

# **Gerinnungsveränderungen unter In-vitro- Fertilisationstherapie**

**Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
des Fachbereichs Medizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen**

**vorgelegt von Kathrin Fritz  
aus Gießen**

**Gießen 2002**

Aus dem Medizinischen Zentrum für Innere Medizin  
Medizinische Klinik IV  
Leiter: Prof. Dr. H. Pralle  
des Universitätsklinikums Gießen

Gutachterin: Frau Prof. Dr. B. Kemkes-Matthes

Gutachter: Herr Prof. Dr. H.-R. Tinneberg

Tag der Disputation: 03.06.2003

# INHALTSVERZEICHNIS

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG</b>	<b>1</b>
<b>1.1</b>	<b>Einführung in die Blutgerinnung</b>	<b>1</b>
1.1.1	Tissue factor (TF)	3
1.1.2	Tissue factor pathway inhibitor (TFPI)	4
1.1.3	Prothrombinfragment F 1+2 (F1+2)	8
1.1.4	D-Dimer	8
<b>1.2</b>	<b>Einführung in die „In-vitro-Fertilisation“</b>	<b>10</b>
1.2.1	Behandlungsplan	11
1.2.2	LONG-Protokoll-Programm	12
1.2.3	SHORT-Protokoll-Programm	13
<b>1.3</b>	<b>Zielsetzung</b>	<b>15</b>
<b>2</b>	<b>PATIENTENKOLLEKTIV UND METHODEN</b>	<b>16</b>
<b>2.1</b>	<b>Patienten</b>	<b>17</b>
2.1.1	Beschreibung der Gruppen	17
2.1.2	Einschlußkriterien	18
2.1.3	Ausschlußkriterien	18
<b>2.2</b>	<b>Methoden</b>	<b>19</b>
2.2.1	Probengewinnung und -verarbeitung	19
2.2.2	Bestimmung der Gerinnungsparameter im einzelnen	20
2.2.3	Bestimmung der Hormonwerte im Überblick	31
<b>2.3</b>	<b>Statistische Auswertung</b>	<b>34</b>

<b>3</b>	<b>ERGEBNISSE</b>	<b>35</b>
<b>3.1</b>	<b>Altersverteilung</b>	<b>35</b>
<b>3.2</b>	<b>Nullprobenbestimmungen</b>	<b>36</b>
3.2.1	Antithrombin	36
3.2.2	Protein C	37
3.2.3	Protein S	39
3.2.4	APC Ratio	40
3.2.5	Lipoprotein (a)	42
3.2.6	Homocystein / Methylentetrahydrofolat-Reduktase (MTHFR)- Polymorphismus	43
3.2.7	Anti-Phospholipid-Antikörper (APA)-Schnelltest / APA-ELISA	45
3.2.8	Prothrombin (Faktor II)-Polymorphismus und Faktor V-Leiden Mutation	45
<b>3.3</b>	<b>Gerinnungsparameter</b>	<b>46</b>
3.3.1	Quick-Wert	46
3.3.2	Aktivierte partielle Thromboplastinzeit	48
3.3.3	Fibrinogen	49
3.3.4	Tissue factor	51
3.3.5	Tissue factor pathway inhibitor	52
3.3.6	Prothrombinfragment F 1+2	54
3.3.7	D-Dimer	55
<b>3.4</b>	<b>Hormone</b>	<b>57</b>
3.4.1	Progesteron	57
3.4.2	Estrogen	58
3.4.3	Follikel Stimulierendes Hormon	60
3.4.4	Luteinisierendes Hormon	61
3.4.5	Prolactin	63
3.4.6	Androstendion	64
3.4.7	Dehydroepiandrosteron-Sulfat	66
3.4.8	Testosteron	68

---

<b>3.5</b>	<b>Korrelationen zwischen Hormon- und Gerinnungswerten</b>	<b>70</b>
3.5.1	Progesteron – D-Dimer	70
3.5.2	Estrogen – D-Dimer	70
<b>4</b>	<b>DISKUSSION</b>	<b>73</b>
<b>4.1</b>	<b>Veränderungen der Gerinnungsparameter unter IVF-Hormon- behandlung</b>	<b>74</b>
<b>4.2</b>	<b>Veränderungen der Gerinnungsparameter in Zusammenhang mit Hormonwertveränderungen unter IVF-Hormontherapie</b>	<b>82</b>
<b>4.3</b>	<b>SHORT – LONG: Vergleich der beiden Gruppen</b>	<b>86</b>
<b>5</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>89</b>
<b>6</b>	<b>AUSBLICK</b>	<b>91</b>
<b>7</b>	<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</b>	<b>92</b>
<b>8</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>94</b>
<b>9</b>	<b>ANHANG</b>	<b>110</b>

## 1 EINLEITUNG

### 1.1 Einführung in die Blutgerinnung

Die hippokratischen Ärzte beschrieben bereits im 4. Jahrhundert vor Christus die Blutgerinnung, aber erst 1892 erkannte Alexander Schmidt, daß im Blut eine zirkulierende Vorstufe von Thrombin, welches den Faserstoff Fibrinogen in Fibrin überführt, vorliegen muß [Schmidt, 1892; Kemkes-Matthes, 1991; Müller-Berghaus und Pötzsch 1999]. 1905 stellte dann Paul Morawitz das klassische Schema der Blutgerinnung auf, wonach Gewebethromboplastin Prothrombin in Thrombin überführt, welches anschließend Fibrinogen zum Gerinnen bringt [Morawitz, 1905]. Später beschriebene Gerinnungsfaktoren wurden der Einfachheit halber in der Reihenfolge ihrer Entdeckung mit römischen Ziffern bezeichnet und in das von Morawitz aufgestellte Schema eingefügt. Auf diesen Kenntnissen aufbauend kreierte Rudolf Marx 1953 den Begriff „Hämostaseologie“ als „Lehre vom Stehen und Steckenbleiben des Blutes“.

Nach Gert Müller-Berghaus (1999) subsumiert der Begriff „Hämostase“ heute alle Reaktionen, die zu einer effektiven Blutstillung beitragen. Dies umfaßt sowohl das Hämostasesystem im engeren Sinne – thrombozytäres und plasmatisches Gerinnungssystem sowie Fibrinolyse-System – als auch umfassender die Gefäßwand und die Blutzirkulation. So entstand das Schema der plasmatischen Gerinnungskaskade (vgl. Abb. 1.1).

Auch heute noch halten viele Autoren an diesem Konzept fest, die Gerinnungsaktivierung laufe über zwei unterschiedliche Enzymkaskaden ab, nämlich das intrinsische und das extrinsische System, welche in ihrer Endstrecke identisch sind (vgl. Abb.1.1). Es ist jedoch erwiesen, daß in vivo nur die Aktivierung über den extrinsischen Weg mit Hilfe von Gewebethromboplastin, heute als Tissue factor (TF) bezeichnet, von Bedeutung ist. Das intrinsische System scheint ein Laboratoriumsartefakt zu sein, entdeckt durch die Kontaktaktivierung in vitro mit Fremdoberflächen (z.B. Glas) [Barthels und Poliwoda 1998].

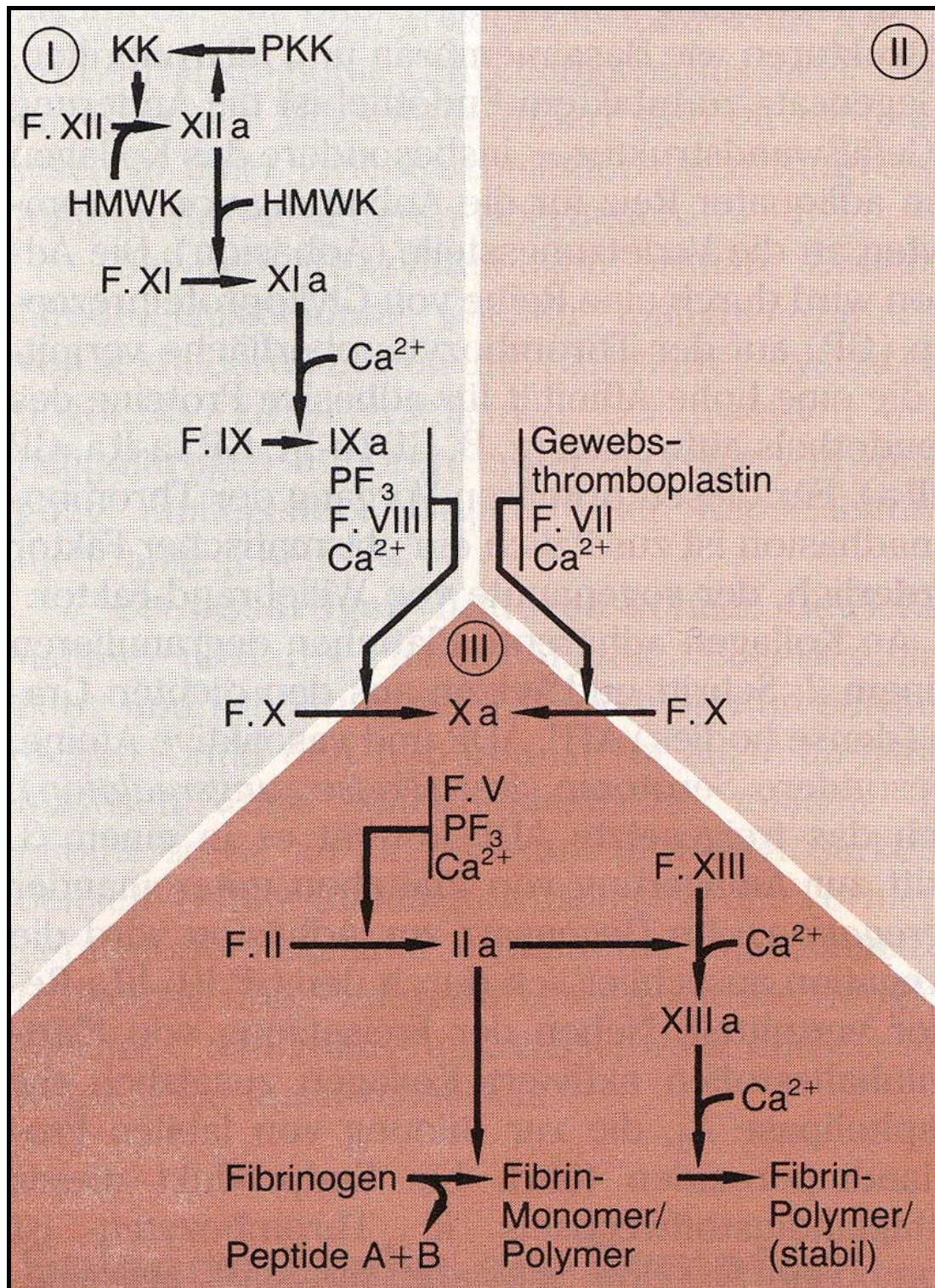


Abbildung 1.1: „Klassisches“ Schema der Blutgerinnung [Siegenthaler et al., 1992]

I: endogenes System; II: exogenes System; III: gemeinsamer Reaktionsablauf;

KK: Kallikrein; PKK: Präkallikrein; F: Faktor; a: aktivierter Faktor;

HMWK: hochmolekulares Kininogen;  $PF_3$ , Plättchenfaktor 3

Das fibrinolytische System kann Fibrin abbauen. Bei der Degradierung von quervernetztem Fibrin durch die proteolytische Serinprotease Plasmin entstehen Spaltprodukte, sogenannte D-Dimere, die keine Gerinnungseigenschaften mehr besitzen. Körpereigene Aktivatoren wie Urokinase (u-PA) oder tissue Plasminogen Aktivator (t-PA) sowie die körperfremde Streptokinase besitzen die Fähigkeit, Plasminogen in Plasmin zu überführen und somit der Blutgerinnung entgegen zu wirken.

Weiterhin greifen Gerinnungsinhibitoren an bestimmten Stellen der Gerinnungskaskade ein, um die Thrombusbildung bei Verletzungen auf das geschädigte Areal zu beschränken und eine systemische Hyperkoagibilität zu vermeiden. Dazu gehören Antithrombin (AT), alpha 2-Makroglobulin, alpha 1-Antitrypsin, C1-Inhibitor, Protein C (PC) und Protein S (PS).

Unter physiologischen Bedingungen besteht ein Gleichgewicht zwischen prokoagulatorischer, antikoagulatorischer und fibrinolytischer Aktivität. Wird dieses Gleichgewicht in eine Richtung verschoben, können Blutungsneigung bzw. thromboembolische Komplikationen die Folge sein.

### 1.1.1 Tissue factor (TF)

Da der TF-F VIIa-Komplex den wichtigsten Aktivator des Gerinnungssystems in vivo darstellt, soll hier noch etwas genauer auf diesen eingegangen werden [Camici und Sagripanti, 1999; Cunningham et al., 1999; Mann, 1999].

Die Gerinnungsaktivierung erfolgt durch Zelloberflächenexpression von Tissue factor (TF, Gewebethromboplastin). TF ist ein zellständiger Rezeptor, durch dessen Expression eine Zelle in ihrer nahen Umgebung Gerinnung aktivieren kann.

Seine genetische Information wird von einem einzigen Gen auf Chromosom 1 (p21-p22) kodiert [Carson et al., 1985; Müller-Berghaus und Pötzsch, 1999]. Dieses TF-Gen umfaßt 12 434 Basenpaare (BP). TF ist ein transmembranöses Glykoprotein mit einem Molekulargewicht (MG) von 47 000. Der TF-Rezeptor wird zur Proteinfamilie der Zytokinrezeptoren gezählt, da er Strukturähnlichkeiten mit den Rezeptoren von Wachstumshormonen und Zytokinen besitzt.



Das intrazelluläre Bindungsprotein für TF wird „actin binding protein“ 280 (ABP-280) genannt und beeinflusst die Zellmotilität, weshalb auch angenommen wird, daß Tissue factor eine wichtige Funktion in Zelladhäsion und -migration ausübt.

Tissue factor ist in vielen Geweben zelltypenspezifisch verteilt entdeckt worden. Er wird von einigen Zellen, in Abhängigkeit von deren Differenzierungsgrad, konstitutiv exprimiert, z.B. von Keratozyten. Monozyten und Endothelzellen können durch verschiedene Zytokine oder Endotoxin zur Bildung von TF angeregt werden und exprimieren TF transient. Normalerweise ist intravaskulär kein TF nachweisbar und auch die Endothelschicht gilt als TF-negativ. In der Adventitia arterieller und venöser Gefäße ist TF jedoch in Fibroblasten vorhanden. Kommt es zu einer Verletzung bzw. Schädigung der Gefäßwand, gelangt TF ins Blut. Tissue factor dient als zellulärer Rezeptor und enzymatischer Kofaktor für den im Plasma vorhandenen Faktor VIIa (F VIIa), mit welchem er in Anwesenheit von Calciumionen ( $\text{Ca}^{2+}$ ) einen stabilen Komplex bildet [Drake et al., 1989; Miserez und Jungi, 1992; Ruf 1998; Müller-Berghaus und Pötzsch, 1999]. Dieser TF-F VIIa-Komplex, der das eigentliche Enzym darstellt, aktiviert 100 000 fach effizienter als F VIIa alleine die Faktoren IX und X und setzt somit die Gerinnung auf schnellstem Wege in Gang.

Da vor allem Grenzflächen des Körpers mit TF ausgekleidet sind, wie z.B. die Mukosa von Darm- und Respirationstrakt, das Epithel von Oropharynx und Oesophagus oder das Stratum granulosum der Epidermis, gilt dieser als Initiator für eine effektive Hämostase.

### 1.1.2 Tissue factor pathway inhibitor (TFPI)

Bereits 1957 wies Hjort einen Inhibitor gegen den TF-F VIIa-Komplex nach, der  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen benötigt, und nannte ihn „Anticonvertin“. Weitere Erkenntnisse lieferten dann ab ca. 1984 die Arbeitsgruppen um Rapaport [Warn-Cramer et al. 1987; Rapaport, 1989], die ihm den Namen „extrinsic pathway inhibitor (EPI)“ gaben, um Bronze jr. [Bronze et al., 1984; Bronze und Miletich, 1987], wo er als „lipoprotein-associated coagulation inhibitor (LACI)“ bezeichnet wurde und um Abildgaard [Sandset et al., 1987; Sandset und Abildgaard, 1991]. 1991 wurde der Name „tissue factor pathway inhibitor (TFPI)“ von der Standardisierungskommission der „Inter-

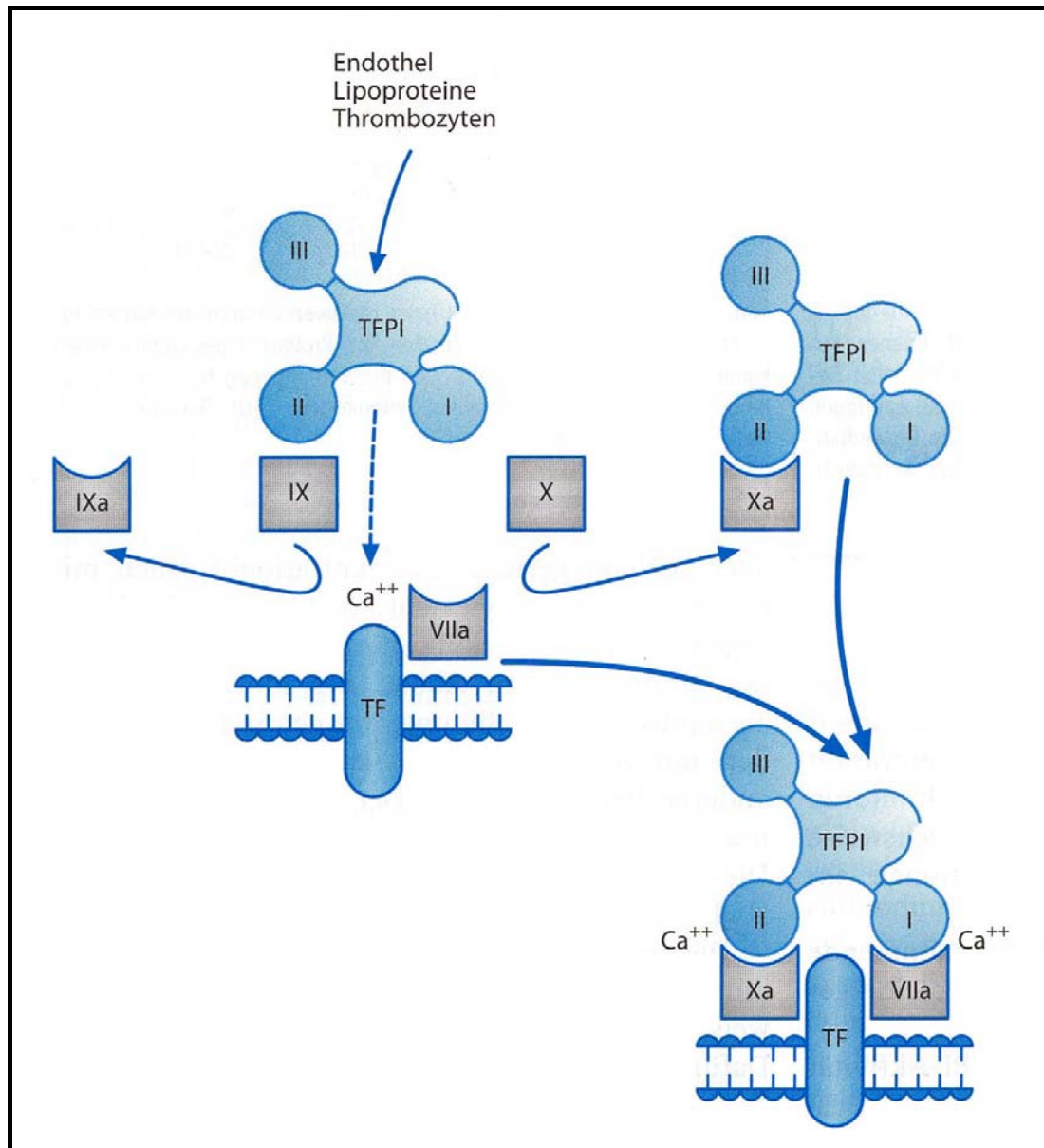
national Society on Thrombosis and Haemostasis“ festgelegt [Rapaport und Rao, 1992; Müller-Berghaus und Pötzsch, 1999].

Tissue factor pathway inhibitor (TFPI, Kunitz-Inhibitor) kann spezifisch Tissue factor inaktivieren. Dies geschieht dadurch, daß TFPI mit seiner Kunitz-Domäne II erstens Faktor Xa (F Xa) bindet und inaktiviert und zweitens einen TFPI-F Xa-Komplex bildet. Dieser stellt den eigentlichen Inhibitor für den TF-F VIIa-Komplex dar, indem sich über die Kunitz-Domäne I des TFPI ein quaternärer TF-F VIIa-F Xa-TFPI-Komplex bildet, der, in Abhängigkeit von  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen, proteolytisch inaktiv wird [Bronze et al., 1984; Sandset und Abildgaard, 1991; Rapaport und Rao, 1995; Bronze, 1997; Müller-Berghaus und Pötzsch, 1999] (vgl. Abb. 1.2). Die katalytische Aktivität des TF-F VIIa-Komplexes wird so neutralisiert. Die Hemmung von TF-F VIIa ist auch ohne Vorhandensein von Faktor Xa möglich, jedoch werden dann etwa 50-fach höhere Konzentrationen an TFPI benötigt, um eine ähnliche Hemmung zu erreichen. Die Kunitz-Domäne III enthält eine Heparinbindungsstelle. Heparin beschleunigt die Hemmung des TF-F VIIa-Komplexes sowohl mit als auch ohne F Xa. Dabei zeigt der durch Heparin freigesetzte Inhibitor sogar eine höhere antikoagulatorische Wirkung als der im Plasma vorkommende TFPI. Auch findet man nach Heparinangabe einen höheren Anteil an freiem, nicht an Lipoproteine gebundenen TFPI im Plasma, welcher wiederum eine höhere Affinität zu Heparin zeigt als der gebundene Inhibitor [Altman et al., 1998; Müller-Berghaus und Pötzsch, 1999].

Arbeitsgruppen um Abildgaard und Sandset [Sandset et al., 1988; Lindahl et al., 1991; Abildgaard, 1995; Sandset 1996] zeigten, daß die antithrombotische Wirkung von Heparin nicht nur in Zusammenhang mit der Antithrombin-Konzentration steht (Inaktivierung von Thrombin, Faktor Xa und Faktor IXa), sondern daß Heparin auch TFPI freisetzt, welcher die antithrombotische Wirkung weiter verstärkt.

Noch nicht endgültig geklärt ist, ob diese Kunitz-Domäne III auch eine Rolle bei der Bindung von TFPI an Lipoproteine spielt [Valentin et al., 1993; Lindahl 1997].

Das TFPI-Gen konnte erst 1991 anhand von schon 1988 klonierter cDNA identifiziert werden. Seine Lokalisation ist auf Chromosom 2 in Position q.31⇔2 q.32.1. Die DNA besitzt 1431 Basenpaare, welche ein Protein mit 276 Aminosäuren kodieren und ein Molekulargewicht von 32 000 hat. Die drei Kunitz-Typ-Inhibitor-domänen sind im Zentrum des Moleküls vorhanden (siehe Abb.1.2).



**Abbildung 1.2: Angenommener Mechanismus der Hemmung des TF-F VIIa-Komplexes durch TFPI [Müller-Berghaus und Pötzsch, 1999]**

TFPI bindet und inhibiert in einem ersten Schritt F Xa, im zweiten Schritt bindet und inhibiert der TFPI-F Xa-Komplex den TF-F VIIa-Komplex. Es entsteht ein quaternärer TFPI-F Xa-TF-F VIIa-Komplex. Vermutlich ist als erster Schritt auch eine Bindung von TFPI an den TF-F VIIa-Komplex möglich.

TFPI: Tissue factor pathway inhibitor; TF: Tissue factor

Die römischen Zahlen bezeichnen die jeweiligen Gerinnungsfaktoren

Physiologischer Hauptsyntheseort für TFPI stellen die Endothelzellen dar [Shimura et al., 1996; Müller-Berghaus und Pötzsch, 1999]. Sie enthalten TFPI-mRNA und synthetisieren TFPI. Die Regulation der Synthese ist bisher noch nicht geklärt. In vitro konnte nachgewiesen werden, daß gebildeter TFPI in Granula gespeichert und durch Zugabe von Thrombin freigesetzt wird. Auch Megakaryozyten und Thrombozyten synthetisieren, speichern und setzen TFPI frei. In Leberzellen konnte bisher keine TFPI-mRNA nachgewiesen werden. Synthesestörungen der Leber haben daher keinen Einfluß auf die TFPI-Aktivität in menschlichem Plasma.

TFPI kommt im Humanplasma nur in sehr geringer Konzentration von ca. 2,5 nmol/ml vor und ist überwiegend an Lipoproteine (VLDL, LDL, HDL) gebunden. Nur etwa 5-10 Prozent der TFPI-Aktivität liegen in freier Form vor. TFPI liegt mit Molekulargewichten von 34 000, 41 000 und 43 000 vor, was auf einen proteolytischen Abbau und die Bildung von gemischten Disulfiden mit Apolipoprotein und anderen Proteinen schließen läßt [Kato, 1996; Sandset und Bendz, 1997; Müller-Berghaus und Pötzsch, 1999].

Heparin steigert nicht nur die Hemmung von TF-F VIIa durch TFPI, sondern auch dessen Freisetzung ins Plasma [Altman et al., 1998].

Die Elimination erfolgt über Leber und Niere. Der Mechanismus der Elimination ist aber noch nicht geklärt.

Ebenso konnte die antikoagulatorische Wirkung von TFPI bisher nur in vitro und in Tierexperimenten nachgewiesen werden. Beim Menschen gelang dies noch nicht.

Mehrere Arbeitsgruppen haben Patienten mit ungeklärten oder rezidivierenden Thromboembolien untersucht, bislang aber nur normale TFPI-Konzentrationen gefunden. Auch in Untersuchungen der TFPI-Aktivität bei unterschiedlichen Erkrankungen konnte weder die physiologische Bedeutung des Inhibitors erkannt werden noch ergaben sich Indikationen zu seiner Bestimmung im Plasma von Patienten. So wurde er auch 1997 beim 16. Kongress der „International Society on Thrombosis and Haemostasis“ als „tissue factor pathway inhibitor (TFPI): a protein in search for a disease“ bezeichnet [Müller-Berghaus und Pötzsch, 1999].

### 1.1.3 Prothrombinfragment F 1+2 (F1+2)

Über den Nachweis von Prothrombinfragment F 1+2 (F1+2) kann man eine Gerinnungsaktivierung im Sinne einer Thrombinämie indirekt nachweisen.

Bei der Umwandlung von Prothrombin zu Thrombin spaltet Faktor Xa zwei Peptidbindungen [Barthels und Poliwoda, 1998]. Der dabei freiwerdende N-terminale Anteil des Prothrombins wird als Fragment 1+2 bezeichnet. Fragment 1 enthält dabei den calcium- und phospholipidbindenden Anteil des Prothrombins, Fragment 2 ist für die Interaktion mit Faktor V zuständig. Die F1+2-Konzentration im Plasma ist um so höher, je mehr Thrombin aus Prothrombin gebildet wird. Der Nachweis einer In-vivo-Thrombinbildung kann somit über die Bestimmung des Prothrombinfragmentes F 1+2 im Plasma erbracht werden.

Das Molekulargewicht von F1+2 beträgt 35 000 D, die Plasmakonzentration liegt bei 0,32-1,2 nmol/l.

Erhöhte F1+2-Konzentrationen wurden bei Patienten mit Verbrauchskoagulopathie, Antithrombin-Mangel, Protein C-Mangel [Barthels und Poliwoda, 1998; Müller-Berghaus und Pötzsch, 1999] und bei Frauen unter Behandlung mit oralen Kontrazeptiva beobachtet.

### 1.1.4 D-Dimer

Zum Nachweis einer Fibrinolyseaktivierung können mehrere Parameter bestimmt werden.

Beim Abbau des Fibrinogens bzw. Fibrins durch Plasmin entstehen unterschiedliche Spaltprodukte, die bereits bei schwach erhöhter oder lokal begrenzter fibrinolytischer Aktivität signifikant erhöht sind. Die Konzentration der Fibrinogenspaltprodukte (FSP, Synonym: Degenerationsprodukte, FDP) und Fibrinspaltprodukte (Synonym: D-Dimere) im Plasma spiegeln daher das Ausmaß der fibrinolytischen Aktivität wider [Barthels und Poliwoda, 1998].

Nach Zurborn und Bruhn (1991) sind D-Dimer-Bestimmungen hilfreich bei der Diagnostik frischer thromboembolischer Ereignisse. Ein negativer D-Dimer-Test schließt eine frische Phlebothrombose oder Lungenembolie mit 95 %iger Wahr-

scheinlichkeit aus [Müller-Berghaus und Pötzsch, 1999; Kemkes-Matthes und Oehler, 2001].

Stark erhöhte D-Dimer Werte wurden beispielsweise gefunden bei disseminierter intravasaler Gerinnung, tiefer Beinvenenthrombose [Hunt et al., 1985; Rowbotham et al., 1987; Barthels und Poliwoda, 1998], Lungenembolie [Hafter et al., 1985], inflammatorischen Prozessen und Malignomen [Hunt et. al., 1985; Jäger, 1992], postoperativ [Barthels und Poliwoda, 1998] sowie auch unter Einnahme oraler Ovulationshemmer oder in der Schwangerschaft [Norris und Bonnar 1996].

Bei der Degradierung von quervernetztem Fibrin durch Plasmin entstehen zum Teil hochmolekulare Fragment-X-Oligomere bis hin zu den kleinmolekularen D-Dimeren. Diese D-Dimere werden durch Plasmin aus Fibrin abgespalten. (Die Dimerbildung wird durch Quervernetzung mittels Faktor XIIIa und damit letztlich durch Thrombin bewirkt.) Bei vermehrtem Anfall von D-Dimer kann auf eine Plasmin- und indirekt auf eine Thrombinämie geschlossen werden [Barthels und Poliwoda, 1998; Müller-Berghaus und Pötzsch, 1999].

Das Molekulargewicht von D-Dimer beträgt 160 000-200 000 D.

## 1.2 Einführung in die „In-vitro-Fertilisation“

In-vitro-Fertilisation (IVF) mit intrauterinem Embryonentransfer (ET) bedeutet Befruchtung außerhalb des Körpers, zum Beispiel im Reagenzglas, und anschließende Übertragung des Embryos in die Gebärmutter. Diese Behandlungsmethode führte 1978 in England zur Geburt des ersten IVF/ET-Kindes. Heute ist dieses Verfahren in der Sterilitätstherapie weltweit verbreitet. Es wird eingesetzt, wenn alle anderen Möglichkeiten zur Behebung von Ursachen der Sterilität vollkommen ausgeschöpft wurden, insbesondere bei Verschluss der Eileiter, Endometriose, Einschränkung der männlichen Fertilität, immunologisch oder idiopathisch bedingter Sterilität. Voraussetzung ist die Überprüfung des Röteln-Titers der Mutter sowie des HBsAg- (Hepatitis B) und HIV-Status beider Elternteile. Ein ausführliches Spermogramm und Hormonanalysen sind obligatorisch.

Bei der Behandlung der In-vitro-Fertilisation mit anschließendem Embryonentransfer muß sich die Patientin zuerst einer hormonellen ovariellen Stimulation (1.2.1 Behandlungsplan) unterziehen, damit möglichst viele Eizellen heranreifen. Diese werden anschließend unter Ultraschallkontrolle mittels transvaginaler Follikelpunktion entnommen und in einem Kulturmedium bei 37°C ca. 3-6 Stunden nachgereift. Dann werden die Eizellen entweder in diesem Medium mit den aufbereiteten Spermazellen des Partners (durch Masturbation gewonnen) zusammengebracht und die Befruchtung kann im Kulturröhrchen stattfinden oder es erfolgt eine Intacytoplasmatische Spermien-Injektion (ICSI), wobei ein einzelnes Spermium jeweils direkt in eine Eizelle injiziert wird. Bei Azoospermie des Mannes können Spermien für eine solche Mikroinjektion auch durch Nebenhodenpunktion (Mikrochirurgische epididymale Spermienaspiration = MESA) oder Hodenbiopsie (Testikuläre Spermienextraktion = TESE) gewonnen werden. Nach erfolgreicher Befruchtung, die man nach ca.18 Stunden anhand der Vorkerne (Pronucleusstadium) in den Eizellen erkennen kann, haben sich nach ca. 48 Stunden im Inkubator (Brutschrank) Embryonen herangebildet. Maximal drei Embryonen werden in etwas Kulturflüssigkeit mit Hilfe eines Katheters direkt in die Gebärmutter eingespritzt.

Nach ca. zwei Wochen erfolgt ein Schwangerschaftstest sowie eine Ultraschalluntersuchung zur Feststellung einer Schwangerschaft. Ist eine IVF-Schwangerschaft eingetreten, erfolgen von nun an die üblichen Untersuchungen wie bei jeder

gewöhnlichen Schwangerschaft auch. Komplikationen wie Fehl- und Frühgeburten sowie Eileiterschwangerschaften oder genetische Schäden beim Kind treten nicht häufiger auf als bei üblichen Schwangerschaften. Laut D.I.R.-Register (Deutsches IVF Register, 1999) liegt das Risiko für Mehrlingsschwangerschaften für Zwillinge bei ca. 20-25 %, für Drillinge bei ca. 3-4 % der Fälle. Die Schwangerschaftsrate beträgt nach erfolgreichem Embryonentransfer ca. 20-40 %. Nach vier Behandlungszyklen sind etwa 60 % aller Frauen schwanger [D.I.R., 1999].

Die größte Komplikation einer solchen Hormonbehandlung stellt das Überstimulationssyndrom (**ovarian hyperstimulation syndrom = OHSS**) dar, welches in etwa 4-5 % der Behandlungszyklen auftritt und mit Unterleibsschmerzen, Zunahme des Bauchumfangs, Übelkeit, Schwindel, Atemnot und Kreislaufstörungen einhergehen kann und möglichst schnell behandelt werden muß.

### 1.2.1 Behandlungsplan

Im Rahmen der vorliegenden Studie kamen zwei unterschiedlichen Verfahren der Hormonbehandlung zur Anwendung:

- A) LONG-Protokoll (Dauer ca. 8 Wochen), GnRH-depot (**Gonadotropin Releasing Hormon**)-Analogon Enantone Gyn<sup>®</sup>
- B) SHORT-Protokoll (Dauer ca. 2 Wochen), GnRH-Analogon Suprecur<sup>®</sup>

Diese Protokolle werden im Folgenden genauer beschrieben.

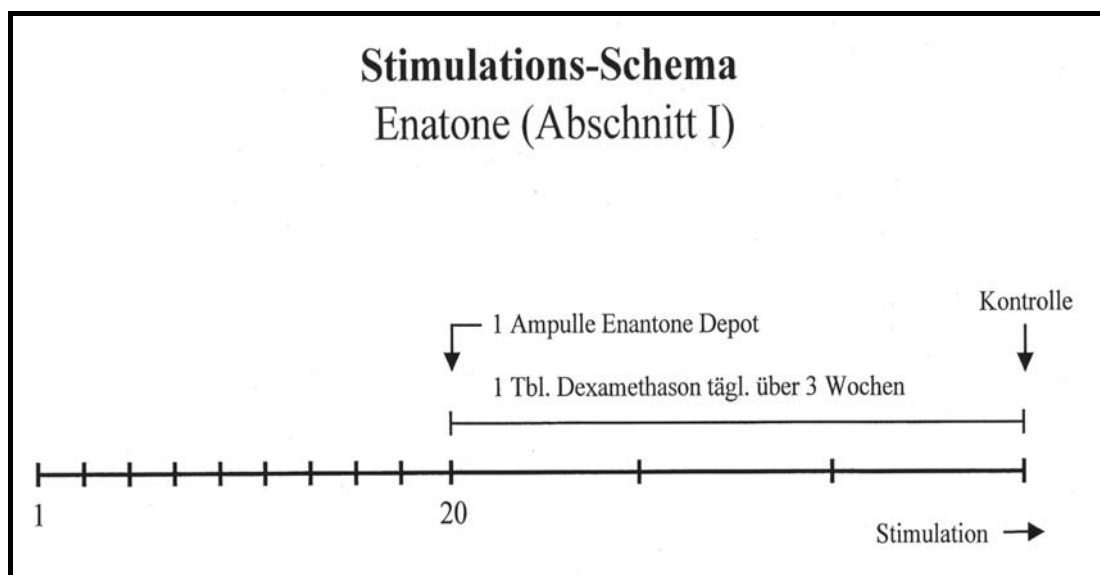
Gemeinsam ist beiden Programmen, daß zunächst die physiologische Ausschüttung von FSH (**F**ollikel **S**timulierendes **H**ormon) und LH (**L**uteinisierendes **H**ormon) unterdrückt werden muß, um einen vorzeitigen Eisprung zu verhindern. Dazu werden zwei unterschiedliche GnRH-Analoga eingesetzt.



### 1.2.2 LONG-Protokoll-Programm

Im LONG-Protokoll-Programm bekommen die Patientinnen am 20. Zyklustag (ZT) eine Ampulle Enantone Gyn<sup>®</sup> als GnRH-Analagon-Depot injiziert. Sind die männlichen Hormone (Testosteron, Androstendion) der Patientin erhöht, beginnt ab diesem Zeitpunkt auch die zusätzliche tägliche Einnahme von 0,25 mg Dexamethason<sup>®</sup> (Glucokortikoid) p.o., um den Einfluß körpereigener, männlicher Hormone zu unterdrücken und somit den Androgenspiegel zu senken. Nach 3 Wochen erfolgt eine Blutentnahme (BE) zur Bestimmung des Estrogenwertes (sollte < 20 pg/ml sein) und des LH-Wertes (sollte < 1 mIU/ml sein), um die erfolgte Down-Regulation der körpereigenen Hormone zu kontrollieren (siehe Abb. 1.3).

Sind die untersuchten Werte im gewünschten Bereich, erfolgt nun die eigentliche Stimulationstherapie mit humanem Menopausen Gonadotropin (hMG) über ca. 7-10 Tage. Dabei handelt es sich um gereinigtes FSH und LH, welche das Heranreifen mehrerer Follikel im Eierstock bewirken. Alternativ kann die Stimulation auch mit rekombinantem FSH erfolgen.



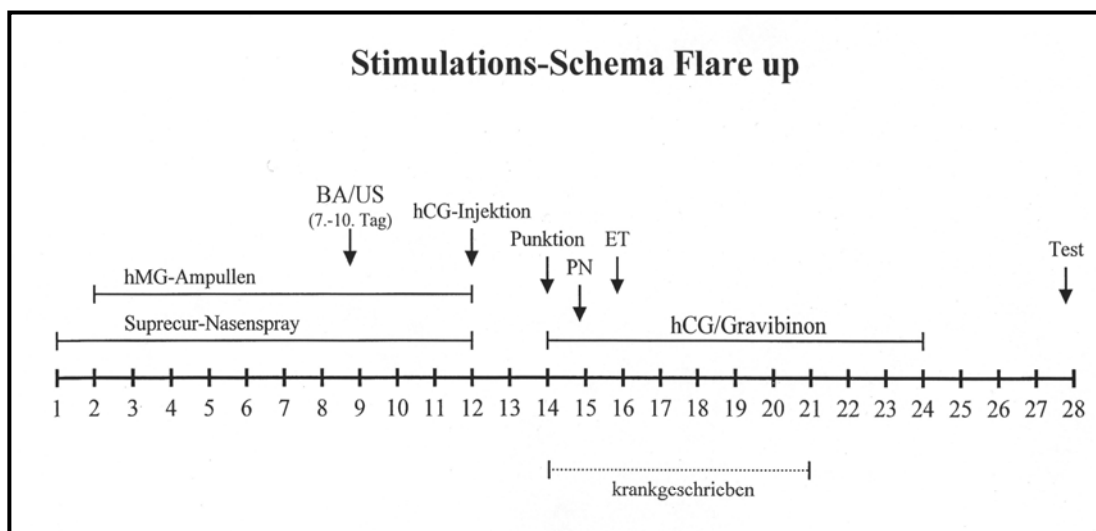
**Abbildung 1.3: Erster Abschnitt des Stimulations-Schemas der Patientinnen der LONG-Protokoll-Gruppe aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm**

Die Ziffern stehen für die einzelnen Zyklustage

### 1.2.3 SHORT-Protokoll-Programm

Im SHORT-Protokoll-Programm wird das GnRH-Analogon Suprecur<sup>®</sup> als Nasenspray (3 mal 2 Hub/Tag) ab dem 1. Zyklustag verabreicht (tägliches Flare-up-Prinzip anstelle von Depotinjektion beim LONG-Protokoll). Die Stimulationstherapie beginnt sofort am darauf folgenden 2., spätestens am 3. Zyklustag ebenfalls mit hMG über 7-10 Tage.

Ab diesem Zeitpunkt ist der Verlauf beider IVF-Programme identisch (siehe auch Abb. 1.4).



**Abbildung 1.4: Stimulations-Schema der Patientinnen der SHORT-Protokoll-Gruppe aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm**

**Gleichzeitig 2. Abschnitt des Stimulations-Schemas der Patientinnen der LONG-Protokoll-Gruppe aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm, jedoch ohne Einnahme des Suprecur<sup>®</sup>-Nasensprays**

**Die Ziffern stehen für die einzelnen Zyklustage**

**BA/US: Blutabnahme/Ultraschall; Punktion: Follikelpunktion;**

**PN: Pronucleusstadium; ET: Embryonentransfer**

Per Ultraschall wird das Follikelwachstum überprüft und per Blutentnahme das von den Ovarien produzierte Estrogen bestimmt. Je größer ein Follikel ist, desto mehr Estrogen wird produziert, so daß anhand der Estrogenmenge im Blut auch Rückschlüsse auf Qualität und Größe der heranreifenden Follikel gezogen werden können. Haben mindestens drei Follikel eine Größe von über 16 mm erreicht und liegen im Blut entsprechende Estrogenwerte vor, werden 10 000 Internationale Einheiten **humanes Chorion Gonadotropin (hCG)** als Injektion verabreicht, um den physiologischen periovulatorischen LH-Peak nachzuahmen. Sind die Follikel noch klein und die Hormonwerte niedrig, wird weiter stimuliert und jeweils nach einigen Tagen kontrolliert, bis die Follikel die gewünschte Größe erlangt haben. Treten dann immer noch keine nennenswerten Veränderungen ein, kommt es zum Abbruch der Behandlung.

Der Eisprung erfolgt 36-40 Stunden nach dieser Hormongabe. Demnach müssen genau 32 bis 36 Stunden nach hCG-Gabe die Follikel punktiert und die Eizellen gewonnen werden, damit die In-vitro-Fertilisation erfolgreich durchgeführt werden kann.

Punktion, unterschiedliche Befruchtungsformen sowie Embryonentransfer verlaufen anschließend wie schon oben beschrieben.

Um die Einnistung zu erleichtern (durch ein gut aufgebautes Endometrium), bekommen die Frauen vom Tag der Punktion an 10 Tage lang Gravibinon<sup>®</sup> (Progesteron = Gelbkörperhormon) und hCG – je 5.000 IE – injiziert.

### 1.3 Zielsetzung

Frauen unter Hormonbehandlung (Kontrazeptionsschutz, postmenopausale Therapie) oder in der Schwangerschaft haben – unter anderem aufgrund von Gerinnungsveränderungen – ein erhöhtes Risiko thromboembolische Komplikationen zu erleiden [Letsky und de Swiet, 1984; Norris und Bonnar, 1996; Helmerhorst et al., 1997]. Obwohl immer wieder Phlebothrombosen nach In-vitro-Fertilisation beobachtet werden, gibt es nur wenige Untersuchungen zu Veränderungen des Gerinnungssystems bei Frauen unter IVF-Hormonbehandlung [Biron et al., 1997; Montgomery und Leach, 1997].

Ziel dieser prospektiven Untersuchung war es, heraus zu finden, ob es während In-vitro-Fertilisations-Hormonbehandlung zu einer Erhöhung des prokoagulatorischen Potentials bzw. zur Aktivierung des plasmatischen Gerinnungssystems kommt. Dazu wurden zwei unterschiedliche IVF-Hormonbehandlungen (LONG- versus SHORT- Protokoll Programm) untersucht.

Im Rahmen eines „kompletten“ Thrombophilie-Screenings wurden Protein C, Protein S, APC Ratio, Antithrombin, APA-Schnelltest und APA-ELISA, Prothrombin (Faktor II)-Polymorphismus und Faktor V-Leiden Mutation, MTHFR-Polymorphismus, Homocystein und Lipoprotein (a) einmalig vor Beginn der Hormonbehandlung bestimmt.

Darüber hinaus wurden als Verlaufs- bzw. Gerinnungsaktivierungsparameter Quick-Wert, aPTT, Fibrinogen, Tissue factor, Tissue factor pathway inhibitor, Prothrombin-fragment F 1+2, D-Dimer und Hormonwerte zu unterschiedlichen Zeitpunkten während der Hormonbehandlung bestimmt und der Einfluß von Estrogen und Progesteron auf die genannten Gerinnungsfaktoren untersucht.

## 2 PATIENTENKOLLEKTIV UND METHODEN

Im Zeitraum August 1999 bis Juni 2000 wurden 38 Patientinnen bezüglich des Verhaltens verschiedener Gerinnungsparameter und Hormone während eines IVF-Zyklus prospektiv untersucht. Die Einteilung erfolgte in zwei Gruppen mit unterschiedlicher Hormonbehandlung.

Von 38 Frauen beendeten 25 das gesamte IVF-Programm. Nur die Blutwerte der 25 Frauen, die den IVF-Zyklus vollständig durchlaufen haben, wurden für die vorliegende Studie verwendet.

Bei den übrigen 13 Patientinnen fehlten Blutwerte aufgrund von vergessener Abnahme am genauen Datum der für die Studie vorherberechneten Blutentnahme (6 Patientinnen) oder es kam zum Abbruch der IVF-Behandlung wegen mangelhaftem Stimulationseffekt (3 Patientinnen), weil keine Eizellen gewonnen werden konnten (2 Patientinnen) oder in vitro keine Befruchtung der gewonnenen Eizellen stattgefunden hatte (1 Patientin). Bei einer Patientin erfolgte keine Hormonbehandlung im Rahmen des IVF-Programmes mehr, weil bereits vorzeitig eine Schwangerschaft eingetreten war.

## 2.1 Patienten

### 2.1.1 Beschreibung der Gruppen

#### A) SHORT-Protokoll-Gruppe (SPG)

Stimulation mit hMG (human Menopause Gonadotropin) Menogon<sup>®</sup> plus GnRH-Analogon Suprecur<sup>®</sup> als Nasenspray

1. Blutentnahme (BE) bei dem Aufnahmegespräch (Nullprobe vor Hormonbehandlung)
2. BE bei der ersten Ultraschall-Kontrolle am ca. 8. Tag der Stimulation mit hMG und Suprecur<sup>®</sup>
3. BE bei erneuter Kontrolle am ca. 12. Tag (Tag vor Follikelpunktion) nach hCG-Gabe
4. BE am Tag des Embryonentransfers

#### B) LONG-Protokoll-Gruppe (LPG)

Stimulation mit hMG Menogon<sup>®</sup> plus GnRH-Analogon-depot Enantone Gyn<sup>®</sup> als Einmalinjektion am 20. Zyklustag

1. BE bei dem Aufnahmegespräch
2. BE bei Kontrolle am ca. 8. Tag nach Beginn der Stimulation mit hMG
3. BE bei letzter Untersuchung am Tag vor der Follikelpunktion (nach hCG-Gabe)
4. BE am Tag des Embryonentransfers

### 2.1.2 Einschlußkriterien

Aufgenommen wurden alle Patientinnen, die sich im Rahmen der IVF-Sprechstunde für eine solche Hormonbehandlung vorstellten und später in eines der beiden Programme (LONG-/SHORT-Protokoll) aufgenommen wurden. Dabei handelte es sich generell um gesunde, jedoch auf physiologischem Wege unfruchtbare Frauen, die zum Zeitpunkt der Untersuchung weder an akuten noch an chronischen Krankheiten litten.

### 2.1.3 Ausschlußkriterien

Ausgeschlossen wurden Patientinnen mit Hinweisen auf AIDS, bzw. eine Infektion mit HIV oder Hepatitis B. Frauen, bei denen der Verdacht auf Drogenabusus vorlag sowie Patientinnen, die an einem Drogenentzugsprogramm (z.B. Methadon-Programm) teilnahmen, wurden ebenfalls nicht in die Studie mit einbezogen. Ebenso von der Untersuchung ausgenommen waren Patientinnen, die unter Hormontherapie standen oder mit oralen Antikoagulantien (z.B. Marcumar<sup>®</sup>) bzw. Heparin (z.B. Fraxiparin<sup>®</sup>) behandelt wurden.

## 2.2 Methoden

### 2.2.1 Probengewinnung und -verarbeitung

Nach ausführlicher Aufklärung über Ziel, praktische Durchführung sowie den zu erwartenden Nutzen der Untersuchung und nach Unterschreiben von Information und Einverständniserklärung (siehe hinten, 8 Anhang) erfolgte die erste Blutentnahme (BE). Diese wurde nach kurzem Venenstau mit einem 21-Gauge Butterfly-Venenpunktionsbesteck durch möglichst schnelle und schonende Venenpunktion im Bereich der Ellenbeuge bzw. des Handrückens durchgeführt.

Pro Patientin wurde zuerst ein Serumativröhrchen à 10 ml entnommen und im Kühlschrank aufbewahrt zur Bestimmung der Hormonwerte (Estrogen, Progesteron, FSH, LH, Prolactin, DHEAS, Testosteron und Androstendion).

Danach drei Citrat-Gerinnungsröhrchen à 5 ml (je neun Teile frisch entnommenes Blut wurden mit je einem Teil Natriumcitratlösung gemischt). Durch mehrfaches vorsichtiges Kippen der Entnahmeröhrchen wurde das Blut sorgfältig mit der Antikoagulantienlösung vermennt. Anschließend wurden zwei der drei Röhrchen für die Bestimmung der Gerinnungswerte (ausgenommen die Globaltests) zweimal bei 2000 g je zehn Minuten zentrifugiert und das so gewonnene Plasma zu je ca. 400 µl in sieben Eppendorfgefäße pipettiert. Diese wurden dann unmittelbar bei -20°C tiefgefroren und so bis zur Durchführung der Tests aufbewahrt. Vor der späteren Messung von Tissue factor (TF), Tissue factor pathway inhibitor (TFPI), D-Dimer und Prothrombinfragment F 1+2 (F1+2) wurden diese gefrorenen Proben bei 37°C im Wasserbad zehn Minuten lang aufgetaut.

Die Bestimmung der übrigen Gerinnungsparameter (Quick, aPTT, Fibrinogen, Protein C, Protein S, APC Ratio, Antithrombin und APA Schnelltest/ELISA) erfolgte sofort anhand des dritten Citratröhrchens.

Weiterhin wurden zwei EDTA-Röhrchen à 5 ml Blut abgenommen. Eines der Röhrchen wurde ohne weitere Aufbereitung ebenfalls bei -20°C eingefroren zur späteren Bestimmung des Prothrombin-Polymorphismus und der Faktor V-Leiden Mutation. Das zweite EDTA-Röhrchen wurde zur Untersuchung auf MTHF-Reduktase-Polymorphismus verwendet.



Ein Natrium-Fluorid-Röhrchen à 2 ml zur Messung des Homocystein-Wertes und ein Natrium-Heparin-Röhrchen à 5 ml für die Bestimmung von Lipoprotein (a) wurden zuletzt entnommen.

Diese 1. Blutentnahme, die sogenannte „Nullprobe“, hat jeweils direkt im Anschluß an das Beratungsgespräch in der IVF-Sprechstunde stattgefunden, um den „normalen“ Gerinnungs- und Hormonstatus der Patientin vor Beginn der Hormontherapie zu erhalten.

Nach Aufnahme der Frauen in das In-vitro-Fertilisationsprogramm erfolgten weitere Blutentnahmen. Die insgesamt 12 Patientinnen der Gruppe A und die 13 Patientinnen der Gruppe B unterzogen sich noch jeweils drei Abnahmen (Zeitpunkte siehe oben, 2.1.1 Beschreibung der Gruppen).

Dabei wurden jeweils noch einmal ein Serumnativröhrchen für die Hormonbestimmungen und drei Citrat-Blut-Röhrchen für die Gerinnungsparameter Quick, aPTT, Fibrinogen, TF, TFPI, F1+2 und D-Dimer entnommen und ebenso verarbeitet wie die der Nullprobenbestimmung.

### 2.2.2 Bestimmungen der Gerinnungsparameter im einzelnen

Die Bestimmungen der Quick-, aPTT- und Fibrinogen-Werte sowie Antithrombin, Protein C, Protein S und APC Ratio wurden am BCS-Gerät (Behring-Coagulation-Systems) durchgeführt, der APA-Schnelltest im Wasserbad per Hand.

#### Quick-Wert (PT)

Thromborel® S Test der Firma Dade Behring Marburg GmbH

Dieser Test dient der Bestimmung der Thromboplastinzeit (TPZ) nach Quick und gilt als schnelle, empfindliche Screeningmethode auf Störungen im Bereich des exogenen Systems (Faktoren II, V, VII, X) und des Fibrinogens.

Durch Inkubation von Plasma mit der optimalen Menge von Gewebethromboplastin und Calcium wird der Gerinnungsvorgang ausgelöst. Aus Prothrombin wird Thrombin, welches Fibrinogen in Fibrin umwandelt. Die Zeit bis zur Bildung des

Fibringerinnsels wird in Sekunden gemessen und in Prozent Gerinnungsaktivität (= Quick-Wert) bzw. als Internationale Normalisierte Ratio (INR) angegeben.

Der Normbereich beträgt 70-130 Quick % bzw. für den INR-Wert 0,8-1,2.

#### Aktivierter Partielle Thromboplastinzeit (aPTT)

Pathromtin<sup>®</sup> SL Test der Firma Dade Behring Marburg GmbH

Diese Methode ist geeignet zur Bestimmung der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (aPTT) in menschlichem Citratplasma und ist ein Suchtest auf Gerinnungsstörungen des endogenen Systems. Er umfaßt die Faktoren V, VIII, IX sowie Fibrinogen und die Kontaktfaktoren.

Die Aktivierung von Faktoren des endogenen Systems erfolgt nach Inkubation von Plasma mit der optimalen Menge an gerinnungsaktiven Phospholipiden (partielle Thromboplastine) und einem Oberflächenaktivator (z.B. Kollagen, Basalmembranen). Durch Zugabe von Calcium-Ionen wird der Gerinnungsvorgang in Gang gesetzt. Auch hier wird die Zeit bis zur Gerinnungsbildung bestimmt. Das Ergebnis wird in Sekunden angegeben.

Der Referenzbereich liegt bei 26-36 sec.

#### Fibrinogen

Multifibren<sup>®</sup> U Test der Firma Dade Behring Marburg GmbH

Die quantitative Bestimmung von Fibrinogen in Plasma ist der Anwendungsbereich dieses Tests, der eine Modifikation der Methode nach Clauss (Schnellmethode) darstellt.

Prinzip der Methode ist, Citratplasma mit einem großen Überschuß einer standardisierten Menge an Thrombin zu versetzen und so zur Gerinnung zu bringen. Die Gerinnungszeit hängt dabei weitgehend vom Fibrinogengehalt der Probe ab und wird nicht von Thrombin hemmenden Substanzen, wie z.B. Heparin in therapeutischen Dosen, beeinflusst. Die Gerinnungszeit ist proportional zur Menge an Fibrinogen.

Das Ergebnis wird in g/l angegeben, wobei der Normbereich bei 1,77-4,00 g/l liegt.

### Antithrombin (AT)

Berichrom<sup>®</sup> Antithrombin III (A) der Firma Dade Behring Marburg GmbH

Dieser Test dient der quantitativen Bestimmung der funktionellen Aktivität von AT in Plasma und wird ebenfalls am Analyse-Automaten durchgeführt, der auch die Auswertung übernimmt.

Das AT der Probe wird mit Hilfe von Heparin in einen Sofortinhibitor überführt. Dieser inaktiviert das im Überschuß zugegebene Thrombin. Der Restgehalt von Thrombin wird dann in einem kinetischen Test mit einer Extinktionszunahme bei 405 nm bestimmt. Die Extinktion nimmt linear mit dem in der Probe vorliegenden Antithrombin ab.

Der Referenzbereich liegt bei 70-130 % der Norm.

### Protein C (PC)

Berichrom<sup>®</sup> Protein C der Firma Dade Behring Marburg GmbH

Der Anwendungsbereich dieser Methode ist die Erfassung des amidolytisch wirksamen Anteils von aktiviertem Protein C, einschließlich der nicht carboxylierten, unter Vitamin K-Mangel synthetisierten Moleküle, weshalb auch unter Vitamin K-Mangel bei diesem Test eine relativ hohe PC-Aktivität gefunden wird. Deshalb sollte man in solchen Fällen zusätzlich die Koagulometermethode und die Antigenbestimmung durchführen.

Das Prinzip der Methode beruht wiederum auf einem kinetischen Test, wobei hier das Protein C der Patientenprobe mit spezifischen Schlangengiftaktivatoren aktiviert und das so entstandene aktivierte Protein C (APC) bei einer Extinktion bei 405 nm bestimmt wird.

Der Referenzbereich ist 70-130 % der Norm.

## Protein S (PS)

Protein S-Reagenz der Firma Dade Behring Marburg GmbH

Anwendungszweck ist die Bestimmung der funktionellen Aktivität von freiem Protein S in Plasma. Sie dient zur Diagnose von hereditären oder erworbenen Protein S-Mangelzuständen.

Da aktiviertes Protein C (APC) proteolytisch Faktor Va der Gerinnungskaskade spaltet und PS als Kofaktor diesen Vorgang massiv beschleunigt, kommt es zu einer mit der Aktivität an PS in der Probe proportional zunehmenden Gerinnungszeit. Fibrinogen, Faktor V sowie alle anderen benötigten Gerinnungsfaktoren sind dabei durch Zugabe von Mangelplasma ausreichend vorhanden. Die Gerinnung wird durch Hinzugabe von Faktor X-Aktivator auf der Stufe des Faktors X in Gang gesetzt. F Xa bildet mit Hilfe des noch verbliebenen F Va aus Prothrombin Thrombin, welches schließlich Fibrinogen zu Fibrin umsetzt. Der Zeitpunkt der Gerinnungsbildung wird bei 405 nm photometrisch bestimmt.

Der Referenzbereich liegt auch hier bei 70-130 % der Norm.

## APC Ratio

COATEST<sup>®</sup> APC<sup>™</sup> Resistance V, Art. No. 823120, Test der Firma Chromogenix-Instrumentation Laboratory SpA, 20128 Milano, Italy

Verwendungszweck dieses Tests ist die In-vitro-Diagnostik zur Bestimmung der durch die Faktor V:Q<sup>506</sup> (Faktor V Leiden) Punktmutation verursachten Resistenz gegen aktiviertes Protein C (APC).

Hierbei wird Probenplasma mit V-DEF Plasma (stabilisiertes, lyophilisiertes humanes Plasma mit niedriger F V-Restaktivität und Polybrene<sup>®</sup> als Heparin-antagonist) vorverdünnt und für einen festgesetzten Zeitraum mit APTT Reagenz (gereinigte Phospholipide mit kolloidalem Kontaktaktivator) inkubiert. Die Zeitdauer bis zur Fibrinbildung wird nach Zugabe von CaCl<sub>2</sub> (Calciumchlorid, 0,025 mol/l in Trispuffer mit 0,5 % Rinderserumalbumin) mit und ohne APC gemessen. Die APC-V Ratio ist dann gleich dem Quotienten aus Gerinnungszeit APC/CaCl<sub>2</sub> und Gerinnungszeit CaCl<sub>2</sub>.

Normwerte liegen hier im Bereich von 1,9-5,0.

## D-Dimer

Asserachrom<sup>®</sup> D-Dimer der Firma Diagnostica Stago Roche

Prinzip dieser Methode ist ein Sandwich-Assay, bei dem in einer 1. Immunreaktion fixierte spezifische monoklonale Antikörper gegen D-Dimer in der Probe vorhandene Fibrinospaltprodukte binden. Fibrinogen und dessen Spaltprodukte bleiben dabei unbehelligt. In einer 2. Immunreaktion mit POD-markierten FDP-D-Antikörpern werden Sandwich-Komplexe gebildet zwischen den antigenen Determinanten des D-Dimers und diesen Antikörpern. Die Menge der Sandwich-Komplexe stellt ein Maß für den D-Dimer-Gehalt der Probe dar. Dann wird in einem Waschschriff das nicht-gebundene POD-Konjugat entfernt und anschließend, nach Zusatz von Harnstoffperoxid und Chromogen, die gebundene POD-Aktivität bei 450 nm photometrisch bestimmt. Zur Auswertung jeder Serie wird eine neue Bezugskurve benötigt, die mit Hilfe einer D-Dimer-Standard-Lösung hergestellt wird. Auf doppelt logarithmischem Papier werden die gemessenen Extinktionen gegen ng/ml D-Dimer aufgetragen.

Als Normwerte gelten hierbei < 500 ng/ml Fibrinogen-Äquivalente bzw. 250 ng/ml D-Dimer.

## Prothrombinfragment F 1+2 (F1+2)

Enzygnost<sup>®</sup> F 1+2 micro der Firma Dade Behring Marburg GmbH

Dieser Enzymimmunoassay dient der quantitativen In-vitro-Bestimmung von humanem Prothrombinfragment F 1+2 zu Diagnose, Überwachung und Evaluierung von Störungen der Blutgerinnung. Bedeutend ist dieser Test für die Diagnose von hyperkoagulatorischen Zuständen.

Die Methode basiert ebenfalls auf dem schon oben beschriebenen Sandwich-Prinzip. Auch hier binden fixierte Antikörper gegen F1+2 das in der Probe vorhandene Prothrombinfragment F 1+2 in einer 1. Reaktion. Nach Auswaschen folgt die 2. Immunreaktion, in der Peroxidase-konjugierte Antikörper gegen menschliches Prothrombin an die freien F1+2-Determinanten binden. Nach dem Waschen wird die Enzymaktivität photometrisch bestimmt.

Der Referenzbereich liegt zwischen 0,04 und 10 nmol/l.

### Tissue factor (TF)

IMUBIND<sup>®</sup> Tissue Factor ELISA Kit, Product # 845 der American Diagnostica Inc., Greenwich

Dieser ELISA Kit ist wiederum ein enzym-gebundener Immunoassay für die quantitative Bestimmung von menschlichen Tissue factor (TF, Thromboplastin, Faktor III) in Plasma. Der Test erkennt TF, TF-apo und TF-F VII-Komplexe und ist unabhängig von anderen Gerinnungsfaktoren und -inhibitoren prokoagulatorischer Aktivität. Er ist ausschließlich für Forschungszwecke geeignet, nicht für diagnostische oder therapeutische Verfahren.

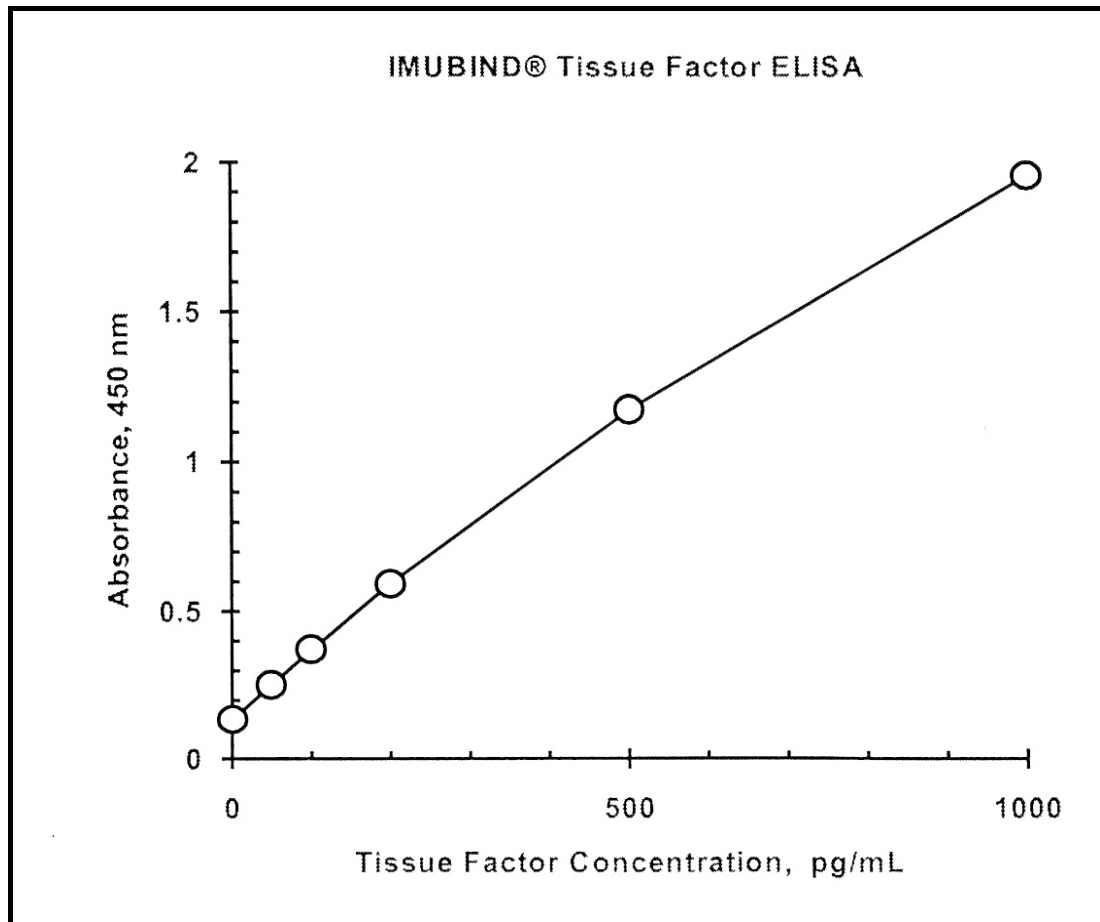
Prinzip des ELISA Kits ist die Bindung von monoklonalen Antikörpern mit dem Tissue factor. Die Werte werden durch photometrisches Messen bei 450 nm festgelegt und mit denen einer Standardkurve verglichen (siehe Abb.2.1). Eine solche Bezugskurve sollte für jede Bestimmung neu erstellt werden.

### Tissue factor pathway inhibitor (TFPI)

IMUBIND<sup>®</sup> TFPI/Xa Complexes ELISA Kit, Product # 870 der American Diagnostica Inc., Greenwich

Auch hier erlaubt ein Enzym-gebundener Sandwich-Immunoassay die Messung von TFPI-F Xa-Komplexen in menschlichem Plasma. Er dient dazu, die antikoagulatorischen Eigenschaften des TFPI's in vivo zu kontrollieren.

Verdünnte Plasmaproben werden mit spezifischen Antikörpern inkubiert, welche die binären und quaternären TFPI-F Xa-Komplexe einfangen. Die Zahl der Sandwich-Komplexe ist ein Maß für den TFPI-Gehalt der Probe. Nach einem Waschschrift wird die Aktivität bei einer Absorption von 450 nm bestimmt und mit einer standardisierten Bezugskurve verglichen.



**Abbildung 2.1: Repräsentative Standardkurve aus dem IMUBIND® Tissue Factor ELISA Kit**

Anhand der durch Photometrieren bei 450 nm erhaltenen Absorptionswerte kann man die Tissue factor-Konzentration der Probe bestimmen.

#### Anti-Phospholipid-Antikörper (APA)-Schnelltest

DVVtest®, Produkt # 810 der American Diagnostica GmbH, D-64391 Pfungstadt

Diese Methode dient dem qualitativen Nachweis von Lupus-Antikoagulantien (LA) in Plasmaproben und ist nur für die In-vitro-Diagnostik geeignet.

Das Gift der Russell-Viper führt in Gegenwart von Phospholipiden und Calcium-Ionen in Plasma direkt zur Aktivierung von F X zu F Xa, zum Umsatz von Fibrinogen zu Fibrin und schließlich zur Gerinnungsbildung. Dieser direkte Aktivierungsweg ist unabhängig von Faktoren sowohl des extrinsischen als auch des intrinsischen Wegs der Gerinnungsaktivierung. Sind in der Patientenprobe Lupus-

Antikoagulantien, d.h. Antikörper gegen Phospholipide, vorhanden, kommt es zu einer Verlängerung der Gerinnungszeit, da sie diesen Weg der Gerinnungsaktivierung stören. Sie werden also über die verlängerte Zeit bis zur Gerinnungsbildung identifiziert. Dieser Test besitzt eine hohe Sensitivität sowie Spezifität und kann LA auch schon in Plasmaproben nachweisen, deren PTT (noch) nicht verändert ist. Er wird halbautomatisch im Wasserbad bei 37°C durchgeführt.

Liegt die Gerinnungszeit im Normbereich, sind in der Probe keine LA vorhanden und der Test gilt als negativ.

### APA-ELISA

Asserachrom<sup>®</sup> APA IgG, M, Enzyme Immunoassay of Anti-Phospholipid Antibodies of IgG and / or IgM Class der Firma Diagnostica Stago, 92600 Asnieres-sur-Seine (France)

Auch hier liegt ein Enzym-gebundener Sandwich-Immunoassay zugrunde, dessen Prinzip schon oben mehrfach beschrieben wurde.

APA-IgG- bzw. APA-IgM-Antikörper im Patientenplasma werden von Phospholipiden eingefangen. Dann wird Anti-human-IgG- und Anti-human-IgM-Immunglobulinlösung, konjugiert mit Peroxidase, hinzugegeben. Es bilden sich nun die Sandwichkomplexe aus. Auch hier wird zuletzt die Reaktion durch Zugabe von starker Säure beendet und die Intensität gemessen. Anhand von Bezugskurven kann man den IgG- und IgM-Gehalt der Probe bestimmen.

Sowohl für Anti-Phospholipid-Antikörper der Klasse IgG als auch für APA der IgM-Klasse gelten Werte < 5 units/ml als normal.



## Methyltetrahydrofolat-Reduktase (MTHFR)-Polymorphismus

GenoType<sup>®</sup> MTHFR Reverser Hybridisierungskit zum Nachweis der C677T-Mutation des MTHFR-Gens der Firma ADS GmbH, Vertrieb über HAIN DIAGNOSTIKA GmbH, 72147 Nehren

Das Enzym MTHFR hat unmittelbaren Einfluß auf die Methionin-Synthese aus Homocystein. Bei einem Teil der Bevölkerung weist es eine um bis zu 50 % verringerte Aktivität auf, was zu einer Erhöhung des cytotoxischen Intermediärprodukts Homocystein im Organismus führt. Diese Hyperhomocysteinämie, die durch eine C- nach T-Substitution an Position 677 des MTHFR-Gens bedingt ist, wird als Risikofaktor für venöse Thrombosen, Schlaganfälle und koronare Herzerkrankung angesehen.

Dieser Test erlaubt einen schnellen und sicheren Nachweis der C677T-Mutation des MTHFR-Gens. Mittels reverser Hybridisierung kann die Position 677 des menschlichen MTHFR-Gens genetisch charakterisiert werden.

Hierzu wird zunächst gereinigte DNA einer PCR unterzogen, wobei die mit Biotin markierten Primer Bestandteil des Kits sind. Das amplifizierte DNA-Fragment stellt das Ausgangsmaterial für die reverse Hybridisierung dar. Dabei werden Aliquots dieser Amplifikate denaturiert und dann mit Hybridisierungspuffer versetzt. Nun werden Nitrocellulosestreifen, auf denen Gensonden für die Wildtyp- und die mutierte Sequenz des untersuchten Genlokus sowie verschiedene Kontrollzonen liegen, zugegeben. Die denaturierten Amplifikat-Einzelstränge hybridisieren mit den jeweils komplementären Gensonden. Nach einem Waschschrift wird das Hybrid aus Gensonde und Biotin-markiertem Amplifikat mit einem Streptavidin-Alkalische Phosphatase-Komplex angefärbt. Mit einer Schablone gelingt nun die Interpretation des erhaltenen Bandenmusters, wobei eine Markierung, die direkt mit einer Reaktionszone des Streifens übereinstimmt, als sicher identifiziert gilt.

Homozygote Merkmalsträger weisen dabei ausschließlich eine Entwicklung der MTHFR-Mutation-Reaktionszone auf, während bei heterozygoten Patienten zusätzlich die MTHFR-Wildtyp-Zone entwickelt ist.

## Homocystein

IM<sub>x</sub><sup>®</sup> SYSTEM Homocystein Test der Firma ABBOTT Diagnostics Division, ABBOTT GmbH, Diagnostika, D-65205 Wiesbaden-Delkenheim

Dieser Test ist ein Fluoreszenzpolarisationsimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von Gesamt-L-Homocystein in Humanserum oder -plasma mit dem IM<sub>x</sub>-Analysegerät.

Homocystein ist eine schwefelhaltige Aminosäure, die durch die intrazelluläre Demethylierung von Methionin entsteht. Sie wird entweder irreversibel zu Cystein katabolisiert oder, der Großteil, durch das Enzym Methionin-Synthetase zu Methionin remethyliert. Eine Störung dieses Prozesses führt zur Anreicherung von Homocystein im Blut, was mit geistiger Retardierung, Arteriosklerose und arteriellen und venösen Thrombembolien einhergehen kann.

Im Plasma liegt Homocystein überwiegend in oxidiertem proteingebundener Form vor. Es sind jedoch auch kleine Mengen an reduziertem und Disulfid-Homocystein vorhanden. Dieser Test bestimmt das Gesamt-Homocystein in Plasma oder Serum, also sowohl freies als auch proteingebundenes.

Grundlage des Verfahrens ist, daß zunächst gebundenes, oxidiertes Homocystein zu freiem reduziert (mit Dithiothreitol -DDT- und Adenosin), und freies enzymatisch mit Hilfe von SAH-Hydrolase zu S-Adenosyl-L-Homocystein umgewandelt werden muß, damit chemisch einheitliches Homocystein vorliegt. Im nächsten Schritt werden markierte Fluoreszein-Tracer und anti-S-Adenosyl-L-Homocystein-Antikörper (monoklonal von Mäusen) hinzugegeben. Das vorhandene S-Adenosyl-L-Homocystein der Patientenprobe und die markierten Tracer konkurrieren nun um die Bindungsstellen der monoklonalen Antikörper. Die Intensität des polarisierten Fluoreszenzlichtes wird dann mit dem optischen Meßsystem bestimmt und anhand einer vorher erstellten logistischen 4-Punkt-Kalibrierungskurve (4PLC) ausgewertet. Der Normbereich für erwachsene Frauen unter 60 Jahren liegt bei 5-15 µmol/l.

Werte zwischen 15 und 19 µmol/l gelten als grenzwertig, bei Konzentrationen > 19 µmol/l besteht erhöhtes Thrombose-Risiko.

## Faktor V-Leiden Mutation und Prothrombin (Faktor II)-Polymorphismus

ThromboType<sup>®</sup> DNA-STRIP<sup>®</sup>-Diagnostik, Molekulargenetischer Nachweis von Faktor V-Leiden (G1691) und Faktor II (Prothrombin)-G20210A, Test der Firma ADS GmbH, Vertrieb über HAIN DIAGNOSTIKA GmbH, 72147 Nehren

Mit einer Prävalenz von ca. 5 % ist die Faktor V-Leiden Mutation der häufigste derzeit bekannte Risikofaktor für venöse Thrombosen. Bei heterozygoten Merkmals-trägern ist das Risiko 5-10 mal, bei homozygoten sogar 50-100 mal höher als das der Normalbevölkerung.

Als Faktor V-Leiden Mutation wird eine Punktmutation des F V-Gens an Position 1691, welche zur Folge hat, daß an Position 506 des korrespondierenden Proteins die Aminosäure Arginin durch Glutamin ausgetauscht wird, bezeichnet. Diese veränderte Aminosäure liegt in der Bindungsregion des APC, wodurch die F V-Mutante nur noch unzureichend von APC gespalten und damit inaktiviert werden kann. Somit ist das physiologische Gleichgewicht in Richtung Thrombophilie verschoben.

Der Prothrombin (Faktor II)-Polymorphismus ist mit venösen und arteriellen Thrombosen assoziiert. Hier beträgt die Inzidenz 1-3 %. Das Thrombose-Risiko ist bei heterozygoten Trägern ca. 3-fach erhöht (homozygote Merkmalsträger wurden bisher nur wenige gefunden). Durch Kombination des Polymorphismus mit Rauchen, Einnahme oraler Kontrazeptiva oder auch zusätzlicher F V-Leiden Mutation erhöht sich das Thrombose-Risiko deutlich.

Der ThromboType<sup>®</sup>-Test dient der Identifizierung von Trägern dieser beiden Mutationen, sowie der jeweiligen Unterscheidung zwischen hetero- und homozygoter Merkmalsausprägung. Da auch dieser Kit eine Kombination aus Multiplex-PCR kombiniert mit reverser Hybridisierung ist und identisch abläuft wie der oben beschriebene MTHFR-Polymorphismus-Test, möchte ich hier auf eine erneute Beschreibung verzichten. Die Auswertung erfolgt ebenfalls anhand einer Schablone auf schon geschilderte Art und Weise, wohingegen hierbei natürlich die Reaktionszonen für beide Mutationen (inklusive Wildtypen und Sensitivitätskontrollen) auf dem Nitrocellulosestreifen vorhanden sind.

### Lipoprotein (a) [Lp(a)]

N Latex Lp(a) Reagenz der Firma Dade Behring Marburg GmbH

Anwendungsbereich dieses Tests ist die In-vitro-Diagnostik zur quantitativen Bestimmung von Lipoprotein (a) in humanem Serum mittels Nephelometrie.

Da Lp(a) eine hohe Strukturhomologie zu Plasminogen aufweist und dessen Wirkung kompetitiv zu behindern vermag, nimmt man an, daß ein erhöhter Lp(a)-Spiegel möglicherweise atherogene Effekte auslösen kann. Ab Serumkonzentrationen von ca. 30 mg/dl Lp(a) ist das atherogene Risiko erhöht, besonders bei Personen mit gleichzeitig erhöhtem LDL-Spiegel.

Prinzip dieser Methode ist die Agglutination Polystyrol-haltiger Partikel, die mit Antikörpern gegen Lp(a) beladen sind, mit dem in der Patientenprobe vorhandenen Lipoprotein (a). Die Intensität des Streulichts im Nephelometer ist vom Lp(a)-Gehalt der Probe abhängig und kann im Vergleich mit Hilfe von Standards ermittelt werden. Die Auswertung des Analyseergebnisses erfolgt automatisch mittels einer Logit-Log-Funktion.

Referenzwerte gesunder Personen weisen eine asymmetrische Verteilung auf bis zu Werten von über 100 mg/dl. Da sich jedoch bei  $> 30$  mg/dl das Arteriosklerose-Risiko erhöht, wurde in dieser Arbeit dort der obere Grenzwert gesetzt.

#### 2.2.3 Bestimmung der Hormonwerte im Überblick

Die Hormonanalysen fanden mit Hilfe eines Immulite-Geräts der Firma DPC (diagnostic Products Corporation) Biermann GmbH statt.

Da sich einige Tests nur geringfügig in Aufbau und Durchführung unterscheiden, möchte ich hier anhand des Estradiol-Immulite<sup>®</sup>-Chemilumineszenz-Enzymimmunoassays nur einmal Grundlagen und Prinzip beschreiben.

Estradiol (Estrogen), FSH, LH, DHEA-Sulfat, Prolactin, Progesteron

Immulite<sup>®</sup> Enzymimmunoassays der Firma DPC Biermann GmbH, Bad Nauheim  
Chemilumineszenz-Immunoassay zur quantitativen Bestimmung von Estradiol im Serum ist die Methodik dieses Tests. Hierbei konkurrieren während der festgelegten Inkubationszeit von 60 Minuten Estradiol der Patientenprobe und alkalische Phosphatase-markiertes Estradiol um eine limitierte Anzahl von spezifischen polyklonalen Estradiol-Antikörpern vom Kaninchen. Mittels spezieller Zentrifugal-Waschtechnik werden dann ungebundene Komponenten entfernt. Im nächsten Inkubationsschritt wird zugegebenes Chemilumineszenz-Substrat (PPD) vom gebundenen Enzym umgesetzt. Die dabei ausgelöste Lichtemission ist der Estrogen-Konzentration der Probe umgekehrt proportional.

Normwerte für Frauen:

Estradiol (am 3.-5. Zyklustag):	12-56 pg/ml
FSH:	2,9-8,0 mIU/ml
LH:	2,3-8,9 mIU/ml
DHEAS:	350-4300 ng/ml
Prolactin:	64-425 µIU/ml
Progesteron:	0-1,5 ng/ml

Testosteron

Testosteron-RIA der Firma DPC Biermann GmbH, Bad Nauheim

Dieser Festphasen Radioimmunoassay dient der In-vitro-Bestimmung von Testosteron im Serum nach dem Prinzip des kompetitiven Immunoassays.

Testosteron der Patientenprobe und <sup>125</sup>I-markiertes Testosteron konkurrieren um eine begrenzte Anzahl von Bindungsstellen hochspezifischer Antikörper. Nach Gleichgewichtseinstellung der Reaktion wird das freie Testosteron abgesaugt. Danach wird die Radioaktivität in einem Gamma-Counter gemessen. Anhand einer Standardkurve läßt sich die Menge des Testosterons ablesen.

Der Referenzbereich liegt bei Frauen zwischen 0,22 und 0,80 ng/ml.

## Androstendion

Androstendion-direkt-RIA der Firma DPC Biermann GmbH, Bad Nauheim

Man verwendet diesen Festphasen Radioimmunoassay zur direkten Bestimmung von Androstendion in Serum oder Plasma. Auch hier liegt das Prinzip des kompetitiven Immunoassays zugrunde.

Hierbei konkurrieren ebenfalls Androstendion aus der Probe und  $^{125}\text{I}$ -markiertes Androstendion um eine bestimmte Zahl von hochspezifischen Antikörpern. Danach finden der Absaug-Vorgang und das Messen der Radioaktivität statt (siehe Testosteron).

Der Normbereich beträgt für Frauen 0,40-2,44 ng/ml.

### 2.3 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte am Institut für Medizinische Informatik (Leiter: Prof. Dr. Dudeck) in Zusammenarbeit mit Herrn Pabst.

Die Berechnungen fanden mit Hilfe des Statistik-Programms SPSS (Statistic Program for Social Sciences) für Windows (Version 6.1.3) statt.

Die Parameter wurden deskriptiv anhand von Mittelwert, Median, Minimum, Maximum, Standardabweichung und Standardfehler dargestellt.

Unterschiede zwischen Zeitpunkten wurden mit Hilfe der Friedman'sche Rangvarianzanalyse getestet.

Der Verlauf der Gerinnungsparameter und Hormonwerte wurde beschrieben durch die Differenz vom Ausgangswert zum Endwert (nach ca. 2 Wochen Hormonbehandlung). Unterschiede zwischen den zwei Gruppen bezüglich dieser Differenzen wurden mit Hilfe des U-Tests von Man-Whitney beurteilt. Zusammenhänge zwischen den Differenzen verschiedener Parameter wurden anhand der Spearman-Rangkorrelation beschrieben, graphisch durch Streudiagramme.

Die Datenanalyse hat explorativen Charakter, die jeweils berechnete Irrtumswahrscheinlichkeit  $p$  liefert Hinweise auf Unterschiede beziehungsweise Zusammenhänge. Für alle genannten Methoden wurde ein Signifikanzniveau von  $p < 0,05$  festgelegt.

### 3 ERGEBNISSE

#### 3.1 Altersverteilung

Die Altersverteilung aller Frauen der IVF-Studie reicht von 22 bis 40 Jahre, wobei der Mittelwert in der SHORT-Protokoll-Gruppe bei 32, in der LONG-Protokoll-Gruppe bei 31 Jahren liegt (siehe auch Tab. 3.1).

**Tabelle 3.1: Altersverteilung**

Gruppe	Mittelwert (Jahre)	Standard- abweichung	Standard- fehler	Median (Jahre)	Minimum (Jahre)	Maximum (Jahre)
SHORT	32,00	3,43	0,99	32,00	26,00	39,00
LONG	31,00	5,31	1,47	32,00	22,00	40,00

**Tabelle 3.1: Altersverteilung der Frauen aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm  
12 Patientinnen der SHORT-Protokoll-Gruppe im Vergleich zu 13 Patientinnen der  
LONG-Protokoll-Gruppe**



### 3.2 Nullprobenbestimmungen

Hier soll zunächst die Auswertung der Parameter erfolgen, die nur einmalig im Rahmen des „kompletten“ Thrombophilie-Screenings zum Zeitpunkt der 1. Blutentnahme (Nullprobe; vor Beginn der Hormonbehandlung) bestimmt wurden. Die Werte der 12 Patientinnen aus der SHORT-Protokoll-Gruppe und die der 13 Patientinnen aus der LONG-Protokoll-Gruppe werden getrennt betrachtet und jeweils in Tabellen aufgeführt. Da in der vorliegenden Arbeit vor allem mit Median-Werten gearbeitet wurde, werden diese (plus Minimum und Maximum) zuerst angegeben und danach zusätzlich Mittelwerte mit Standardabweichung und Standardfehler (siehe unten). Die einzelnen Werte aller 25 IVF-Patientinnen werden jeweils in einer gemeinsamen Abbildung dargestellt.

#### 3.2.1 Antithrombin (AT)

Die AT-Median-Werte beider Gruppen lagen bei der Nullprobenbestimmung im Referenzbereich von 70-130 % der Norm. In der SPG war der Median mit 79,5 % deutlich niedriger als in der LPG mit 96 %.

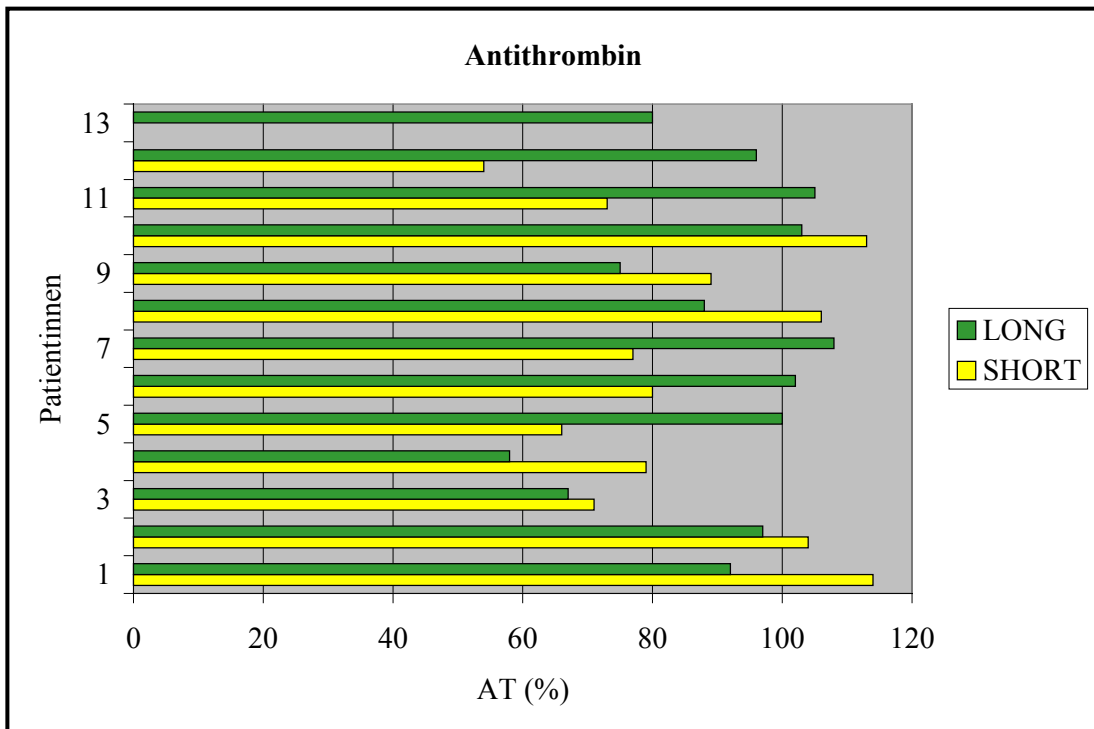
Dabei hatten zwei Frauen aus jeder Gruppe leicht erniedrigte Werte (vgl. Tab. und Abb. 3.2).

**Tabelle 3.2: Antithrombin**

Gruppe	Median (%)	Minimum (%)	Maximum (%)	Mittelwert (%)	Standardabweichung	Standardfehler
SHORT	79,50	54,00	114,00	85,50	19,60	5,66
LONG	96,00	58,00	108,00	90,08	15,63	4,34

**Tabelle 3.2: Antithrombin-Werte (Median, Minimum, Maximum, Mittelwert, Standardabweichung, Standardfehler) der Patientinnen aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm**

**Werte der 12 Frauen aus dem SHORT-Protokoll-Programm im Vergleich zu 13 Frauen aus dem LONG-Protokoll-Programm**



**Abbildung 3.2: Antithrombin-Nullproben-Werte (Einzelwerte) der 25 Patientinnen aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm**

**Gelb dargestellt: Die einzelnen Werte der 12 Patientinnen der SHORT-Protokoll-Gruppe**

**Grün dargestellt: Die einzelnen Werte der 13 Patientinnen der LONG-Protokoll-Gruppe**

### 3.2.2 Protein C (PC)

Die Protein C-Median-Werte lagen bei der Nullprobenbestimmung in der SPG bei 96, in der LPG bei 100 % der Norm.

Die Protein C-Werte der 12 Patientinnen aus der SPG lagen alle innerhalb des Referenzbereichs von 70-130 % der Norm.

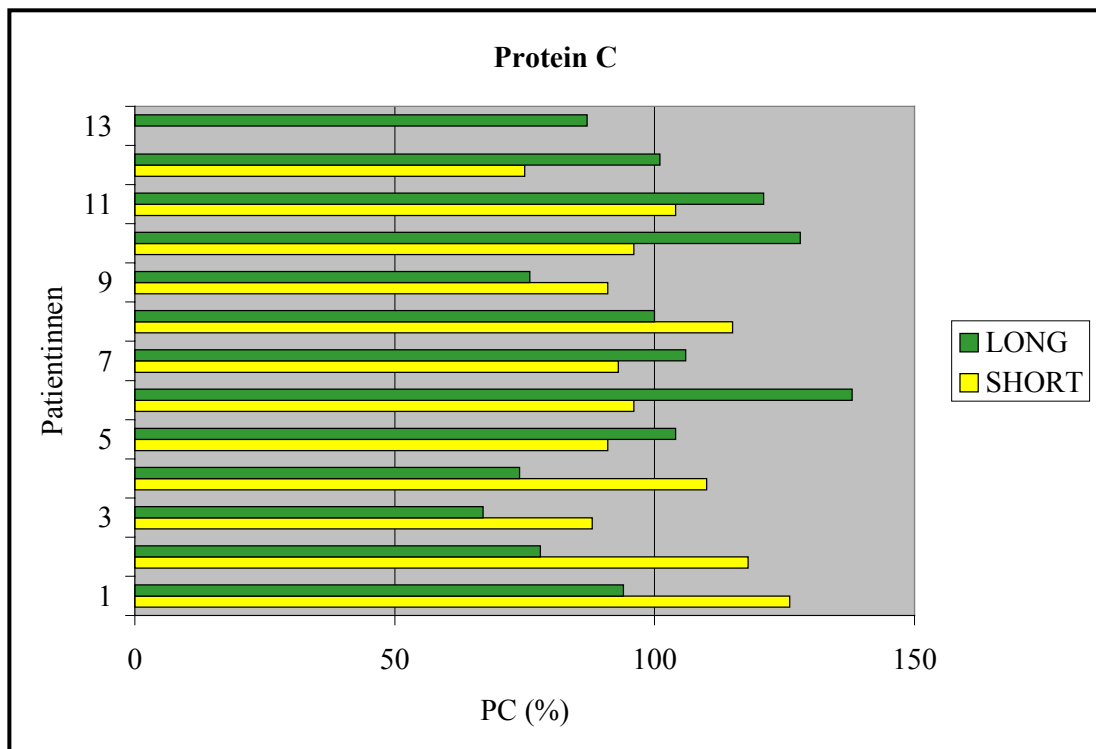
Eine Patientin der LPG hatte ein diskret erniedrigtes Protein C von 67 %, eine Frau ein leicht erhöhtes von 138 % der Norm (vgl. Tab. und Abb. 3.3).

**Tabelle 3.3: Protein C**

Gruppe	Median (%)	Minimum (%)	Maximum (%)	Mittelwert (%)	Standardabweichung	Standardfehler
SHORT	96,00	75,00	126,00	100,25	14,62	4,22
LONG	100,00	67,00	138,00	98,00	21,79	6,04

**Tabelle 3.3: Protein C-Werte (Median, Minimum, Maximum, Mittelwert, Standardabweichung, Standardfehler) der Patientinnen aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm**

**Werte der 12 Frauen aus dem SHORT-Protokoll-Programm im Vergleich zu 13 Frauen aus dem LONG-Protokoll-Programm**



**Abbildung 3.3: Protein C-Nullproben-Werte (Einzelwerte) der 25 Patientinnen aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm**

**Gelb dargestellt: Die einzelnen Werte der 12 Patientinnen der SHORT-Protokoll-Gruppe**

**Grün dargestellt: Die einzelnen Werte der 13 Patientinnen der LONG-Protokoll-Gruppe**

## 3.2.3 Protein S (PS)

Die Protein S-Median-Werte lagen zum Zeitpunkt der Nullprobenbestimmung in der SPG bei 106,5 %, in der LPG bei 89 % der Norm.

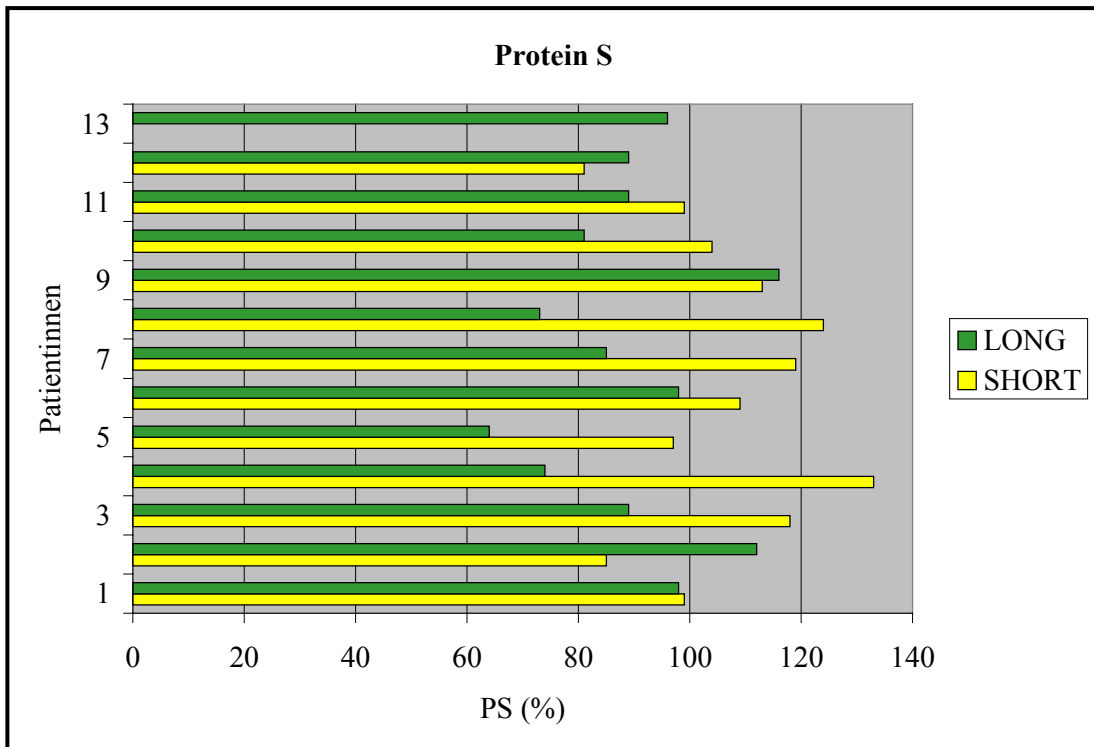
Eine Patientin der SPG hatte ein um 3 % erhöhtes PS, eine Frau aus der LPG ein leicht erniedrigtes PS von 64 % der Norm. Alle übrigen Frauen hatten Protein S-Werte im Normbereich (vgl. Tab. und Abb. 3.4).

**Tabelle 3.4: Protein S**

Gruppe	Median (%)	Minimum (%)	Maximum (%)	Mittelwert (%)	Standardabweichung	Standardfehler
SHORT	106,50	81,00	133,00	106,75	15,57	4,49
LONG	89,00	64,00	116,00	89,54	14,86	4,12

**Tabelle 3.4: Protein S-Werte (Median, Minimum, Maximum, Mittelwert, Standardabweichung, Standardfehler) der Patientinnen aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm**

**Werte der 12 Frauen aus dem SHORT-Protokoll-Programm im Vergleich zu 13 Frauen aus dem LONG-Protokoll-Programm**



**Abbildung 3.4: Protein S-Nullproben-Werte (Einzelwerte) der 25 Patientinnen aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm**

**Gelb dargestellt: Die einzelnen Werte der 12 Patientinnen der SHORT-Protokoll-Gruppe**

**Grün dargestellt: Die einzelnen Werte der 13 Patientinnen der LONG-Protokoll-Gruppe**

### 3.2.4 APC Ratio

Die Nullproben-Median-Werte beider Gruppen waren mit 2,55 in der SPG und mit 2,5 in der LPG beinahe identisch.

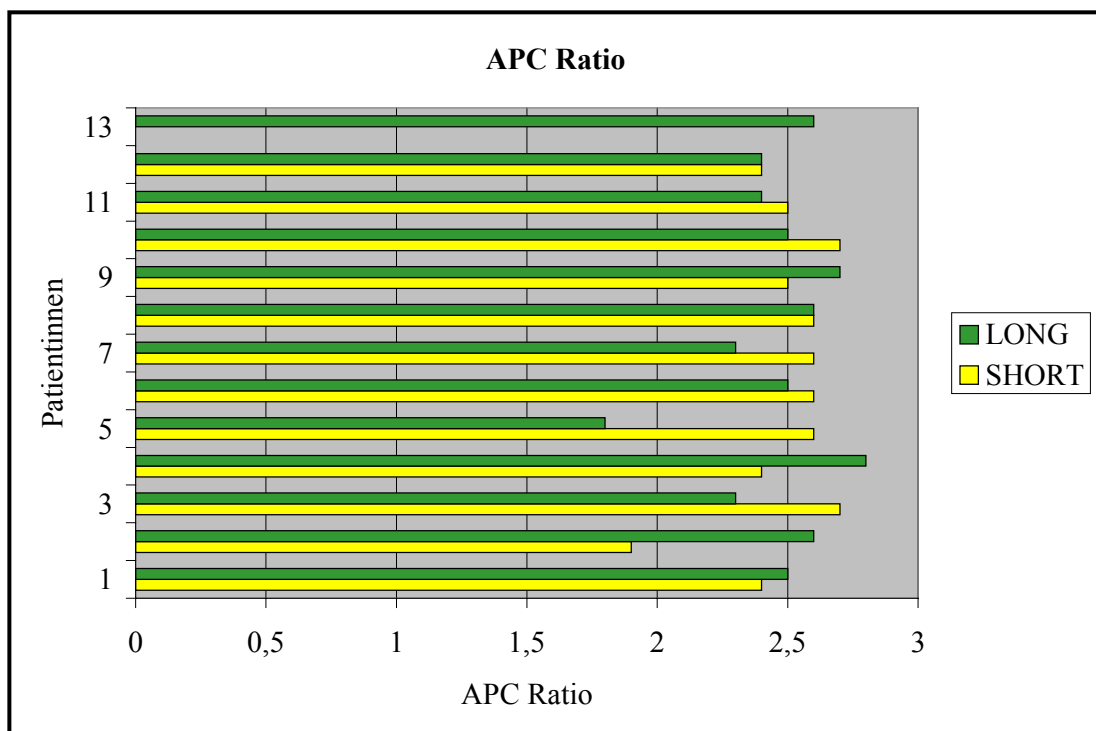
Außer einer Patientin aus dem LONG-Protokoll-Programm, die eine leicht erniedrigte APC Ratio von 1,8 hatte, lagen alle Frauen im Normbereich von 1,9-5,0 (vgl. Tab. und Abb. 3.5).

**Tabelle 3.5: APC Ratio**

Gruppe	Median	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standard- abweichung	Standard- fehler
SHORT	2,55	1,90	2,70	2,49	0,22	0,06
LONG	2,50	1,80	2,80	2,46	0,25	0,07

**Tabelle 3.5: APC Ratio-Werte (Median, Minimum, Maximum, Mittelwert, Standardabweichung, Standardfehler) der Patientinnen aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm**

**Werte der 12 Frauen aus dem SHORT-Protokoll-Programm im Vergleich zu 13 Frauen aus dem LONG-Protokoll-Programm**



**Abbildung 3.5: APC Ratio-Nullproben-Werte (Einzelwerte) der 25 Patientinnen aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm**

**Gelb dargestellt: Die einzelnen Werte der 12 Patientinnen der SHORT-Protokoll-Gruppe**

**Grün dargestellt: Die einzelnen Werte der 13 Patientinnen der LONG-Protokoll-Gruppe**

### 3.2.5 Lipoprotein (a)

Bei der Bestimmung von LP(a) gibt keinen definierten Referenzbereich. Es wurden in verschiedenen Studien jeweils asymmetrische Verteilungen der Werte gefunden. Bei gesunden Probanden kamen Werte über 100 mg/dl vor. Man nimmt jedoch an, daß bei Werten > 30 mg/dl das Arteriosklerose-Risiko steigt.

Weiterhin ist eine genauere Bestimmung der Werte unterhalb von 10 mg/dl nicht mehr sinnvoll. Deshalb wurden die Werte, die in dieser Studie mit < 10 mg/dl bestimmt wurden, 10 mg/dl gleichgesetzt (siehe Tab. und Abb. 3.6).

Bei Untersuchung der Frauen aus dem IVF-Programm lagen die Medianwerte der SPG bei 11,5, die der LPG bei 10 mg/dl.

Den Höchstwert von 73 mg/dl erreichte dabei eine Patientin der SPG.

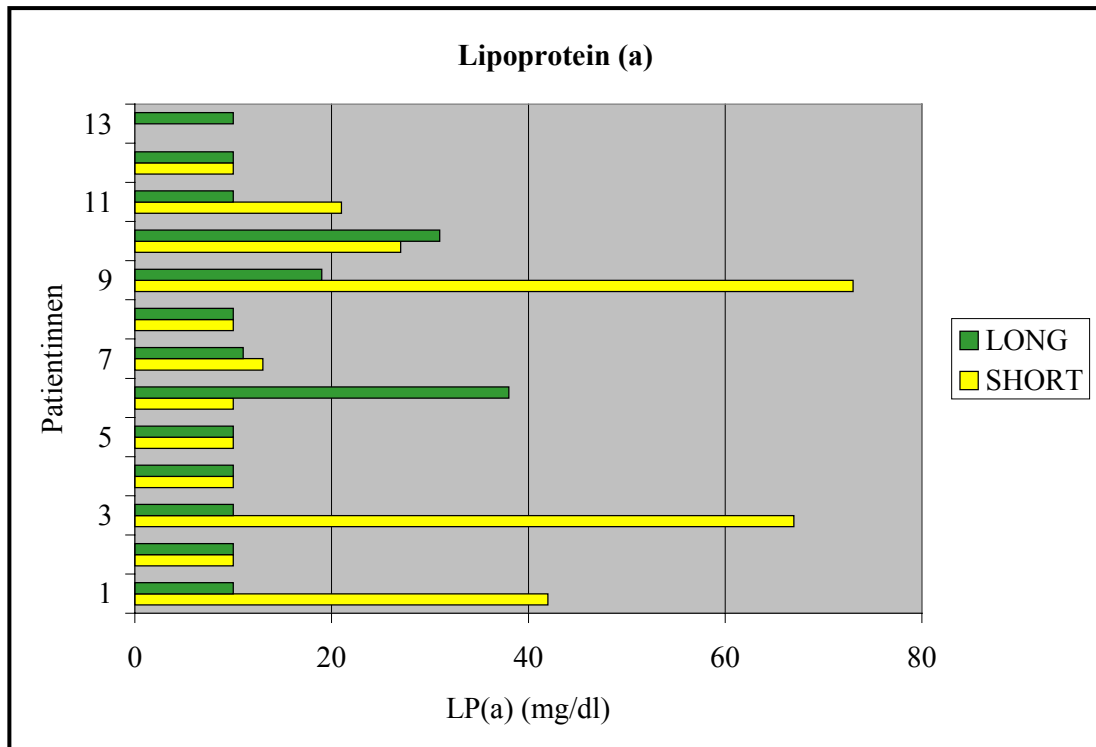
15 Patientinnen hatten Werte < 10 mg/dl, 5 Frauen Werte zwischen 10 und 30 mg/dl und die Werte von 5 Patientinnen lagen oberhalb des Arteriosklerose-Richtwertes (vgl. Tab. und Abb. 3.6).

**Tabelle 3.6: Lipoprotein (a)**

Gruppe	Median (mg/dl)	Minimum (mg/dl)	Maximum (mg/dl)	Mittelwert (mg/dl)	Standard- abweichung	Standard- fehler
SHORT	11,50	10,00	73,00	25,25	23,10	6,67
LONG	10,00	10,00	38,00	14,54	9,31	2,58

**Tabelle 3.6: Lipoprotein (a)-Werte (Median, Minimum, Maximum, Mittelwert, Standardabweichung, Standardfehler) der Patientinnen aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm**

**Werte der 12 Frauen aus dem SHORT-Protokoll-Programm im Vergleich zu 13 Frauen aus dem LONG-Protokoll-Programm**



**Abbildung 3.6: Lipoprotein (a)-Nullproben-Werte (Einzelwerte) der 25 Patientinnen aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm**

**Gelb dargestellt: Die einzelnen Werte der 12 Patientinnen der SHORT-Protokoll-Gruppe**

**Grün dargestellt: Die einzelnen Werte der 13 Patientinnen der LONG-Protokoll-Gruppe**

**Werte < 10 mg/dl sind als 10 mg/dl dargestellt**

### 3.2.6 Homocystein / Methylentetrahydrofolat-Reduktase (MTHFR)-Polymorphismus

Die Homocystein-Median-Werte der Frauen aus der SPG lagen bei 8,7, die der Frauen aus der LPG bei 8  $\mu\text{mol/l}$ .

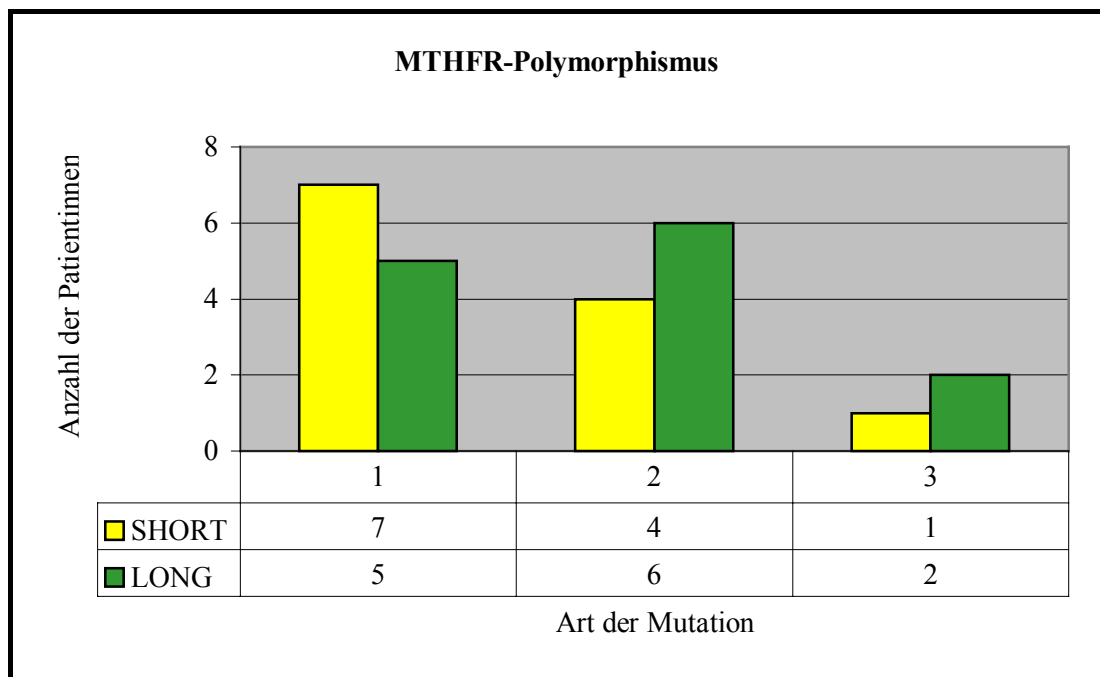
Jeweils eine Patientin der SPG und der LPG wies einen grenzwertigen Homocystein-Wert von 15,7 (SPG) bzw. 18,4  $\mu\text{mol/l}$  (LPG) auf, beide zeigten jedoch keinen MTHFR-Polymorphismus.

Insgesamt 12 der 25 Patientinnen (7 der SPG; 5 der LPG) besaßen keinen MTHFR-Polymorphismus. 10 Frauen (4 der SPG; 6 der LPG) wiesen einen heterozygoten und



3 Patientinnen (1 der SPG; 2 der LPG) einen homozygoten MTHFR-Polymorphismus auf (vgl. Abb. und Tab. 3.7).

Alle Patientinnen mit hetero- oder homozygotem MTHFR- Polymorphismus zeigten normale Homocystein-Werte.



**Abbildung und Tabelle 3.7: Art und Anzahl der Homocystein-Polymorphismen der 25 Patientinnen aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm**

**Art des Polymorphismus:**

**1 = kein MTHFR-Polymorphismus**

**2 = heterozygoter MTHFR-Polymorphismus**

**3 = homozygoter MTHFR-Polymorphismus**

**Gelb dargestellt: Art und Anzahl der Polymorphismen der 12 Patientinnen der SHORT-Protokoll-Gruppe**

**Grün dargestellt: Art und Anzahl der Polymorphismen der 13 Patientinnen der LONG-Protokoll-Gruppe**

### 3.2.7 Anti-Phospholipid-Antikörper (APA)-Schnelltest / APA-ELISA

Die APA-Schnelltests aller Frauen der SPG waren negativ.

Beim zusätzlich durchgeführten, sensitiveren APA-ELISA Test lagen dann auch alle Werte der Patientinnen unter 5 units/ml, also im Normbereich.

Bei den Frauen aus der LPG fielen zunächst 5 Frauen durch einen positiven APA-Schnelltest auf, was sich aber im APA-ELISA Test nicht bestätigte. Dieser war bei allen 5 Patientinnen mit  $< 5$  units/ml normal und zeigte somit keinen Hinweis für Anti-Phospholipid-Antikörper der Klasse IgG oder IgM.

Eine Patientin der LONG-Protokoll-Gruppe zeigte bei negativem Schnelltest einen mit 7 units/ml grenzwertigen APA-ELISA Test auf.

### 3.2.8 Prothrombin (Faktor II)-Polymorphismus und Faktor V-Leiden Mutation

Der Prothrombin-Polymorphismus ergab bei allen 25 Patientinnen des IVF-Programms einen negativen Befund.

Bei 5 der 12 Frauen der SPG und bei allen 13 Patientinnen der LPG wurde später noch die Faktor V-Leiden Mutation mitbestimmt.

Hierbei stellten sich für alle 5 Frauen der SPG negative Ergebnisse heraus.

Bei der LPG hingegen waren 2 Patientinnen Faktor V-Leiden positiv, 11 Frauen Faktor V-Leiden negativ.

### 3.3 Gerinnungsparameter

Die Ergebnisse der übrigen, mehrfach bestimmten Gerinnungs- und Hormonwerte wurden zunächst jeweils für die SHORT-Protokoll-Gruppe und die LONG-Protokoll-Gruppe separat betrachtet. Danach wurden beide Gruppen miteinander verglichen und geprüft, ob ein signifikanter Unterschied vorhanden sein könnte.

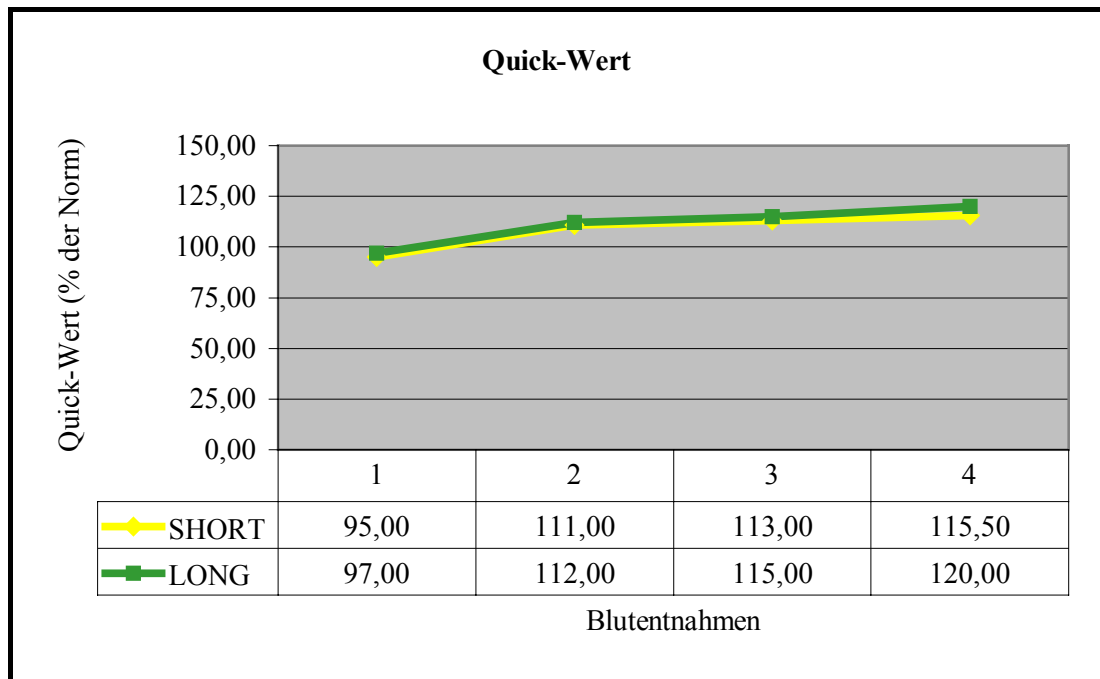
Da in den Abbildungen (plus angehängten Tabellen) hierbei die Median-Werte dargestellt sind, werden Mittelwerte plus Standardabweichung nochmals separat in einer Wertetabelle (mit -a- bezeichnet) aufgeführt.

#### 3.3.1 Quick-Wert (PT)

Die Quick-Werte der Patientinnen beider Gruppen stiegen während der gesamten Behandlungsdauer kontinuierlich an. Die Signifikanz der Werte lag in beiden Gruppen deutlich unter dem geforderten Niveau von  $p < 0,05$ , nämlich  $p < 0,002$  in der SPG und  $p < 0,001$  in der LPG.

Die Werte der Frauen aus der LPG lagen bei allen Blutentnahmen jeweils etwas über denen der Frauen aus der SPG, wobei sich diese Differenz nicht als statistisch signifikant erwies (vgl. Abb. und Tab. 3.8).

Trotz des kontinuierlichen Anstiegs blieben die Quick-Werte im physiologischen Bereich.



**Abbildung und Tabelle 3.8:** Dargestellt sind die Quick-Median-Werte der 4 im Verlauf der In-vitro-Fertilisationsbehandlung entnommenen Blutproben der 25 Frauen aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm (genaue Zeitpunkte der 4 Blutentnahmen siehe vorne, 2.1.1 Beschreibung der Gruppen)

Werte der 12 Patientinnen aus dem SHORT-Protokoll-Programm im Vergleich zu 13 Patientinnen aus dem LONG-Protokoll-Programm

**Tabelle 3.8a: Quick-Wert**

Blutentnahme	1	2	3	4
Gruppe SHORT	98,33 (12,83)	110,67 (11,90)	112,33 (9,40)	106,42 (33,97)
Gruppe LONG	96,23 (11,34)	111,77 (11,02)	111,54 (12,84)	116,92 (12,62)

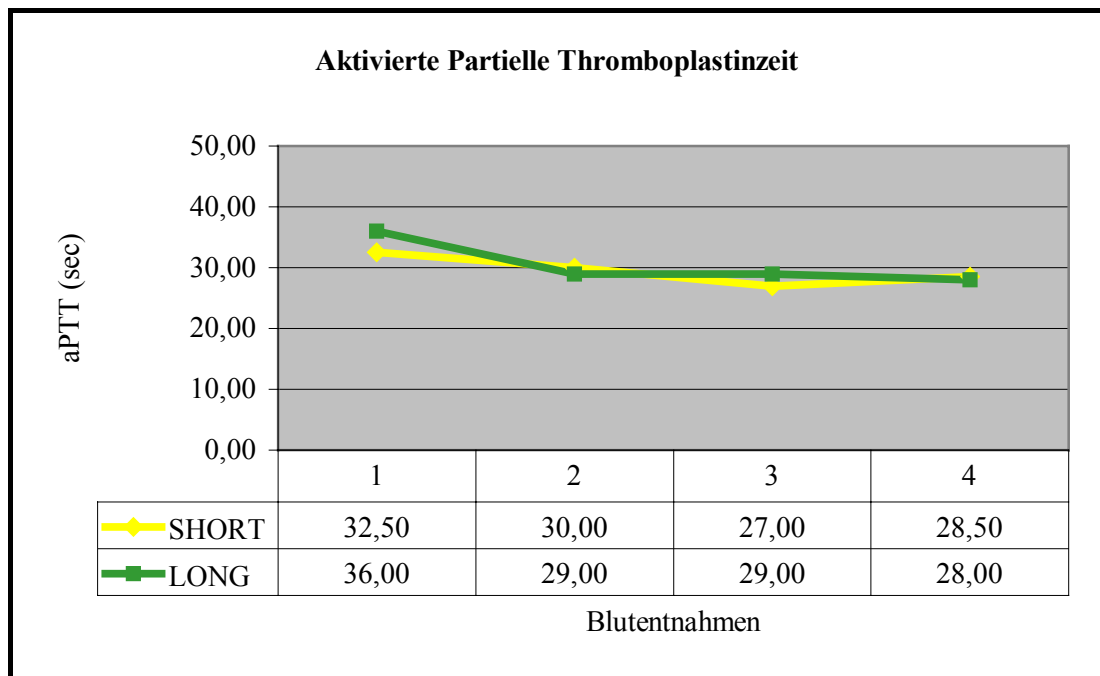
**Tabelle 3.8a:** Dargestellt sind die Quick-Mittelwerte in % der Norm (plus Standardabweichung) der 4 im Verlauf der In-vitro-Fertilisationsbehandlung entnommenen Blutproben der 25 Frauen aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm

Werte der 12 Patientinnen aus dem SHORT-Protokoll-Programm im Vergleich zu 13 Patientinnen aus dem LONG-Protokoll-Programm

### 3.3.2 Aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT)

Die aPTT verkürzte sich signifikant im Verlauf der Behandlung. Sowohl die Patientinnen der SPG als auch die der LPG zeigten gegen Ende der Behandlung niedrigere aPTT-Zeiten, die jedoch im Mittel noch im unteren Referenzbereich lagen. Dabei lag die Irrtumswahrscheinlichkeit der Werte im SHORT-Protokoll-Programm bei  $p < 0,02$ , im LONG-Protokoll-Programm bei  $p < 0,002$ .

Ein Unterschied zwischen den beiden Gruppen war statistisch nicht zu erkennen (vgl. Abb. und Tab. 3.9).



**Abbildung und Tabelle 3.9:** Dargestellt sind die aPTT-Median-Werte der 4 im Verlauf der In-vitro-Fertilisationsbehandlung entnommenen Blutproben der 25 Frauen aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm (genaue Zeitpunkte der 4 Blutentnahmen siehe vorne, 2.1.1 Beschreibung der Gruppen)

Werte der 12 Patientinnen aus dem SHORT-Protokoll-Programm im Vergleich zu 13 Patientinnen aus dem LONG-Protokoll-Programm

**Tabelle 3.9a: Aktivierte Partielle Thromboplastinzeit**

Blutentnahme	1	2	3	4
Gruppe SHORT	34,31 (6,97)	31,50 (4,94)	29,40 (3,55)	36,98 (26,43)
Gruppe LONG	37,23 (7,20)	30,31 (4,29)	30,54 (4,20)	29,69 (4,05)

**Tabelle 3.9a: Dargestellt sind die aPTT-Mittelwerte in sec. (plus Standardabweichung) der 4 im Verlauf der In-vitro-Fertilisationsbehandlung entnommenen Blutproben der 25 Frauen aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm**

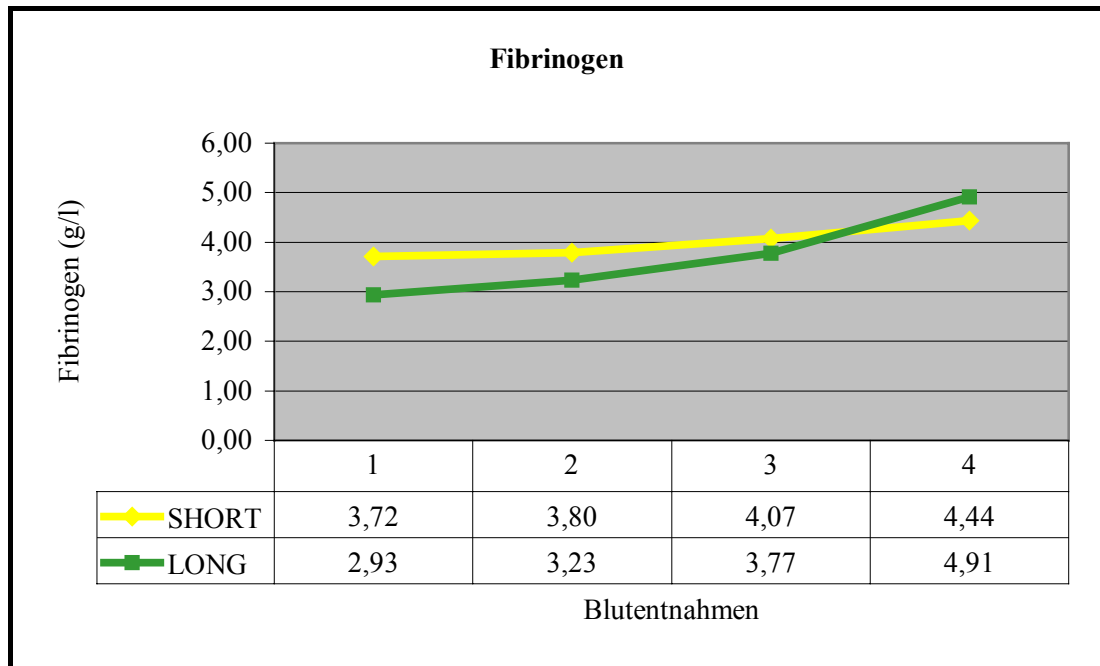
**Werte der 12 Patientinnen aus dem SHORT-Protokoll-Programm im Vergleich zu 13 Patientinnen aus dem LONG-Protokoll-Programm**

### 3.3.3 Fibrinogen

Mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p < 0,001$  stiegen die Fibrinogen-Werte der Frauen aus dem LONG-Protokoll-Programm deutlich und kontinuierlich während des gesamten IVF-Zyklus an. Von Ausgangswerten unter 3 g/l (Referenzbereich: 1,77-4,00 g/l) kletterten sie bis zum Ende der Behandlung auf knapp 5 g/l (vgl. Abb. und Tab. 3.10) und lagen somit oberhalb des Normbereichs.

Die Median-Werte der SHORT-Protokoll-Patientinnen deuteten ebenfalls auf ein kontinuierliches Ansteigen des Fibrinogens bis auf 4,44 g/l im Mittel hin (vgl. Abb. 3.10), jedoch ergab sich keine statistische Signifikanz in dieser Gruppe.

Mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit  $p < 0,03$  zeigte sich dagegen hier ein Unterschied zwischen den beiden Gruppen auf. Dabei lagen die Fibrinogen-Werte der Frauen aus der LPG während der ersten drei Blutentnahmen unter denen der SPG, aber zum Zeitpunkt des Embryonentransfers (4. BE) überragten sie diese um ca. 0,5 g/l. Die Werte der LONG-Protokoll-Frauen stiegen also, von niedrigeren Ausgangswerten ausgehend, im Endeffekt weitaus höher an als die der Frauen aus dem SHORT-Protokoll-Programm, wo kein signifikanter Anstieg zu erkennen war.



**Abbildung und Tabelle 3.10:** Dargestellt sind die Fibrinogen-Median-Werte der 4 im Verlauf der In-vitro-Fertilisationsbehandlung entnommenen Blutproben der 25 Frauen aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm (genaue Zeitpunkte der 4 Blutentnahmen siehe vorne, 2.1.1 Beschreibung der Gruppen)

Werte der 12 Patientinnen aus dem SHORT-Protokoll-Programm im Vergleich zu 13 Patientinnen aus dem LONG-Protokoll-Programm

**Tabelle 3.10a: Fibrinogen**

Blutentnahme	1	2	3	4
Gruppe SHORT	3,94 (1,29)	4,02 (1,01)	4,17 (0,85)	4,10 (1,15)
Gruppe LONG	3,19 (1,09)	3,68 (1,42)	3,90 (1,14)	4,93 (1,39)

**Tabelle 3.10a:** Dargestellt sind die Fibrinogen-Mittelwerte in g/l (plus Standardabweichung) der 4 im Verlauf der In-vitro-Fertilisationsbehandlung entnommenen Blutproben der 25 Frauen aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm

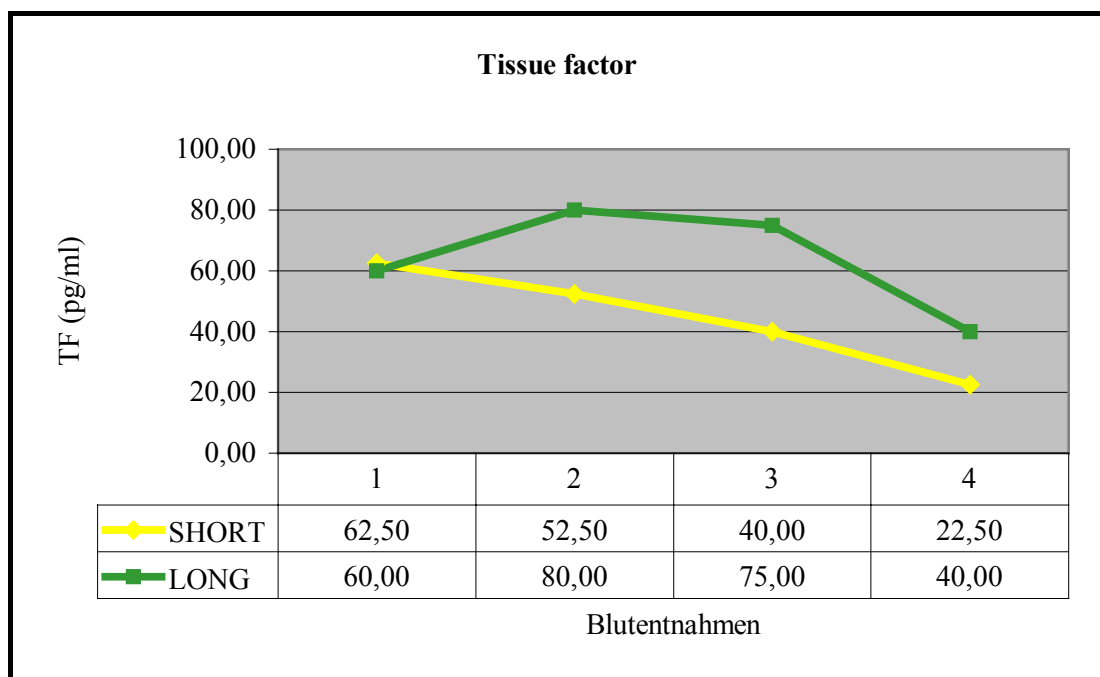
Werte der 12 Patientinnen aus dem SHORT-Protokoll-Programm im Vergleich zu 13 Patientinnen aus dem LONG-Protokoll-Programm

## 3.3.4 Tissue factor (TF)

Die Tissue factor-Werte der Frauen aus dem SHORT-Protokoll-IVF-Programm sanken mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p < 0,001$  kontinuierlich ab im Verlauf der Hormonbehandlung von 62,5 über 52,5 und 40,0 auf 22,5 pg/ml (vgl. Abb. und Tab. 3.11).

Die TF-Werte der Frauen aus der LPG hingegen stiegen von dem Nullprobenwert (1. BE) bis zur 2. Blutentnahme um 20 pg/ml an, fielen dann zunächst leicht ab um 5 pg/ml bis zum Zeitpunkt der 3. Kontrolle (Tag vor Punktion), um danach deutlich um 35 pg/ml zu sinken bis zur 4. Blutentnahme, d.h. dem Tag des Embryonentransfers. Auch dieser Verlauf wies eine Signifikanz von  $p < 0,001$  auf.

Die Unterschiede zwischen Gruppe SHORT und LONG waren hierbei statistisch signifikant.



**Abbildung und Tabelle 3.11:** Dargestellt sind die Tissue factor-Median-Werte der 4 im Verlauf der In-vitro-Fertilisationsbehandlung entnommenen Blutproben der 25 Frauen aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm (genaue Zeitpunkte der 4 Blutentnahmen siehe vorne, 2.1.1 Beschreibung der Gruppen)

Werte der 12 Patientinnen aus dem SHORT-Protokoll-Programm im Vergleich zu 13 Patientinnen aus dem LONG-Protokoll-Programm



**Tabelle 3.11a: Tissue factor**

Blutentnahme	1	2	3	4
Gruppe SHORT	65,00 (37,48)	47,08 (22,51)	45,00 (23,74)	31,25 (23,46)
Gruppe LONG	65,38 (31,59)	86,15 (46,24)	70,38 (42,50)	58,46 (45,89)

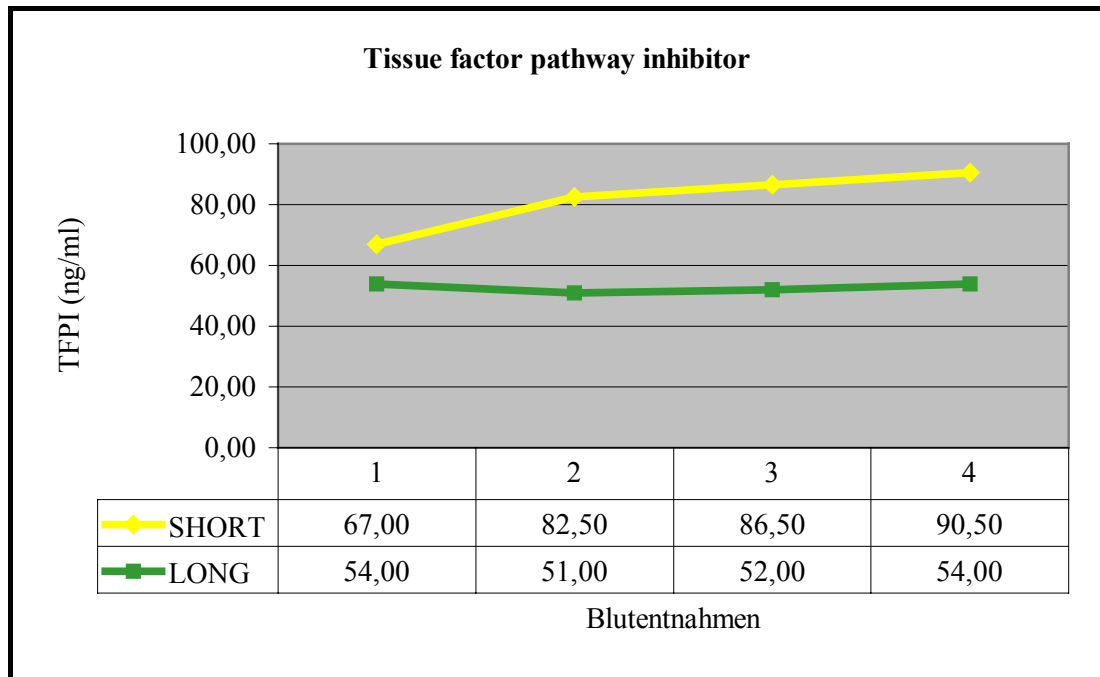
**Tabelle 3.11a: Dargestellt sind die Tissue factor-Mittelwerte in pg/ml (plus Standardabweichung) der 4 im Verlauf der In-vitro-Fertilisationsbehandlung entnommenen Blutproben der 25 Frauen aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm**

**Werte der 12 Patientinnen aus dem SHORT-Protokoll-Programm im Vergleich zu 13 Patientinnen aus dem LONG-Protokoll-Programm**

### 3.3.5 Tissue factor pathway inhibitor (TFPI)

Der TFPI der Frauen aus der SPG stieg signifikant ( $p < 0,001$ ) kontinuierlich im Verlauf der Studie an. Die Ausgangswerte lagen im Mittel bei 67 ng/ml, die Endwerte bei ca. 90 ng/ml. Die TFPI-Werte der Frauen aus der LPG änderten sich nicht signifikant. Median-Ausgangs- und Endwerte lagen jeweils bei 54 ng/ml, die Proben zwei und drei bei 51 und 52 ng/ml (vgl. Abb. und Tab. 3.12).

Mit einer Signifikanz von  $p < 0,03$  ist diese Differenz zwischen den beiden IVF-Programmen auch statistisch belegt.



**Abbildung und Tabelle 3.12:** Dargestellt sind die Tissue factor pathway inhibitor-Median-Werte der 4 im Verlauf der In-vitro-Fertilisationsbehandlung entnommenen Blutproben der 25 Frauen aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm (genaue Zeitpunkte der 4 Blutentnahmen siehe vorne, 2.1.1 Beschreibung der Gruppen)

Werte der 12 Patientinnen aus dem SHORT-Protokoll-Programm im Vergleich zu 13 Patientinnen aus dem LONG-Protokoll-Programm

**Tabelle 3.12a: Tissue factor pathway inhibitor**

Blutentnahme	1	2	3	4
Gruppe SHORT	69,50 (26,06)	77,33 (30,85)	87,58 (34,83)	91,33 (35,07)
Gruppe LONG	55,38 (10,10)	54,46 (17,14)	55,85 (18,79)	57,54 (20,52)

**Tabelle 3.12a:** Dargestellt sind die Tissue factor pathway inhibitor-Mittelwerte in ng/ml (plus Standardabweichung) der 4 im Verlauf der In-vitro-Fertilisationsbehandlung entnommenen Blutproben der 25 Frauen aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm

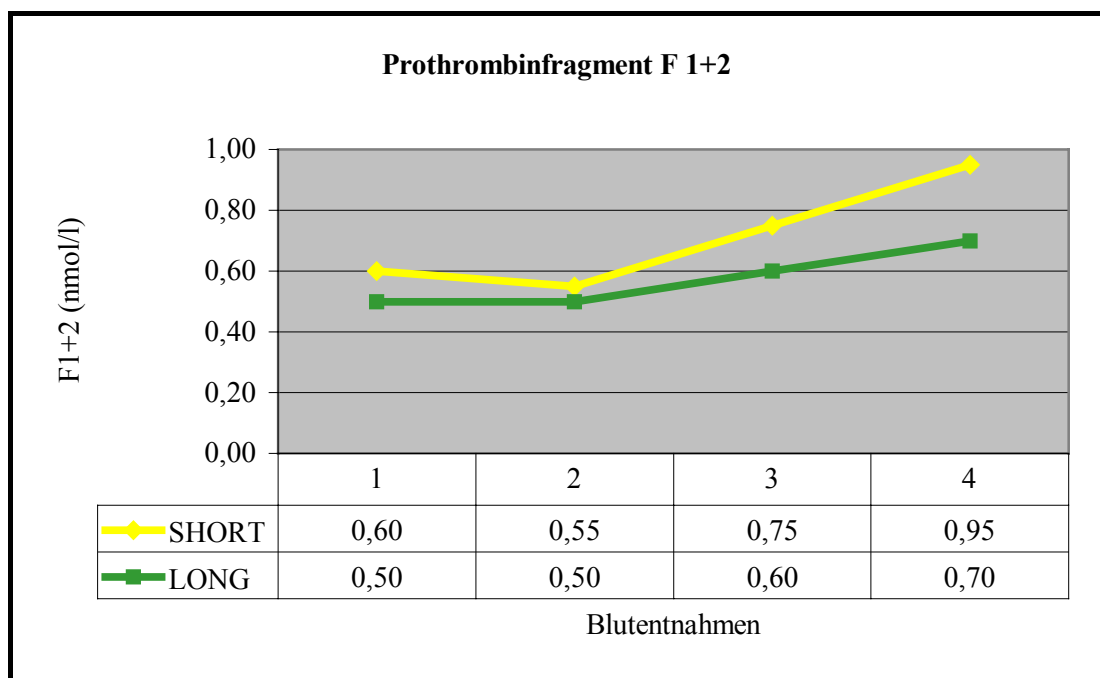
Werte der 12 Patientinnen aus dem SHORT-Protokoll-Programm im Vergleich zu 13 Patientinnen aus dem LONG-Protokoll-Programm

## 3.3.6 Prothrombinfragment F 1+2 (F1+2)

Die Werte des Prothrombinfragmentes F 1+2 stiegen in beiden Gruppen erst ab der 2. Blutentnahme an (Signifikanz in der SPG:  $p = 0,05$ ; in der LPG:  $p < 0,001$ ).

Zwischen Nullprobe (1. BE) und 1. Kontrolle am ca. 8. Tag der Stimulation (2. BE) zeigte sich in der SPG ein leichter Abfall von 0,05 nmol/ml, in der LPG blieben die Werte unverändert. Bei den Blutkontrollen drei und vier zeigte sich ein deutliches Ansteigen, vor allem bei den Werten der SPG, wo die Werte zwischen der 2. und 3. sowie zwischen der 3. und 4. Blutentnahme um jeweils 0,2 nmol/ml stiegen. In der LPG stiegen sie jeweils nur um 0,1 nmol/ml an (vgl. Abb. und Tab. 3.13).

Eine Differenz zwischen beiden Gruppen war statistisch nicht zu erkennen.



**Abbildung und Tabelle 3.13:** Dargestellt sind die Prothrombinfragment F 1+2-Median-Werte der 4 im Verlauf der In-vitro-Fertilisationsbehandlung entnommenen Blutproben der 25 Frauen aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm (genaue Zeitpunkte der 4 Blutentnahmen siehe vorne, 2.1.1 Beschreibung der Gruppen)

Werte der 12 Patientinnen aus dem SHORT-Protokoll-Programm im Vergleich zu 13 Patientinnen aus dem LONG-Protokoll-Programm

**Tabelle 3.13a: Prothrombinfragment F 1+2**

Blutentnahme	1	2	3	4
Gruppe SHORT	0,93 (0,82)	0,61 (0,15)	1,52 (1,92)	0,88 (0,30)
Gruppe LONG	0,55 (0,21)	0,54 (0,17)	0,92 (1,18)	0,92 (0,42)

**Tabelle 3.13a: Dargestellt sind die Prothrombinfragment F 1+2-Mittelwerte in nmol/l (plus Standardabweichung) der 4 im Verlauf der In-vitro-Fertilisationsbehandlung entnommenen Blutproben der 25 Frauen aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm Werte der 12 Patientinnen aus dem SHORT-Protokoll-Programm im Vergleich zu 13 Patientinnen aus dem LONG-Protokoll-Programm**

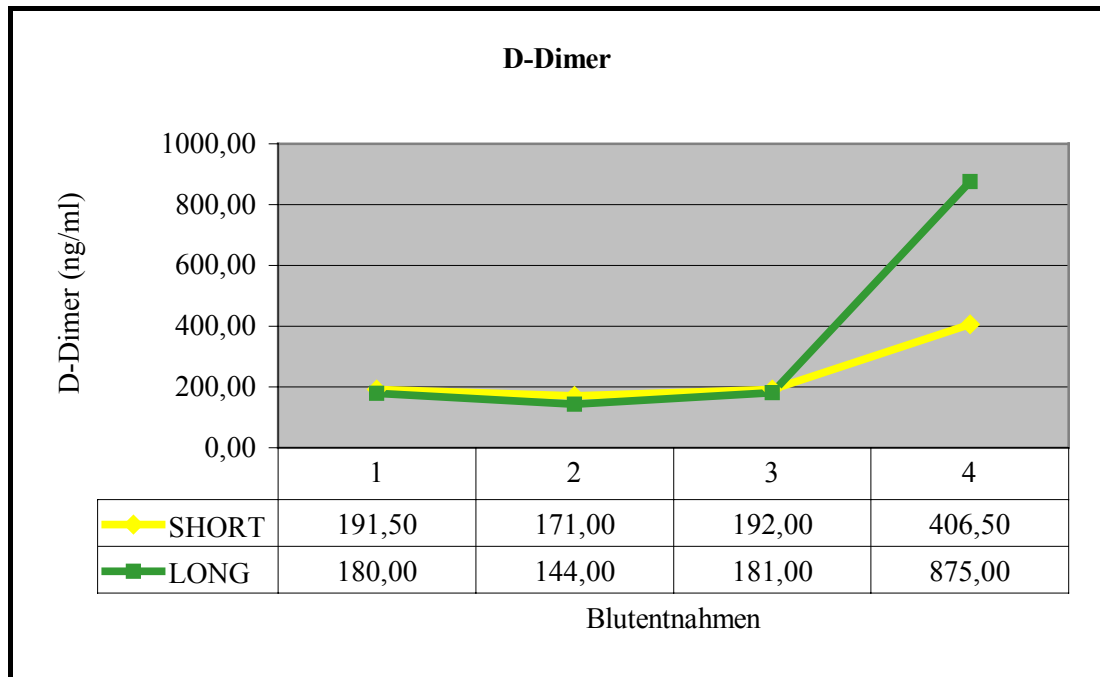
### 3.3.7 D-Dimer

Sowohl in der SHORT-Protokoll-Gruppe als auch in der LONG-Protokoll Gruppe fielen die Werte vom Zeitpunkt der 1. Blutentnahme (Nullprobe) zuerst um etwa 20 ng/ml ab, um dann bis zur 3. Blutprobe um ca. den gleichen Wert wieder anzuheben. Nach der Ovulation jedoch, d.h. ab dem Zeitpunkt der 3. Blutentnahme (Tag vor der Follikelpunktion), stiegen die D-Dimer-Werte schnell an, so daß sie am Tag des Embryonentransfers (4. BE) in der SPG ca. 400 ng/ml erreichten (Normbereich), in der LPG jedoch mit 875 ng/ml den Referenzbereich von < 500 ng/ml um beinahe 400 ng/ml überstiegen.

Im LONG-Protokoll-Programm wurden, von Ausgangswerten um ca. 180 ng/ml ausgehend, 875 ng/ml im Mittel erreicht. Die Signifikanz lag dabei bei  $p < 0,001$ .

Auch im SHORT-Protokoll-Programm war der Anstieg signifikant ( $p = 0,001$ ). Hier stiegen die Werte von ca. 190 auf über 400 ng/ml.

Mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p = 0,07$  war der Unterschied zwischen den beiden Gruppen statistisch nicht signifikant (vgl. Abb. und Tab. 3.14).



**Abbildung und Tabelle 3.14:** Dargestellt sind die D-Dimer-Median-Werte der 4 im Verlauf der In-vitro-Fertilisationsbehandlung entnommenen Blutproben der 25 Frauen aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm (genaue Zeitpunkte der 4 Blutentnahmen siehe vorne, 2.1.1 Beschreibung der Gruppen)

Werte der 12 Patientinnen aus dem SHORT-Protokoll-Programm im Vergleich zu 13 Patientinnen aus dem LONG-Protokoll-Programm

**Tabelle 3.14a: D-Dimer**

Blutentnahme	1	2	3	4
Gruppe SHORT	198,67 (51,83)	210,42 (98,43)	254,75 (115,07)	398,42 (150,08)
Gruppe LONG	199,54 (99,05)	209,00 (142,91)	237,23 (183,84)	881,00 (617,25)

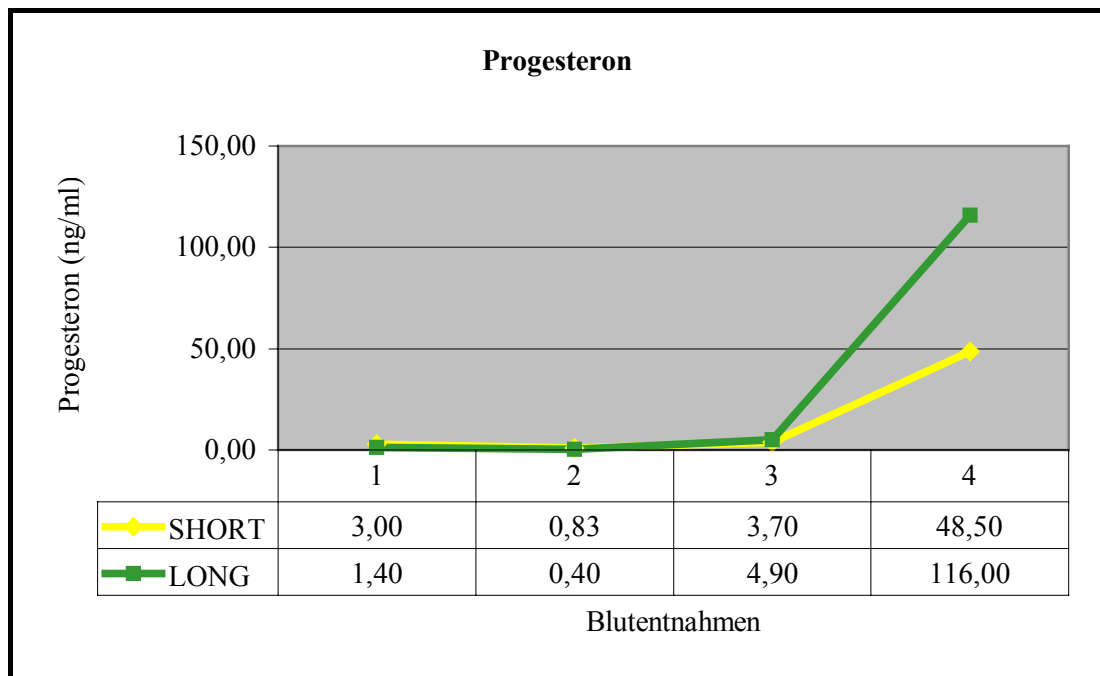
**Tabelle 3.14a:** Dargestellt sind die D-Dimer-Mittelwerte in ng/ml (plus Standardabweichung) der 4 im Verlauf der In-vitro-Fertilisationsbehandlung entnommenen Blutproben der 25 Frauen aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm

Werte der 12 Patientinnen aus dem SHORT-Protokoll-Programm im Vergleich zu 13 Patientinnen aus dem LONG-Protokoll-Programm

### 3.4 Hormone

#### 3.4.1 Progesteron

Die Progesteron-Werte der Patientinnen beider Gruppen veränderten sich von Ausgangswerten um 3 ng/ml (SPG) bzw. 1,4 ng/ml (LPG) zunächst nur minimal (1.-3. BE). Am Tag des Transfers (4. BE) lagen dann die Medianwerte bei beinahe 50 ng/ml (SPG) und 120 ng/ml (LPG) ( $p < 0,03$ ). Abbildung und Tabelle 3.15 zeigen diesen steilen Anstieg nach der Ovulation.



**Abbildung und Tabelle 3.15:** Dargestellt sind die Progesteron-Median-Werte der 4 im Verlauf der In-vitro-Fertilisationsbehandlung entnommenen Blutproben der 25 Frauen aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm (genaue Zeitpunkte der 4 Blutentnahmen siehe vorne, 2.1.1 Beschreibung der Gruppen)

Werte der 12 Patientinnen aus dem SHORT-Protokoll-Programm im Vergleich zu 13 Patientinnen aus dem LONG-Protokoll-Programm

**Tabelle 3.15a: Progesteron**

Blutentnahme	1	2	3	4
Gruppe SHORT	5,80 (6,17)	0,80 (0,17)	4,12 (2,39)	50,14 (25,34)
Gruppe LONG	4,46 (5,48)	0,68 (0,81)	5,84 (5,02)	110,15 (71,92)

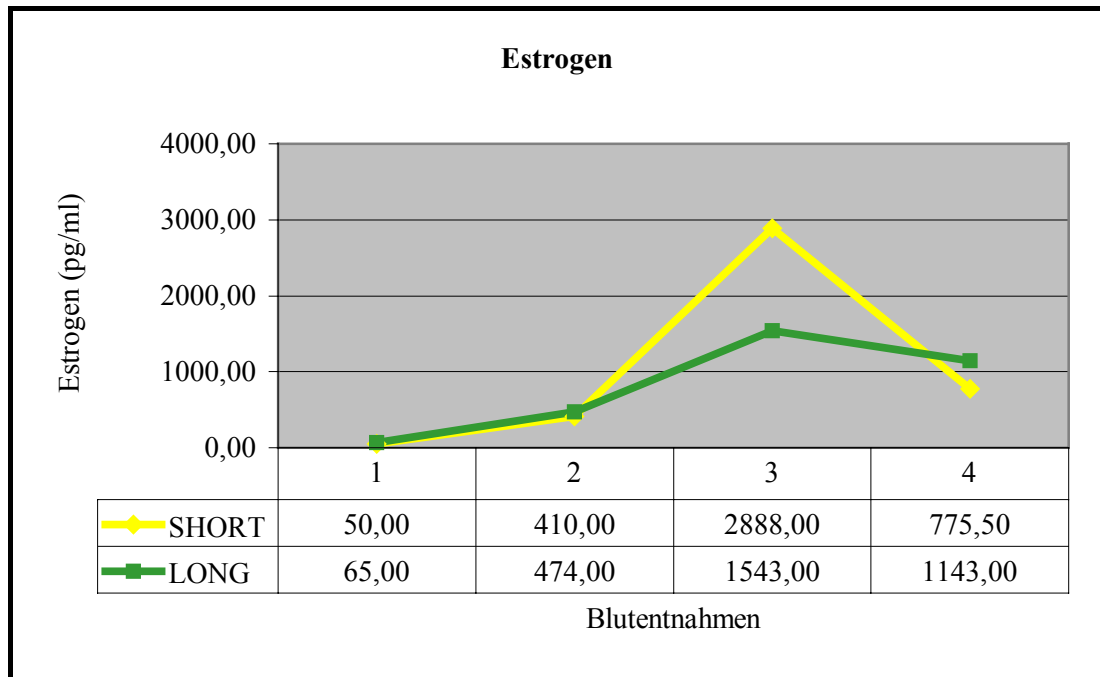
**Tabelle 3.15a: Dargestellt sind die Progesteron-Mittelwerte in ng/ml (plus Standardabweichung) der 4 im Verlauf der In-vitro-Fertilisationsbehandlung entnommenen Blutproben der 25 Frauen aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm**

**Werte der 12 Patientinnen aus dem SHORT-Protokoll-Programm im Vergleich zu 13 Patientinnen aus dem LONG-Protokoll-Programm**

### 3.4.2 Estrogen

Die Estrogen-Werte beider Patientengruppen stiegen vom Nullprobenwert (1. BE) bis zum Zeitpunkt der Ovulation (3. BE) sehr stark an. Die Ausgangswerte beider Gruppen lagen jeweils bei unter 100 pg/ml, die Medianwerte am Tag der 2. BE (Kontrolle am ca. 8. Tag) bereits bei über 400 pg/ml und die Kontrollwerte am Tag der Punktion (3. BE) erreichten bei den SHORT-Protokoll-Patientinnen 2900 pg/ml, bei den LONG-Protokoll-Patientinnen 1500 pg/ml präovulatorisch. Danach, das heißt in der zweiten Zyklushälfte, fielen die Werte wieder deutlich ab (vgl. Abb. und Tab. 3.16), so daß am Tag der 4. BE (Transfer) die Estrogenspiegel der Patientinnen der SPG bei ca. 775, die der LPG bei 1150 pg/ml lagen. Die Signifikanz lag dabei in beiden Gruppe bei  $p < 0,001$ .

Ein Unterschied zwischen den beiden Patientenkollektiven war statistisch nicht zu erkennen.



**Abbildung und Tabelle 3.16:** Dargestellt sind die Estrogen-Median-Werte der 4 im Verlauf der In-vitro-Fertilisationsbehandlung entnommenen Blutproben der 25 Frauen aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm (genaue Zeitpunkte der 4 Blutentnahmen siehe vorne, 2.1.1 Beschreibung der Gruppen)

Werte der 12 Patientinnen aus dem SHORT-Protokoll-Programm im Vergleich zu 13 Patientinnen aus dem LONG-Protokoll-Programm

**Tabelle 3.16a: Estrogen**

Blutentnahme	1	2	3	4
Gruppe	80,09	617,25	2585,42	879,67
SHORT	(91,66)	(552,41)	(1027,39)	(370,67)
Gruppe	74,00	589,31	1970,85	1091,92
LONG	(55,90)	(335,90)	(1509,00)	(531,90)

**Tabelle 3.16a:** Dargestellt sind die Estrogen-Mittelwerte in pg/ml (plus Standardabweichung) der 4 im Verlauf der In-vitro-Fertilisationsbehandlung entnommenen Blutproben der 25 Frauen aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm

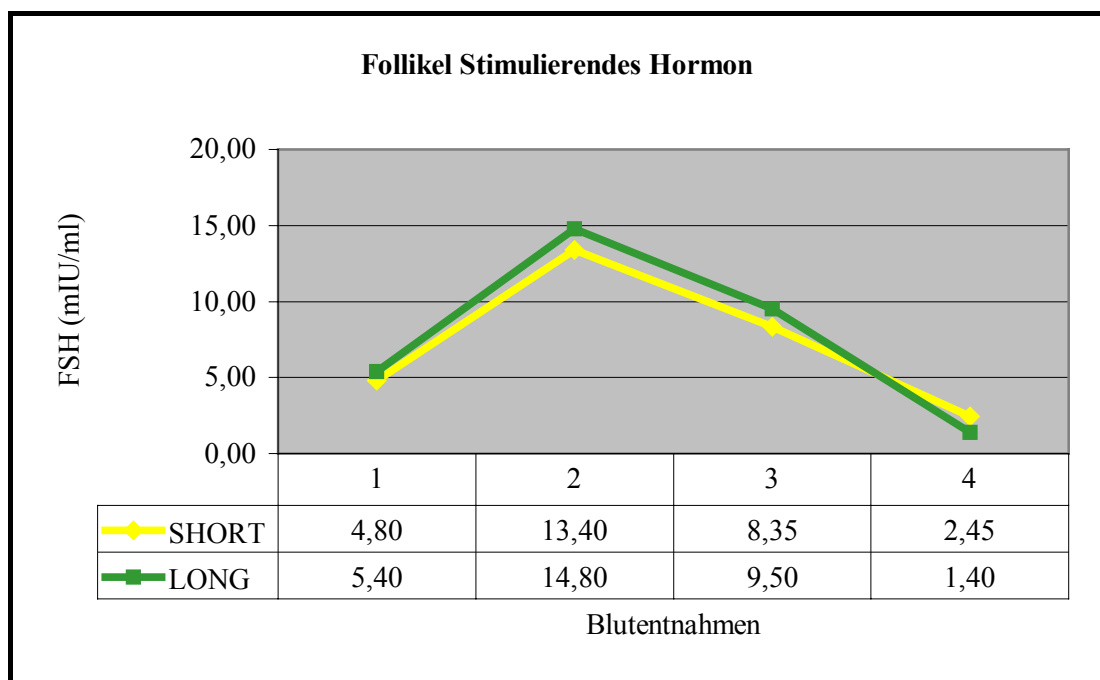
Werte der 12 Patientinnen aus dem SHORT-Protokoll-Programm im Vergleich zu 13 Patientinnen aus dem LONG-Protokoll-Programm



## 3.4.3 Follikel Stimulierendes Hormon (FSH)

Mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p < 0,001$  (SPG und LPG) stiegen die FSH-Medianwerte der Frauen beider Stimulationsprogramme zunächst um ca. 10 mIU/ml an bis zum Zeitpunkt der 2. Blutentnahme am ca. 8. Tag der Stimulation. Danach aber kam es zu einem kontinuierlichen FSH-Abfall (jeweils um etwa 5 mIU/ml zwischen 2. und 3. bzw. 3. und 4. BE) bis zum Ende der Behandlung. Dabei lagen die FSH-Spiegel der Frauen beider Gruppen sowohl zum Zeitpunkt der 2. als auch am Tag der 3. Blutentnahme oberhalb des Normbereiches von 2,9-8 mIU/ml (vgl. Abb. und Tab. 3.17).

Statistisch bestand kein Unterschied zwischen den Gruppen.



**Abbildung und Tabelle 3.17: Dargestellt sind die FSH-Median-Werte der 4 im Verlauf der In-vitro-Fertilisationsbehandlung entnommenen Blutproben der 25 Frauen aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm (genaue Zeitpunkte der 4 Blutentnahmen siehe vorne, 2.1.1 Beschreibung der Gruppen)**

**Werte der 12 Patientinnen aus dem SHORT-Protokoll-Programm im Vergleich zu 13 Patientinnen aus dem LONG-Protokoll-Programm**

**Tabelle 3.17a: Follikel Stimulierendes Hormon**

Blutentnahme	1	2	3	4
Gruppe SHORT	5,03 (2,58)	13,53 (3,10)	9,63 (3,96)	2,86 (1,36)
Gruppe LONG	5,92 (2,79)	13,98 (5,23)	9,73 (5,66)	2,13 (1,47)

**Tabelle 3.17a: Dargestellt sind die FSH-Mittelwerte in mIU/ml (plus Standardabweichung) der 4 im Verlauf der In-vitro-Fertilisationsbehandlung entnommenen Blutproben der 25 Frauen aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm**

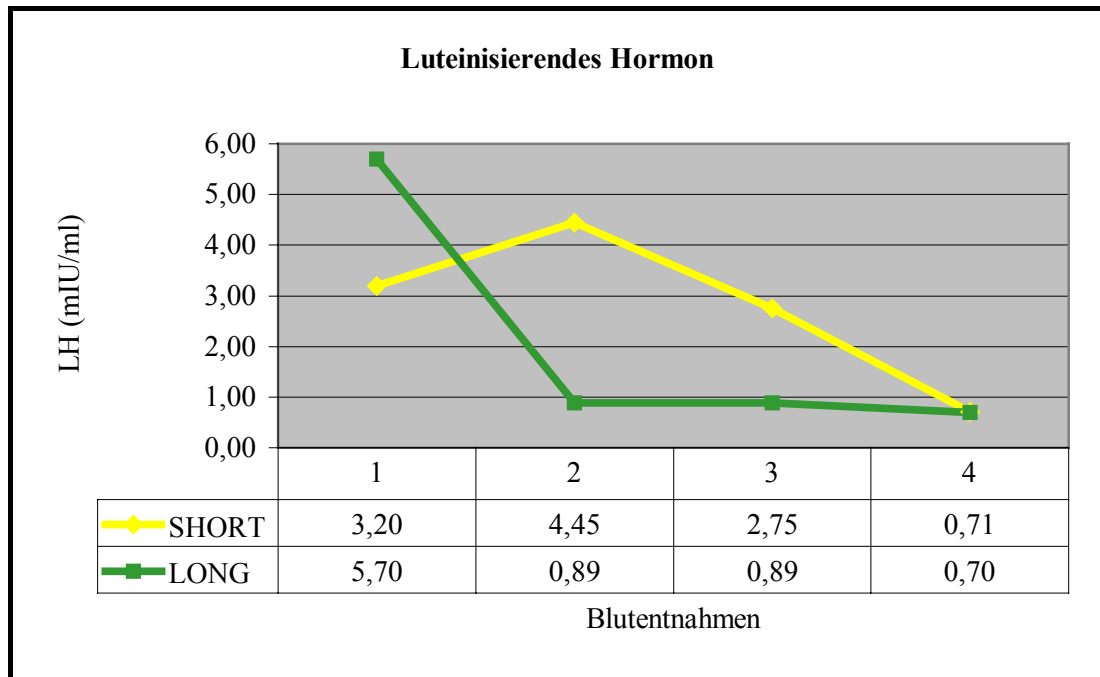
**Werte der 12 Patientinnen aus dem SHORT-Protokoll-Programm im Vergleich zu 13 Patientinnen aus dem LONG-Protokoll-Programm**

#### 3.4.4 Luteinisierendes Hormon (LH)

Die LH-Medianwerte der Patientinnen aus dem SHORT-Protokoll-Programm stiegen zunächst um ca. 1 mIU/ml von Ausgangswerten um 3,5 auf 4,5 mIU/ml an. Danach kam es zu einem kontinuierlichen Abfallen der Werte bis unter 1 mIU/ml am Tag des Embryonentransfers (der untere Referenzwert liegt bei 2,3 mIU/ml !). Dabei fielen die Werte vom ca. 8. Tag der Hormonbehandlung (2. BE) bis zum Tag vor der Follikelpunktion (3. BE) und von diesem bis zum Zeitpunkt des Embryonentransfers (4. BE) um jeweils etwa 2 mIU/ml ab. Die Signifikanz lag dabei bei  $p < 0,001$ .

Die Werte der Frauen aus der LPG dagegen fielen von höheren Ausgangswerten um 6 mIU/ml von Beginn an ab auf Werte ebenfalls unter 1 mIU/ml, dies schon am Tag der 2. Blutentnahme, was auf das bereits ca. 3 Wochen zuvor applizierte GnRH-Analogon zurück zu führen ist. Bis zum Ende der Hormonbehandlung blieben sie dann bei allen weiteren Blutentnahmen beinahe unverändert bei ca. 0,8 mIU/ml. Die Signifikanz lag bei  $p < 0,001$  (vgl. Abb. und Tab. 3.18).

Ein Unterschied zwischen beiden Gruppen konnte statistisch nicht belegt werden.



**Abbildung und Tabelle 3.18:** Dargestellt sind die LH-Median-Werte der 4 im Verlauf der In-vitro-Fertilisationsbehandlung entnommenen Blutproben der 25 Frauen aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm (genaue Zeitpunkte der 4 Blutentnahmen siehe vorne, 2.1.1 Beschreibung der Gruppen)

Werte der 12 Patientinnen aus dem SHORT-Protokoll-Programm im Vergleich zu 13 Patientinnen aus dem LONG-Protokoll-Programm

**Tabelle 3.18a: Luteinisierendes Hormon**

Blutentnahme	1	2	3	4
Gruppe SHORT	4,02 (2,76)	4,22 (2,19)	3,70 (3,09)	0,79 (0,15)
Gruppe LONG	5,85 (2,43)	1,37 (1,54)	1,01 (0,32)	1,09 (1,30)

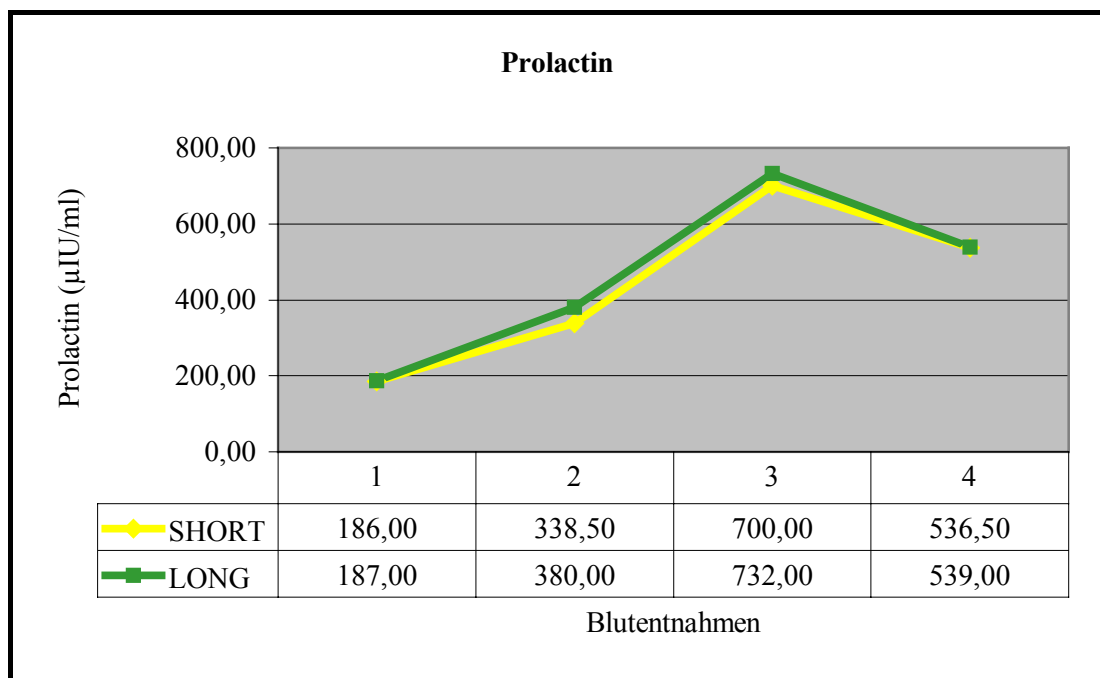
**Tabelle 3.18a:** Dargestellt sind die LH-Mittelwerte in mIU/ml (plus Standardabweichung) der 4 im Verlauf der In-vitro-Fertilisationsbehandlung entnommenen Blutproben der 25 Frauen aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm

Werte der 12 Patientinnen aus dem SHORT-Protokoll-Programm im Vergleich zu 13 Patientinnen aus dem LONG-Protokoll-Programm

## 3.4.5 Prolactin

Mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p < 0,001$  stiegen sowohl die Werte der Patientinnen der SPG als auch die der LPG beinahe identisch bis zum Zeitpunkt der Ovulation (3. Blutentnahme) an. Von Nullproben-Werten kleiner  $200 \mu\text{IU/ml}$  wurden dabei zunächst Prolactin-Werte von ca.  $350 \mu\text{IU/ml}$  bei der 2. Blutkontrolle (noch im Normbereich) und schließlich Medianwerte um  $700 \mu\text{IU/ml}$  am Tag der 3. Kontrolle erreicht. Diese lagen in beiden Gruppen über dem oberen Referenzwert von  $425 \mu\text{IU/ml}$ . Nach dem Eisprung kam es dann zu einem Abfallen um  $200 \mu\text{IU/ml}$  bis auf ebenfalls etwa gleich hohe Prolactin-Werte in beiden Protokollen von ca.  $540 \mu\text{IU/ml}$  am Tag des Transfers. Diese Endwerte lagen jedoch immer noch deutlich über den Normwerten (vgl. Abb. und Tab. 3.19).

Einen Unterschied zwischen den Gruppen konnte bei den Prolactin-Werten nicht festgestellt werden.



**Abbildung und Tabelle 3.19:** Dargestellt sind die Prolactin-Median-Werte der 4 im Verlauf der In-vitro-Fertilisationsbehandlung entnommenen Blutproben der 25 Frauen aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm (genaue Zeitpunkte der 4 Blutentnahmen siehe vorne, 2.1.1 Beschreibung der Gruppen)

Werte der 12 Patientinnen aus dem SHORT-Protokoll-Programm im Vergleich zu 13 Patientinnen aus dem LONG-Protokoll-Programm

**Tabelle 3.19a: Prolactin**

Blutentnahme	1	2	3	4
Gruppe SHORT	168,45 (65,99)	365,75 (117,59)	720,42 (208,90)	549,08 (163,19)
Gruppe LONG	222,00 (111,43)	561,69 (465,37)	741,54 (472,88)	570,31 (340,44)

**Tabelle 3.19a: Dargestellt sind die Prolactin-Mittelwerte in  $\mu\text{IU/ml}$  (plus Standardabweichung) der 4 im Verlauf der In-vitro-Fertilisationsbehandlung entnommenen Blutproben der 25 Frauen aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm**

**Werte der 12 Patientinnen aus dem SHORT-Protokoll-Programm im Vergleich zu 13 Patientinnen aus dem LONG-Protokoll-Programm**

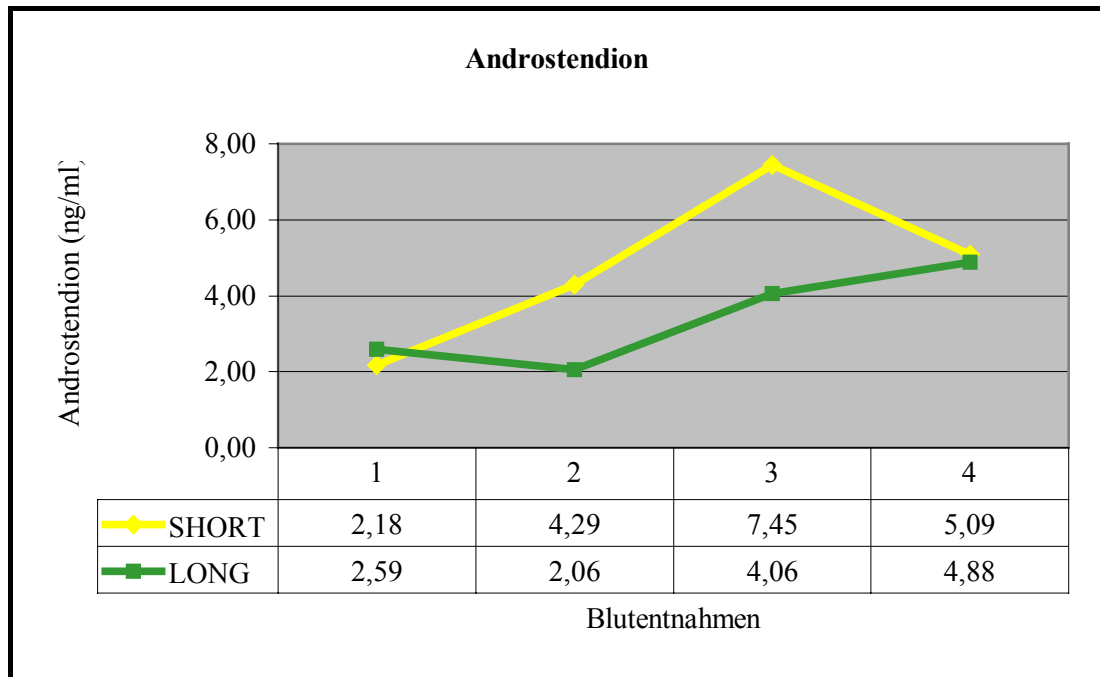
#### 3.4.6 Androstendion

Die Androstendion-Medianwerte verhielten sich unterschiedlich in beiden Gruppen ( $p < 0,03$ ).

In der SPG nahmen die Werte im Verlauf der Behandlung zunächst kontinuierlich zu von 2 über 4,5 bis 7,5 ng/ml im Mittel zum Zeitpunkt der Ovulation (3. Blutentnahme), dann kam es zu einem Absinken auf etwa 5 ng/ml zum Zeitpunkt des Embryonentransfers.

In der LPG dagegen fielen die Androstendion-Werte zuerst ab vom Nullprobenwert von 2,5 ng/ml ausgehend bis zur Kontrolle am ca. 8. Tag der Stimulationsbehandlung (2. Blutentnahme) auf 2 ng/ml und erst dann kam es zu einem Anstieg über 4 ng/ml (3. BE) bis auf ebenfalls ca. 5 ng/ml zum Zeitpunkt des ET's. Zwischenzeitliche Spitzenwerte um ca. 7,5 ng/ml, wie in der SPG zur Zeit des Eisprungs (3. BE), wurden dabei zwar nicht erreicht, dennoch lagen auch hier die Werte der Proben eins, drei und vier (in der SPG die Proben zwei, drei und vier) oberhalb des Normbereiches von 2,44 ng/ml (vgl. Abb. und Tab. 3.20).

Die Irrtumswahrscheinlichkeit lag in beiden Gruppen bei  $p < 0,001$ .



**Abbildung und Tabelle 3.20:** Dargestellt sind die Androstendion-Median-Werte der 4 im Verlauf der In-vitro-Fertilisationsbehandlung entnommenen Blutproben der 25 Frauen aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm (genaue Zeitpunkte der 4 Blutentnahmen siehe vorne, 2.1.1 Beschreibung der Gruppen)

Werte der 12 Patientinnen aus dem SHORT-Protokoll-Programm im Vergleich zu 13 Patientinnen aus dem LONG-Protokoll-Programm

**Tabelle 3.20a: Androstendion**

Blutentnahme	1	2	3	4
Gruppe SHORT	1,80 (0,74)	4,57 (1,82)	7,04 (2,47)	5,45 (1,63)
Gruppe LONG	2,66 (1,05)	2,11 (0,97)	4,67 (2,79)	4,72 (2,10)

**Tabelle 3.20a:** Dargestellt sind die Androstendion-Mittelwerte in ng/ml (plus Standardabweichung) der 4 im Verlauf der In-vitro-Fertilisationsbehandlung entnommenen Blutproben der 25 Frauen aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm

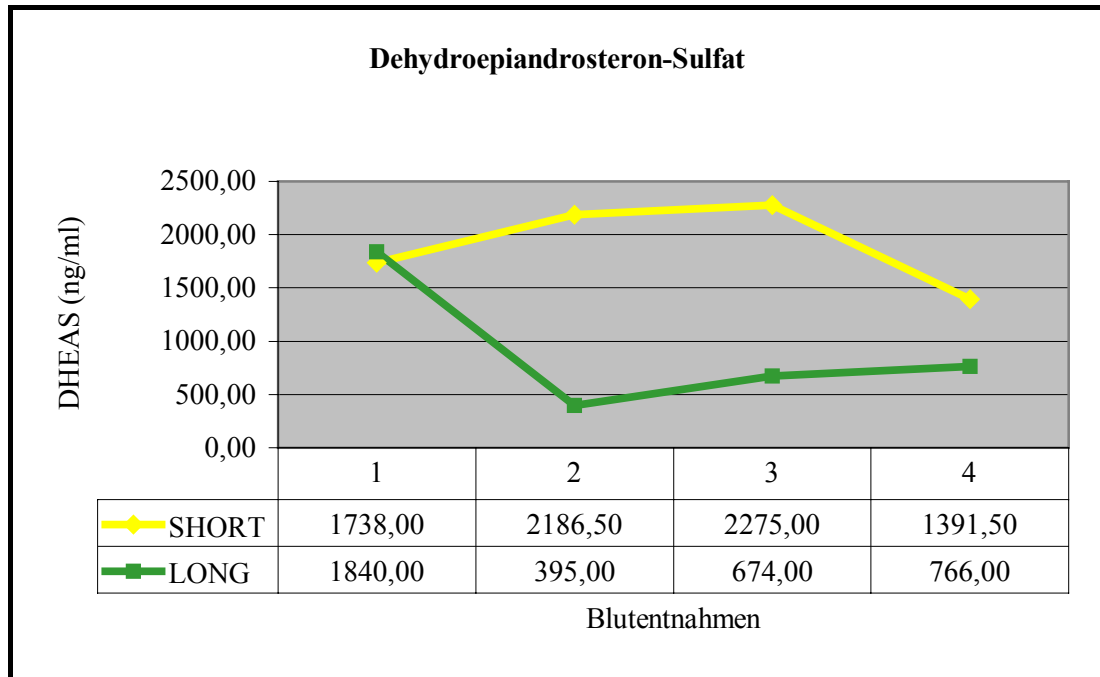
Werte der 12 Patientinnen aus dem SHORT-Protokoll-Programm im Vergleich zu 13 Patientinnen aus dem LONG-Protokoll-Programm

### 3.4.7 Dehydroepiandrosteron-Sulfat (DHEAS)

Mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p < 0,005$  verliefen die beiden DHEAS-Kurven unterschiedlich. Es blieben aber sowohl die Werte der Frauen aus dem SHORT-Protokoll- Programm als auch die der Frauen aus dem LONG-Protokoll- Programm während der gesamten Behandlungsdauer innerhalb des Referenzbereiches von 350-4300 ng/ml.

In der SPG kam es zunächst zu einem signifikanten Ansteigen der DHEAS-Werte bei den Blutproben-Kontrollen zwei und drei. Danach fielen die Werte ab unter den Nullproben-Ausgangswert von 1700 ng/ml und lagen somit am Tag des Transfers bei etwa 1400 ng/ml.

In der LPG hingegen fielen die Medianwerte mit einer Signifikanz von  $p < 0,001$  von 1800 ng/ml bis auf unter 400 ng/ml zum Zeitpunkt der 2. Blutentnahme ab. Danach stiegen sie bis zum Ende der IVF-Behandlung wieder an auf Werte um 650 (3. BE) und ca. 750 ng/ml (4. BE). Hierbei wurden die Ausgangswerte von ca. 1800 ng/ml jedoch nicht mehr erreicht (vgl. Abb. und Tab. 3.21).



**Abbildung und Tabelle 3.21:** Dargestellt sind die DHEAS-Median-Werte der 4 im Verlauf der In-vitro-Fertilisationsbehandlung entnommenen Blutproben der 25 Frauen aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm (genaue Zeitpunkte der 4 Blutentnahmen siehe vorne, 2.1.1 Beschreibung der Gruppen)

Werte der 12 Patientinnen aus dem SHORT-Protokoll-Programm im Vergleich zu 13 Patientinnen aus dem LONG-Protokoll-Programm

**Tabelle 3.21a: Dehydroepiandrosteron-Sulfat**

Blutentnahme	1	2	3	4
Gruppe SHORT	1680,36 (694,92)	1952,50 (802,10)	2196,33 (932,39)	1632,58 (773,68)
Gruppe LONG	2133,46 (978,81)	497,15 (287,78)	683,31 (299,18)	963,31 (824,53)

**Tabelle 3.21a:** Dargestellt sind die DHEAS-Mittelwerte in ng/ml (plus Standardabweichung) der 4 im Verlauf der In-vitro-Fertilisationsbehandlung entnommenen Blutproben der 25 Frauen aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm

Werte der 12 Patientinnen aus dem SHORT-Protokoll-Programm im Vergleich zu 13 Patientinnen aus dem LONG-Protokoll-Programm



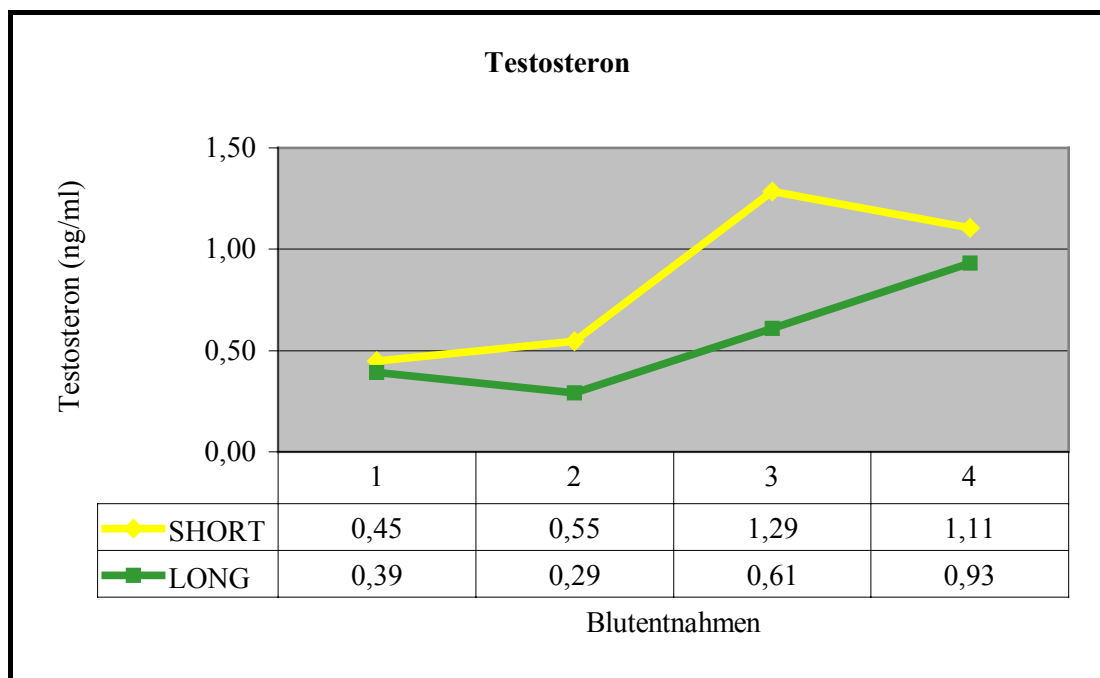
## 3.4.8 Testosteron

Im SHORT-Protokoll-Programm stiegen die Testosteron-Werte der Patientinnen zunächst vom Ausgangswert von 0,45 auf 0,55 ng/ml, dann bis auf 1,29 ng/ml zum Zeitpunkt der Ovulation (3. BE) an. Bis zur letzten Probe am Tag des ET's fielen sie zwar wieder leicht ab, blieben aber mit über 1 ng/ml noch oberhalb des Referenzbereiches.

Im LONG-Protokoll-Programm kam es zuerst zu einem Abfall der Testosteron-Werte bis an den unteren Grenzbereich (von ca. 0,4 auf 0,3 ng/ml am Tag der 2. BE), dann stiegen die Werte kontinuierlich um jeweils etwa 0,3 ng/ml an bis auf ebenfalls unphysiologisch hohe Endwerte (vgl. Abb. und Tab. 3.22).

Die Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p < 0,001$  in beiden Gruppen verdeutlicht dies.

Ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen der SPG und der LPG konnte jedoch nicht festgestellt werden.



**Abbildung und Tabelle 3.22: Dargestellt sind die Testosteron-Median-Werte der 4 im Verlauf der In-vitro-Fertilisationsbehandlung entnommenen Blutproben der 25 Frauen aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm (genaue Zeitpunkte der 4 Blutentnahmen siehe vorne, 2.1.1 Beschreibung der Gruppen)**

**Werte der 12 Patientinnen aus dem SHORT-Protokoll-Programm im Vergleich zu 13 Patientinnen aus dem LONG-Protokoll-Programm**

**Tabelle 3.22a: Testosteron**

Blutentnahme	1	2	3	4
Gruppe SHORT	0,49 (0,21)	0,60 (0,21)	1,38 (0,62)	1,11 (0,32)
Gruppe LONG	0,44 (0,23)	0,26 (0,15)	0,76 (0,51)	0,95 (0,50)

**Tabelle 3.22a: Dargestellt sind die Testosteron-Mittelwerte in ng/ml (plus Standardabweichung) der 4 im Verlauf der In-vitro-Fertilisationsbehandlung entnommenen Blutproben der 25 Frauen aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm**

**Werte der 12 Patientinnen aus dem SHORT-Protokoll-Programm im Vergleich zu 13 Patientinnen aus dem LONG-Protokoll-Programm**

### 3.5 Korrelationen zwischen Hormon- und Gerinnungswerten

#### 3.5.1 Progesteron – D-Dimer

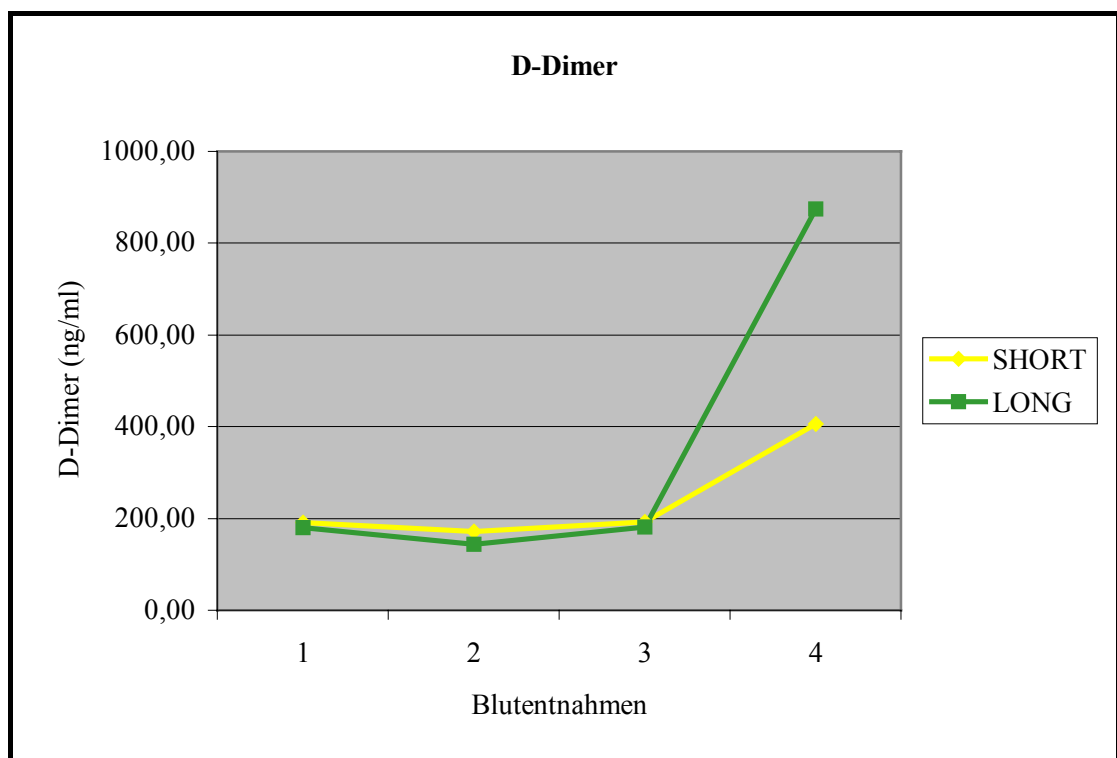
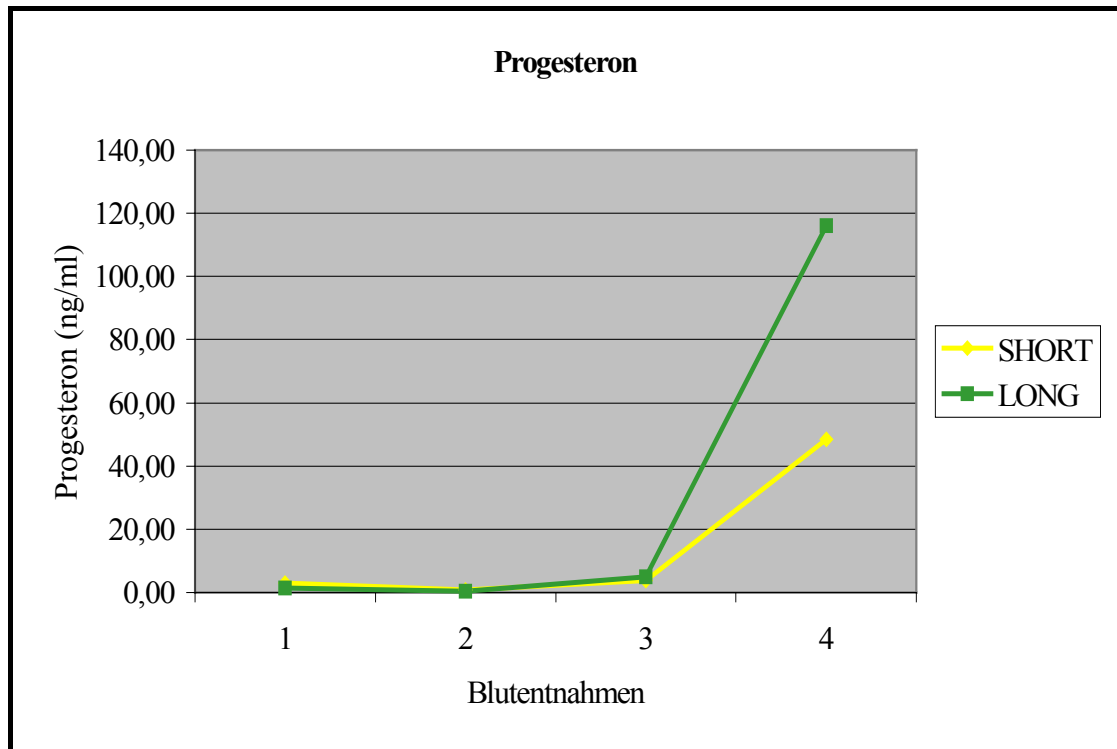
Eindeutige Korrelationen konnten nachgewiesen werden zwischen Progesteron- und D-Dimer-Werten, was die beiden beinahe identischen Kurvenverläufe in den Abbildungen 3.23 und 3.24 verdeutlichen. Die Signifikanz lag bei  $p < 0,001$ .

In beiden Fällen veränderten sich bis zum Zeitpunkt der Ovulation (3. BE) die Werte der Frauen beider Gruppen kaum (siehe auch Auswertung der einzelnen Parameter). Erst zum Zeitpunkt der 4. Blutentnahme stiegen sowohl die Progesteron- als auch die D-Dimer-Werte deutlich an. Hierbei lagen bei beiden Parametern die Werte der Patientinnen aus dem LONG-Protokoll-Programm nochmals erheblich über denen der Patientinnen aus dem SHORT-Protokoll-Programm (vgl. Abb. 3.23 und 3.24).

#### 3.5.2 Estrogen – D-Dimer

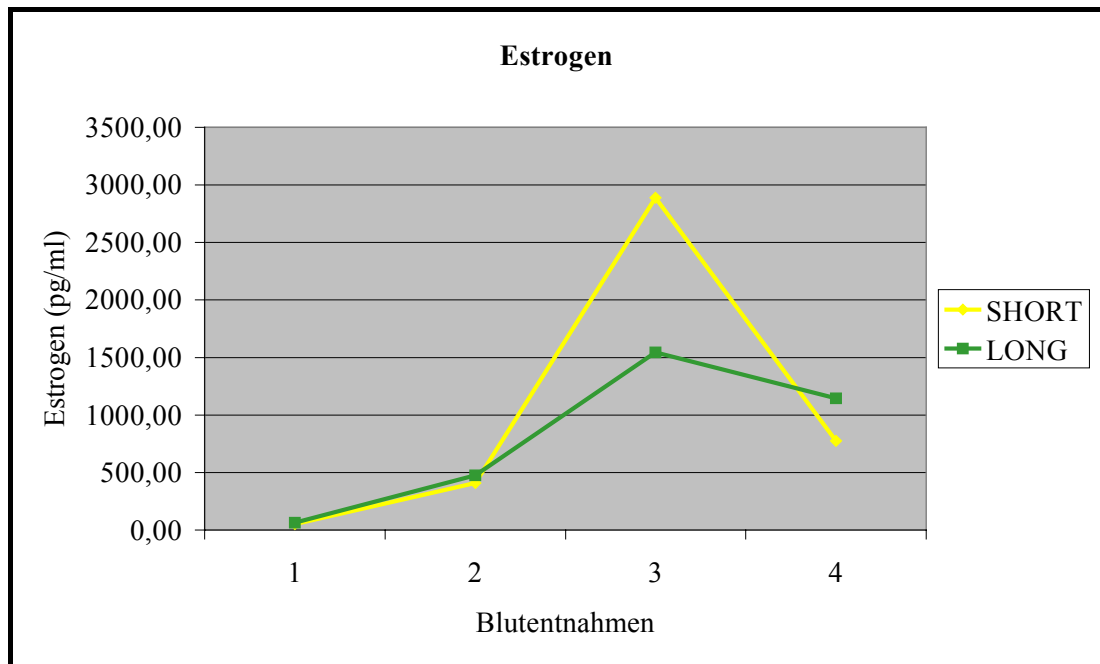
Zwischen diesen Parametern bestanden statistisch gesehen ebenfalls mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p < 0,02$  Korrelationen, welche aber anhand der Werte und der Kurvenverläufe nicht so eindeutig zu erkennen waren wie im oben beschriebenen Fall von Progesteron und D-Dimer (vgl. Abb. 3.24 und 3.25).

Im Falle des Estrogens lag der Hauptanstieg schon am Tag vor der Punktion (zum Zeitpunkt der 3. Blutentnahme), während er sowohl bei den Progesteron- als auch bei den D-Dimer-Werten jeweils erst am Tage des Embryonentransfers (4.BE) zu verzeichnen war.



**Abbildungen 3.23 und 3.24:** Dargestellt sind die Progesteron- und D-Dimer-Median-Werte der 4 im Verlauf der In-vitro-Fertilisationsbehandlung entnommenen Blutproben der 25 Frauen aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm (genaue Zeitpunkte der 4 Blutentnahmen siehe vorne, 2.1.1 Beschreibung der Gruppen)

Werte der 12 Patientinnen aus dem SHORT-Protokoll-Programm im Vergleich zu 13 Patientinnen aus dem LONG-Protokoll-Programm



**Abbildung 3.25:** Dargestellt sind die Estrogen-Median-Werte der 4 im Verlauf der In-vitro-Fertilisationsbehandlung entnommenen Blutproben der 25 Frauen aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm (genaue Zeitpunkte der 4 Blutentnahmen siehe vorne, 2.1.1 Beschreibung der Gruppen)

Werte der 12 Patientinnen aus dem SHORT-Protokoll-Programm im Vergleich zu 13 Patientinnen aus dem LONG-Protokoll-Programm

Weder zwischen Estrogen noch zwischen Progesteron und den übrigen Gerinnungsparametern wie Prothrombinfragment F 1+2, Tissue factor, Tissue factor pathway inhibitor oder den Globaltests der plasmatischen Gerinnung (Quick-Wert, aPTT, Fibrinogen) konnten weitere Zusammenhänge festgestellt werden. Ebenso ergaben sich keine weiteren signifikanten Korrelationen von den zusätzlich bestimmten Hormonwerten FSH, LH, DHEAS, Prolactin, Testosteron und Androstendion mit Gerinnungsparametern.

## 4 DISKUSSION

In den letzten Jahren ist es vermehrt zu Diskussionen über thromboembolische Komplikationen gekommen, sei es unter Hormontherapie bei Behandlung mit oralen Kontrazeptiva [Vessey et al., 1986; World Health Organization Collaborative Study Of Cardiovascular Disease And Steroid Hormone Contraception, 1995; Bauersachs et al., 1996; Daly et al., 1996; Spitzer et al., 1996; Middeldorp et al., 2000] oder Substitutionspräparaten in der Menopause [Daly et al., 1996; Grodstein et al., 1996; Meade, 1997; Grady und Sawaya, 1998; Hoibraaten et al., 1999; Marchien et al., 2000; Gräser, 2001] sei es in der „normalen“ Schwangerschaft aufgrund von Änderungen des Hormonstatus der Schwangeren [Stirling et al., 1984; Bauersachs et al., 1996; Müller-Berghaus und Pötzsch, 1999; Kemkes-Matthes und Oehler, 2001]. Solche Komplikationen werden auf eine Gerinnungsaktivierung und Erhöhung des prokoagulatorischen Potentials bei oftmals gleichzeitiger Erniedrigung der Gerinnungsinhibitoren zurückgeführt.

Risikofaktoren für thromboembolische Erkrankungen sind u.a. Alter, Immobilität, Rauchen, Adipositas, postoperative Zustände, Viskositätszunahme oder Strömungsveränderungen des Blutes [Balleisen et al., 1985; Fruzetti et al., 1994; World Health Organization Collaborative Study Of Cardiovascular Disease And Steroid Hormone Contraception, 1995; Barthels und Poliwoda, 1998; Koh et al., 1999].

Bekannt ist auch, daß bestimmte Krankheitsgruppen, wie z.B. Tumorpatienten [Sack et al., 1977; Sun et al., 1979; Rickles und Edwards, 1983; Kemkes-Matthes, 1991; Kemkes-Matthes et al., 1992] oder Patienten mit entzündlichen Erkrankungen [Edwards und Truelove, 1964; Esmon, 1987; Stern et al., 1988; Heidinger, 1996; Ten Cate et al., 1999], eine vermehrte Inzidenz thromboembolischer Ereignisse aufweisen.

Weiterhin spielen bestimmte Defekte innerhalb des Gerinnungssystems – erworben oder genetisch bedingt – eine große Rolle [Dahlbäck et al., 1993; Bokarewa et al., 1995; Poort et al., 1996; Wankmüller et al., 1996; Kleesiek et al., 1999; De Mitrio et al., 2000; Lowe et al., 2000].

Da während eines In-vitro-Fertilisationszyklus ebenfalls Hormone – in oftmals hohen Dosierungen – verabreicht werden und es nur wenige Studien mit teilweise sehr

unterschiedlichen Ergebnissen in bezug auf Gerinnungsveränderungen unter IVF-Hormonbehandlungen gibt [Biron et al., 1997; Montgomery Rice und Leach, 1997; Richard-Davis et al., 1997; Udoff und Branch, 2000], sollte in der vorliegenden Studie untersucht werden, ob diese Patientinnen, unterteilt in zwei unterschiedliche, gängige IVF-Programme, eine Erhöhung des prokoagulatorischen Potentials bzw. Gerinnungsaktivierung zeigen.

Weiterhin sollte der Einfluß der verschiedenen Hormone auf das Gerinnungssystem untersucht werden.

Vor diesem Hintergrund wurden daher im Rahmen der vorliegenden Studie Gerinnungsparameter und Hormonwerte zu unterschiedlichen Zeitpunkten der IVF-Hormonbehandlung bestimmt.

#### **4.1 Veränderungen der Gerinnungsparameter unter IVF-Hormonbehandlung**

Globaltests (Quick-Wert, aPTT und Fibrinogen)

Bereits bei den Globaltests der plasmatischen Gerinnung (Quick-Wert, aPTT und Fibrinogen) ergaben sich Anzeichen für ein Ansteigen des prokoagulatorischen Potentials.

Sowohl in der SHORT-Protokoll-Gruppe als auch in der LONG-Protokoll-Gruppe stiegen Quick- und Fibrinogen-Werte kontinuierlich an, die aPTT-Werte fielen signifikant ab im Laufe der Hormonbehandlung. Während Quick- und aPTT-Werte jeweils noch im oberen bzw. unteren Normbereich blieben, stiegen die Fibrinogen-Werte bis auf unphysiologisch hohe Endwerte gegen Ende der IVF-Behandlung an (vgl. Abb. und Tab. 3.8, 3.9, 3.10).

Kim et al. (1981) fanden bei Frauen nach hMG-Hormontherapie signifikant erhöhte Fibrinogen- und Quick-Werte und werteten ihre Ergebnisse als „induced hypercoagulable state“ aufgrund der Hormongaben.

Auch Aune und Hoie et al. beobachteten 1991 ähnliche Veränderungen unter IVF-Hormontherapie (signifikantes Ansteigen von Fibrinogen, Abfallen von Anti-thrombin). Sie beschrieben dies mit den Worten: „a disruption in the coagulation and thrombolysis may explain the hypercoagulable status“ und „haemoconcentration was proposed as a cause for thrombosis“. Dabei ist zu berücksichtigen, daß Aune und Hoie auch Frauen mit Anzeichen eines Überstimulationssyndroms (OHSS) in ihre Beobachtung mit einbezogen.

In einem 1995 veröffentlichten Fallbericht wiesen Kligman et al. erhöhte Werte der prokoagulatorisch wirksamen Gerinnungsfaktoren und erniedrigte Parameter der Gerinnungsinhibitoren unter IVF-Hormonbehandlung nach. Ihr Fazit lautete: „Controlled ovarian hyperstimulation for IVF has been associated with a hypercoagulable state. The proposed mechanism for hypercoagulability is an increase of the procoagulant factor fibrinogen, concomitant with a decrease in AT“.

1996 stellten auch Kodama et al. ähnliche Veränderungen bei Frauen unter IVF/ET-Hormontherapie fest. Dabei bemerkten sie, vor allem bei Patientinnen mit Anzeichen eines leichten OHSS, eine Aktivierung des Gerinnungssystems mit Ansteigen von Gerinnungsaktivatoren und Abfallen von Gerinnungsinhibitoren wie z.B. AT, Präkallikrein und eine verkürzte aPTT.

Diese Daten stimmen mit den von uns gefundenen Resultaten, insbesondere dem Ansteigen von Fibrinogen und dem signifikanten aPTT-Abfall, sehr gut überein. Dabei ist anzumerken, daß in der vorliegenden Studie keine Patientinnen mit Hinweisen auf ein Überstimulationssyndrom mit einbezogen wurden. Trotzdem wurden beinahe identische Veränderungen festgestellt, was darauf hinweist, daß nicht nur bei Patientinnen mit Überstimulationssyndrom unter IVF-Hormongaben das Gerinnungssystem aktiviert wird.

#### Tissue factor (TF)

Die Werte des Tissue factors, welcher vor allem bei Gewebsverletzungen des Endothels freigesetzt wird und in Verbindung mit F VIIa (TF-F VIIa-Komplex) die Gerinnung in Gang setzt, verhielten sich unterschiedlich in den beiden von uns



untersuchten Gruppen. Während sie in der SPG kontinuierlich unter IVF-Hormontherapie abfielen, stiegen sie in der LPG zunächst an bis zum Zeitpunkt der zweiten Blutentnahme und fielen erst dann ab (vgl. Abb. und Tab. 3.11).

Aurousseau et al. publizierten im Gegensatz zu unseren Ergebnissen 1995 drei Fälle von Frauen aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm, bei denen die TF-Aktivität von Monozyten signifikant in Verbindung mit der Estrogenkonzentration anstieg. Die geringe Fallzahl von drei Patientinnen läßt eine allgemeingültige Formulierung des Tissue factor-Anstiegs jedoch nicht zu.

Auch Aune et al. fanden 1993 erhöhte TF-Aktivität bei mit Lipopolysacchariden stimulierten Monozyten unter IVF-Hormontherapie. Weiterhin beschrieb Aune positive Korrelationen zwischen TF-Aktivität und Estrogen-Serumkonzentration.

Es ist jedoch zu beachten, daß in der vorliegenden Studie die Tissue factor-Gesamtkonzentration im Patientenserum bestimmt wurde und nicht die TF-Aktivität von stimulierten Monozyten.

Zu diskutieren ist jedoch, warum die TF-Gesamtkonzentration im Plasma kaum Veränderungen bzw. abfallende Tendenz zeigt (vgl. Abb. und Tab. 3.11), während die TF-Aktivität – besonders die von stimulierten Monozyten – unter IVF-Behandlung erhöht ist.

Dabei sollte man in Betracht ziehen, daß es bei einer Hormonbehandlung nicht zu Verletzungen des Endothels kommt, wobei typischerweise TF in vivo freigesetzt wird. Vielleicht regen jedoch die (überschüssig) im Blut vorhandene Hormone speziell Monozyten zur TF-Bildung an.

Miserez und Jungi (1992) konnten zeigen, daß zum Beispiel Lipopolysaccharide oder Interferon  $\gamma$  die Tissue factor-Freisetzung fördern.

Cunningham et al. beschrieben 1999, daß die Tissue factor-Factor VIIa-Komplexbildung proinflammatorische Effekte in Makrophagen auslösen, welche Monozyten stimulieren, TF zu exprimieren.

Dobado-Berrios et al. (1999) fanden heraus, daß bei Patienten mit Antiphospholipid Antikörpern Monozyten mehr TF bilden und somit ein prothrombotischer Status dieser Patienten erklärt werden kann.

Diese Ergebnisse zeigen, daß bestimmte Effekte die Expression von Tissue factor (besonders von Monozyten) auslösen. Vielleicht fehlt ein solcher Mechanismus bei der Hormonbehandlung, so daß es zu keinem signifikanten Anstieg des TF kommt.

Weiterhin muß man beachten, daß die Tests zur Bestimmung von Tissue factor noch nicht „ausgereift“ sind und es bis heute keinen standardisierten Referenzbereich gibt.

#### Tissue factor pathway inhibitor (TFPI)

Tissue factor pathway inhibitor (vor allem als Komplex mit Faktor Xa), der spezifische Inhibitor des Tissue factors und somit der Gerinnungsaktivierung, stieg in der SPG kontinuierlich im Verlauf der Studie an, während er sich in der LPG nicht signifikant veränderte (vgl. Abb. und Tab. 3.12).

Der Anstieg des Tissue factor pathway inhibitors in der SHORT-Protokoll-Gruppe würde einerseits mit der oben genannten Hypothese übereinstimmen, daß im Blut (überschüssig) vorhandene Hormone Monozyten anregen können, Tissue factor freizusetzen und deshalb reaktiv Tissue factor pathway inhibitor, der physiologische Inhibitor des Tissue factors, ausgeschüttet werden muß, um das Gleichgewicht zwischen pro- und antikoagulatorisch wirksamen Faktoren zu erhalten.

Die TFPI-Werte der LONG-Protokoll-Gruppe veränderten sich andererseits nicht signifikant, was wiederum bestätigen würde, daß unter Hormongaben kein Endothel geschädigt wird – also auch kein TF freigesetzt wird – und dieser somit auch nicht inhibiert werden muß.

László und Boda untersuchten 1998 schwangere Patientinnen mit erhöhtem Thrombose-Risiko (Gerinnungsdefekte wurden nicht genauer aufgeführt!), die ein- bis zweimal pro Tag mit Fraxiparin<sup>®</sup> behandelt wurden. Dabei stellten sie fest, daß die Tissue factor pathway inhibitor-Ausgangswerte dieser schwangeren Patientinnen unter denen der nicht-schwangeren Frauen der Kontrollgruppe lagen. Zwei bis drei Stunden nach Fraxiparin<sup>®</sup>-Gabe stiegen die TFPI-Werte der Schwangeren deutlich an.

Diese Daten zeigen, daß in der Schwangerschaft bzw. bei Frauen mit erhöhtem Thrombose-Risiko die TFPI-Werte erniedrigt sind und somit konsekutiv das Risiko thromboembolischer Komplikationen erhöht ist.

Auf diesem Gebiet bleiben noch viele Fragen offen, besonders in Hinblick auf Veränderungen unter (IVF-)Hormontherapie, die Anlaß für weitere Studien in diesem Bereich geben sollten.

#### Prothrombinfragment F 1+2 (F1+2)

Ein weiterer Aktivierungsmarker des plasmatischen Gerinnungssystems, Prothrombinfragment F 1+2, der bei der Umwandlung von Prothrombin zu Thrombin entsteht und somit indirekt eine Thrombinämie nachweist, stieg ebenfalls in beiden IVF-Untersuchungsgruppen signifikant an, jedoch erst nach dem Zeitpunkt der 2. Blutentnahme, also ca. 7-10 Tage nach Beginn der Stimulation mit hMG (vgl. Abb. und Tab. 3.13).

Ähnliche Ergebnisse fanden Kroon et al. (1994), Scarabin et al. (1997) und Koh et al. (1999) bei Frauen unter Hormonersatztherapie. Laut deren Untersuchungsergebnissen stiegen unter Hormonbehandlung mit unterschiedlich hohen Dosen an Estrogen bzw. Estrogen in Kombination mit Progesteron die Prothrombinfragment F1+2-Werte signifikant an und wurden als Zeichen einer gesteigerten Thrombinbildung und somit Gerinnungsaktivierung gedeutet.

Kluft und Lansink beschrieben 1997 auch bei Frauen, die mit oralen Kontrazeptiva behandelt wurden, ein Ansteigen der F 1+2-Werte um 45 %, konnten dieses Ergebnis jedoch nicht genau deuten.

Bremme et al. konnten 1994 bei Frauen unter IVF-Hormontherapie zwar erhöhte Fibrinogen- und Faktor VIII-Werte sowie erniedrigte Protein C- und Antithrombin-Werte nachweisen und schlossen damit bereits auf einen „hypercoagulable state“, stellte jedoch keine signifikanten Veränderungen von F 1+2 und D-Dimer fest.

Im Gegensatz dazu beschrieben Biron et al. 1997 das von ihnen beobachtete Ansteigen der F1+2- und D-Dimer-Werte bei Patientinnen unter IVF-Hormontherapie als „dramatically“.

Die in der vorliegenden Studie erhaltenen Werte entsprechen denen von Biron et al. [Biron et al., 1997]. Denn sowohl die Prothrombinfragment F 1+2-Werte der Frauen aus der SPG als auch die der Patientinnen der LPG stiegen ab dem Zeitpunkt der 2. Blutentnahme bis zur 4. BE am Tag des Embryonentransfers deutlich an. Diese

Ergebnisse unterstützen die Hypothese, daß es unter Hormontherapie zur vermehrten Bildung von Thrombin als Folge einer Aktivierung der Kaskade – und somit zur Gerinnungsaktivierung – kommt.

Ein Grund dafür, daß die Arbeitsgruppe um Bremme 1994 keine signifikanten Veränderungen der Prothrombinfragment F 1+2-Werte festgestellt hat, könnte evtl. in einem anderen Testverfahren begründet sein, da dieses nicht genauer beschrieben wurde, und somit nicht gewährleistet ist, daß es sich, wie in der vorliegenden Studie, ebenfalls um einen ELISA-Enzymimmunoassay (Sandwich-Prinzip) gehandelt hat. Des weiteren können auch anders gewählte Zeitpunkte der Blutentnahmen während der IVF-Hormongaben für einen solchen Unterschied verantwortlich sein, da es sich hierbei um äußerst empfindliche Parameter handelt.

#### D-Dimer

Erhöhte D-Dimer-Spiegel entstehen beim Abbau von quervernetztem Fibrin durch Plasmin als Zeichen der Aktivierung des endogenen Fibrinolyse-Systems.

In der vorliegenden Studie stiegen die D-Dimer-Werte ab dem Zeitpunkt der Ovulation (3. BE) signifikant stark an, wobei die Werte der Patientinnen aus der LONG-Protokoll-Gruppe den oberen Normbereich um ein Vielfaches überschritten und mehr als doppelt so hoch anstiegen als die der Frauen aus der SHORT-Protokoll-Gruppe (vgl. Abb. und Tab. 3.14).

Ob unter Ovulationshemmung, in der Schwangerschaft oder unter Substitutions-therapie in der Menopause, schon von vielen Autoren wurden Gerinnungs- veränderungen, insbesondere auch in bezug auf D-Dimer, beschrieben [Stirling et al., 1984; Aune et al., 1993; Norris und Bonnar, 1996; Kluft und Lansink, 1997; Koh et al., 1997; Marchien van Baal et al., 2000; Udoff und Branch, 2000]. Dabei wurden jedoch recht unterschiedliche Beobachtungen gemacht.

Kluft und Lansink sowie Kemkes-Matthes und Oehler beschrieben z.B. erhöhte D-Dimer-Spiegel in der Schwangerschaft bzw. bei Behandlung mit oralen Kontra- zeptiva und führten dies auf eine reaktive Aktivierung des Fibrinolyse-Systems zurück [Kluft und Lansink, 1997; Kemkes-Matthes und Oehler, 2001]. Diese Ergebnisse

stimmen nicht mit den Resultaten der Arbeitsgruppen um Scarabin et al. und Marchien van Baal et al. überein, welche keine signifikanten Veränderungen von D-Dimer bei Frauen unter Hormonersatztherapie in der Menopause feststellten [Scarabin et al., 1997; Marchien van Baal et al., 2000]. Dabei muß man jedoch beachten, daß es sich bei den oben genannten Untersuchungen um völlig unterschiedliche Studien mit Gaben verschiedener Hormonpräparate bzw. um schwangere Frauen handelte.

Auch während In-vitro-Fertilisationsbehandlungen wurde bereits nach D-Dimer-Veränderungen geforscht. Auch hier wurden sehr unterschiedliche Ergebnisse gefunden.

Bremme et al. sowie Udoff und Branch, die Patientinnen während eines In-vitro-Fertilisationsprogrammes untersuchten, fanden keine signifikanten Veränderungen der D-Dimer-Konzentrationen [Bremme et al., 1994; Udoff und Branch, 2000].

In einer Veröffentlichung von Magnani beschrieb dieser 1999 sogar ein Abfallen des D-Dimers um fast 50 % im Zusammenhang mit ansteigenden Estrogenkonzentrationen [Magnani et al., 1999]. Mit diesem Ergebnis widerlegte er Aussagen über eine gesteigerte Fibrinolyse bei kurzzeitigen Veränderungen des Estrogens unter IVF-Hormongaben.

Diese Ergebnisse unterscheiden sich erheblich von denen unserer Untersuchung.

Wie schon oben erwähnt, unterstützen die Ergebnisse von Biron et al. (1997) die von uns gefundenen. Biron beschreibt den erheblichen Anstieg (ca. 300 %) der D-Dimer-Werte gegen Ende der Behandlung als „dramatically“, was wir mit einem beinahe identisch hohen Ansteigen von ebenfalls ca. 300 % (vom Ausgangswert ausgehend) bestätigen können. Auch er konnte zwischen den ersten Blutentnahmen zu Beginn der Hormontherapie keine signifikanten Veränderungen feststellen.

Auch Manaka et al. (1991) und Kodama et al. (1996) beschrieben erhöhte D-Dimer-Level unter IVF-Hormongaben, jedoch bei Frauen mit Anzeichen eines Überstimulationssyndroms.

Für diese unterschiedlichen Resultate ist evtl. von Bedeutung, an welchen Tagen der Stimulationstherapie die Blutentnahmen durchgeführt wurden. Vielleicht bedingen auch Blutentnahmen zu unterschiedlichen Tageszeiten bereits einen solchen Unterschied. Nach Gaffney (1980) besitzt D-Dimer eine Halbwertszeit von nur

wenigen Minuten, was zu der Theorie passen würde, daß sogar der Zeitpunkt der Blutentnahme (nach Hormongabe) entscheidend für die Genauigkeit der Messungen sein könnte. Schließlich unterliegt der menschliche Körper bestimmten Hormoneinflüssen (plus den zusätzlich verabreichten Hormonen), deren Ausschüttung nachweislich tageszeitabhängig ist und ebenfalls Einfluß auf die Ergebnisse haben könnte. Weiterhin gibt es immer Unterschiede in der Zusammensetzung der Estrogen-, Progesteron-, GnRH-, hMG- und hCG-Hormonpräparate, welche in den verschiedenen Ländern zur IVF-Stimulationsbehandlung verwendet werden. Auch unterschiedliche Testverfahren können Einfluß auf die Ergebnisse und Auswertungen nehmen.

Abschließend ist zu bemerken, daß die von uns unter IVF-Hormontherapie festgestellten Veränderungen der Gerinnungsparameter eindeutig auf eine Gerinnungsaktivierung (ohne Beteiligung des aus Endothelläsionen freigesetzten Tissue factors) mit gleichzeitiger reaktiver Steigerung des Fibrinolyseystems hinweisen. Inwieweit diese Änderungen der Gerinnungswerte von Hormonveränderungen abhängen, soll im folgenden Abschnitt noch näher beleuchtet werden.

## 4.2 Veränderungen der Gerinnungsparameter in Zusammenhang mit Hormonwertveränderungen unter IVF-Hormontherapie

Blombäck et al. beschrieben 1997, daß der Progesteron-Effekt während des Menstruationszyklus sehr gering und daher vernachlässigbar sei in bezug auf Gerinnungsveränderungen. Estrogen hingegen zeige einen signifikanten Effekt auf einige Gerinnungsfaktoren.

Auch in vielen anderen Studien wird behauptet, Estrogen besäße den größten Einfluß in bezug auf Gerinnungsveränderungen unter Hormontherapie unterschiedlicher Art [Realini und Goldzieher, 1985; Koh et al., 1999; Magnani et al., 1999; Curvers et al., 2001]. Dies konnte in der vorliegenden Untersuchung jedoch nicht bestätigt werden. Die eindeutigeren Korrelationen zeigten hierbei die Werte des Progesterons in Zusammenhang mit gesteigertem prokoagulatorischen Potential, wie es auch Biron et al. 1997 in einer prospektiven Studie gezeigt haben.

Die Estrogenwerte stiegen vom Ausgangswert bis zur Ovulation stark an und fielen danach bis zum Zeitpunkt des ET's wieder deutlich ab (vgl. Abb. und Tab. 3.16). Statistisch ergab sich dabei ein Zusammenhang mit den D-Dimer-Werten, welcher aber kaum nachzuvollziehen ist, da die D-Dimer-Werte zum Zeitpunkt der letzten Blutentnahme am Tag des Embryonentransfers ihr absolutes Maximum erreichen (und sich vorher kaum verändern), während die Estrogen-Werte bereits zur Zeit der Ovulation stark erhöht sind und danach wieder deutlich abfallen bis zum Tag des Embryonentransfers (vgl. Abb. 3.24 und 3.25).

Zwischen den übrigen Gerinnungsparametern und Estrogen ergaben sich keine weiteren Zusammenhänge.

Wie aus Abbildung und Tabelle 3.15 ersichtlich, veränderten sich sowohl die Progesteron-Werte der Frauen aus der SHORT-Protokoll-Gruppe als auch die der Frauen aus der LONG-Protokoll-Gruppe zunächst nur minimal zwischen Nullprobenwert und Blutentnahme am ca. 8. Tag der Stimulation. Danach stiegen sie bis zum Zeitpunkt der Ovulation leicht an und bei der letzten Blutentnahme, am Tag des Embryonentransfers, erreichten die Werte dann ihr absolutes Maximum in beiden

Gruppen, wobei die Endwerte der Patientinnen aus der LPG nochmals deutlich über denen der SPG-Patientinnen lagen (SPG = 48,5 ng/ml; LPG = 116 ng/ml).

Ein beinahe identisches Bild zeigten, wie bereits oben erwähnt, die D-Dimer-Werte der Frauen beider Gruppen. Auch sie veränderten sich zunächst kaum, stiegen dann leicht an und erreichten am Tag des Embryonentransfers unphysiologisch hohe Endwerte. Dabei lagen die D-Dimer-Endwerte der Frauen aus der LPG auch hier mehr als doppelt so hoch als die der Frauen aus der SPG (SPG = 406,5 ng/ml; LPG = 875 ng/ml). Die Korrelationen zwischen D-Dimer- und Progesteron-Werten sind in den Abbildungen 3.23 und 3.24 verdeutlicht. Ein Korrelationskoeffizient von  $r = 0,53$  bei einer Signifikanz von  $p = 0,006$  unterstützt dieses Ergebnis (vgl. Abb. 4.1).

Curvers et al. fanden 2001 ähnliche Veränderungen von Estrogen- und Progesteronwerten unter IVF-Hormonbehandlung, stellten aber nur Zusammenhänge in Verbindung mit der APC Ratio her. Dabei korrelierte Progesteron negativ, Estrogen positiv mit der APC Ratio. Sie fanden keine signifikanten Veränderungen bzw. Korrelationen der antikoagulatorischen Parameter.

Die Werte des Prothrombinfragments F 1+2 verhielten sich ebenfalls ähnlich wie die des Progesterons. Auch hier zeigten sich zunächst kaum Veränderungen zwischen den ersten beiden Blutentnahmen. Dann kam es zum Ansteigen der Werte der Frauen beider Gruppen bis zum Ende der Behandlung hin. Hierbei lagen jedoch die Endwerte der Patientinnen der SHORT-Protokoll-Gruppe über denen der Frauen der LONG-Protokoll-Gruppe. Auch erreichten die Endwerte des F1+2's nicht den unphysiologischen Bereich.

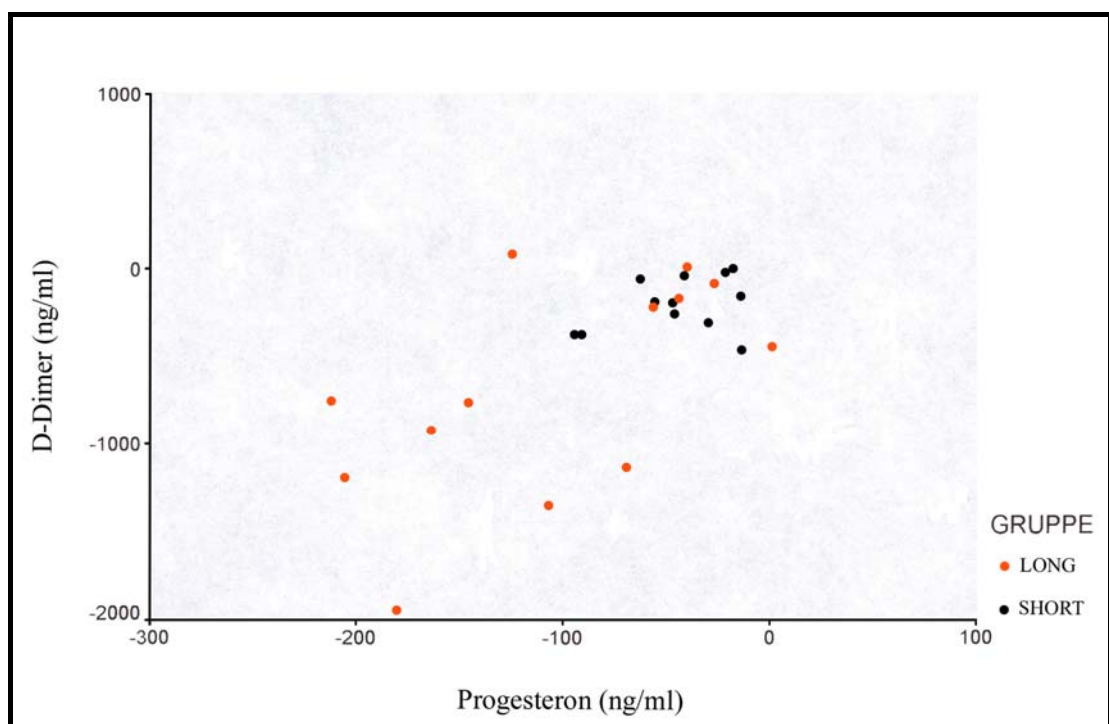
Statistische Korrelationen von Prothrombinfragment F 1+2 konnten jedoch mit keinem der Hormonparameter festgestellt werden.

Weder zwischen Tissue factor noch Tissue factor pathway inhibitor und den Hormonwerten bestanden statistisch relevante Zusammenhänge. Dennoch läßt sich anhand der Auswertungen sagen, daß keiner der beiden Faktoren seinen Höhepunkt bzw. Tiefststand zum Zeitpunkt des Haupt-Estrogen-Anstiegs (Ovulation) besitzt. Die TF- und TFPI-Werte erreichen ihren höchsten bzw. tiefsten Stand gegen Ende der Behandlung am Tag des Embryonentransfers, ähnlich denen des Progesterons (vgl. Abb. und Tab. 3.11, 3.12, 3.15).



Die Globaltests der plasmatischen Gerinnung zeigten in beiden Gruppen kontinuierlich ansteigende bzw. abfallende Tendenz ohne größere „Wertesprünge“. Trotzdem ähneln auch diese Verläufe eher denen des Progesterons als denen des Estrogens, da auch sie ihre Höchst- (Quick-Wert und Fibrinogen) bzw. Tiefststände (aPTT) am Ende der Studie (Embryonentransfer) erreichen. Eine statistische Korrelation war nicht gegeben.

#### Streudiagramm: Korrelation zwischen Progesteron und D-Dimer



**Abbildung 4.1: Regressionsanalyse: Dargestellt sind die Korrelationen zwischen D-Dimer- und Progesteron-Werten in ng/ml der Frauen aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm**

**Werte der 12 Patientinnen aus dem SHORT-Protokoll-Programm im Vergleich zu 13 Patientinnen aus dem LONG-Protokoll-Programm**

Wie bereits oben erwähnt, führen viele Autoren Gerinnungsveränderungen unter Hormongaben auf die Estrogen-Komponente zurück. Dabei wurde meist aber auch nur auf (oftmals unterschiedlich hohe) Estrogenkonzentrationen geachtet und kein

Augenmerk auf das Progesteron gelegt [Loret de Mola et al., 2000]. So auch in einer Studie von Koh et al. 1999, die Effekte unterschiedlicher Hormonersatztherapien und deren Einfluß auf das Gerinnungssystem untersuchten. Sie verglichen dabei verschiedene Präparate mit unterschiedlicher Estrogenkonzentration (auch in Kombination mit einer Progesteronkomponente!), führten die Einflüsse auf Koagulation und Fibrinolyse jedoch nur auf Estrogeneffekte zurück.

Jick et al. untersuchten 1995 Frauen unter oraler Kontrazeptionstherapie mit den sogenannten Dritt-Generations-Gestagen-Komponenten bei niedrig dosiertem Estrogen und zeigten, daß auch Progesteron einen bedeutenden Einfluß auf die Gerinnungsfaktoren besitzt.

Auch Kluff und Lansink (1997) untersuchten, welche Auswirkungen kombinierte (Estrogen- plus Progesteron-Komponente) orale Kontrazeptiva auf Haemostaseparameter haben und fanden heraus, daß auch der Progesterongehalt eine Rolle spielt. „It indicates that the role of progesterons in the effects of combined oral contraceptives is significant and their design may in addition to reduction of oestrogen dosage be important in reducing haemostatic complications“, lautete ihr Fazit.

Lox et al. fanden 1995 heraus, daß bei Frauen während eines IVF-Zyklus zwar einige Gerinnungsfaktoren unter dem Hyperestrogenismus statistisch signifikant anstiegen, dies aber klinisch nicht bedeutsam und „im Rahmen des physiologischen Bereichs“ sei. Auf Veränderungen in Zusammenhang mit Progesteron wurde dabei nicht eingegangen.

Ergänzende Ergebnisse fanden Biron et al. 1997. Sie beschrieben ebenfalls Zusammenhänge zwischen Gerinnungsparametern (F1+2, D-Dimer, Fibrinogen) und Hormonwerten (Estrogen, Progesteron) bei 25 Patientinnen unter IVF-Hormontherapie. Dabei stellten sie fest, daß sich weder Prothrombinfragment F 1+2 noch D-Dimer signifikant veränderten zum Zeitpunkt des Estrogenanstiegs. Auch sie zeigten, daß die Gerinnungsparameter mit den Progesteron-Werten korrelierten. Ihr Fazit lautete: „Activation of the hemostatic system is evidenced at the P plateau, when D-dimers and fragments 1+2 of the prothrombin levels rose dramatically. At E2 peak, no significant modification of hemostasis markers was noted“.

Diese Ergebnisse können wir aufgrund der vorliegenden Studie bestätigen.

### 4.3 SHORT – LONG: Vergleich der beiden Gruppen

Bei den Globaltests zeigte sich ein höheres Ansteigen der Quick- und Fibrinogen-Werte bei den Frauen der LONG-Protokoll-Gruppe (LPG), was zumindest bei den Fibrinogen-Werten auch statistisch signifikant war. In bezug auf die aPTT konnte kein Unterschied zwischen den Gruppen festgestellt werden (vgl. Abb. und Tab. 3.8, 3.9, 3.10).

Diese Anzeichen für ein stärkeres Ansteigen der prokoagulatorisch wirksamen Faktoren in der LPG wird unterstützt von den Ergebnissen der Bestimmungen der Fibrinspaltprodukte, den D-Dimeren, die im Zusammenhang mit den ebenfalls signifikant höheren Progesteron-Werten in der LPG mehr als doppelt so hohe Endwerte erreichten gegen Ende der IVF-Hormontherapie (4. BE) als die der SPG (vgl. Abb. und Tab. 3.14 und 3.15).

Bei den Prothrombinfragment F 1+2-Werten deutete sich ein stärkeres Ansteigen in der SPG an, was aber statistisch nicht belegt werden konnte (vgl. Abb. und Tab. 3.13).

Die Tissue factor- und Tissue factor pathway inhibitor-Werte unterschieden sich deutlich in den beiden Programmen. In der SHORT-Protokoll-Gruppe (SPG) fielen die TF- und stiegen die TFPI-Werte jeweils kontinuierlich und signifikant ( $p < 0,001$  in beiden Gruppen). In der LPG stiegen die TF-Werte erst an, fielen dann leicht und gegen Ende der Behandlung stark ab. Der TFPI-Spiegel der Patientinnen der LPG veränderte sich nicht signifikant im Laufe der IVF-Behandlung.

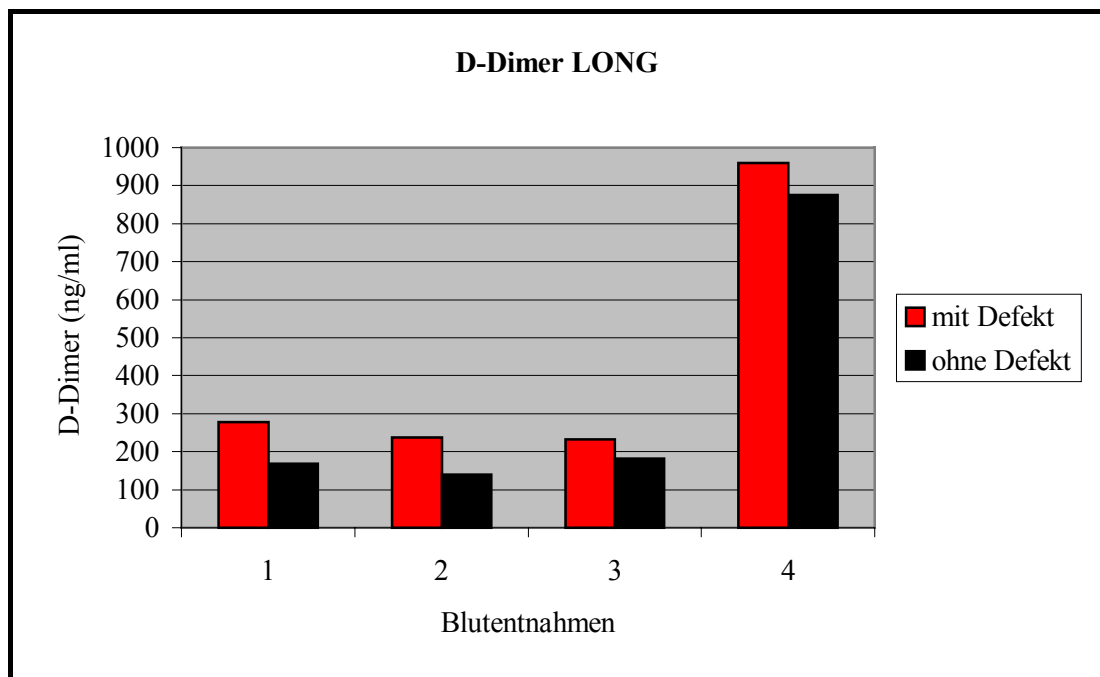
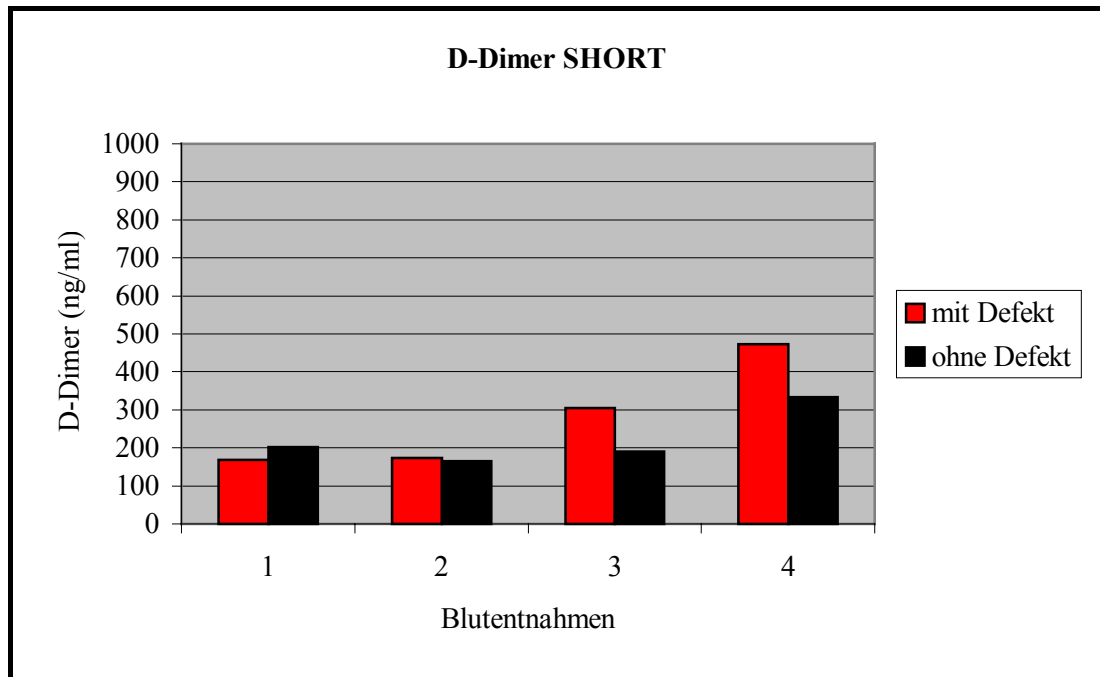
Diese Ergebnisse lassen darauf schließen, daß die IVF-Hormonbehandlung mit dem GnRH-Analogon Enantone Gyn<sup>®</sup> (LPG) zu einer stärkeren Gerinnungsaktivierung führen kann als die mit Suprecur<sup>®</sup> (SPG). Sowohl Quick-, Fibrinogen- und D-Dimer- als auch die TF-Werte zeigen auf ein höheres prokoagulatorisches Potential in der LPG hin. Unveränderte Werte des TFPI's in der LPG gegenüber ansteigenden in der SPG deuten gleichzeitig auf eine geringere physiologisch gegenregulatorisch wirksame Antikoagulation in der LPG hin.

In der LONG-Protokoll-Gruppe fielen bei den Nullprobenbestimmungen vermehrt Thrombophilie-Parameter (Antithrombin, Protein C, Protein S und APC Ratio) außerhalb des Referenzbereichs auf. Um auszuschließen, daß diese, bereits bei

Beginn der Behandlung bestehenden Veränderungen, Ursache der erhöhten Gerinnungsaktivierung in der LPG sein könnten, führten wir noch eine weitere Untersuchung durch: Es wurden die Frauen aus beiden Protokollen, die bei Bestimmung dieser Gerinnungsparameter unphysiologische Werte aufwiesen, denen der gleichen Gruppe ohne Defekte gegenübergestellt. Dabei zeigte sich jedoch, daß in beiden IVF-Gruppen jeweils die Werte der Patientinnen mit Defekt über denen der Frauen ohne Defekt lagen und dabei sogar – am Beispiel des D-Dimers dargestellt – eine größere Differenz in der SHORT-Protokoll-Gruppe zu erkennen war (vgl. Abb. 4.2 und 4.3). Außerdem kann man anhand der Abbildungen sehr gut erkennen, daß vor allem die Endwerte aller Frauen aus der LPG (auch ohne Defekt) ca. doppelt so hoch angestiegen sind wie die Höchstwerte der Patientinnen aus der SPG, selbst mit Defekt! Dieser Vergleich legt nahe, daß der sehr viel höhere Anstieg der Werte der Frauen aus der LPG nicht an diesem, meist auch nur sehr geringen, Abweichen der AT-, PC-, PS- und APC Ratio-Werte von der Norm begründet liegt.

Auch kann der beschriebene Unterschied bei dieser Untersuchung nicht auf andere Zusammensetzungen der übrigen Medikamente oder die Zeitpunkte der Blutentnahmen zurückgeführt werden, da dies in beiden Gruppen identisch war.

Vergleiche zu anderen Studien sind hierbei nicht möglich, da in keiner Untersuchung die gleichen Hormonpräparate wie in der vorliegenden Arbeit verwendet wurden.



**Abbildungen 4.2 und 4.3:** Dargestellt sind die D-Dimer-Median-Werte (SHORT-Protokoll-Programm/ LONG-Protokoll-Programm) der 4 im Verlauf der In-vitro-Fertilisationsbehandlung entnommenen Blutproben der 25 Frauen aus dem In-vitro-Fertilisationsprogramm

Dabei werden jeweils die Patientinnen mit Defekt (SHORT: 2 x AT, 1 x PS; LONG: 2 x AT, 2 x PC, 1 x PS, 1 x APC Ratio außerhalb des Normbereichs), denen ohne Defekt gegenübergestellt.

## 5 ZUSAMMENFASSUNG

Unterschiedliche Hormonpräparate, wie beispielsweise orale Kontrazeptiva oder Substitutionspräparate in der Menopause sind in den letzten Jahren vermehrt in die Schlagzeilen geraten. Es wurden viele Studien veröffentlicht, die zeigten, daß es unter bestimmten Hormongaben zu Veränderungen der Blutgerinnung kommt im Sinne von Steigerung des pro- bzw. Reduktion des antikoagulatorischen Potentials. Somit besteht ein erhöhtes Thromboserisiko unter Verwendung bestimmter Hormonpräparate, insbesondere, wenn weitere Risikofaktoren für thromboembolische Ereignisse (Rauchen, Adipositas, Immobilisation usw.) hinzu kommen.

Da die In-vitro-Fertilisation in den letzten 20 Jahren immer mehr an Bedeutung gewonnen hat und während eines IVF-Zyklus Hormone in hoher Dosierung verabreicht werden, stellte sich die Frage, ob und inwieweit es auch hier zu Gerinnungsveränderungen kommt.

In der vorliegenden Arbeit konnten wir anhand unterschiedlicher Gerinnungsparameter und Hormonwertbestimmungen bei zwei unterschiedlichen IVF-Stimulations-Protokollen zeigen, daß es unter In-vitro-Fertilisations-Therapie zu Veränderungen der Blutgerinnung der Patientinnen kommt.

In beiden von uns untersuchten Patientengruppen (LONG- versus SHORT-Protokoll Programm) wiesen sowohl die Globaltests der plasmatischen Gerinnung (Quick-Wert, aPTT und Fibrinogen) als auch die Gerinnungsaktivierungsparameter Prothrombinfragment F1+2 und D-Dimer auf eine Erhöhung des prokoagulatorischen Potentials bzw. eine Gerinnungsaktivierung hin.

Die in den letzten Jahren auf dem Gebiet der Gerinnungsaktivierung bzw. -inhibierung erst genauer erforschten Faktoren Tissue factor und Tissue factor pathway inhibitor verhielten sich unterschiedlich in den beiden von uns untersuchten Gruppen und zeigten keine eindeutig signifikanten Veränderungen.

In bezug auf die Hormonwertveränderungen unter IVF-Therapie konnten wir zeigen, daß die Gerinnungswerte, insbesondere Prothrombinfragment F1+2 und D-Dimer, der Patientinnen beider Protokolle signifikant mit den Progesteron-Werten korrelierten. Estrogen-Spiegel scheinen dagegen bei der In-vitro-Fertilisations-Hormontherapie eine untergeordnete Rolle zu spielen in bezug auf die Gerinnungsaktivierung.

Zwischen den beiden Patientengruppen bestanden kaum Unterschiede hinsichtlich Ansteigen bzw. Abfallen der einzelnen Parameter. Lediglich in bezug auf die Höhe des jeweiligen Anstiegs bzw. Abfalls konnte gezeigt werden, daß, außer bei den F 1+2-Werten, jeweils die Endwerte der Patientinnen der LONG-Protokoll Gruppe deutlich über bzw. unter denen der SHORT-Protokoll Gruppe lagen, was auf ein stärkeres Ansteigen des prokoagulatorischen Potentials in diesem Protokoll weist, insbesondere im Zusammenhang mit dem auch in dieser Gruppe stärkeren Ansteigen des Progesterons.

## 6 AUSBLICK

In Studien von Dlugi et al. (1984), Balasch et al. (1985) und DeCherney et al. (1985) konnte gezeigt werden, daß mit erhöhten Serum-Estrogenspiegeln in der spät-lutealen Phase während eines IVF-Zyklus die Schwangerschaftsrate steigt. Erhöhte Progesteron-Werte besitzen anscheinend keinen positiven Einfluß auf die Schwangerschaftsrate [Leeton et al., 1985; Daya, 1988]. Da wir herausgefunden haben, daß das prokoagulatorische Potential der Patientinnen unter IVF-Therapie, vor allem in Zusammenhang mit erhöhten Progesteron-Werten, ansteigt, wären auf diesem Gebiet weitere Ergebnisse interessant um heraus zu finden, wie man thromboembolische Komplikationen einzelner Frauen vermeiden kann und die Schwangerschaftsrate dabei nicht negativ beeinflusst.

In diesem Zusammenhang spielen sicher auch Regulationsvorgänge am Endothel, die mit den heutigen Methoden noch schlecht beurteilbar sind, eine wesentliche Rolle [Kato, 1996; Shimura et al., 1996].



## 7 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

a	aktivierter Faktor
Abb.	Abbildung
APA	Anti-Phospholipid-Antikörper
APC Ratio	Aktivierte Protein C Ratio
aPTT	aktivierte Partielle Thromboplastinzeit
AT	Antithrombin
BE	Blutentnahme
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
Ca <sup>2+</sup>	Calciumionen
CaCl <sub>2</sub>	Calciumchlorid
cDNA	copy-Desoxyribonucleinsäure
D	Dalton
DHEAS	Dehydroepiandrosteron-Sulfat
DNA	Desoxyribonucleinsäure
ET	Embryonentransfer
et al.	et alii / und andere
F	Faktor
F 1+2	Prothrombinfragment F1+2
FSH	Follikel Stimulierendes Hormon
FSP / FDP	Fibrinspaltprodukte
GnRH	Gonadotropin Releasing Hormon
hCG	humanes Chorion Gonadotropin
hMG	humanes Menopausen Gonadotropin
IE	Internationale Einheit
IgG / IgM	Immunglobulin der Klasse G / M
INR	Internationale Normalisierte Ratio
IVF	In-vitro-Fertilisation
LH	Luteinisierendes Hormon
LP(a)	Lipoprotein (a)
LPG	LONG-Protokoll-Gruppe
MG	Molekulargewicht

---

mRNA	messenger-Ribonucleinsäure
MTHFR	Methylentetrahydrofolat-Reduktase
OHSS	ovarian hyperstimulation syndrom
PC	Protein C
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
p.o.	per os / oral
POD	Peroxidase
PS	Protein S
PT / TPZ / Quick	Prothrombinzeit / Thromboplastinzeit / Quick-Wert
sec	Sekunden
SPG	SHORT-Protokoll-Gruppe
Tab.	Tabelle
tägl.	täglich
Tbl.	Tablette
TF	Tissue factor
TFPI	Tissue factor pathway inhibitor
u.a.	unter anderem
vgl.	vergleiche
z.B.	zum Beispiel

## 8 LITERATURVERZEICHNIS

ABILDGAARD, U.:

Relative roles of tissue factor pathway inhibitor and antithrombin in the control of thrombo-genesis.

*Blood Coag. Fibrinol.* 6(2):45-49 (1995).

ALTMAN, R., SCAZZIOTA, A., ROUVIER, J.:

Efficacy of unfractionated heparin, low molecular weight heparin and both combined for releasing total and free tissue factor pathway inhibitor.

*Haemostasis.* 28:229-235 (1998).

AUNE, B., HOIE, K.E., OIAN, P., HOLST, N., OSTERUD, B.:

Does ovarian stimulation for in-vitro fertilization induce a hypercoagulable state?

*Hum. Reprod.* 6(7):925-927 (1991).

AUNE, B., OIAN, P., OSTERUD, B.:

Enhanced sensitivity of the extrinsic coagulation system during ovarian stimulation for in-vitro fertilization.

*Hum. Reprod.* 8:1349-1352 (1993).

AUROSSEAU, M., SAMAMA, M., BELHASSEB, A. et al.:

Risk of thromboembolism in relation to an in-vitro fertilization program : three case reports.

*Hum. Reprod.* 10:94-97 (1995).

BALASCH, J., CREUS, M., FABREGUES, F. et al.:

Hormonal profiles in successful and unsuccessful implantation in IVF-ET after combined GnRH agonist/gonadotropin treatment for superovulation and hCG luteal support.

*Gynecol Endocrinol.* 9(1):51-58 (1995).

BALLEISEN, L., BAILEY, J., EPPING, P.-H. et al.:

Epidemiological study on factor VII, factor VIII and fibrinogen in an industrial population: I. Baseline data on the relation to age, gender, body weight, smoking, alcohol, pill using, and menopause.

*Thromb. Haemost. 54:475-479 (1985).*

BARTHEL, M., POLIWODA, H.:

Gerinnungsanalysen.

*Georg Thieme Verlag, Stuttgart - New York 1998<sup>6</sup>.*

BAUERSACHS, R., KUHLE, H., LINDHOFF-LAST, E., EHRLY, A.M.:

Thromboserisiko bei oralen Kontrazeptiva: Stellenwert eines Thrombophilie-Screenings.

*VASA. 25(3) (1996).*

BIRON, C., GALTIER-DEREURE, F., RABESANDRATANA, H. et al.:

Hemostasis parameters during ovarian stimulation for in vitro fertilization: results of a prospective study.

*Fertil. Steril. 67(1):104-109 (1997).*

BLOMBÄCK, M., LANDGREN, B.-M., STIERNHOLM, Y., ANDERSSON, O.:

The effect of progesterone on the haemostatic mechanism.

*Thromb. Haemost. 77(1):105-108 (1997).*

BOKAREWA, M.I., FALK, G., STEIN-LINDER, M. et al.:

Thrombotic risk factors and oral contraception.

*J. Lab. Clin. Med. 126(3):294-298 (1995).*

BREMME, K., WRAMSBY, H., ANDERSSON, O., WALLIN, M., BLOMBÄCK, M.:

Do lowered factor VII levels at extremely high endogenous oestradiol levels protect against thrombin formation?

*Blood Coag. Fibrinol. 5(2):205-210 (1994).*

BRONZE, G.J. jr.:

Tissue factor pathway inhibitor.

*Haemostaseologie. 17:73-77 (1997).*

BRONZE, G.J. jr., MILETICH, J.P.:

Isolation of the tissue factor inhibitor produced by HepG2 hepatoma cells.

*Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 84:1886-1890 (1987).*

BRONZE, G.J. jr., WARREN, L.A., NOVOTNY, W.F. et al.:

The lipoprotein-associated coagulation inhibitor that inhibits the factor VII-tissue factor complex also inhibits factor Xa: Insight into its possible mechanism of action.

*Blood. 71:335 (1984).*

CAMICI, M., SAGRIPANTI, A.:

Tissue factor pathway inhibitor.

*Minerva Med. 90:25-32 (1999).*

CARSON, S.D., HENRY, W.M., SHOWS, T.:

Tissue factor gene localised to human chromosome 1 (1pter-1p21).

*Science. 229:991-993 (1985).*

CUNNINGHAM, M.A., ROMAS, P., HUTCHINSON, P., HOLDSWORTH, S.R.,  
TIPPING, P.G.:

Tissue factor and factor VIIa receptor/ligand interactions induce proinflammatory effects in macrophages.

*Blood. 94(10):3413-3420 (1999).*

CURVERS, J., NAP, A.W., THOMASSEN, M.C.L.G.D. et al.:

Effect of in vitro fertilization treatment and subsequent pregnancy on protein C pathway.

*Brit. J. Haematol. 115:400-407 (2001).*

DAHLBÄCK, B., CARLSSON, M., SVENSSON, P.J.:

Familial thrombophilia due to a previously unrecognized mechanism characterized by poor anticoagulant response to activated protein C: Prediction of a cofactor to activated protein C.

*Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash.)* 90:1004-1008 (1993).

DALY, E., VESSEY, M.P., HAWKINS, M.N. et al.:

Risk of venous thromboembolism in users of hormone replacement therapy.

*Lancet.* 348:922-980 (1996).

DAYA, S.:

Efficacy of progesterone support in the luteal phase following in vitro fertilization and embryo transfer: meta-analysis of clinical trials.

*Hum. Reprod.* 3:731-734 (1988).

DE CHERNEY, A.H., TARLATZIS, B.C., LAUFER, N.:

Follicular development: lessons learned from human in vitro fertilization.

*Am. J. Obstet. Gynecol.* 153:911-923 (1985).

DE MITRIO, V., MARINO, R., CICINELLI, P. et al.: Beneficial effects of postmenopausal hormone replacement therapy with transdermal estradiol on sensitivity to activated protein C.

*Blood Coag. Fibrinol.* 11:175-182 (2000).

D.I.R. – DEUTSCHES IVF REGISTER, Jahrbuch 1999.

*A. Schipplick KG, Groß Grönau 1999.*

DOBADO-BERRIOS, P.M., LÓPEZ-PEDRERA, C., VELASCO, F. et al.:

Increased levels of tissue factor mRNA in mononuclear blood cells of patients with primary Antiphospholipid Syndrome.

*Thromb. Haemost.* 82:1578-1582 (1999).

DLUGI, A.M., LAUFER, N., DE CHERNEY, A.H. et al.:

The periovulatory and luteal phase of conception cycles following in vitro fertilization and embryo transfer.

*Fertil. Steril.* 41:530-537 (1984).

DRAKE, T.A., MORRISSEY, J.H., EDGINGTON, T.S.:

Selective cellular expression of tissue factor in human tissues. Implications for disorders of hemostasis and thrombosis.

*Am. J. Pathol.* 134:1087 (1989).

EDWARDS, F.C., TRUELOVE, S.C.:

The course and prognosis of ulcerative colitis. Part III. Complications.

*Gut.* 5:1-22 (1964).

ESMON, C.T.:

The regulation of natural anticoagulant pathways.

*Science.* 235:1248-1352 (1987).

FRUZETTI, F., RICCI, C., FIORETTI, P.:

Haemostasis profile in smoking and nonsmoking women taking low-dose oral contraceptives.

*Contraception.* 49:579-592 (1994).

GAFFNEY, P.J.:

Breakdown products of fibrin and fibrinogen: molecular mechanisms and clinical implications.

*J. Clin. Path.* 14:10-17 (1980).

GIPS, H.:

Therapie der Kinderlosigkeit durch In-vitro-Fertilisation, Embryotransfer, Pronucleusstadiumtransfer und Gametentransfer.

*Patienteninformation. Gießen.* 5. Auflage.

GRADY, D., SAWAYA, G.:

Postmenopausal hormone therapy increases risk of deep vein thrombosis and pulmonary embolism.

*Am. J. Med.* 105:41-43 (1998).

GRÄSER, T.:

Sexualsteroide und Hämostase.

*Hämostaseologie.* 21:1-43 (2001).

GRODSTEIN, F., STAMPFER, M.J., GOLDHABER, S.Z. et al.:

Prospective study of exogenous hormones and risk of pulmonary embolism in women.

*Lancet.* 348:983-987 (1996).

HAFTER, R., SCHRÖCK, R., HUGO, R.von, GRAEFF, H.:

Measurement of crosslinked fibrin derivatives in plasma and ascitic fluid with monoclonal antibodies against D-Dimer using EIA and Latex test.

*Scand. J. clin. Lab. Invest.* 178:137-144 (1985).

HEIDINGER, K.S.:

Veränderungen der Gerinnungsinhibitoren Protein C und Protein S bei Patienten mit entzündlichen Erkrankungen.

*Habilitationsschrift. Gießen 1996.*

HELMERHORST, F.M., BLOEMENKAMP, K.W.M., ROSENDAAL, F.R.,  
VANDENBROUCKE, J.P.:

Oral contraceptives and thrombotic disease: Risk of venous thromboembolism.

*Thromb. Haemost.* 78(1):327-333 (1997).

HJORT, P.F.:

Intermediate reactions in the coagulation of blood with tissue thromboplastin.

*Scan. J. Clin. Lab. Invest.* 9:1-173 (1957).



HØIBRAATEN, E., ABDELNOOR, M., SANDSET, P.M.:

Hormone replacement therapy with estradiol and risk of venous thromboembolism.

*Thromb. Haemost. 82:1218-1221 (1999).*

HUNT, F.A., RYLATT, D.B., HART, R.-A., BUNDESEN, P.G.:

Serum crosslinked fibrin (XDP) and fibrinogen/fibrin degradation products (FDP) in disorders associated with activation of the coagulation or fibrinolytic systems.

*Brit. J. Haematol. 60:715-722 (1985).*

JÄGER, S.E.:

D-Dimer und Tissue-Plasminogen-Aktivator beim Typ I-Diabetiker in Abhängigkeit von Stoffwechsel und Sekundärkomplikationen.

*Habilitationsschrift. Gießen 1992.*

JICK, H., JICK, S.S., GUREWICH, V. et al.:

Risk of idiopathic cardiovascular death and nonfatal venous thromboembolism in women using oral contraceptives with progestagen components.

*Lancet. 346:1589-1592 (1995).*

KATO, H.:

Tissue factor pathway inhibitor: Its structure, function and clinical significance.

*Pol. J. Pharmacol. 48:67-72 (1996).*

KEMKES-MATTHES, B.:

Untersuchungen zur klinischen Bedeutung des Protein C- Protein S-Systems.

*Habilitationsschrift. Gießen 1991.*

KEMKES-MATTHES, B., OEHLER, G.:

Blutgerinnung und Thrombose.

*Georg Thieme Verlag, Stuttgart - New York 2001<sup>3</sup>.*

KEMKES-MATTHES, B., PLUSZYK, T., LASCH, H.G.:

Coagulation inhibitors in pulmonary cancer patients.

*Thromb. Res. 65:85-94 (1992).*

KIM, H.C., KEMMANN, E., SHELDEN, R.M., SAIDI, P.:

Response of blood coagulation parameters to elevated endogenous 17 $\beta$ -estradiol levels induced by human menopausal gonadotropins.

*Am. J. Obstet. Gynecol.* 140:807-810 (1981).

KLEESIEK, K., SCHMIDT, M., GÖTTING, C. et al.:

The 536C $\Rightarrow$ T transition in the human tissue factor pathway inhibitor (TFPI) gene is statistically associated with a higher risk for venous thrombosis.

*Thromb. Haemost.* 82:1-5 (1999).

KLIGMAN, I., NOYES, N., BENADIVA, C.A., ROSENWAKS, Z.:

Massive deep vein thrombosis in a patient with antithrombin III deficiency undergoing ovarian stimulation for in vitro fertilization.

*Ferti. Steril.* 63(3):673-676 (1995).

KLUFT, C., LANSINK, M.:

Effect of oral contraceptives on haemostasis variables.

*Thromb. Haemost.* 78(1):315-326 (1997).

KODAMA, H., FUKUDA, J., KARUBE, H., SHIMIZU, Y., TANAKA, T.:

Status of the coagulation and fibrinolytic systems in ovarian hyperstimulation syndrome.

*Fertil. Steril.* 66(3):417-424 (1996).

KOH, K.K., HORNE, McD. K., CANNON, R.O.:

Effects of hormone replacement therapy on coagulation, fibrinolysis, and thrombosis risk in postmenopausal women.

*Thromb. Haemost.* 82(2):626-633 (1999).

KOH, K.K., MINCEMOYER, R., BUI, M.N. et al.:

Effects of hormone-replacement therapy on fibrinolysis in postmenopausal women.

*The New England Journal of Medicine.* 336(10):683-690 (1997).

KROON, U.-B., SILFVERSTOLPE, G., TENGBORN, L.:

The effects of transdermal estradiol and oral conjugated estrogens on haemostasis variables.

*Thromb. Haemost. 71:420-423 (1994).*

LÁSZLÓ, P., BODA, Z.:

Determination of anti-FXa activity and level of total and free TFPI in thrombophilic pregnant women treated with Fraxiparine.

*Haemostasis. 28(2) (1998).*

LEETON, J., TROUNSON, A., JESSUP, D.:

Support of the luteal phase in IVF programs: results of a controlled trial with intramuscular proluton.

*In Vitro Fertil. Embryo Transf. 2:166-169 (1985).*

LETSKY, C., DE SWIET, M.:

Annotation. Thromboembolism in pregnancy and its management.

*Brit. J. Haematol. 57:543-552 (1984).*

LINDAHL, A.K.:

Tissue factor pathway inhibitor: from unknown coagulation inhibitor to major antithrombotic principle.

*Cardiovascular Research. 33:286-291 (1997).*

LINDAHL, A.K., JACOBSEN, P.B.J., SANDSET, P.M., ABILDGAARD, U.:

Tissue factor pathway inhibitor with high anticoagulant activity in post-heparin plasma from cancer patients.

*Blood Coag. Fibrinol. 2:713-721 (1991).*

LORET DE MOLA, J.R., KIWI, R., AUSTIN, C., GOLDFARB, J.M. :

Subclavian deep vein thrombosis associated with the use of recombinant follicle-stimulating hormone (Gonal-F) complicating mild ovarian hyperstimulation syndrome.

*Fertil. Steril. 73(6):1253-1256 (2000).*

LOWE, G., WOODWARD, M., VESSEY, M. et al.:

Thrombotic variables and risk of idiopathic venous thromboembolism in women aged 45-64 years.

*Thromb. Haemost. 83:530-535 (2000).*

LOX, C., CANEZ, M., DeLEON, F., DORSETT, J., PRIEN, S.:

Hyperestrogenism induced by menotropins alone or in conjunction with luprolide acetate in in vitro fertilization cycles : the impact on hemostasis.

*Fertil. Steril. 63(3):566-570 (1995).*

MAGNANI, B., TSEN, L., DATTA, S., BADER, A.:

In vitro fertilization. Do short-term changes in estrogen levels produce increased fibrinolysis?

*Am. J. Clin. Pathol. 112(4):485-491 (1999).*

MANAKA, T., AKAHORI, A., ARAKI, S., TAMADA, T.:

Changes in coagulability and fibrinolytic activity in the patients with ovarian hyperstimulation syndrome.

*Nippon Sankal Fujinka Gakkai Zassi. 43:1653-1659 (1991).*

MANN, K.G.:

Biochemistry and physiology of blood coagulation.

*Thromb. Haemost. 82:165-174 (1999).*

MARCHIEN VAN BAAL, W., EMEIS, J.J., VAN DER MOOREN, M.J. et al.:

Impaired procoagulant-anticoagulant balance during hormone replacement therapy? A randomised, placebo-controlled 12-week study.

*Thromb. Haemost. 83:29-34 (2000).*

MEADE, T.M.:

Hormone replacement therapy and haemostatic function.

*Thromb. Haemost. 78:765-769 (1997).*

MIDDELDORP, S., MEIJERS, J.C.M., VAN DEN ENDE, A.E. et al:

Effects on coagulation of Levonorgestrel- and Desogestrel-containing low dose oral contra-ceptives: a cross-over study.

*Thromb. Haemost. 84:4-8 (2000).*

MISEREZ, R., JUNGI, T.W.:

LPS-induced, but not interferon-gamma-induced procoagulant activity of suspended human macrophages is followed by a refractory state of low procoagulant expression.

*Thromb. Res. 65:733 (1992).*

MONTGOMERY RICE, V.C., LEACH, R.E.:

Haemostasis during ovulation induction.

*Selected Hematologic Issues. 8(1):1047-9422 (1997).*

MORAWITZ, P.:

Die Chemie der Blutgerinnung.

*Ergebnisse der Physiologie. 4:307-422 (1905).*

MÜLLER-BERGHAUS, G., PÖTZSCH, B.:

Hämostaseologie.

*Springer-Verlag, Berlin - Heidelberg 1999.*

NORRIS, L.A., BONNAR, J.:

The effect of oestrogen dose and progesteron type on haemostatic changes in women taking low dose oral contraceptives.

*Brit. J. Obstet. Gynecol. (1996).*

POORT, S.R., ROSENDAAL, F.R., REITSMA, P.H., BERTINA, R.M.:

A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis.

*Blood Coag. Fibrinol. 88(10):3698-3703 (1996).*

RAPAPORT, S.I.:

Inhibition of factor VIIa/tissue factor-induced blood coagulation with particular emphasis upon a factor Xa-dependent inhibitory mechanism.

*Blood*. 73:359-365 (1989).

RAPAPORT, S.I., RAO, L.V.M.:

Initiation and regulation of tissue factor-dependent blood coagulation.

*Arteriosclerosis and Thrombosis*. 12:1111-1121 (1992).

RAPAPORT, S.I., RAO, L.V.M.:

Tissue factor pathway inhibitor: How it has become a "Prima Ballerina".

*Thromb. Haemost.* 74:7-17 (1995).

REALINI, J.P., GOLDZIEHER, J.W.:

Oral contraceptives and cardiovascular disease: a critique of epidemiological studies.

*Am. J. Obstet. Gynecol.* 152:729-798 (1985).

RICHARD-DAVIS, G., MONTGOMERY-RICE, V., MAMMEN, E.F. et al.:

In vitro platelet function in controlled ovarian hyperstimulation cycles.

*Fertil. Steril.* 67(5):923-927 (1997).

RICKLES, F.R., EDWARDS, R.L.:

Activation of blood coagulation in cancer: Trousseau's syndrome revisited.

*Blood Coag. Fibrinol.* 62:14-31 (1983).

ROWBOTHAM, B.J., CARROLL, P., WHITAKER, A.N. et al.:

Measurement of crosslinked fibrin derivatives – Use in the diagnosis of venous thrombosis.

*Thromb. Haemost.* 57:59-61 (1987).

RUF, W.:

The interaction of activated factor VII with tissue factor: insight into the mechanism of cofactor-mediated activation of activated factor VII.

*Blood Coag. Fibrinol.* 9:73-78 (1998).

SACK, G.H., LEVIN, J., BELL, W.R.:

Trousseau's syndrome and other manifestations of chronic disseminated coagulopathy in patients with neoplasms: clinical, pathophysiologic and therapeutic features. *Medicine (Baltimore)*. 56:1-37 (1977).

SANDSET, P.M.:

Tissue factor pathway inhibitor (TFPI) – An update. *Haemostasis*. 26(4):154-165 (1996).

SANDSET, P.M., ABILDGAARD, U.:

Extrinsic pathway inhibitor: The key to feedback control of blood coagulation initiated by tissue thromboplastin. *Haemostasis*. 21:219 (1991).

SANDSET, P.M., ABILDGAARD, U., LARSEN, M.L.:

A sensitive assay of extrinsic coagulation pathway inhibitor (EPI) in plasma and plasma fractions. *Thromb. Res.* 47:389-400 (1987).

SANDSET, P.M., ABILDGAARD, U., LARSEN, M.L.:

Heparin induces release of extrinsic coagulation pathway inhibitor (EPI). *Thromb. Res.* 50:803 (1988).

SANDSET, P.M., BENDZ, B.:

Tissue factor pathway inhibitor: Clinical deficiency states. *Thromb. Haemost.* 78(1):467-470 (1997).

SCARABIN, P.-Y., ALHENC-GELAS, M., PLU-BUREAU, G. et al.:

Effects of oral and transdermal estrogen/progesterone regimens on blood coagulation and fibrinolysis in postmenopausal women. A randomized controlled trial. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 17:3071-3078 (1997).

SCHMIDT, A.:

Zur Blutlehre.

*Vogel, Leipzig 1892.*

SHIMURA, M., WADA, H., WAKITA, Y. et al.:

Plasma tissue factor and tissue factor pathway inhibitor levels in patients with disseminated intravascular coagulation.

*Am. J. Hematol. 52:165-170 (1996).*

SIEGENTHALER, W., KAUFMANN, W., HORNBOSTEL, H., WALLER, H.D.:

Lehrbuch der Inneren Medizin.

*Georg Thieme Verlag, Stuttgart - New York 1992<sup>3</sup>.*

SPITZER, W.O., LEWIS, M.A., HEINEMANN, L.A.J., et al.:

Third generation oral contraceptives and risk of venous thromboembolic disorders: an international case-control study.

*BMJ. 312:83-88 (1996).*

STERN, D.M., KAISER, E., NAWROTH, P.P.:

Regulation of the coagulation system by vascular endothelial cells.

*Haemostasis. 18:202-214 (1988).*

STIRLING, Y., WOOLF, L., NORTH, W.R.S., et al.:

Haemostasis in normal pregnancy.

*Thromb. Haemost. 52(2):176-182 (1984).*

SUN, G.H., McAFEE, W.M., HUM, G.J. et al.:

Hemostatic abnormalities in malignancy, a prospective study in one hundred eight patients. Part I. Coagulation studies.

*Am. J. Clin. Pathol. 71:10-16 (1979).*

TEN CATE, H., TIMMERMAN, J., LEVI, M.:

The pathophysiology of disseminated intravascular coagulation.

*Thromb. Haemost. 82:713-717 (1999).*



UDOFF, L.C., BRANCH, D.W.:

Management of patients with antiphospholipid antibodies undergoing in vitro fertilization.

*Journal of Autoimmunity. 15:209-211 (2000).*

VALENTIN, S., NORDFANG, O., BREGENGARD, C., WILDGOOSE, P.:

Evidence that the C-terminus of tissue factor pathway inhibitor (TFPI) is essential for its in vitro and in vivo interaction with lipoproteins.

*Blood Coag. Fibrinol. 4:713-720 (1993).*

VESSEY, M., MANT, D., SMITH, A., YEATES, D.:

Oral contraceptives and venous thromboembolism: findings in a large prospective study.

*BMJ. 292:526 (1986).*

WANKMÜLLER, H., SCHWENDER, S., KELLER, F.:

APC-Resistenz: Pathogenese, Diagnostik, Prävalenz und Bedeutung eines neuen Thromboserisikofaktors.

*Med. Klin. 91(5):308-312 (1996).*

WARN-CRAMER, B.J., RAO, L.V.M., MAKI, S.L., RAPAPORT, S.I.:

Partial purification and characterization of extrinsic pathway inhibitor (the factor Xa-dependent plasma inhibitor of factor VIIa/tissue factor).

*Thromb. Res. 48:11-22 (1987).*

WORLD HEALTH ORGANIZATION COLLABORATIVE STUDY OF CARDIOVASCULAR DISEASE AND STEROID HORMONE CONTRACEPTION.

Venous thromboembolic disease and combined oral contraceptives: results of an international multicentre case-control study.

*Lancet. 346:1575-1582 (1995).*

ZURBORN, K.H., BRUHN, H.D.:

Biochemische Marker der Gerinnungsaktivierung und der Fibrinbildung als Risikoindikatoren.

*Hämostaseologie. 11:200 (1991).*

**9 ANHANG****Information und Einverständniserklärung****Liebe Patientinnen,**

bei Ihnen ist eine „In - vitro - Fertilisation“ (IVF) geplant. In den letzten Jahren sind Gerinnungsveränderungen unter Hormontherapie (z.B. „Pille“ oder „Wechseljahrspräparate“) bekannt geworden.

Um solchen Veränderungen auf den Grund zu gehen, bitten wir Sie, während der die IVF begleitenden Hormonbehandlung, ca. 30 ml Blut mehr abnehmen zu dürfen. Dieses Blut wird für zusätzliche Untersuchungen benötigt. Dabei ist nur eine zusätzliche Blutentnahme vor Beginn der Therapie nötig.

Wir möchten Sie weiterhin um Ihr Einverständnis bitten, uns telefonisch bei Ihnen nach ca. drei bzw. zehn Monaten erkundigen zu dürfen, wie die Schwangerschaft verlaufen ist.

Hiermit erkläre ich mich einverstanden, an den Untersuchungen über Gerinnungsveränderungen bei Hormonbehandlung teilzunehmen.

Ich bin über das Ziel, die praktische Durchführung und den zu erwartenden Nutzen informiert worden.

Ich bin außerdem darüber informiert worden, daß die erhaltenen Daten den Bestimmungen des Datenschutzgesetzes unterliegen.

Gießen, den

Name, Vorname:

geb.:

Nr.:

Unterschrift der Patientin:

Telefonnummer der Patientin:

## **Erklärung**

„Ich erkläre: Ich habe die vorgelegte Dissertation selbständig, ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.“

## **Danksagung**

Ich möchte allen, die mich bei der Erstellung dieser Arbeit unterstützt haben, herzlich danken.

Besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. med. B. Kemkes-Matthes für die Bereitstellung des Arbeitsthemas sowie die zuverlässige Betreuung und unverzichtbare und umfassende Beratung.

Weiterhin möchte ich Herrn Dr. med. J. Herrero danken für seine wertvollen Anregungen und die Unterstützung in allen Bereichen der Gynäkologie, insbesondere der In-vitro-Fertilisation.

Ebenso bin ich Frau Hof und dem gesamten IVF- und Labor-Team, das mich während der praktischen Durchführung dieser Dissertation immer freundlich unterstützt und die Bestimmungen der Routinelaborparameter übernommen hat, zu Dank verpflichtet. Vor allem Frau M. Nees, die mir in jeder Phase der Arbeit mit Rat und Tat zur Seite stand.

Ebenso gilt mein Dank Herrn Pabst vom Zentrum für medizinische Informatik für seine Hilfe bei der statistischen Auswertung dieser Arbeit.

# Lebenslauf

## **Persönliche Daten**

Name: Kathrin Fritz  
Geburtsdatum: 21.07.1975  
Geburtsort: Gießen / Deutschland  
Eltern: Anke Fritz, geb. Wagner  
Dr. Manfred Fritz  
Familienstand: ledig  
Staatsangehörigkeit: deutsch

## **Schulbildung**

1982 - 1986 Grundsule Wißmar  
1986 – 1995 Landgraf-Ludwig-Schule Gießen  
06 / 1995 Erwerb der Allgemeinen Hochschulreife

## **Hochschulstudium**

09 / 1995 Beginn des Studiums der Humanmedizin an der  
Justus-Liebig-Universität in Gießen  
04 / 1998 Ärztliche Vorprüfung  
04 / 1999 1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  
02 / 2001 Präsentation der Ergebnisse der Promotion auf der 45.  
Jahrestagung der Gesellschaft für Thrombose- und  
Hämostaseforschung e.V. in Düsseldorf / Deutschland  
07 / 2001 Vorstellung der Promotionsergebnisse bei der European  
Society of Human Reproduction and Embryology  
(ESHRE) in Lausanne / Schweiz

07 / 2001	Präsentation der Ergebnisse der Promotion in Paris / Frankreich beim 18. Kongress der International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH)
09 / 2001	2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
10 / 2001	Beginn des Praktischen Jahres; Teil Innere Medizin im Spital Saanen (Schweiz) absolviert
11 / 2002	3. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
01 / 2003	Ärztin im Praktikum in der chirurgischen Abteilung des St.-Josefs-Krankenhauses, Giessen