia associated with cryptorchidism.
Journal of Urologie 170: 2389-2390 (2004)
- 62. Rochebrochard de La E, Thonneau P :**
Paternal age ≥ 40 years : an important risk factor for infertility.
Journal of Obstetrics and Gynaecology 189: 901-905 (2003)

- 63. Schenk SL:**
Das Säugethierei künstlich befruchtet ausserhalb des Mutterthieres.
Mittheilung aus dem embryologischen Institut der königlich-kaiserlichen
Universität in Wien, 1: 107-118 (1880)
- 64. Schlegel PN, Su LM:**
Physiological consequences of testicular sperm extraction.
Human Reproduction 12: 1688-1692 (1997)
- 65. Schlegel PN, Kaufmann J:**
Role of varicocelelectomy in men with nonobstructive azoospermia.
Fertility and Sterility 81: 1585-1588 (2004)
- 66. Schroeder-Printzen I, Zumbe J, Bispink L, Palm S, Schneider U, Engelmann U, Weidner W:**
Microsurgical epididymal sperm aspiration: aspirate analysis and straws available
after cryopreservation in patients with non-reconstructable obstructive azoospermia.
Human Reproduction 15: 2531-2535 (2000)
- 67. Schütte B:**
Hodenbiopsie bei Subfertilität.
In: Fortschritte der Andrologie. Bd 9. Grosse, Berlin, S.23-46 (1984)
- 68. Schwarzer JU, Fiedler K, Hertwig I, Krusmann G, Wurfel W, Muhlen B, Pickl U, Lochner-Ernst D, Schleyer M, Ovens-Rader A, Hennig M:**
Male factors determining the outcome of intracytoplasmatic sperm injection with
epididymal and testicular spermatozoa.
Andrologia 35: 220-226 (2003 a)
- 69. Schwarzer JU, Fiedler K, Hertwig I, Krusmann G, Wurfel W, Schleyer M, Muhlen B, Pickl U, Lochner-Ernst D:**
Sperm retrieval procedures and intracytoplasmatic spermatozoa injection with
epididymal and testicular sperms.
Urology for the Internist 70: 119-123 (2003 b)

- 70. Seo JT, Ko WJ:**
Predictive factors of successful testicular sperm recovery in non-obstructive azoospermia patients.
International Journal for Andrologie 24: 306-310 (2001))
- 71. Sharma RK, Padron OF, Thomas AJ Jr, Agarwal A.:**
Factors associated with the quality before freezing and after thawing of sperm obtained by microsurgical epididymal aspiration.
Fertility and Sterility 68: 626-631 (1997)
- 72. Silber SJ, Ord T, Borrero C, Balmaceda J, Asch RH:**
New treatment for infertility due to congenital absence of the vas deferens.
Lancet 2: 850-881 (1987)
- 73. Silber SJ, Ord T, Balmaceda J, Patricio P, Asch RH:**
Congenital absence of the vas deferens; the fertilizing capacity of human epididymal sperm.
The New England Journal of Medicine 323: 1788-1792 (1990)
- 74. Silber SJ, Nagy Z, Liu J, Godoy H, Devroey P, van Steirteghem AC:**
Conventional in-vitro fertilisation versus intracytoplasmic sperm injection for patients requiring microsurgical sperm aspiration.
Human Reproduction 9: 1705-1709 (1994)
- 75. Silber SJ, Devroey P, Tounaye H, van Steirteghem AC:**
Fertilizing capacity of epididymal and testicular sperm using intracytoplasmic sperm injection (ICSI).
Reproduction, Fertility and Development 7: 281-293 (1995)
- 76. Silber SJ, Nagy Z, Liu J, Tournaye H, Lissens W, Ferec C, Liebaers J, Devroey P, van Steirteghem AC:**
The use of epididymal and testicular spermatozoa for intracytoplasmic sperm injection, the genetic implications for male infertility.
Human Reproduction 10: 2031-2043 (1995)

- 77. Silber SJ, van Steirteghem AC, Nagy Z, Liu J, Tournaye H, Devroey P:**
Normal pregnancies resulting from testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection for azoospermia due to maturation arrest.
Fertility and Sterility 66: 110-117 (1996)
- 78. Spandorfer SD, Avrech OM, Colombero LT, Palermo GD, Rosenwaks Z:**
Effect of parental age on fertilization and pregnancy characteristics in couples treated by intracytoplasmic sperm injection.
Human Reproduction 13: 334-338 (1998)
- 79. Sperling H, Lümmen G, Schneider T, Kazorke T, Propping D, Willms E, Kolodziej FB, Rübber H:**
MESA/TESE: Ergebnisse der Kryokonservierung im Vergleich zur Verwendung frischer Spermatozoen zur assistierten Reproduktion.
Journal für Fertilität und Reproduktionsmedizin 3: 30-34 (2000)
- 80. Streptoe P.C., Edwards R.G.:**
Birth after reimplantation of a human embryo.
Lancet 2: 366 (1978)
- 81. Svalander P, Jakobsson AH, Forsberg AS, Bengtsson AC, Wikland M:**
The outcome of intracytoplasmic sperm injection is unrelated to strict criteria sperm morphology.
Human Reproduction 11: 1019-1022 (1996)
- 82. Tounaye H, Devroey P, Liu J, Nagy Z, Lissens W, van Steirteghem AC:**
Microsurgical epididymal sperm aspiration and intracytoplasmic sperm injection: a new effective approach to infertility as a result of congenital bilateral absence of the vas deferens.
Fertility and Sterility 61: 1045-1050 (1994)

- 83. Tournaye H, Liu J, Nagy PZ, Camus M, Goosens A, Silber S, van Steirteghem AC, Devroey P:**
Correlation between testicular histology and outcome after intracytoplasmic sperm injection using testicular spermatozoa.
Human Reproduction 11: 127-132 (1996)
- 84. Tournaye H, Verheyen G, Nagy P, Ubalde F, Goosens A, Silber S, van Steirteghem AC, Devroey P:**
Are there any predictive factors for successful testicular sperm recovery in azoospermic patients?
Human Reproduction 12: 80 (1997)
- 85. Van der Horst C, Martinez Portillo FJ:**
Testicular sperm extraction with intracytoplasmic sperm injection is successful for the treatment of nonobstructive azoospermia associated with cryptorchidism.
Journal of Urology 171: 2389-2390 (2004)
- 86. Vernaev V, Krikilion A, Verheven G, Van Steirteghem A, Devroey P, Tournaye H:**
Outcome of testicular sperm recovery and ICSI in patients with non-obstructive azoospermia with a history of orchidopexie.
Human Reproduction 19: 2307-2312 (2004)
- 87. Vernaev V, Verheyen G, Goossens A, Steirteghem AV, Devroey P, Tournaye H:**
How successful is repeat testicular sperm extraction in patients with azoospermia?
Human Reproduction 10 (2006)
- 88. Wald M, Ross LS, Prins GS, Cieslak-Janzen J, Wolf G, Niederberger CS:**
Analysis of outcomes of cryopreserved surgically retrieved sperm for IVF/ICSI.
The Journal of Andrology 27: 60-65 (2006)

- 89. Watkins W, Nieto F, Bourne H, Wutthiphan B, Speirs A, Baker HWG:**
Testicular and Epididymal Sperm in a Microinjection Program: Methods of Retrieval and Results.
Fertility and Sterility 67: 527-534 (1997)
- 90. Weidner W, Diedrich K:**
Der Urologe in der Reproduktionsmedizin;
Aktuelle Urologie 27: 257-259 (1996)
- 91. WHO:**
Laborhandbuch zur Untersuchung des menschlichen Ejakulates und der Spermien-Zervikalschleim-Interaktionung
Übersetzung: Nieschlag E, Bals-Bratsch M, Behre HM, Knuth UA, Meschede S, Nieschlag S
Springer Verlag, 3.Auflage, Berlin, Heidelberg, New York (1993)
- 92. Wood S, Thomas K, Schnauffer K, Troup S, Kingsland C, Lewis-Jones I:**
Reproductive potential of fresh and cryopreserved epididymal and testicular spermatozoa in consecutive intracytoplasmic sperm injection cycles in the same patients.
Fertility and Sterility 77: 1162-1166 (2002)
- 93. Wu B, Wong D, Lu S, Dickstein S, Silva M, Gelety TJ:**
Optimal use of fresh and frozen-thawed testicular sperm for intracytoplasmic sperm injection in azoospermic patients.
Journal of assisted reproduction and genetics 22: 389-394 (2005)
- 94. Zitzmann M, Nordhoff V, Schröder G, Rickert-Föhring M, Gassner P, Behre HM, Greb RR, Kiesel L, Nieschlag E:**
Male smokers have a decreased success rate for in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection
Fertility and Sterility 79: 1550-1554 (2003)

- 95. Zitzmann M, Nordhoff V, von Schönfeld V, Nordsiek-Mengede A, Kliesch S, Schüring AN, Luetjens CM, Kamischke A, Cooper T, Simoni M, Nieschlag E:**
Elevated follicle-stimulating hormone levels and the chances for azoospermic men to become fathers after retrieval of elongated spermatids from cryopreserved testicular tissue.
Fertility and Sterility 86: 339-347 (2006)
- 96. Zitzmann M, Nieschlag E:**
Rauchende Männer – ein Fertilitätrisiko.
Journal für Reproduktionsmedizin und Endokrinologie 1: 9-13 (2004)

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen recht herzlich bedanken, die mir bei der Erstellung dieser Arbeit tatkräftig zur Seite gestanden haben.

Ganz besonders möchte ich mich bei **Herrn PD Dr. Volkmer** für seine sehr gute Betreuung der Arbeit bedanken. Die konstruktive Kritik und die vielen Tipps haben mir sehr geholfen, diese Arbeit zu erstellen. Diese Unterstützung zeigte sich auch darin, in dem er mich auch in schwierigen Phasen ermutigte, an meiner Dissertation weiter zu schreiben.

Herzlichen Dank gilt **Frau Dr. Simone Maier** für die Hilfestellung während meiner Doktorarbeit, besonders auch nach ihrem Weggang aus Ulm in eine Praxis in Reutlingen. Sie hatte immer ein offenes Ohr für kleine und größere Probleme während der Bearbeitung meines Themas.

Zu besonderem Dank verpflichtet bin ich auch meinem Mann und meiner Mutter, die mir eine große Hilfe bei der Kinderbetreuung waren, um mir die Arbeit an meiner Dissertation zu ermöglichen.

Katja Dorn
Aulendorfer Str. 30
88339 Bad Waldsee
Tel: 07524/992425

Lebenslauf

Persönliches:

Geboren: 27.12.1970 in Bad Waldsee

Familienstand: verheiratet, 2 Kinder

Staatsangehörigkeit: deutsch

Schulbildung:

1987 Realschulabschluss, Realschule Bad Waldsee

09/92 – 07/95 Allgemeine Hochschulreife, Kolpingkolleg Ravensburg

Berufsausbildung:

09/87 – 03/88 Praktikum Kreiskrankenhaus Bad Waldsee

04/88 – 03/91 Krankenpflegeausbildung, Psychiatrisches
Landeskrankenhaus Bad Schussenried

Studium:

10/95 – 04/01 Studium der Medizin, Universität Ulm
erste Famulatur: Krankenhaus Bad Waldsee, Chirurgie
zweite Famulatur: China, TCM, Akupunktur,
Dermatologie, Gynäkologie
dritte Famulatur: Ulm, Gynäkologische Praxis

04/01 – 04/03 Praktisches Jahr, Oberschwabenklinikum in Ravensburg
mit Unterbrechung wegen Mutterschutz und Elternzeit

Berufstätigkeit als Krankenschwester:

04/91 – 06/92 Intensivüberwachung, Elisabethenkrankenhaus Ravensburg

Berufliche Nebentätigkeit während Schulbildung und Studium:

08/94 – 09/95 Krankenschwester, Intensivüberwachung, Elisabethenkrankenhaus Ravensburg

10/96 – 11/98 Krankenschwester, mobiler Pflege- und Betreuungsdienst, Biberach, als Nachtwache bei Beatmungskindern

01/98 und 01/99 Tutorin im Kurs „Medizinische Psychologie und Soziologie“

07/98 – 11/00 Krankenschwester, Intensivüberwachung, Elisabethenkrankenhaus Ravensburg

Berufstätigkeit als Ärztin:

05/03 – 05/04 Ärztin im Praktikum, Radiologische Abteilung mit Onkologie/Strahlentherapie

05/04 – 11/05 Mutterschutz und Elternzeit

seit 12/05 Assistenzärztin Praxis für Allgemeinmedizin

Bad Waldsee, den 26.10.2007

