

Diplomarbeit

**Die Morphologie der Oozyten von
Endometriosepatientinnen und ihre mögliche
Assoziation mit dem Outcome in der künstlichen
Befruchtung**

Eine prospektive Fall-Kontroll-Studie

eingereicht von

Ida Agnes Sifferlinger

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktorin der gesamten Heilkunde

(Drⁱⁿ. med. univ.)

An der

Medizinischen Universität Graz

Ausgeführt am/ an der

Institut für Humangenetik Graz

Landes- Frauen- und Kinderklinik Linz

unter der Anleitung von

Ao.Univ.-Prof. Mag. Dr.rer.nat. Dr.scient.med. Erwin Petek

Univ.-Doz. Mag. Dr. Thomas Ebner

Graz, 01. 04. 2015

I. Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am 01. 04. 2015

Ida Agnes Sifferlinger

II. Danksagungen

An dieser Stelle möchte ich mich bei all jenen Personen bedanken, die mich bei der Verfassung dieser Diplomarbeit und während des gesamten Studiums unterstützt haben.

In erster Linie danke ich meinen Betreuern Ao.Univ.-Prof. Mag. Dr.rer.nat. Dr.scient.med. Erwin Petek und Univ.-Doz. Mag. Dr. Thomas Ebner. Insbesondere Herrn Univ.-Doz. Mag. Dr. Thomas Ebner, der mir zu jeder Zeit mit Rat und Tat zur Seite stand und mir mit seinem großen Engagement eine enorme Hilfe war.

Ein großes Dankeschön gebührt natürlich auch meinen Eltern, die mir vor allem in moralischer und finanzieller Hinsicht großen Beistand geleistet haben.

Des Weiteren möchte ich mich noch beim Kinderwunsch-Zentrum und dem Labor des Kinderwunsch-Zentrums der Landes-Frauen- und Kinderklinik Linz bedanken, welche mir Einblicke in die Verfahren der künstlichen Befruchtung gewährten und mir Räumlichkeiten und Literatur zur Verfügung stellten.

III. Zusammenfassung

Hintergrund: Bis zu 15% der Frauen im gebärfähigen Alter sind von Endometriose betroffen, davon leiden wiederum 30-50% an Fertilitätsstörungen und unerfülltem Kinderwunsch. In der Therapie der Endometriose gibt es verschiedene Ansätze, zu welchen, im Fall eines Kinderwunsches, die künstliche Befruchtung gehört. Diese Studie befasst sich mit der Morphologie der Eizellen von Endometriosepatientinnen und deren eventuellem Zusammenhang mit den Behandlungsergebnissen in der künstlichen Befruchtung. Besonderes Augenmerk wurde dabei auf den Einfluss der verschiedenen Schweregrade der Endometriose gelegt.

Methoden: Für die prospektive Studie wurden aus 637 Behandlungszyklen von 525 Patientinnen welche sich im Jahr 2013 in der Landes- Frauen- und Kinderklinik einer Kinderwunschbehandlung unterzogen je 129 Behandlungszyklen von Patientinnen mit und ohne Endometriose ausgewählt. Die Patientinnen in den beiden Studiengruppen wurden nach dem AMH-Wert, Alter, vorhergegangenen Behandlungszyklen und der Methode der Befruchtung abgestimmt. In je 23 Zyklen aus beiden Kohorten wurde eine konventionelle IVF durchgeführt, in je 106 Zyklen wurde das ICSI-Verfahren angewandt. Die Patientinnen mit Endometriose wurden nach den revidierten Guidelines von 1997 der American Society of Reproductive Medicine in vier verschiedene Schweregrade eingeteilt. Die Ergebnisse in den beiden Kohorten mit und ohne Endometriose, sowie in den verschiedenen Schweregraden wurden verglichen und statistisch ausgewertet.

Ergebnisse: Patientinnen mit Endometriose hatten eine signifikant niedrigere Rate an reifen Oozyten ($P < 0,05$), als auch an morphologisch normalen Oozyten ($P < 0,0001$). Insbesondere wurden bräunlich verfärbte Oozyten ($P < 0,01$, Grad I-IV) und das Vorhandensein von refraktilen Körpern ($P < 0,0001$, Grad IV) vermehrt angefundener. Patientinnen mit Endometriose Grad IV hatten, im Vergleich zu den Endometriosepatientinnen mit mildereren Schweregraden (I-III), Oozyten signifikant schlechterer Qualität vorzuweisen ($P < 0,01$). Die Befruchtungsraten der Endometriosepatientinnen war im konventionellen IVF-Verfahren signifikant reduziert, nicht jedoch im ICSI-Verfahren ($P < 0,05$). Dabei zeigten sich niedrigere Befruchtungsraten bei Oozyten aus Endometriose-positiven Zyklen der Stadien III-

IV verglichen mit jenen aus Zyklen der Stadien I-II. Es konnte kein Unterschied bezüglich der Raten an Implantationen, klinischen Schwangerschaften, Aborten, Lebendgeburten und Missbildungen erhoben werden. Ebenfalls vergleichbar war das neonatale Outcome in der Endometriose-positiven und der Endometriose-negativen Gruppe.

Schlussfolgerung: Endometriosepatientinnen, besonders jene im Stadium IV, zeigen Oozyten schlechterer Qualität. Basierend auf unseren Daten, sollte, bei Patientinnen mit moderater bis schwerer Endometriose (Grad III-IV), das konventionelle IVF-Verfahren nicht die erste Wahl unter den Therapieoptionen darstellen, sondern das ICSI-Verfahren favorisiert werden. Hat die Befruchtung erst einmal stattgefunden ist keine Beeinträchtigung der weiteren präimplantativen Embryonenentwicklung sowie der Schwangerschafts- und Lebendgeburtenrate zu erwarten.

IV. Abstract

Background: Up to 15% of women of reproductive age suffer from endometriosis. Thereby 30-50% of women with endometriosis have fertility problems and an unfulfilled desire to have children. In Therapy of endometriosis there are several treatment options, in which, in case of childbearing preferences, assisted reproductive technology is involved. In this study the morphology of oocytes from patients with endometriosis is observed and its possible relation to the outcome in assisted reproductive technology. Special attention has been paid to the influence of the various degrees of severity of endometriosis.

Methods: For the prospective study each 129 treatment cycles with and without endometriosis were selected from 637 treatment cycles from 525 patients which were undergoing a fertility treatment at the Landes- Frauen- und Kinderklinik Linz in 2013. Patients of both study groups were matched according to AMH, age, previous treatment cycles and method of fertilization. A total of 23 patients each were treated with conventional IVF, the remaining were undergoing ICSI. Endometriosis was staged according to the revised guidelines of the American society of Reproductive Medicine from 1997. The outcome in both cohorts with and without endometriosis and in the four different stages of endometriosis were compared and statistically analysed.

Results: Patients with endometriosis had a significantly lower rate of mature oocytes ($P < 0.05$) as well as morphologically normal oocytes ($P < 0.0001$). In particular, brownish oocytes ($P < 0.01$; stage I-IV) and the presence of refractile bodies ($P < 0.0001$; stage IV) were found to be increased. Endometriosis stage IV had significantly worse quality oocytes than stages I-III ($P < 0.01$). Fertilization was significantly reduced in conventional IVF but not ICSI ($P < 0.05$). This was due to lower fertilization rates in endometriosis III-IV as compared to I-II ($P < 0.05$). No difference was observed with respect to rates of implantation, clinical pregnancy, miscarriage, live birth and malformation. Neonatal outcome was comparable between endometriosis positive and negative groups.

Conclusion: Endometriosis patients, particularly those of stage IV, present lower quality oocytes. Based on the present data, IVF should not be first choice treatment option in moderate to severe endometriosis (III-IV), in this patients ICSI should be preferred. Once fertilized, no impairment of further preimplantation

embryo development and pregnancy outcome right up to healthy live birth rate has to be expected.

V. Inhaltsverzeichnis

I. Eidesstattliche Erklärung	1
II. Danksagungen.....	2
III. Zusammenfassung	3
IV. Abstract.....	5
V. Inhaltsverzeichnis	7
1. Einleitung	9
1.1. Endometriose.....	9
1.1.1. Definition:.....	9
1.1.2. Pathogenese:.....	9
1.1.3. Erscheinungsbilder und Aktivität.....	14
1.1.4. Einteilung und Klassifikation	17
1.1.5. Klinik:	23
1.1.6. Diagnostik:	25
1.1.7. Therapie.....	28
1.1.8. Endometriose und Subfertilität	32
2. Material und Methoden	36
2.1. Information zu Studiendaten, Zeitrahmen und Zielsetzung.....	36
2.2. Die Gewinnung der Eizellen.....	38
2.2.1. Ovarielle Stimulation	38
2.2.2. Eizellentnahme	40
2.3. Evaluierung der Eizellqualität.....	42
2.3.1. Der Reifezustand	42
2.3.2. Morphologische Kriterien zur Beurteilung der Qualität.....	44
2.4. Die Gewinnung der Samenzellen.....	50

2.5.	Die Evaluierung der Samenqualität.....	51
2.6.	Aufbereitung des Spermas.....	53
2.7.	Auswahl der Spermien.....	54
2.8.	Methoden zur künstlichen Befruchtung der Eizelle	55
2.8.1.	In vitro Fertilisation (IVF).....	55
2.8.2.	Intrazytoplasmatische Spermieninjektion (ISCI).....	55
2.9.	Entwicklung der Embryonen in vitro	57
2.10.	Der Embryonentransfer	60
2.11.	Das Ziel- eine Schwangerschaft.....	63
2.12.	Statistische Auswertung	64
3.	Ergebnisse.....	65
3.1.	Hat die Endometriose-Erkrankung Einfluss auf die ovarielle Stimulation?..	65
3.2.	Hat die Endometriose-Erkrankung Einfluss auf die Reife und Qualität der Eizellen?	67
3.3.	Hat die Endometriose-Erkrankung Einfluss auf die Geburtenrate und das neonatale Outcome in der künstlichen Befruchtung?	72
4.	Diskussion.....	74
5.	Quellenverzeichnis.....	79

1. Einleitung

1.1. Endometriose

1.1.1. Definition:

Endometriose ist eine gutartige, chronische Erkrankung der Frau, bei der es zum Auftreten von funktionsfähiger endometrialer Schleimhaut außerhalb des Cavum Uteri kommt. Die ektopen Inseln aus Gebärmutter Schleimhaut, treten vorwiegend im Bereich des kleinen Beckens, an den Ovarien sowie im Douglas-Raum und in den Ligamenta sacrouterina auf. Die genaue Prävalenz des Leidens ist nicht bekannt, man geht davon aus, dass 6-10% der Frauen im gebärfähigen Alter betroffen sind. (vgl. Diedrich et al. 2013, S. 352)

1.1.2. Pathogenese:

Endometriose wurde erstmals 1860 von Karl Freiherr von Rokitansky beschrieben, doch bis heute ist der genaue Mechanismus der Krankheitsentstehung ungeklärt. Aus den vielen Erklärungsansätzen haben sich zwei Theorien hervorgetan, welche heute als sehr wahrscheinlich gelten und allgemein diskutiert werden.

1. Die Transplantationstheorie nach Sampson

Die Transplantationstheorie nach Sampson von 1940, stellt die Vermutung auf, dass vitale Endometriumzellen durch retrograde Menstruation vom Uterus über die Tuben in das Abdomen gelangen, sich dort implantieren und invasiv in die Umgebung einwachsen. Fakten wie der Umstand, dass Endometriosezellen lymphogen und hämatogen ausgestreut werden können, dass es bei 90% der Frauen zu einer retrograden Menstruation kommt und das man aus klinischer Erfahrung weiß, dass nach gynäkologischen Eingriffen, besonders nach Kaiserschnitten, Endometrioseherde im Bereich des Hautschnitts auftreten können, sprechen für diese These. (vgl. Kaufmann et al. 2013, S. 288)

2. Metaplasietheorie nach Meyer

Die Metaplasietheorie nach Meyer geht davon aus, dass ektopes Endometriosgewebe an den betroffenen Stellen direkt aus pluripotenten Zölonzellen entsteht. Diese These wird durch zwei Beobachtungen unterstützt. Zum einen können auch Frauen mit Fehlbildungen ohne uterines Endometrium, also mit einer primären Amenorrhö, eine Endometriose-Erkrankung entwickeln. Zum anderen tritt, in seltenen Fällen, bei Männern, welche wegen eines Prostatakarzinoms mit Östrogen behandelt werden, eine Blasenendometriose auf. Zusätzlich geht man in der Metaplasietheorie davon aus, dass eine Endometriose-Erkrankung nicht aus sich selbst heraus entstehen kann. Als unerlässlicher Faktor für die Entstehung der Endometriose gilt die ständige Einwirkung von Reizen, zum Beispiel in Form von Sexualsteroiden, auf das Zölonmepithel. Des Weiteren schließt man nicht aus, dass auch vitale Endometriumzellen, welche durch aktiven Transport oder Reflux ins Peritoneum gelangen, einen Reiz auf die Mesothelzellen darstellen, der schließlich zur Bildung von Endometrioseherden führt. (ebd. 2013, S. 288-289)

Weitere Erklärungsversuche zur Entstehung der Endometriose sind:

- **These der Metaplasie des Coelomepithels**

In dieser Theorie geht man davon aus, dass das pelvine Peritoneum, sowie das Germinalepithel (das Epithel an der Oberfläche der Ovarien) undifferenzierte Zellen enthalten, welche dazu in der Lage sind sich zu Endometriumzellen zu differenzieren. Ebenfalls in Betracht gezogen wird, dass im Peritoneum differenzierte Zelllinien existieren, welche die Fähigkeit zur Weiterdifferenzierung zu endometrialen Zellen besitzen.

- **These der mesenchymalen Induktion**

In diesem Konzept geht man davon aus, dass untergehendes Endometrium Substanzen freisetzt, welche undifferenziertes Mesenchym dazu stimulieren sich in endometriales Gewebe zu differenzieren. Wie in der These der Metaplasie des Coelomepithels, setzt man hier voraus, dass peritoneale Zellen eine Metaplasie vollziehen können.

- **These des embryonalen Restgewebes**

Diese Hypothese stützt sich auf das Faktum, dass in den Eierstöcken relativ häufig embryonale Zellen, welche vom Müller-Gangsystem stammen, anzufinden sind. Man geht davon aus, dass bestimmte Stimuli, diese Zellreste aktivieren und sich diese dann in endometriales Gewebe entwickeln. (vgl. Feige et al 2006, S. 559-563)

- **These der vaskulären und lymphatischen Metastasierung**

In diesem Konzept gelangen endometriale Zellen über Gefäße und Lymphgefäße außerhalb des Uterus und implantieren sich dann dort wo sie „hängen bleiben“, ähnlich einer Metastase. Die zahlreichen vaskulären und lymphatischen Gefäßverbindungen zwischen Uterus, Eierstöcken, Eileitern und dem kleinen Becken bilden die Grundlage für diese Theorie. (vgl. Jerman & Hey-Cunningham 2015) Dabei geht man davon aus, dass Endometriosezellen wie maligne Tumorzellen die Eigenschaft zur Metastasierung und zur Invasion besitzen. Der Grund dafür wird in einer gestörten Expression von Adhäsionsmolekülen wie N- und E-Cadherin vermutet. (vgl. Ebert 2011, S. 8)

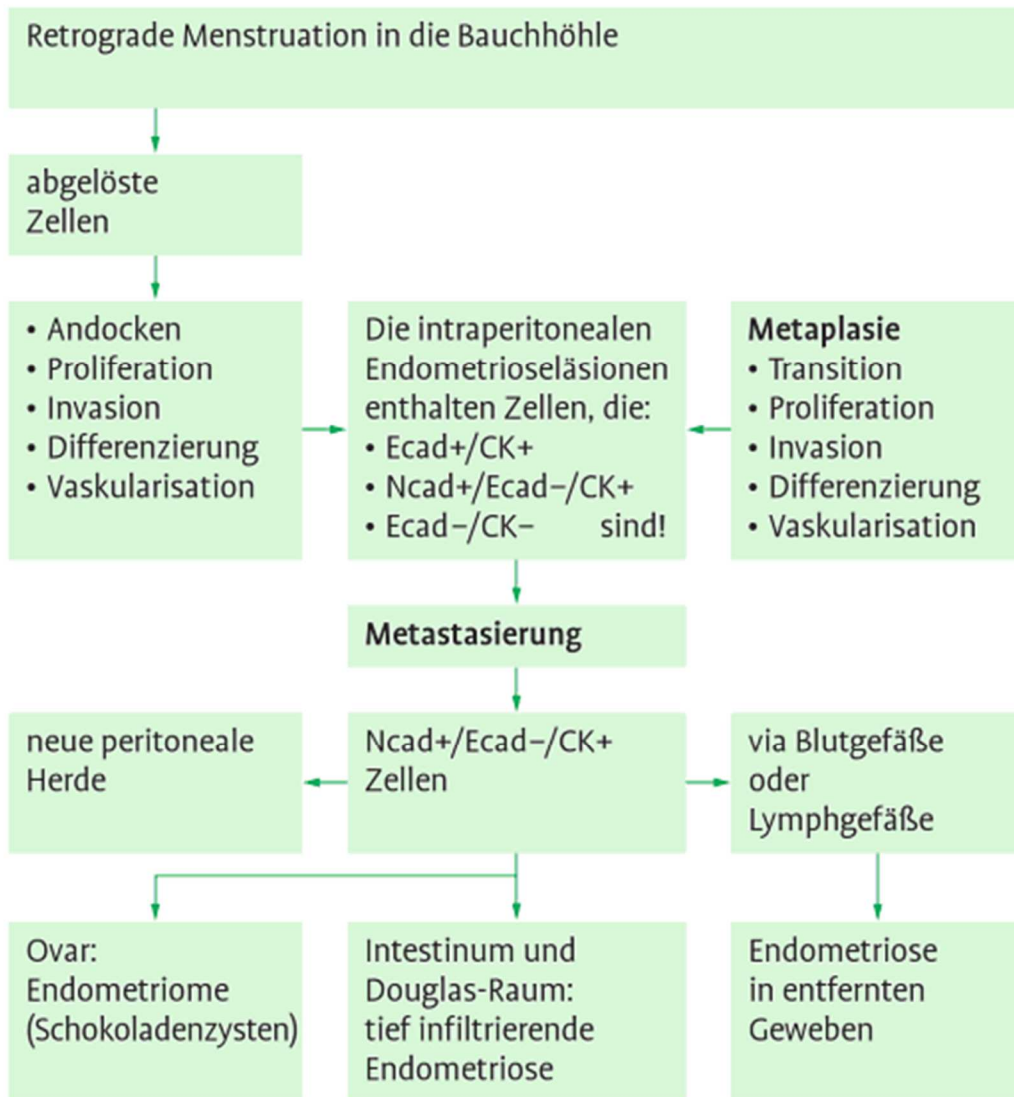


Abb. 1: Theorie zur Ausbreitung der Endometriosezellen, Ebert 2011, S. 8

- **Immunologische und angiogenetische Veränderungen als Ursache**

In diesem Erklärungsansatz wird angenommen, dass die Entstehung der Endometrioseherde, ähnlich wie bei der Tumormetastasierung, von dem umgebenden angiogenetischen Potential abhängig ist. Die Gefäßneubildung in und um das ektope endometriale Gewebe wurde in mikroskopischen Studien nachgewiesen. (vgl. Baltzer 2004, S. 509) Der diffizile Vorgang der Angiogenese beinhaltet neben der proteolytischen Destruktion der extrazellulären Matrix, die Proliferation und Migration von Endothelzellen sowie die Bildung von Kapillaren als Reaktion auf angiogene Stimuli. Man nimmt nun an, dass eine ektope Ansiedelung und Proliferation von Endometriumzellen nur bei Frauen möglich ist, bei welchen eine Dysregulation der umgebenden immunologischen Abwehrmechanismen vorliegt. (ebd. S. 509-510) Für diese Hypothese spricht der Umstand, dass in Studien, eine erhöhte Konzentration von Zytokinen und Wachstumsfaktoren, insbesondere des VEGF (Vaskular endothelial growth factor) sowie Veränderungen der Immunzellpopulationen in der Peritonealflüssigkeit bei Endometriosepatientinnen nachgewiesen werden konnten. Die Schlussfolgerung dieser Annahme ist, dass diese immunologischen und angiogenetischen Veränderungen dazu führen, dass es einerseits zu einer inadäquaten Entfernung der retrograden Menstruation kommt, welche es endometrialen Zellen erlaubt zu Überleben und sich an ektopen Stellen zu implantieren, sowie andererseits zu einer erhöhten Sekretion von angiogenetischen Proteinen, wie dem VEGF, welche die Implantation und den Wachstumsprozess begünstigen. (vgl. Laschke et al 2012; Young et al 2013)

- **Genetische Faktoren**

In epidemiologischen und klinischen Studien, sowie in Zwillingsstudien konnte eine familiäre Häufung von Endometriose nachgewiesen werden. Eine Verwandte ersten Grades von Frauen mit Endometriose hat ein sechsfach erhöhtes Risiko ebenfalls an Endometriose zu erkranken. (vgl. Urdl 2006)

1.1.3. Erscheinungsbilder und Aktivität

Das endometriotische Gewebe kann, histologisch, in allen Enddifferenzierungsformen des Müller-Epithels in Erscheinung treten. In etwa der Hälfte der Endometriosefälle findet man Gewebe welches, in der Differenzierungsform und dem Differenzierungsgrad, Endometrium entspricht. In den restlichen Fällen zeigen sich die Endometrioseherde in niedrig differenzierten Formen des Endometriums mit zystischen und degenerativen Veränderung oder imponieren als hoch differenzierte Drüsenstrukturen, welche der Mukosa der Zervix oder der Tubenmukosa ähneln. (vgl. Feige et al. 2006, S. 575)

In makroskopischer Hinsicht unterscheidet man:

- Noduläre Implantate,
- Vesikuläre Implantate,
- Plaque-Endometriose,
- Atypische Erscheinungsformen.

Noduläre Implantate, liegen meist subperitoneal im hinteren Kompartiment, imponieren dunkelrot bis blauschwarz und sind oft als druckdolente, derbe Indurationen zu tasten. Sie sind eher schlecht vaskularisiert und von Bindegewebe umgeben, sodass sie manchmal als weißlich-sternförmige Läsionen in Erscheinung treten. Vesikuläre Implantate zeigen sich bläschen- und/oder polypenförmig und abhängig vom Zykluszeitpunkt blassrosa bis dunkelrot. In ihrer Umgebung finden sich eine starke, oft atypische Vaskularisierung sowie lymphozytäre Infiltrate. Bei der Plaque-Endometriose, sind die Endometrioseherde flächenhaft und meist ohne Niveaudifferenz in das von ihnen befallen Gewebe eingebettet. In ihrer Umgebung findet sich ebenfalls oft eine starke Kapillarisation, dadurch kommt es bei Berührungen, zum Beispiel mit einem Taststab, leicht zu petechialen Blutungen. Diesen Umstand macht man sich bei laparoskopischen Untersuchungen zu Nutze, da diese Form der Endometriose bei diesen sonst schwer zu erkennen ist. Als atypische Erscheinungsform der Endometriose können weiße, opak schimmernde oder gelbliche Peritonealverdickungen vorkommen. Ein

ebenfalls atypischer Situs im Rahmen einer Endometriose sind flammend rote Peritonealbereiche mit hellroten Suffusionen. (ebd. S. 574-575) Zu einem weiteren atypischen Erscheinungsbild der Endometriose kann es im Fall eines „Allen-Masters-Syndrom“ kommen. Bei diesem Syndrom kommt es im Rahmen einer Geburt zur Traumatisierung des Peritoneums, insbesondere zu Rissen im Ligamentum latum und im Ligamentum transversum cervicis. (vgl. Quinn 2006) In dessen Folge kann es zur Bildung sogenannter „Peritonealtaschen“ kommen, in welchen sich dann prädestiniert Endometrioseherde ansiedeln. (vgl. Dudenhauser et al. 2006, S. 421)

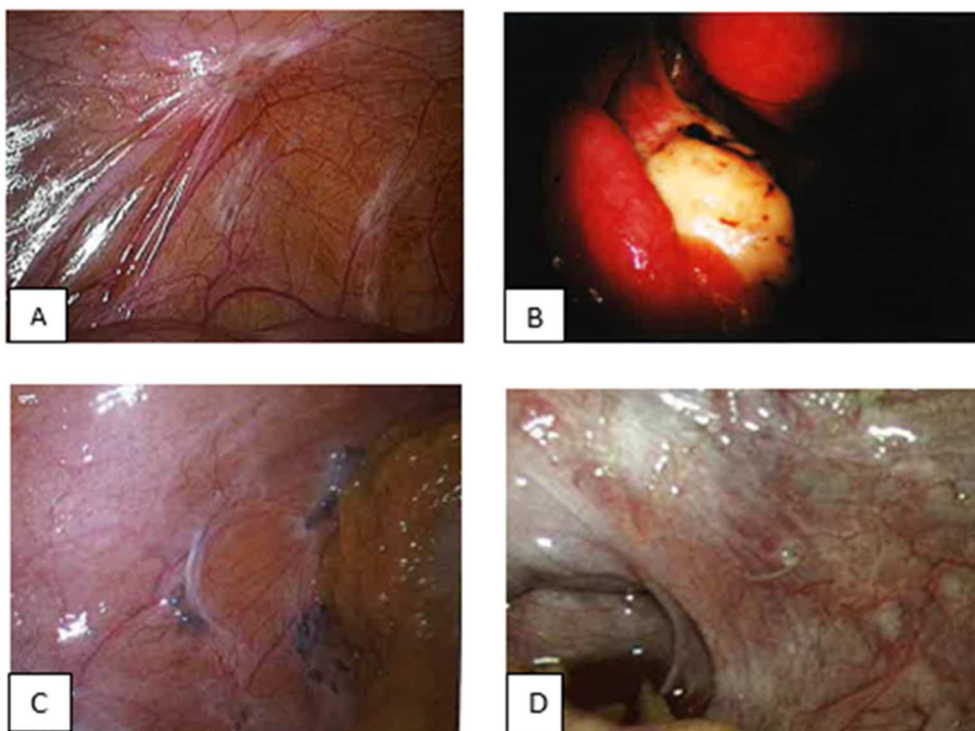


Abb. 2: Erscheinungsbilder der Endometriose im endoskopischen Situs:

A: weißlich, narbige Läsionen

B/C: schwarze, knotige Implantate am Ovar(B) und Peritoneum(C),

D: glasige Implantate,

A,C,D: Diedrich et al. 2013, S. 354; B: Kaufmann et al. 2011, S. 1204

Die Aktivität der Endometriose kann aufgrund der Färbung der Endometrioseläsionen, im laparoskopischen Situs, beurteilt werden. Aktive Herde imponieren als rote, vesikuläre und polypöse Implantate oder als dünnwandige, livid dunkelrote Zysten mit begleitenden Hypervaskularisierungs- und Entzündungszeichen. Weniger aktive Herde zeigen sich blauschwarz oder

dunkelbraun. Inaktive Herde als weiß-narbige Gewebsverdickungen oder als dickwandige Zysten. (vgl. Kiechle 2006, S. 423)

1.1.4. Einteilung und Klassifikation

Die Einteilung der Endometriose-Erkrankung erfolgt in erster Linie nach der Lokalisation der Endometrioseherde. Unterschieden werden:

- **Endometriosis genitalis interna,**
- **Endometriosis genitalis externa,**
- **Endometriosis extragenitalis.**

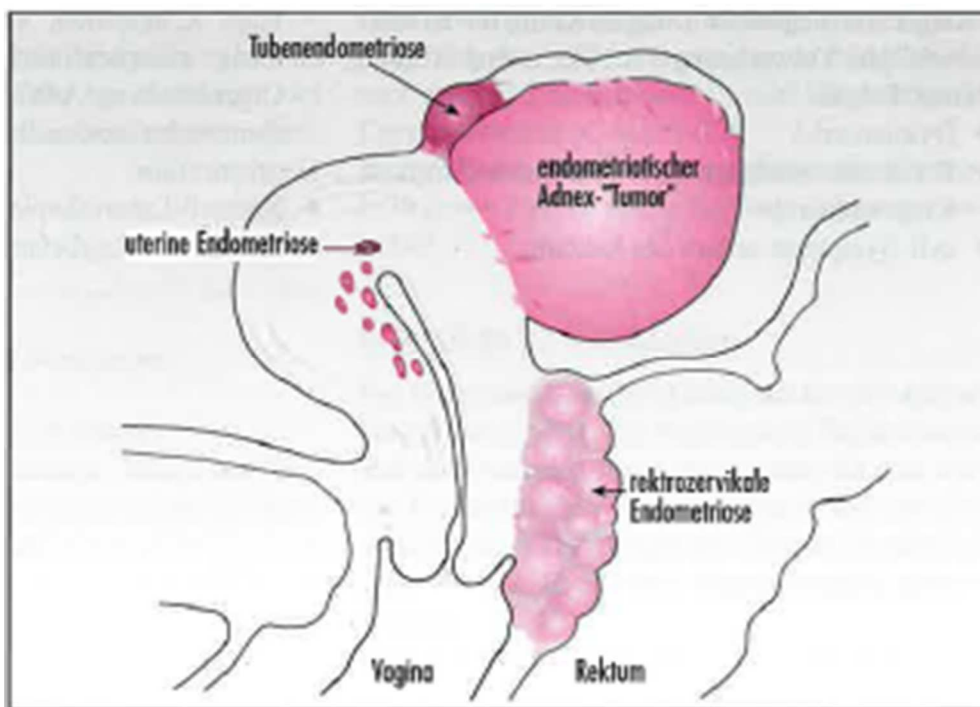


Abb. 3: Lokalisationen der Endometriose,
Schmidt- Matthiesen und Wallwiener 2005, S. 363.

Bei einer Endometriosis genitalis interna sind der Uterus sowie die Tuben von Endometrioseherden betroffen. Finden sich diese im Myometrium des Uterus spricht man von einer „Adenomyosis uteri“. Ist der interstitielle Abschnitt der Tuben betroffen, wird die Erkrankung als „Salpingitis isthmica nodosa“ bezeichnet. Die Endometriosis genitalis externa beschreibt den Befall der Ovarien, des Peritoneums des kleinen Beckens, des Douglas-Raums, und/oder der Ligamenta sacrouterinae. Im Fall einer Endometriosis extragenitalis sind Strukturen außerhalb des kleinen Beckens betroffen. (vgl. Kaufmann et al. 2013, S. 292)

Um eine genauere diagnostische Evaluierung der Endometriose, ebenso wie eine bessere Vergleichbarkeit von Befunden zu ermöglichen, wurde eine Reihe von Schemata zur exakten Klassifikation der Endometriose entwickelt. Jede von ihnen basiert auf der Beschreibung der Lokalisation der Endometrioseherde, ihrer Größe und Ausdehnung sowie der in ihrer Folge entstandenen Adhäsionen. (ebd. S. 292) Im Wesentlichen kommen drei Klassifikationen zu Anwendung:

- 1. Die rASRM-Klassifikation,**
- 2. die endoskopische Endometriose-Klassifikation(EEC) nach Semm,**
- 3. und der ENZIAN-Score.**

1. rASRM-Klassifikation

Mit der rASRM-Klassifikation, der American Society for Reproduktive Medicine, lässt sich der Schweregrad, der im kleinen Becken lokalisierten Endometriose evaluieren. Dieses Schema berücksichtigt die Anzahl und Größe der Endometrioseherde, deren Infiltrationstiefe sowie die Adhäsionen welche durch die Endometriose-Erkrankung verursacht wurden. Die jeweiligen Veränderungen werden mit Punkten versehen und zusammengezählt. Durch den erreichten Punktwert ergibt sich die Einteilung in die rASRM-Grade I-IV. (vgl. Gätje et al. 2011, S. 154)

Im rASRM-Stadium I, bei einem Punktwert von eins bis fünf, spricht man von einer minimalen Endometriose. Es bestehen oberflächliche peritoneale und periovarielle Herde unter einem Zentimeter Durchmesser. Es können schleierförmige Adhäsionen vorhanden sein, mit teilweisem Einschluss der Ovarien. Bei einem Punktwert von sechs bis fünfzehn, besteht eine milde Endometriose im rASRM- Stadium II. Hier bestehen oberflächliche Herde sowie tiefe Herde über einem Zentimeter Durchmesser. Schleierförmige Adhäsionen mit überwiegendem Einschluss der Ovarien sind vorhanden. Bei einer mäßigen Endometriose, des rASRM-Stadiums III, mit einem Punktwert von sechzehn bis vierzig, zeigen sich oberflächliche und tiefe Herde über drei Zentimeter Durchmesser. Dabei besteht eine teilweise Obliteration des

retrouterinen Raumes sowie dichte Adhäsion. Das Auftreten eines Ovarendometrioms über einem Zentimeter Durchmesser fällt ebenfalls in dieses Stadium. Kommt es zu oberflächlichen und tiefen Herden über drei Zentimeter Durchmesser, zur vollständigen Obliteration des retrouterinen Raumes, zu dichten Adhäsionen oder/und zum Auftreten eines Ovarendometrioms über drei Zentimeter Durchmesser, spricht man von einer schweren Endometriose des rASRM-Stadiums IV. Um dieses Stadium zu klassifizieren muss der Punktwert über vierzig liegen. (vgl. Feige et al. 2004, S. 576-577)

Endometrioseherde		<1cm	1-3cm	>3cm
Peritoneum	oberflächlich	1	2	4
	tief	2	4	6
Ovar	Re	oberflächlich	2	4
		tief	4	16
	Li	oberflächlich	2	4
		tief	16	20
Adhäsionen		<1/3 eingeschlossen	1/3-1/4 eingeschlossen	>2/3 eingeschlossen
Ovar	Re	zart	2	4
		derb	8	16
	Li	zart	2	4
		derb	8	16
Tube	Re	zart	2	4
		derb	8 ¹	16
	Li	zart	2	4
		derb	8 ¹	16
Obliteration des Douglas-Raums		partiell	vollständig	
		4	40	
¹ bei komplettem Verschluss der Tube auf 16 erhöhen				
Auswertung (rASRM-Score)				
Grad 1 (minimale Endometriose):			1-5 Punkte	
Grad 2 (milde Endometriose):			6-15 Punkte	
Grad 3 (mäßige Endometriose):			16-40 Punkte	
Grad 4 (schwere Endometriose):			>40 Punkte	

Abb. 4: Die revidierte Stadieneinteilung der American Society for Reproductive Medicine von 1997, vgl. Gätje et al. 2011, S. 154

Die Stadieneinteilung der Endometriose nach der rASRM-Klassifikation hat sich international durchgesetzt. Der Nachteil der rASRM-Klassifikation ist, dass die retroperitoneale Ausbreitung nicht erfasst wird. Für die Evaluierung dieser tief infiltrierenden Endometriose wurde daher, in Anlehnung an das TNM-System, der ENZIAN-Score entwickelt. (vgl. Ludwig et al. 2010, S. 210)

2. EEC-Klassifikation

In diesem Einteilungsschema werden die vier möglichen Stadien, EEC I bis EEC IV, nicht durch ein Punktesystem ermittelt. Die Bestimmung des jeweiligen Grades erfolgt durch die Erhebung des gravierendsten Einzelbefundes im endoskopischen Situs. Mit befundet werden die Tubendurchgängigkeit, der Zustand der Tubenwand und der Fimbrien, das Vorkommen von Hydrosalpingen und von extravaginalen Endometrioseherden, nicht aber die Obliteration des Douglasraumes. Die Ergebnisse der Inspektion und anderer bildgebender Verfahren werden ebenfalls mit einbezogen. (vgl. Steck et al. 2004, S. 75-77)

Stadium	Ausdehnung
EEC I	<ul style="list-style-type: none"> - diskrete, verstreute peritoneale Endometrioseherde in der Excavatio uteri < 3 mm ohne Knotenbildung - Tuben durchgängig, Ampullen normal konfiguriert - keine peritubaren oder periovariellen Adhäsionen - Portioherde
EEC II	<ul style="list-style-type: none"> - peritoneale Endometrioseherde in der Excavatio uteri > 3 mm - peritoneale Endometrioseherde < 3 mm an den Ligg. sacrouterina oder in der Excavatio vesicouterina - kleine Herde auf oder hinter den Ovarien - Stenose oder Phimose der Ampullen - ein- oder doppelseitig geringe peritubare oder periovariellen Adhäsionen
EEC III	<ul style="list-style-type: none"> - ausgedehnte Endometrioseherde in der Excavatio recto- oder vesicouterina - peritoneale Endometrioseherde > 3 mm an den Ligg. sacrouterina - „Schokoladenzysten“ an den Ovarien - Salpingitis isthmica nodosa - hochgradige Stenose oder Phimose der Ampulle - Saktosalpinx ein- oder beidseitig - massive peritubare oder periovarielle Adhäsionen
EEC IV	<ul style="list-style-type: none"> - extragenitale Herde an Darm, Appendix, parietalem Peritoneum - Narbenendometriose - Lungenendometriose

Abb. 5: Stadieneinteilung nach der ECC, vgl. Feige et al. 2006, S. 577

Sind diskrete Endometrioseherde, unter drei Millimeter Durchmesser und ohne Knotenbildung, in der Excavatio rectouterina vorhanden, bei durchgängigen Tuben und normal konfigurierten Ampullen, wird die Endometriose als Stadium EEC I klassifiziert. Dabei dürfen Portioherde aber keine pertubaren oder periovariellen Adhäsionen vorhanden sein. Bei Endometrioseherden über drei Millimeter Durchmesser oder Knotenbildung, sowie bei einem Befall der Ligamenta sacrouterina, der Excavatio vesicouterina oder der Ovarien, spricht man in diesem Schema von dem Stadium EEC II. In dieses Stadium fallen auch das Vorhandensein von Stenosen oder Phimosen der Ampullen sowie das Auftreten von geringen Adhäsionen. Im Stadium EEC III müssen ausgedehnte, knotenbildende Endometrioseherde, über drei Millimeter Durchmesser, in der Excavatio rectouterina, in der Excavatio vesicouterina sowie an den Ligamenta sacrouterina vorhanden sein. Treten sogenannte endometriotische „Schokoladenzysten“ an den Ovarien, eine Salpingitis isthmica nodosa, hochgradige Stenosen oder Phimosen der Ampullen, eine Saktosalpinx oder massive Adhäsionen auf, wird ebenfalls das Stadium EEC III klassifiziert. Bei extragenitalen Herden z.B. am Darm, am Appendix oder im parietalen Peritoneum, sowie bei Narbenendometriose oder Lungenendometriose spricht man von einem EEC- Stadium IV. (vgl. Feige et al. 2006, S. 577)

3. Enzian-Score

Der Enzian-Score wurde als Ergänzung zur rASRM-Klassifikation entwickelt, um die tief infiltrierende Endometriose, der retroperitonealen Strukturen, zu erfassen und zu klassifizieren (Haas et al. 2012). In Anlehnung an das TNM- und FIGO-System wird die Erkrankung, im Enzian-Score, nach der Ausdehnung sowie bezogen auf die Fläche und Tiefe der Endometrioseherde in vier Schweregrade eingeteilt. Das Stadium I bezeichnet isolierte Endometrioseläsionen zwischen der Zervix und dem Septum recotvaginale mit einem Durchmesser von unter einem Zentimeter. Das Stadium II steht für die Ausdehnung der Herde nach kaudal, lateral oder/und dorsal über einen Durchmesser von einem Zentimeter, sowie für den Befall des Rektums, hier jedoch unter einem Zentimeter Durchmesser. Im Stadium III sind die Herde am Rektum zwischen einem und drei Zentimeter groß, die Ausdehnung der Endometrioseformationen reicht bis zur Beckenwand und die

Funktion der benachbarten harnableitenden Organe ist beeinträchtigt. Im vierten und schwersten Stadium wird der ausgedehnte Befall des vertikalen, dorsalen und horizontalen Kompartiment beschrieben. Die extragenitale Endometriose wird durch das Suffix „F“ hervorgehoben. Dabei wird der Befall der Blase gesondert mit einem „B“, der Befall der Eingeweide, wie des Sigmas, des Coecums, des Appendixes oder des Ileums mit einem „I“ und der Befall des Myometriums mit einem „A“ gekennzeichnet. Andere extragenitale Lokalisationen von Endometrioseherden, werden benannt und mit dem Suffix „O“ versehen. (Tuttlies et al. 2008)

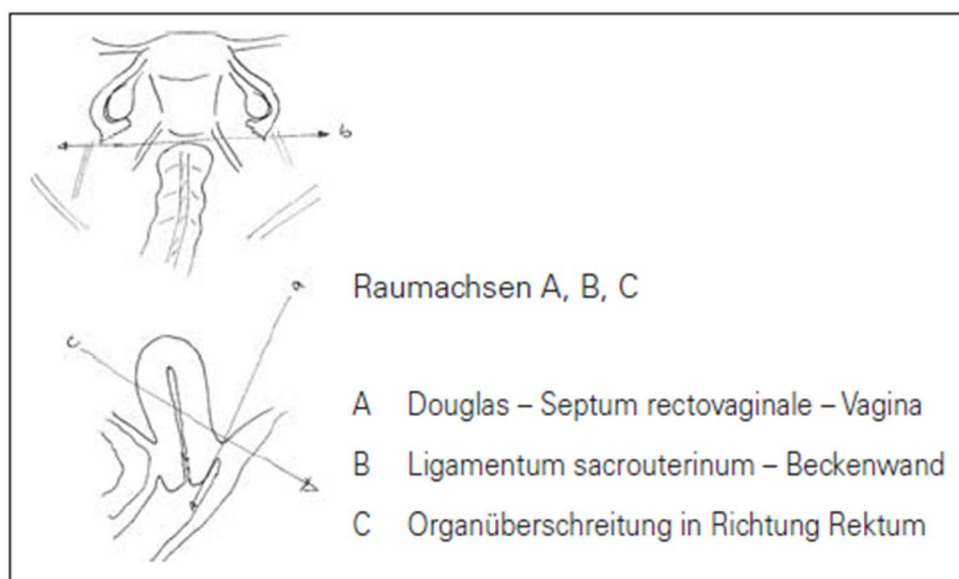


Abb. 6: Die Raumachsen im kleinen Becken, Tuttlies F. 2008

Neben den vier Schweregraden, beschreiben die vier Untergruppen „a“, „b“ und „c“ die Lokalisation der Erkrankung. Das vertikale Kompartiment des Uterus, der Scheide und des Douglaschen Raumes wird durch die Subgruppe „a“ bezeichnet. Das horizontale Kompartiment mit den Ligamenta sacrouterina wird durch die Untergruppe „b“ beschrieben. Die dritte Untergruppe „c“, umfasst das nach dorsal gerichtete Kompartiment des Septum rectovaginale, sowie den pararektalen Raum und das Rektum selbst. Um den jeweiligen Enzian-Score zu ermitteln müssen aus dem jeweiligen Kompartiment histologische Bestätigungen der Endometrioseherde vorliegen, sollte dies nicht der Fall sein, muss der auf Verdacht erhobene Enzian-Score mit einem „X“ versehen werden. (ebd. 2008)

1.1.5. Klinik:

Am häufigsten betroffen sind junge Frauen zwischen dem zwanzigsten und dreißigsten Lebensjahr. Zu den klassischen Symptomen der Endometriose gehören die sekundäre Dysmenorrhö (Schmerzen während der Regelblutung), Dyspareunie (Schmerzen beim Geschlechtsverkehr) sowie zyklische, mittzyklischen oder prämenstruelle chronische Unterbauchbeschwerden. (vgl. Feige et al. 2006, S. 572) Weitere mögliche Symptome sind Blutungsstörungen wie die Hypermenorrhoe (eine verstärkte Regelblutung) oder die Menorrhagie (eine verstärkte und verlängerte Regelblutung). Bestehen Endometrioseherde retrozervikal, am Rektum oder im Douglas Raum, kann es zu Obstipation und Defäkationsstörungen kommen. In seltenen Fällen, bei Endometrioseherden an der Harnblase oder an den Ureteren, kann es zur zyklischen Dys- und Hämaturie kommen, in extrem seltenen Fällen zu zyklischer Hämoptoe, bei Herden in der Lunge. (vgl. Petru 2010, S.91)

Symptome	Häufigkeit
sekundäre Dysmenorrhö	60-90%
zyklische Unterbauchschmerzen	40-85%
Dyspareunie	25-75%
Sterilität	20-30%
Menorrhagie	25-55%
Hypermenorrhö	15-75%
Dysurie	10-15%
Tenesmen	5-25%
Defäkationsbeschwerden	selten

Abb. 7: Die Häufigkeit der Symptome im Rahmen einer Endometriose-Erkrankung, vgl. Gätje et al. 2011, S. 155

Die Symptomatik der Endometriose wird durch die Tatsache verständlich, dass die gewebliche Aktivität von Endometrioseherden, so wie das Endometrium, von hormonaler Stimulation abhängig ist und so lange aktiv bleibt, wie hormonelle Impulse erfolgen. Sie machen auch, dem Endometrium ähnliche, zyklische Veränderungen durch. Östrogene zeigen eine wachstumsfördernde, stimulierende Wirkung auf endometriale Herde, Gestagene eine hemmende. (vgl. Kiechle 2011, S. 424) Die zyklischen Schmerzen im Rahmen einer

Endometriose-Erkrankung gehen der Menstruation meist um ein bis drei Tage voraus und klingen in ihrem Höhepunkt ab. Die Blutung und der Gewebszerfall von ektopem endometrialem Gewebe, sowie die eventuell fehlende Abflussmöglichkeit, haben je nach Lokalisation Auswirkungen auf das umliegende Gewebe zur Folge. (vgl. Schmidt-Matthiesen und Wallwiener 2005, S. 363-364)

Bei einer Endometriosis uteri interna oder auch Adenomyosis uteri genannt, sitzen die Endometrioseherde meist multilokulär in der Muskelschicht des Uterus. Es kommt zur Verdickung der Uteruswand und somit zur Hypertrophie des Uterus. Die Folgen können eine erworbene und mit der Zeit zunehmende Dysmenorrhö, sowie eine verlängerte oder verstärkte Menstruation sein. Bei einer Endometriose der Tuben, kann es zu einer knotigen Auftreibung des Tubenabganges kommen, in dessen Folge eine Lumenverlegung durch Verwachsungen oder eine Hämatosalpinx auftreten können. Dies kann wiederum zur Disposition für Tubargraviditäten oder Infertilität führen. Sind die Ovarien von der Endometriose betroffen kann es zu zystischen Veränderungen von in den Ovarien gelegenen endometrialem Gewebe kommen, welche wegen ihres Erscheinungsbildes als sogenannte „Teer-“ oder „Schokoladenzysten“ bezeichnet werden. Es kann zur Verwachsung oberflächlicher Herde mit der Umgebung kommen, dies kann zur Begünstigung von Ovarialabszessen sowie zur Fertilitätsminderung führen. Bei einer rektozervikalen Endometriose sitzen die Endometriose im Douglas-Raum, mit möglicher Beteiligung des Rektums, der Vagina, der Harnblase und der Ureteren. In diesem Fall kann es zu Dysmenorrhö, zu Miktionsstörungen, zu Obstipation und zu Kohabitationsschmerzen kommen. Abgesehen von der extrem seltenen Endometriose der Lunge mit zyklischer Hämoptoe, lassen bei einer extragenitalen Endometriose nur zyklische, mit der Menstruation in Zusammenhang stehende Schmerzen auf Endometriose schließen, sollten keine Herde sichtbar sein. (ebd. 2005, S. 363-364)

1.1.6. Diagnostik:

Sowohl die Anamnese als auch die Ergebnisse der klinischen Untersuchungen hängen von der Lokalisation und Ausdehnung der Erkrankung ab. Unentbehrlich ist eine sorgfältige gynäkologische Untersuchung in Kombination mit einer rektovaginalen Untersuchung um auch den Douglas-Raum und die Parametrien gut beurteilen zu können.

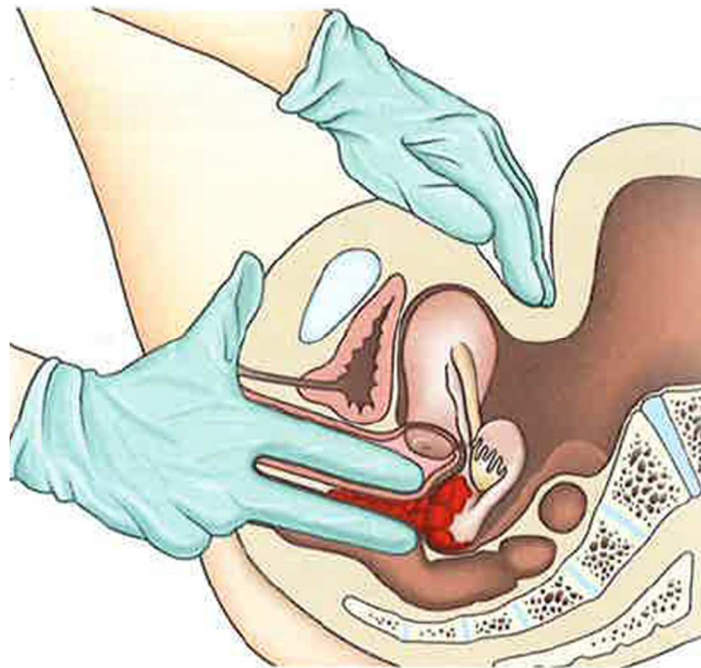


Abb. 8: Rektovaginale Untersuchung im Rahmen der Endometriose-Abklärung, Kiechle et al. 2011, S. 426

Der Palpationsbefund kann hierbei, bei leichten und mittleren Stadien der Endometriose, völlig unauffällig sein. Bei fortgeschrittenen Stadien können im Douglas-Raum, sowie im Bereich der Ligamenta sacrouterinae und dem Bereich des Spatium rectovaginale eventuell diskrete, Knötchen, in schweren Fällen derbe, dicke knotige, unter Umständen schmerzhaft Strukturen tastbar sein. (vgl. Kaufmann et al. 2013, S. 294) Knoten der tief infiltrierenden Endometriose können am besten getastet werden, wenn während der Menses untersucht wird. (vgl. Diedrich et al. 2013, S. 354) Palpatorisch kann des Weiteren ein vergrößerter, unregelmäßiger, derber Uterus auffallen, welcher dann häufig retrovertiert und schlecht beweglich als „Retroflexio uteri fixata“ imponiert. Sind die Adnexe von der Endometriose betroffen, sind vergrößerte,

manchmal druckschmerzhafte Ovarien zu tasten, wobei jedoch typischerweise kein Portio-Lüftungs- und Schiebeschmerz vorhanden ist. (vgl. Petru 2010, S. 92) In der SpekulumEinstellung sind nur selten Endometrioseherde im vorderen und hinteren Scheidengewölbe, sowie an der Portiooberfläche nachweisbar. (vgl. Kaufmann et. al 2013, S. 294)

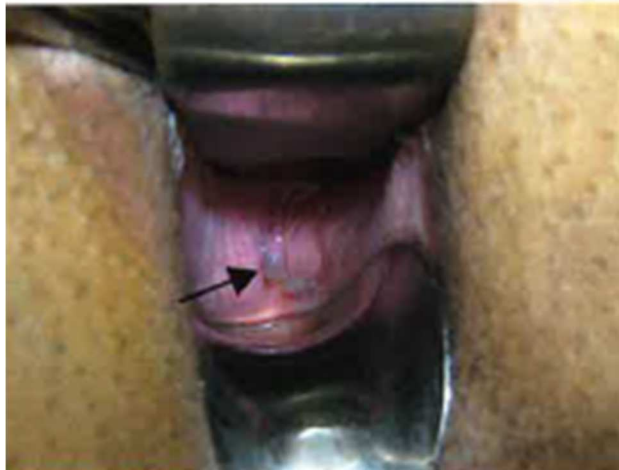


Abb. 9: In der SpekulumEinstellung sichtbare Endomeriose im Bereich des Spatium rectovaginale, Gätje et al. 2011, S. 156

Bildgebende Verfahren wie der Ultraschall, die Computertomografie und die Magnetresonanztomographie spielen in der Endometriosedagnostik eine sehr untergeordnete Rolle. So kann zum Beispiel durch eine Ultraschalluntersuchung die Größe und Lokalisation von Ovarialzysten bestimmt werden, des Weiteren kann zwischen soliden und zystischen Befunden unterschieden werden. Die sichere Differenzierung zwischen endometriotischen und hämorrhagischen Ovarialzysten ist, mittels Ultraschall, jedoch nicht möglich. Während das CT bei Verdacht auf Endometriose keine wirklich verwertbaren Informationen liefert, weist das MRT bei einer Sonderform der Endometriose, der „Adenomyosis uteri“ oder „Endometriosis uteri interna“, bei der sich Endometrioseherde innerhalb des Myometriums bilden und es so zu einer Hyperplasie des Myometriums kommt (vgl. Pfeleiderer et al 2002, S. 206), eine hohe Sensitivität und Spezifität auf. (vgl. Kaufmann et al 2013, S. 295)

Der Goldstandard in der Diagnosestellung der Endometriose ist bis heute die Laparoskopie mit histologischer Probenentnahme von suspektem Gewebe und anschließender Befundung derselben. Bei der diagnostischen Laparoskopie werden das Ovar, die Fossae ovaricae, die Tuben, das Blasendach, die Vorder- und Hinterseite des Uterus, die Ligamenta sacrouterinae sowie die Farbe und Menge der Peritonealflüssigkeit im Douglas-Raum, welche bei einer Endometriose häufig blutig verfärbt ist, genau inspiziert. Soweit möglich und einsehbar werden auch der Dick- und Dünndarm, der Appendix vermiformis, die Leber und das Diaphragma auf verdächtige Läsionen überprüft. Werden im Zuge dieser invasiven Untersuchung Endometrioseherde gefunden, werden sie nach Größe, Ausdehnung und Farbe dokumentiert. (ebd. S. 295- 297)

1.1.7. Therapie

Die Therapie der Endometriose richtet sich immer nach der individuellen Situation der Patientin. Die Symptomatik, die Lokalisation und das Ausmaß der Endometriose, sowie der eventuell bestehende Kinderwunsch müssen beachtet werden. Dabei unterscheidet man im Grunde zwischen einem hormonellen, konservativen Therapieansatz und einer operativen Therapie. (Gätje et al. 2011, S. 160)

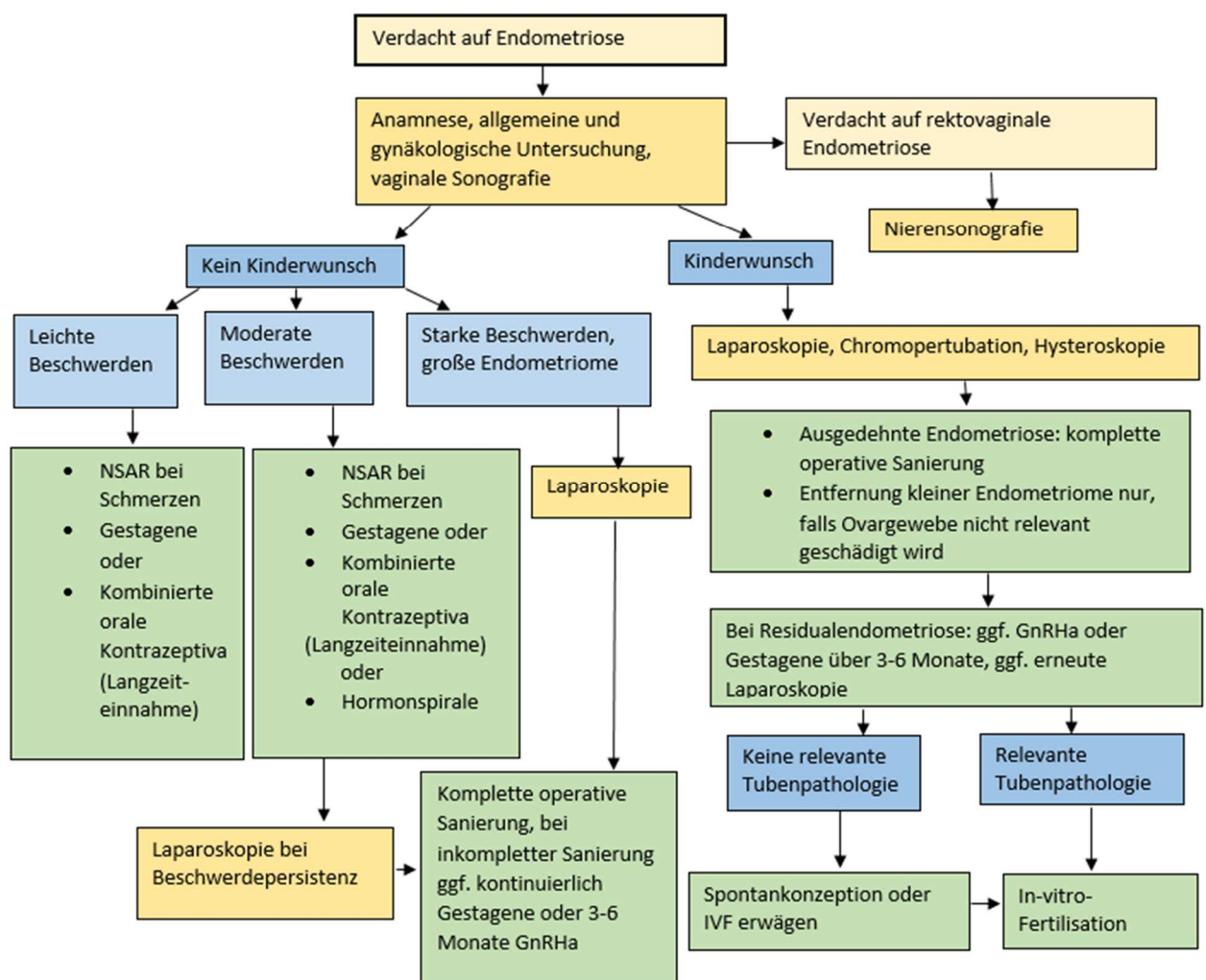


Abb. 10: Diagnostisches und therapeutisches Vorgehen bei Endometriose, vgl. von Wolff und Stute 2013, S. 287

1. Konservative, medikamentöse Therapie

Die Ziele der medikamentösen Therapie sind die Linderung der endometrioseassoziierten Symptome, insbesondere der Schmerzen, sowie die Verkleinerung der Endometrioseherde und die Progressionsprophylaxe. Dabei kommen neben Hormonpräparaten vor allem nichtsteroidale Antirheumatika zur Anwendung. (Kiechle et al. 2011, S. 427)

Hormonelle Therapie

In der Hormontherapie der Endometriose macht man sich das hormonabhängige, zyklische Wachstum der Endometriose zunutze. Durch die Senkung des Östrogenspiegels bewirkt man eine Hemmung der östrogenabhängigen Proliferation der Endometrioseherde sowie deren Ausbreitung. (ebd. 2011, S. 427) Dabei unterscheidet man die additive Hormontherapie, bei der Sexualhormone kontinuierlich verabreicht werden, sowie die ablativ Hormontherapie, bei welcher man Substanzen zuführt welche zum Entzug der ovariellen Hormone führen. Mit beiden Vorgangsweisen kann eine Rückbildung der Endometriose erreicht werden. In der additiven Hormontherapie werden entweder monophasische Gestagen-Östrogenkombinationen, also orale Kontrazeptiva, kontinuierlich eingenommen oder Gestagen-Monopräparate oral oder als Depot-Injektion verabreicht. Ebenfalls möglich ist die Anwendung einer gestagenhaltigen Spirale oder eines gestagenhaltigen Implantats. In der ablativen Hormontherapie werden GnRH-Analoga oder GnRH-Antagonisten eingesetzt. Gonadotropin-Releasing-Hormon-Analoga versetzen die Patienten in einen hypoöstrogenen Zustand, ähnlich dem in der Menopause. Die Analoga besetzen an der Hypophyse die GnRH-Rezeptoren und werden dort nur langsam abgebaut, so wird die Hypophyse gegen körpereigene Gonadotropin-Releasing-Hormone desensibilisiert. Die zweite Möglichkeit ist die Gabe von GnRH-Antagonisten welche die Gonadotropin-Ausschüttung direkt verhindern. Diese Therapieformen werden häufig mit einer Add-Back-Therapie kombiniert, da durch den induzierten Östrogenmangel schwerwiegende Nebenwirkungen wie Osteoporose drohen. Unter der Add-Back-Therapie versteht man eine niedrig dosierte Östrogensubstitution. (vgl. Gätje et al. 2011, S. 159)

Nichtsteroidale Antirheumatika

In der Therapie endometrioseassoziierter Schmerzen hat sich der Einsatz von nichtsteroidalen Antirheumatika bewährt. Neben dem schmerzstillenden Charakter dieser Substanzgruppe, ist deren antiinflammatorische Wirkung ein weiterer positiver Faktor im Rahmen der chronisch-entzündlichen Endometriose-Erkrankung. Bei Frauen mit Kinderwunsch, bei welchen eine systemische Hormontherapie nicht möglich ist, bieten diese Substanzen zumindest die Möglichkeit der Minderung der Schmerzsymptomatik. (vgl. Diedrich et al. 2013, S. 359)

Immunmodulierende Substanzen

Gerade in der Erforschung befindet sich die Therapie mit immunmodulierenden Substanzen, wie Aromatasehemmern oder Cox-2-Inhibitoren. Diese Substanzen hemmen Entzündungsprozesse, die Vaskularisierung sowie die Zellproliferation und sollen somit die Endometriose-Erkrankung günstig beeinflussen. (vgl. Mettler et al. 2014)

2. Operative Therapie

Das Ziel der operativen Therapie der Endometriose ist die Entfernung von sichtbaren Endometrioseherden, die Lösung von Adhäsionen, die Reduktion der Schmerzsymptomatik sowie die Verbesserung der Fertilität, etwa durch die Wiederherstellung der Funktion der Eileiter. (vgl. Kaufmann et al. 2013, S. 301)

Endometrioseläsionen im Peritoneum oder an extragenitalen Lokalisationen werden durch chirurgische Exzision, Koagulation oder mithilfe eines Lasers entfernt. Bei sehr starkem Befall mit Endometrioseherden können die Entfernung des betroffenen Organteiles und eine anschließende Rekonstruktion notwendig sein. Die gleichzeitige Adhäsioolyse von endometrioseassoziierten Verwachsungen ist zur Schmerzbekämpfung und zur Verbesserung der Fertilität sinnvoll. Bei Endometriosezysten an den Ovarien, wird die Kapsel des Ovars gespalten und die Zyste vom umgebenden Ovargewebe getrennt. Diesen Vorgang bezeichnet man als „ausschälen“. Versagen im Fall einer Adenomyosis uteri die konservativen Behandlungsmethoden, versucht man die tumorartigen Endometrioseknoten im

Uterus zu entfernen, ist dies ebenfalls nicht möglich, stellt eine Hysterektomie die Ultima Ratio dar. (vgl. Gätje et al. 2011, S. 159-160)

3. Therapie bei Endometriosepatientinnen mit Kinderwunsch

Die Therapie der Endometriose bei Frauen mit Kinderwunsch ist besonders diffizil. Das Hauptproblem ergibt sich durch die Tatsache, dass ein hoher Östrogenspiegel die Endometriose zur Proliferation anregt. Dieser hohe Östrogenspiegel wird jedoch, im Fall eines Kinderwunsches, für die Follikelreifung dringend benötigt. Somit ist eine hormonelle Therapie der Endometriose, bei bestehendem Kinderwunsch, nicht möglich. Beim Vorliegen einer milden Endometriose empfiehlt sich eine operative Sanierung der vorliegenden Endometrioseeläsionen mit anschließendem forcieren einer Schwangerschaft, durch die Überwachung des Zyklus und der Bestimmung des Ovulationstermins. Eine Follikelreifung kann, wenn nötig, durch eine milde hormonelle Stimulation der Ovarien, unterstützt werden. Bei einer schweren Endometriose mit hochgradigen Adhäsionen und eingeschränkter Tubenfunktion wird ebenfalls eine operative Sanierung gefolgt von einer baldigen extrakorporale Befruchtung empfohlen, auch wenn die damit verbundene intensive hormonelle Stimulation der Ovarien zu einer temporären Progression der Endometrioseherde führt. (vgl. Kiechle et al. 2011, S. 428) Bei Sterilitätspatientinnen mit aktiver Endometriose konnten im Rahmen von künstlichen Befruchtungen signifikant schnellere Konzeptions- und höhere Schwangerschaftsraten, durch die Drei-Phasen-Therapie nach Semm erzielt werden. Dieses Therapieschema umfasst eine pelviskopische Teilsanierung, eine nachfolgende sechsmonatigen Therapie mit einem GnRH-Agonisten sowie eine abschließende pelviskopische Restsanierung vor der künstlichen Befruchtung. (vgl. Sõritsa et al. 2015, Baltzer et al. 2004, S. 408)

1.1.8. Endometriose und Subfertilität

Es gilt als erwiesen, dass Endometriose mit Subfertilität assoziiert ist. Der tatsächliche Einfluss der Endometriose auf die Fruchtbarkeit ist jedoch schwer erfassbar. Schätzungen gehen davon aus, dass 25-30% der subfertilen Frauen an Endometriose leiden und dass 30-50% der Endometriosepatientinnen subfertil sind. (Diedrich et al. 2013, S. 362) Als Ursache für die Subfertilität bei Endometriosepatientinnen werden, durch die Erkrankung ausgelöste, mechanisch-anatomische, immunologische sowie endokrinologische Veränderungen im Reproduktionstrakt der Betroffenen angenommen.

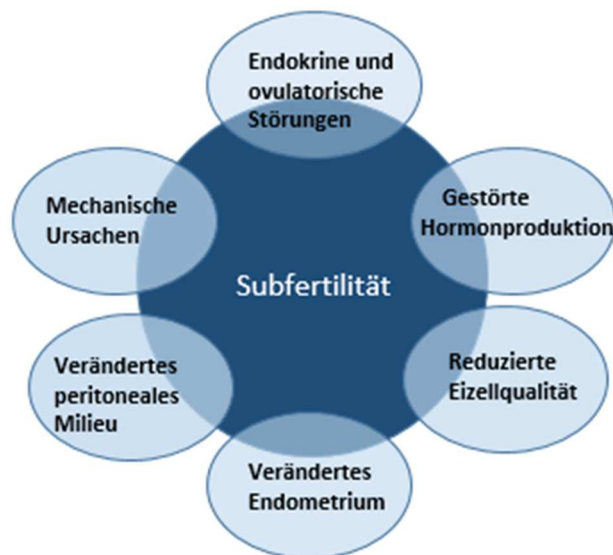


Abb. 11: Mögliche Mechanismen zur Erklärung der Subfertilität bei Endometriose, vgl. Diedrich et al. 2013, S. 362

1. Mechanisch- anatomische Faktoren

Die Endometrioseläsionen führen zu Endzündungsreaktionen im umliegenden Gewebe, welche wiederum zu Gewebnekrosen führen welche oft zu Bindegewebe ab- und umgebaut werden. Es kommt zum Verlust von funktionsfähigem Gewebe und zur Entstehung von Verwachsungen. Im Fall einer Tubenendometriose kann es zur Einengung und schließlich zur kompletten Okklusion des Tubenlumens führen. Der Eizelltransport vom Ovar in den Uterus ist somit vermindert bis nicht möglich. Ist der Douglas-Raum

betroffen und obliteriert kann der Ovar-Tubenkontakt gestört und somit die Eizellaufnahme behindert sein. Endometrioseassoziierte Adhäsionen um die Tuben und das Ovar können ebenfalls zu Ovulations- und Eizelltransportproblemen führen, insbesondere wenn die Mobilität von Ovar und Tube beeinträchtigt ist. Neben der mechanischen Beeinträchtigung der Eierstöcke und der Eileiter kann auch der funktionelle Ablauf der Eizellaufnahme, des Eizelltransports, der Befruchtung und des Embryonentransports in den Uterus durch andere endometrioseinduzierte Faktoren gestört sein. Zum Beispiel kann der peritoneale Reiz, welcher zur Folgekaskade des Eizelltransports führt, vermindert sein oder fehlen. In diesem Fall spricht man vom „funktionellen Tubenfaktor“. (vgl. Feige et al. 2006, S. 586-587)

2. Immunologische und entzündliche Faktoren

Endometrioseherde sezernieren, neben den Hormonen Progesteron und Estradiol, proinflammatorische Zytokine wie Interleukin 1 β , Interleukin 6, Interleukin 8 oder den Tumornekrosefaktor α . Diese führen zu einem toxischen, entzündlichen Milieu im umgebenden Gewebe. Die vermehrte Präsenz von Zytokinen führt zum verstärkten Auftreten von aktivierten Makrophagen welche Spermien, im Falle einer Befruchtung, vermehrt phagozytieren können. (vgl. Fadhloui et al. 2014) Die aktivierten Makrophagen produzieren wiederum vermehrt Prostaglandine, welche in der peritonealen Flüssigkeit von Endometriosepatientinnen, in stark erhöhter Konzentration nachgewiesen werden konnten. Die Prostaglandine F2 α und I2 spielen beim Vorgang der Follikelwandruptur im Rahmen der Ovulation eine tragende Rolle. Daher nimmt man an, dass exzessiv erhöhte Prostaglandinwerte, in der peritonealen Flüssigkeit, eine ovulationshemmende Wirkung auf das Ovar haben. Des Weiteren geht man davon aus, dass neben den Endometrioseherden auch die Granulosa-Zellen der Frauen mit Endometriose vermehrt Zytokine produzieren und es so zu diesem hohen Aufkommen von proinflammatorischen Botenstoffen und Abwehrzellen in der peritonealen Flüssigkeit kommt. Der Tumornekrosefaktor α ist ein pro-apoptisches und gametotoxisches Zytokin. Menschliche Eizellen, als auch menschliche Cumulus-Zellen besitzen einen Rezeptor für diesen Tumornekrosefaktor. Es ist also möglich, dass das

vermehrte Vorhandensein des Tumornekrosefaktors die Eizellreifung, die Eizellqualität, die Ovulation und die Lutenisierung des Follikels stört oder zumindest beeinflusst. (vgl. Bergquist und Hooghe 2002)

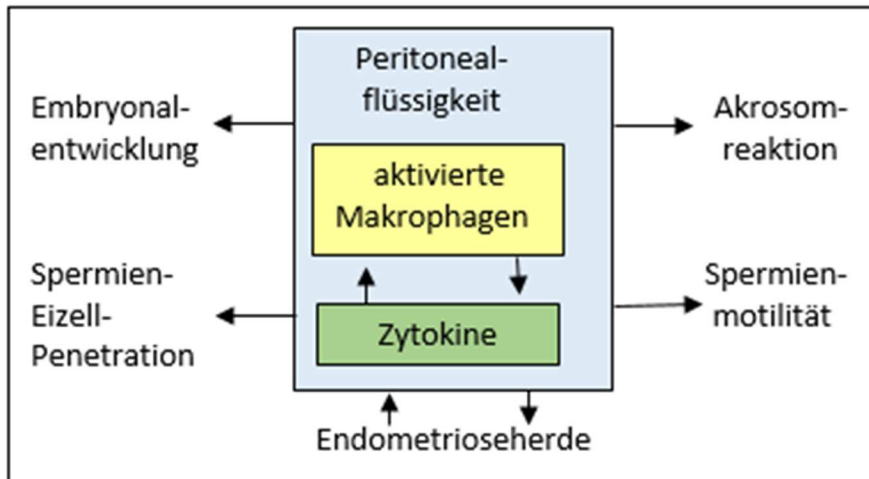


Abb. 12: Bedeutung der Zytokine hinsichtlich der Subfertilität, vgl. Baltzer et al. 2004, S. 408

3. Endokrine Faktoren

Das Immunsystem, die hormonelle Regulation und die Psyche des Menschen stehen in enger Verbindung miteinander und beeinflussen sich gegenseitig. Bei einer Endometriose-Erkrankung laufen permanent entzündliche Prozesse im kleinen Becken ab. Diese pathologisch-immunologischen Vorgänge wirken sich störend auf die endokrine, autokrine und parakrine Regulation des Ovars aus. So wurden bei Frauen mit Endometriose signifikant niedrigere Spiegel des Anti-Müller-Hormons (AMH) gemessen, welches als wichtigster Parameter der ovariellen Reserve gilt. (Lemos et al. 2008, Diedrich et al. 2013, S. 399) Des Weiteren betroffen sind das luteinisierende Hormon (LH) sowie das Hormon Prolaktin. Bei Endometriosepatientinnen werden gehäuft Corpus-luteum-Insuffizienzen, Spät- oder Anovulationen sowie Hyperprolaktinämien beobachtet. Ebenfalls häufiger beobachtet wird das LUF-Syndrom. (vgl. Feige et. al. 2006, S. 587) Das „luteinized unruptured follicel syndrome“ definiert sich durch das Ausbleiben der Freisetzung einer Eizelle im Rahmen einer Ovulation mit anschließender Luteinisierung des im Ovar verbliebenen, unrupturierten

Follikels und nachfolgendem Progesteronanstieg im Blut (vgl. Ludwig und Sonntag 2010).

2. Material und Methoden

2.1. Information zu Studiendaten, Zeitrahmen und Zielsetzung

Für die prospektive Studie wurden aus einem Pool 637 Behandlungszyklen von 525 Patientinnen im Alter zwischen 18 und 48 Jahren, welche sich von Jänner bis Dezember 2013 an der Landes- Frauen- und Kinderklinik Linz Kinderwunschbehandlungen unterzogen hatten je 129 Behandlungszyklen von Patientinnen mit und ohne Endometriose ausgewählt.

Bei den ausgewählten Behandlungszyklen der Endometriosepatientinnen musste die Diagnose der Endometriose laparoskopisch gesichert sein. Die Stadieneinteilung der Endometriose erfolgte nach der revidierten Klassifikation der American Society of Reproductive Medicine von 1997. Bei 54 Befruchtungszyklen wurde das Stadium I, mit einer minimalen Endometriose festgestellt, bei 22 das Stadium II, mit einer milden Endometriose, bei 36 das Stadium III, mit einer mäßigen Endometriose und bei 17 das Stadium IV mit einer schweren Endometriose.

Um die Vergleichbarkeit der Gruppe der Endometriosepatientinnen und der Kontrollgruppe zu gewährleisten, wurde für jeden Behandlungszyklus einer Endometriosepatientin, ein Behandlungszyklus einer Kontrollpatientin ausgewählt, welche ihr im Alter, im basalen AMH-Wert, in der Anzahl der vorhergegangenen Behandlungszyklen und in der Befruchtungsmethode der Eizelle ähnelt. Das Alter durfte um \pm ein Jahr variieren, der basale AMH-Wert um \pm 0,5 ng/ml und die Anzahl der vorhergegangenen Behandlungszyklen um \pm einen Zyklus. Die Befruchtung der Eizelle musste mit der gleichen Methode (ICSI oder IVF) erfolgt sein.

Das Ziel der Studie war es zu evaluieren welchen Einfluss die Endometriose-Erkrankung auf die Eizellmorphologie, die Befruchtungs-, Implantations-, Schwangerschafts- und Lebendgeburtenrate sowie auf das neonatale Outcome im Rahmen einer Kinderwunschbehandlung hat. Dabei war es uns ein besonderes Anliegen die verschiedenen Schweregrade der Endometriose

miteinzubeziehen und dabei eventuelle Unterschiede hinsichtlich der erhobenen Parameter zu ermitteln. Des Weiteren wurde erhoben welche Befruchtungsmethoden im Rahmen der Kinderwunschbehandlung bei Endometriosepatientinnen zu besseren Ergebnissen führen und ob es sich somit empfiehlt in Zukunft beim Vorhandensein einer Endometriose eine ICSI oder eine IVF zu bevorzugen.

2.2. Die Gewinnung der Eizellen

2.2.1. Ovarielle Stimulation

Um für die künstliche Befruchtung mehrere reife, befruchtungsfähige Eizellen zur Verfügung zu haben wird eine ovarielle Stimulationstherapie durchgeführt. Die Stimulationstherapie kann in verschiedenen Verfahrensweisen durchgeführt werden, welche als (Stimulations-)Protokolle bezeichnet werden. Bei der Wahl der Stimulationsmethode ist es wichtig zu beachten, ob die Patientin über eine regelrechte Ovarfunktion verfügt oder ob ein pathologischer Follikelreifungszyklus mit Anovulationen und/oder einem Lutealphasendefekt vorliegt. (vgl. Diedrich et al. 2013, S. 111) Zur Erreichung der Polyovulation werden Gonadotropine, wie gentechnisch rekombinantes follikelstimulierendes Hormon (FSH) oder eine gereinigte Mischung aus luteinisierendem Hormon (LH) und FSH welches als humanes Menopausengonadotropin (HMG) bezeichnet wird, in einer subkutanen Applikation verabreicht. Zur Vermeidung einer vorzeitigen Luteinisierung oder Ovulation der Follikel im Rahmen der Hyperstimulation wird die Hypophyse gegenüber endogenen Gonadotropin-Releasing-Hormonen (GnRH) desensibilisiert und somit die Ausschüttung von körpereigenem LH unterbunden. Dies erreicht man durch die Gabe von GnRH-Agonisten oder GnRH-Antagonisten. Das Schema der Applikation der jeweiligen Wirkstoffe unterscheidet sich je nach Stimulationsprotokoll. Die Stimulationsdauer ist von dem Größenwachstum der Follikel abhängig. Sie wird während der Stimulation mehrmals durch transvaginalsonografische Kontrollen beurteilt. Haben die Follikel einen Durchmesser von 16- 22 Millimetern erreicht (Revelli et al. 2014), wird durch eine einmalige subkutane Applikation von humanem Choriongonadotropin (hCG) die Ovulation ausgelöst. 36 Stunden nach der Ovulationsauslösung erfolgt die transvaginale Follikelpunktion des Ovars. (vgl. Gätje et al. 2011, S. 332)

In unserer Studie wurden 55 Endometriosepatientinnen nach einem Antagonisten-Protokoll ovariell stimuliert, dabei wurde entweder rekombinantes FSH (in 44,4%) oder HMG (in 55,6%) verwendet. In drei von vier Fällen (in 75%) wurde Orgalutran (MSD, Wien, Österreich) als Antagonist

verwendet. Die 66 Patientinnen der Kontrollgruppe welche nach einem Antagonisten-Protokoll stimuliert wurden, zeigten eine ähnliche Ratio ($P > 0,05$) zwischen rekombinanten Produkten (in 61,0%) und HMG (in 39%). In den restlichen Zyklen beider Kohorten wurde nach dem langen Protokoll stimuliert, dabei wurden bei der Mehrheit HMG-Produkte verwendet. (in ca. 94%) Wenn die Follikel in Zyklen mit Antagonisten-Protokoll um die 18 mm und in den Zyklen mit Agonisten-Protokoll um die 20 mm erreicht hatten, wurde die Ovulation induziert. Dies erfolgte mit 5000 bis 10000 Einheiten HCG. 36 Stunden später wurde unter Analgesie eine ultraschallgesteuerte, transvaginale Follikelpunktion durchgeführt.

2.2.2. Eizellentnahme

Durch die ovarielle Stimulationstherapie erreichen die Ovarien etwa die Größe eines Tennisballes und liegen in der Regel bis zu einem Zentimeter hinter dem Fornix vaginae. Dies erlaubt die Entnahme der Eizellen über eine Nadel welche durch das seitliche Scheidengewölbe, direkt in das dahinter liegende Ovar geführt wird. (Magowan et al. 2014, S. 78)

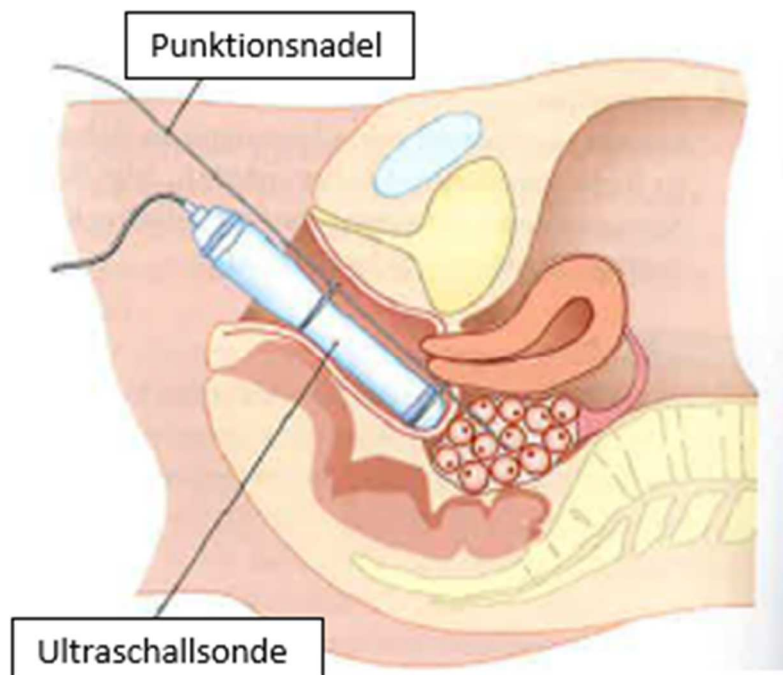


Abb. 13: Transvaginale Follikelpunktion, vgl. Gätje et al. 2011, S. 332

Die transvaginale ultraschallgesteuerte Follikelpunktion kann mit oder ohne Narkose durchgeführt werden. Wird auf die Narkose verzichtet kann, vor dem Eingriff, eine leichte Sedierung und Schmerzbetäubung durchgeführt werden. An der Ultraschallvaginalsonde befindet sich eine Führungseinrichtung, durch welche die Punktionsnadel, unter permanenter Ultraschallüberwachung, in Richtung des Ovars geführt wird. (vgl. Schmidt und Kurjak 2000, S. 89) Durch das seitliche Scheidengewölbe wird das Ovar punktiert. Die Follikelflüssigkeit mit den Oozyten-Cumulus-Komplexen, als welche die Eizellen mit den sie umgebenden Granulosa-Zellen bezeichnet werden, wird über einen Unterdruck

abgesaugt. Die so gewonnen Eizellen werden, unter möglichst sterilen Bedingungen, unter dem Mikroskop aus der Follikelflüssigkeit herausgesucht. Danach werden sie in Reagenzgläser, in welchen sich auf 37°C vorgeheiztes Medium befindet, eingebracht. Bis zu ihrer Untersuchung und Befruchtung werden die, sich in den Reagenzgläsern befindlichen, Eizellen in Inkubatoren bei 37°C und in einer speziellen feuchten Atmosphäre, bestehend aus 90% Stickstoff, 5% Sauerstoff und 5% Kohlendioxid, gelagert. (vgl. Kaufmann et al. 2013, S. 181-182)

In unserer Studie wurden die gesammelten Oozyten-Cumus-Komplexe vor der Befruchtung (IVF oder ICSI) zwei Stunden in Medium (BM1 Medium, NMS Bio-Medical, Praroman, Schweiz) inkubiert.

2.3. Evaluierung der Eizellqualität

In der vorliegenden Arbeit wurden reife Oozyten in der Metaphase II vor einer ICSI in Hinblick auf morphologische Anomalien untersucht. Waren zytoplasmatische Einschlüsse vorhanden, wurde bei der Spermieninjektion versucht das Spermium möglichst nicht in der Nähe des Einschlusses zu platzieren, um eine ungehinderte Dekondensation des Spermienkopfes zu gewährleisten. Beim Vorhandensein von großen Vakuolen oder Aggregationen des glatten Endoplasmatischen Retikulums wurden die betroffenen Eizellen nicht für eine Befruchtung verwendet.

2.3.1. Der Reifezustand

Erst in der Metaphase II, und somit nach der abgeschlossenen ersten Reifeteilung ist die Eizelle befruchtungsfähig. Es kommt jedoch vor, dass sich die aus der Follikelpunktion gewonnen Eizellen, noch in der Prophase I oder im Metaphase I-Stadium befinden. Unter dem Mikroskop kann man die unterschiedlichen Reifegrade der Eizelle anhand von morphologischen Merkmalen erkennen. Eine dichte Granulosazellschicht welche um die Eizelle liegt ist ein Hinweis auf die Unreife der Eizelle. Weisen Eizellen eine solche dichte „Corona radiata“ auf und ist auch noch einen Zellkern sichtbar, das sogenannte „Germinalvesikel“ befinden sie sich in der Prophase I, der Arretierungsphase der ersten Reifeteilung. Eine Nachreifung bis zum befruchtungsfähigen MII-Stadium ist in vitro in diesem Stadium kaum möglich, zumindest nicht in der kurzen Zeit bis zur ICSI. Befindet sich die Eizelle im Metaphase I-Stadium, ist unter dem Mikroskop kein Zellkern aber auch kein Polkörperchen sichtbar. Die erste Reifeteilung ist in diesem Stadium noch nicht abgeschlossen. In ca. 60% kann jedoch in vitro eine Nachreifung dieser Eizellen ins Metaphase II-Stadium beobachtet werden. Die reife, befruchtungsfähige Eizelle im Metaphase II-Stadium trägt ein Polkörperchen zum Zeichen der abgeschlossen ersten Reifeteilung.



Abb. 14: Eine Oozyte im MII-Stadium in 400-facher Vergrößerung- das Polkörperchen ist deutlich sichtbar, Rienzi et al. 2012

Zeichen für eine Überreife der Eizelle sind unregelmäßige Granulosazell-Cluster, welche im Mikroskop als dunkle Flecken um die Eizelle erkennbar sind, sowie ein unregelmäßiges, grob-granuläres Zytoplasma der Eizelle. Das Polkörperchen ist meist schon von der Eizelle abgelöst oder zerfallen. Der perivitelline Spalt imponiert verbreitert aufgrund der Schrumpfung der Oozyte. (vgl. Keck et al. 2002, S. 203-205)

2.3.2. Morphologische Kriterien zur Beurteilung der Qualität

Riesenoozyten

Sehr große Eizellen, mit einem Durchmesser um die 200 μm , sind das Produkt eines Zytokinesfehlers oder der Fusion zweier Oogonien und weisen immer einen diploiden Chromosomensatz auf. Diese Eizellen sind nicht für eine Befruchtung geeignet und müssen verworfen werden.

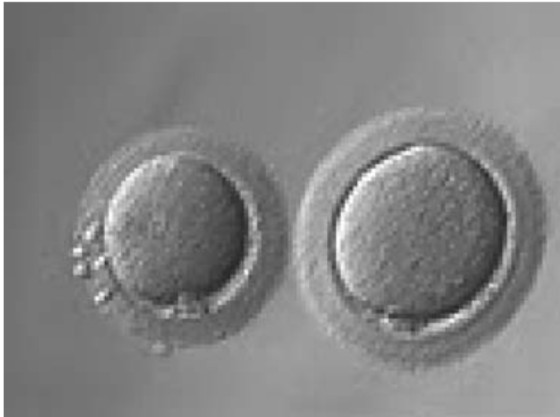


Abb. 15: Eine normale Oozyte (links) im Vergleich zu einer Riesenoozyte (rechts) in 200-facher Vergrößerung, Rienzi et al. 2012

Das erste Polkörperchen

Es gilt als erwiesen, dass die Morphologie des ersten Polkörperchens Aufschluss über das postovulatorische Alter der Eizelle gibt. Ist das erste Polkörperchen schon stark fragmentiert, ist die Eizelle älter und von schlechterer Qualität.



Abb. 16: Eine reife Oozyte mit stark fragmentiertem erstem Polkörper, Ebner et al. 2006

Die Metaphasenspindel

Ein weiterer prädiktiver Faktor, welcher sich im Moment noch in der Erforschung befindet, ist das Vorhandensein, beziehungsweise die Nachweisbarkeit der Teilungsspindel in der Eizelle. Die Fertilisierungsrate zeigte sich in Studien deutlich erhöht, bei Eizellen mit vorhandener Teilungsspindel. Zur Diskussion steht ob das Vorhandensein der Teilungsspindel tatsächlich ein Zeichen einer ungestörten Meiose und somit ein Qualitätsmerkmal für die Eizelle darstellt oder ob das Fehlen der Spindel nur ein vorübergehendes Phänomen im dynamischen Vorgang der Meiose ist.

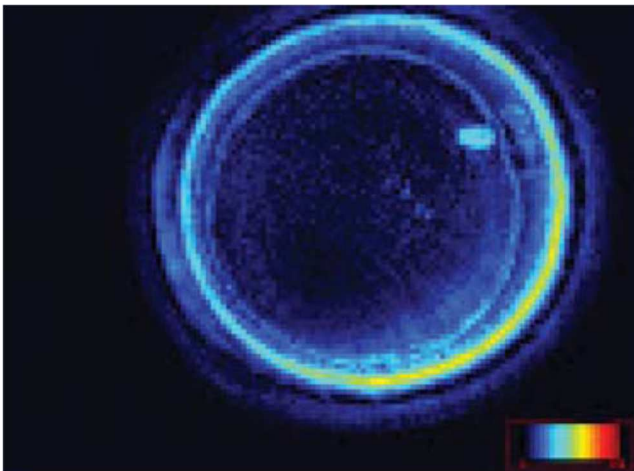


Abb. 17: Eine Oozyte in 400-facher Vergrößerung unter dem Polarisationsmikroskop - die Metaphasenspindel ist deutlich neben dem Polkörperchen sichtbar, Rienzi et al 2012

Zytoplasmatische Konsistenz

Lässt sich im Zytoplasma eine extensive zentrale Granulierung erkennen ist dies ein negativ prädiktiver Faktor für die Qualität der Eizelle. Bei Eizellen mit diesem Dymorphismus zeigen sich im weiteren Verlauf höhere Raten an chromosomalen Auffälligkeiten und niedrigere Schwangerschaftsraten. Ebenfalls als qualitätsmindernd gelten bräunliche Verfärbungen des Zytoplasmas.



Abb. 18: Eine Oozyte mit stark granuliertem Zytoplasma, Rienzi et al. 2012

Die Konsistenz und Fließeigenschaften des Zytoplasmas lassen sich nicht durch bloße Beobachtung unter dem Mikroskop evaluieren. Hier gilt das Unvermögen der Eizelle, den Trichter, welcher im Rahmen einer ICSI, durch die Einstichpipette entsteht, zu kompensieren, als negativer Qualitätsfaktor.

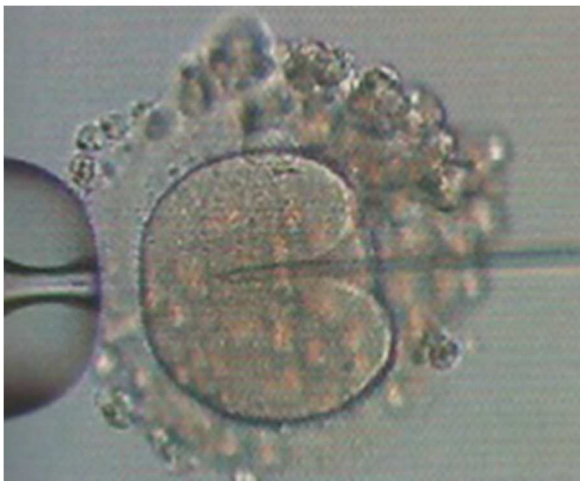


Abb. 19: deutliche Trichterbildung im Rahmen der ICSI, Macas und Wunder 2006, S. 49

Zytoplasmatische Einschlüsse

Lichtmikroskopisch sichtbare, grobe Körner im Zytoplasma werden als Inkorporationen und ab einer gewissen Größe als refraktile Körper bezeichnet. Solche Einschlüsse gelten als minimale Qualitätsminderung.



Abb. 20: Oozyte mit zentralem refraktilem Körper, Ebner et al. 2006

Liegen kreisrunde, membranumschlossenen und mit Flüssigkeit gefüllte Inklusionen vor, spricht man vom Vorliegen von Vakuolen. Eizellen mit Vakuolen gelten als dysmorph und gefährdet in Bezug auf Teilungsanomalien und genetischen Aberrationen. In Studien fielen vakuolisierte Eizellen durch markant schlechtere Befruchtungsraten auf.



Abb. 21. Stark vakuolisierte Oozyte, Ebner et al. 2006

Ebenfalls als erheblich qualitätsmindernd gilt das Auftreten einer Aggregation des glatten endoplasmatischen Retikulums, erkennbar als eine scheibenförmige, nicht durch eine Membran abgegrenzte Struktur im Zytoplasma. Zygoten aus Eizellen mit dieser Dysmorphie zeigten in Studien Entwicklungsdefizite.

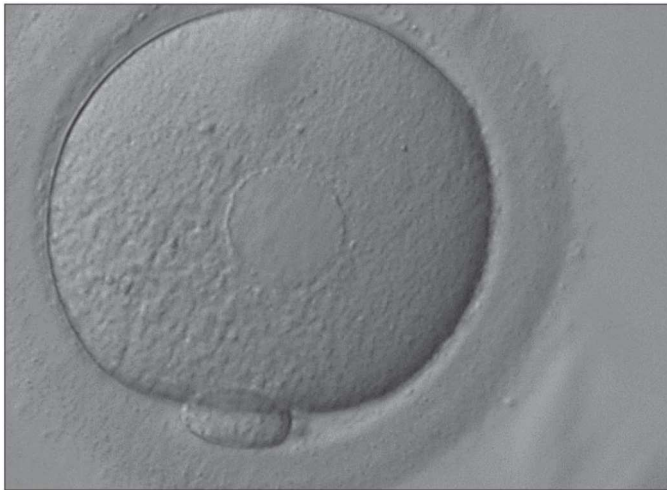


Abb. 22. Oozyte mit zentralem, aggregiertem glattem endoplasmatischem Retikulum, ebd. 2006

Weitere Anomalien

Als qualitätsminderndes Charakteristikum gilt des Weiteren das Auftreten von Granula im perivitellinen Spalt oder dessen Vergrößerung. Ein abnormal großer periveltliner Spalt wird mit einer erhöhten Degenerationsrate und einer schlechteren Befruchtungsrate der betroffenen Eizellen in Verbindung gebracht. (vgl. Hassa et al. 2014) Auch Deformationen der Zona pellucida wie zum Beispiel das Ablösen der inneren Zonaschicht werden negativ gewertet. Ebenfalls als dysmorph eingestuft werden Eizellen welche eine ovale Form aufweisen, da es in weiterer Folge, je nach Ausprägung, zu einem atypisch länglichen und in seiner Entwicklung gestörten Embryo kommen kann. (vgl. Ebner et al. 2006; Rienzi et al. 2012)



Abb. 22: Oval verformte Oocyte, Rienzi et al. 2012

2.4. Die Gewinnung der Samenzellen

Nach einer sexuellen Karenzzeit von 4-5 Tagen, wobei die Notwendigkeit und Dauer der Karenzzeit kontrovers diskutiert werden, erfolgt die Gewinnung des Spermas durch Masturbation und Auffangen des Ejakulates in ein steriles Gefäß. (vgl. Netter 2006, S. 394)

Sind im Ejakulat keine oder zu wenige Spermien vorhanden ist die Spermienproduktion im Hoden beeinträchtigt. In diesem Fall ist es oft möglich durch eine testikuläre Spermienextraktion (TESE), Spermatozoen, in einem operativen Eingriff, direkt aus dem Hoden zu gewinnen. Dabei werden kleinere Gewebstücke entnommen und im Labor aufbereitet. Sind die Samenwege verschlossen besteht die Möglichkeit Samenzellen aus dem Nebenhoden zu gewinnen. Bei der mikrochirurgischen epididymalen Spermienaspiration (MESA), werden mittels einer Hohlnadel Spermatozoen aus den Nebenhoden entnommen. (vgl. Krause et al. 2011, S. 210-211)

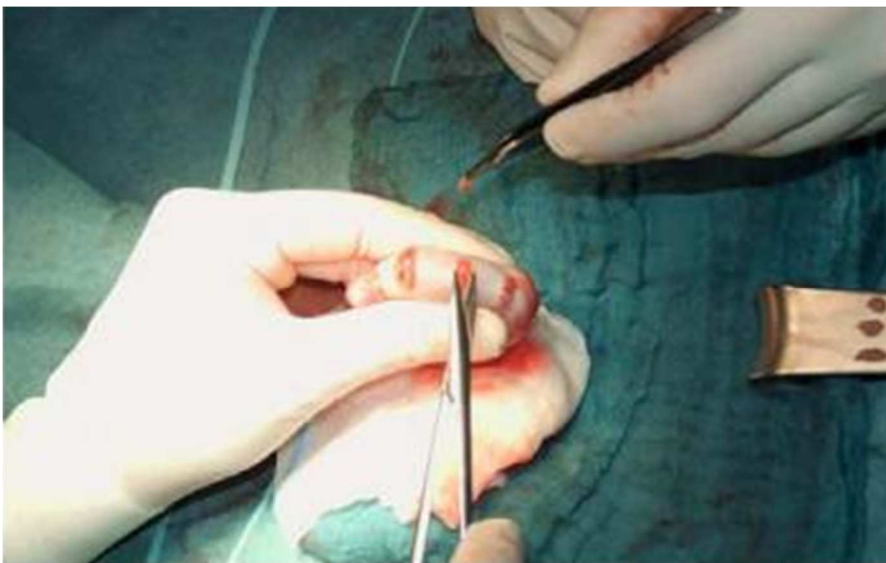


Abb. 23: Gewebeentnahme aus dem Hoden im Rahmen einer TESE, Anheuser und Steffens 2012, S. 303

In unserer Studie gab es sechs Zyklen in welchen die verwendeten Spermien via TESE gewonnen worden waren. Zwei betroffene Zyklen befanden sich in der Gruppe der Endometriosepatientinnen und vier in der Kontrollgruppe.

2.5. Die Evaluierung der Samenqualität

Das Spermogramm

Im Spermogramm werden nach Kriterien der World Health Organisation (WHO) das Ejakulat selbst sowie die Motilität, Dichte und Morphologie der Spermien untersucht.

Das Ejakulat

Das Volumen des Ejakulats sollte 2-8 ml betragen. Der Geruch sollte kastanienblütenartig und die Farbe milchig weiß sein. Die Schwankungsbreite des gewünschten pH-Werts liegt zwischen 7,0 und 7,8. Das Ejakulat wird unter dem Phasenmikroskop unter 200- bis 400-facher Vergrößerung auf Beimengungen wie Epithelien, Leukozyten, Erythrozyten, Bakterien, Trichomonaden, und Spermatogenesevorstufen sowie auf morphologische Auffälligkeiten wie Verklumpungen untersucht. Danach erfolgt die Beurteilung der biochemischen Parameter der Samenflüssigkeit. Der Gehalt an Fructose, Carnitin und saurer Phosphatase sowie des Enzyms Akrosin, welches von den Spermien benötigt wird um die Zona Pellucida der Eizelle zu penetrieren, wird überprüft. (vgl. Felberbaum et al. 2009, S. 17)

Motilität der Spermien

Frühestens eine halbe Stunde nach der Gewinnung des Ejakulats sollte die Beweglichkeit der Spermien untersucht werden. Unter 400-facher Vergrößerung wird die Bewegung der Samenzellen in 20 Gesichtsfeldern, bei Zimmertemperatur ausgewertet. Als normal gelten eine Gesamtmotilität von über 50%, mehr als 30% an progressiv beweglichen Spermien sowie ein Abfall der Beweglichkeit von unter 15% nach vier Stunden.

Spermiendichte

Die Spermiendichte wird in einer Neubauer-Zählkammer ermittelt. Das Ejakulat wird hierfür mit destilliertem Wasser verdünnt. Die Spermienkonzentration sollte über 20 Millionen pro Milliliter betragen.

Spermienmorphologie

In einem Ausstrich, welcher mittels Papanicolaou-Färbung oder Hämatoxylin-Eosin-Färbung behandelt wurde, werden 200 Spermatozoen ausgezählt und ihre Morphologie beurteilt. Normal ist ein morphologisch unauffälliger Anteil von über 50%. (vgl. Netter 2006, S. 394)

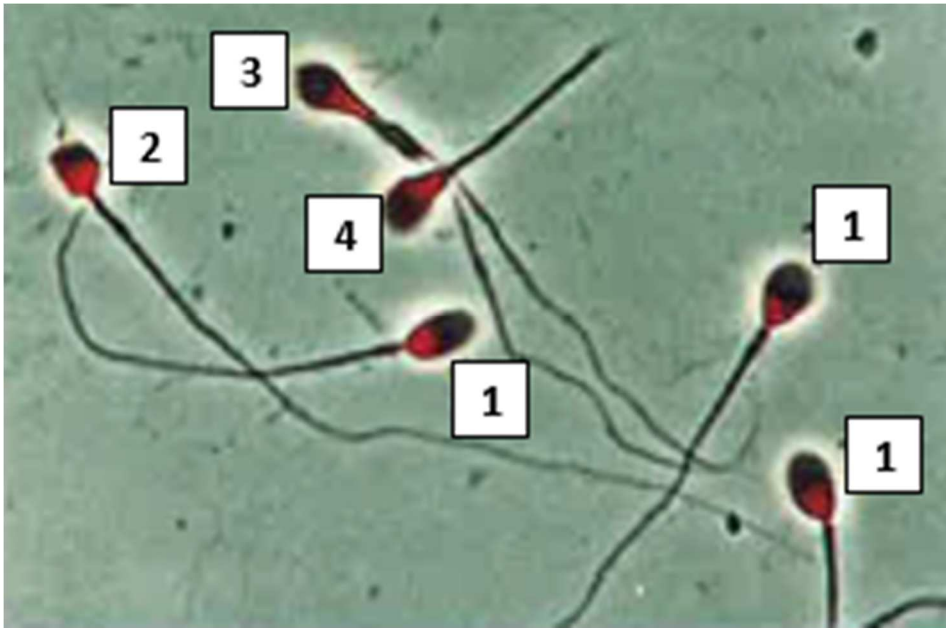


Abb. 24: Spermien-Ausstrich in der Papanicolaou-Färbung,
vgl. Nieschlag et al. 2009, S. 137
1: morphologisch normale Spermien
2: Kopfdefekt
3: Schwanzdefekt
4: Kopf- und Schwanzdefekt

2.6. **Aufbereitung des Ejakulates**

Bevor das Sperma für künstliche Befruchtungsmethoden verwendet wird, wird es aufbereitet. Das Ziel der Aufbereitung ist es, Spermatozoen zu selektieren welche eine normale Morphologie sowie eine hohe Motilität aufweisen. Gleichzeitig werden epitheliale Zellen und Zellreste, Erythrozyten und Leukozyten sowie unreife oder morphologisch auffällige Spermatozoen entfernt. Zur Aufbereitung des Spermas gibt es mehrere Verfahren. In der „Swim-up-Methode“ wird auf eine Suspension aus dem Sperma und einer Labornährlösung ein Nährmedium aufgebracht in welches sich die hoch beweglichen Spermatozoen dann, im Gegensatz zu den weniger beweglichen, begeben. In der „Swim-down-Methode“ befindet sich das Nährmedium unter der Spermisuspension. So werden die hochbeweglichen Spermatozoen, aus den Unbeweglichen selektiert. Ebenfalls möglich ist die Trennung der Spermien nach ihrer Dichte durch Zentrifugation, da reife, morphologische normale Spermatozoen eine gering höhere Dichte aufweisen als unreife und/oder morphologische auffällige Spermatozoen (vgl. Malvezzi et al. 2014). Beim Glaswollfiltrationsverfahren wird der aufgeschüttelte Überstand der vorher zentrifugierte Suspension aus Sperma und Nährlösung über eine spezielle Glaswolle aufgetragen. Die immotilen oder weniger motilen Spermien werden durch diese zurückgehalten, die motileren Spermien wandern durch die Glaswolle hindurch in das darunter liegende Reagenzglas. (Kaufmann et al. 2013) Alternativ stehen auch Spermienselektoren zur Verfügung welche ohne Zentrifugationsschritte funktionieren. (vgl. Ebner et al. 2011)

2.7. Auswahl der Spermien

Besonders im Rahmen einer intrazytoplasmatischen Spermieninjektion (ICSI) bei welcher das Spermium direkt mittels einer Hohlneedle in das Zytoplasma der Eizelle gespritzt wird, empfiehlt sich eine genaue Selektion der verwendeten Spermien. Ist dies der Fall spricht man von einer Injektion morphologisch selektierter Spermien (IMSI). Beurteilt werden das Vorhandensein und das Ausmaß von Vakuolen im Spermienkopf, bei hoher Vergrößerung im Lichtmikroskop, mit Hilfe von digitaler Bildbearbeitung. Spermien ohne Vakuolen werden selektiert und für die IMSI verwendet. Dieser Vorgang wird als „Motile Sperm Organelle Morphology Examination“ oder „MSOME“ bezeichnet. Eine weitere Methode zur Spermien Selektion stellt die polarisationsmikroskopische Spermienbeurteilung dar. In dieser wird die Lichtbrechung an den Spermienköpfen untersucht. Unter dem Polarisationsmikroskop werden Spermien mit teilweiser Lichtbrechung im Bereich des Spermienkopfes von Spermien mit gleichförmiger Lichtbrechung selektiert. Nur diese Spermien welche eine teilweise Lichtbrechung aufweisen werden für die ICSI verwendet. Spermien mit nur teilweiser Lichtbrechung führten in Studien zu höheren Schwangerschafts- und Implantationsraten, künstliche Befruchtungen mit Spermien ohne Vakuolen wiesen niedrigere Abortraten auf. (vgl. Ludwig et al. 2010, S. 169-170, Lo Monte et al. 2013)

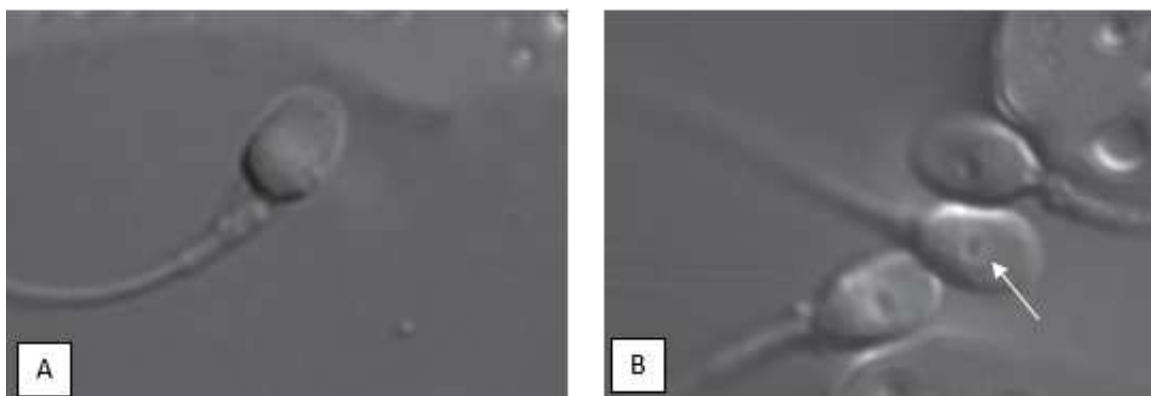


Abb. 25: Spermien in 6300-facher Vergrößerung, vgl. Ebner et al. 2011

- A:** Ein Spermium ohne Vakuole
- B:** Spermien mit kleinen Vakuolen

2.8. Methoden zur künstlichen Befruchtung der Eizelle

2.8.1. Intrazytoplasmatische Spermieninjektion (ICSI)

Abgesehen von der instrumentellen Befruchtung der Eizelle mittels einer Einstichpipette sind die Verfahrensschritte bei der ICSI gleich wie bei der IVF. Die Mikromanipulationstechnik zur Befruchtung findet unter einem speziellen Mikroskop statt. Unter diesem ist eine Haltepipette zur Fixation der Eizelle sowie eine Injektions- oder Einstichpipette für das Einbringen des Spermiums in das Zytoplasma der Eizelle vorhanden. Ein einzelnes, ausgewähltes Spermium wird in Kulturmedium gewaschen und in einem spermienimmobilisierenden Medium bewegungsunfähig gemacht. Dieses Verfahren ist notwendig da eine Beschädigung der Plasmamembran des Spermiums im Rahmen der Befruchtung bei der Aktivierung der Eizelle eine wichtige Rolle spielt. Dieser natürliche Vorgang würde bei der ICSI ohne Immobilisierung des Spermiums wegfallen. Die Immobilisierung des Spermiums löst die notwendige Beschädigung der Plasmamembran des Spermiums aus. Techniken zur Immobilisierung des Spermiums sind die mechanische Manipulation der Geißel des Spermiums, das Beschießen des Spermiums mit Laserimpulsen niedriger Energie, das Eintauchen der Spermien in Medien mit immobilisierenden Wirkstoffen und die piezoelektrische Manipulation der Spermien. (vgl. Velaers et al. 2012) Die präparierte Eizelle wird in die Einstichpipette aufgezogen.

Die Eizelle im Nährmedium wird von der Haltepipette fixiert während die Einstichpipette mit dem Spermium in das Zytoplasma der Eizelle geführt wird. Etwas Ooplasma wird in die Einstichpipette aspiriert bevor dann das Spermium mit dem aufgezogenen Ooplasma in die Eizelle injiziert wird. Die so befruchtete Eizelle wird wie bei der IVF in einem Nährmedium inkubiert. (vgl. Merchant et al. 2011)

Vor der Durchführung der ICSI wurden die Cumulus-Oozyten-Complexe in unserer Studie eine halbe Minute in 80 Einheiten Hyaluronidase (Origio, Måløv, Dänemark) getaucht um die Cumulus-Zellen zu entfernen und somit eine adäquate Qualitätsevaluierung der Oozyten zu ermöglichen.

2.8.2. In vitro Fertilisation (IVF)

Bei der herkömmlichen IVF werden die Oozyten, den in vivo stattfindenden Prozessen nachempfunden, in einem Kulturschälchen mit den Samenzellen in Kontakt gebracht. Die Befruchtung, also die Penetration der Samenzelle in die Eizelle findet ohne menschliches Zutun statt. Vor der Zusammenführung der Eizellen und Spermien werden die Eizellen für ein bis vier Stunden in einem besonderen Nährmedium inkubiert. (vgl. Gätje et al. 2011, S. 332). Das Nährmedium in welchem die Insemination erfolgt sollte reich an Aminosäuren sein und einen pH-Wert von 7,3 bis 7,35 aufweisen. Der pH-Wert wird durch den richtigen CO₂-Gehalt im Inkubator, meist um die 6%, konstant gehalten. (vgl. Balaban et al. 2014) Auf die Oozyten wird einzeln oder in der Gruppe ein Medium, welches eine Konzentration von 100 000 progressiv beweglichen Spermien pro Milliliter aufweist, aufgebracht. Sollten die Spermien suboptimale Parameter hinsichtlich der Beweglichkeit aufweisen, kann die Konzentration bis auf 300 000 Spermien pro Milliliter erhöht werden. Die Eizellen werden routinemäßig über Nacht, also ca. 16 - 20 Stunden mit den Spermien inkubiert.

Die eigentliche Bindung der Spermien an die Zona pellucida und die Befruchtung finden normalerweise innerhalb der ersten ein bis drei Stunden nach der Zusammenführung mit den Spermien statt. Um die erfolgreiche Fertilisation beurteilen zu können müssen die um die Eizelle verbliebenen Cumuluszellen entfernt werden. (vgl. Elder und Dale 2011, S. 161-162) Bei diesem Vorgang, welcher auch als Denudation der Oozyte bezeichnet wird, wird eine Kombination aus enzymatischer Verdauung und mechanischer Feinpräparation angewendet. Wurde die Eizelle befruchtet, zeigen sich zwei Polkörperchen und zwei Vorkerne, als Zeichen der abgeschlossenen zweiten Reifeteilung. (vgl. Diedrich et al. 2013, S. 218)

Die in unserer Studie für die IVF verwendeten Spermien wurden unter Gebrauch eines speziellen Spermioselektors ausgewählt. (Ebner et al. 2011, Seiringer et al. 2013) Folglich wurden die Oozyten besamt, dabei wurden durchschnittlich 25000 bis 50000 Spermien pro Oozyte verwendet.

2.9. Entwicklung der Embryonen in vitro

Die erste mitotische Teilung

16 bis 18 Stunden nach der Insemination der Oozyte durch IVF oder ICSI wird die, wenn eine Befruchtung stattgefunden hat, entstandene Zygote untersucht. In diesem Vorkernstadium besitzt die befruchtete Eizelle zwei zentrale, im Zytoplasma liegende Vorkerne, die sogenannten Pronuklei, und zwei angelagerte Polkörperchen. Bei der Evaluierung der Zygote haben sich zwei Scoring-Systeme etabliert, das Bewertungssystem nach Tesarik und Greco sowie jenes nach Scott und Smith. In beiden Systemen wird die Morphologie, die Anzahl und die Verteilung der sich in den Vorkernen befindlichen Kernkörperchen, den sogenannten Nucleoli, evaluiert. Eine gleichmäßige Anzahl, Form und Verteilung wird als positives Qualitätsmerkmal angesehen und ist in Studien mit erhöhten Schwangerschaftsraten assoziiert. Es wird angenommen, dass eine ungleichmäßige Anzahl und Verteilung der Nucleoli in den Vorkernen mit chromosomalen Anomalien zusammenhängen könnte. (vgl. Ambartsumyan und Clark 2008) Das zweite evaluierte Qualitätskriterium ist die erste mitotische Teilung. Diese wird 23 bis 27 Stunden nach der Insemination erhoben. Nach der ersten Zellteilung besteht der Embryo aus zwei Blastomeren. Als positiv wird hier eine frühe erste Zellteilung, innerhalb der ersten 24 Stunden nach der Befruchtung, gewertet. Bei Embryonen mit einer frühen ersten Zellteilung konnten erhöhte Implantationsraten beschrieben werden. (vgl. Lawler et al. 2007, Lundin et al 2001)



Abb. 26: befruchtete Eizelle im Vorkernstadium, Kaufmann et al. 2013, S. 183

Vom 2-Zell-Stadium zur Morula

Auch während der nächsten Teilungsschritte wird der Embryo evaluiert. Die Geschwindigkeit der Zellteilung gilt als Qualitätsmerkmal. Die Entwicklung zum 4-Zell-Embryo sollte am zweiten Tag nach der Befruchtung abgeschlossen sein, die Entwicklung zum 8-Zell-Embryo am dritten Tag. Das Morula-Stadium, als welches das 16-Zell-Stadium Stadium des Embryos bezeichnet wird, sollte am vierten Tag erreicht sein. Während diesen Entwicklungsstadien gilt die gleichmäßige Größe der Blastomere, eine geringe Anzahl an zytoplasmatischen Fragmenten sowie das Vorhandensein von nur einem Nukleus pro Blastomer als positive Bewertungskriterien. (vgl. Diedrich et al. 2013, S. 229)

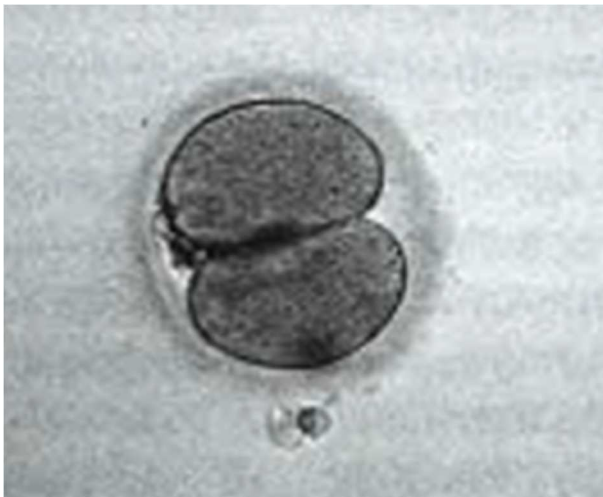


Abb. 27: Embryo im Zweizellstadium - die zwei Blastomeren sind gleich groß, Kaufmann et al. 2013, S. 183

Die Blastozyste

Besitzt ein Embryo zwei verschiedene Zellkomponente, eine äußere Zellschicht, den Trophoblast und eine innere Zellmasse, den Embryoblast sowie eine flüssigkeitsgefüllte Blastozystenhöhle spricht man von ihm als Blastozyste. In diesem Stadium „schlüpft“ der Embryo aus der Zona pellucida welche in vivo die vorzeitige Einnistung in die Tubenwand verhindert. Dieses Stadium erreicht der Embryo für gewöhnlich am fünften oder sechsten Tag nach der Befruchtung. (vgl. Ulfing 2009, S. 18) Bei der Bewertung der Blastozysten wird meist das Bewertungssystem nach Gardner et al. verwendet. (vgl. Nasiri et al. 2015) In diesem Verfahren werden drei Qualitäten evaluiert. Das Expansions- beziehungsweise Schlüpfverhalten der Blastozyste, die Morphologie des Trophoplasten und die Morphologie des Embryoblasten. Als positive Qualitätsmerkmale gelten ein fortgeschrittener oder abgeschlossener Schlüpfvorgang aus der Zona pelucida, eine Embryoblast aus vielen, dicht gepackten Zellen sowie ein Trophoblast aus vielen eng aneinander liegenden Zellen. (Gardner et al. 2000)



Abb. 28: Blastozyste am 5ten Tag nach der Follikelpunktion, Diedrich et al 2013, S. 228

2.10. Der Embryonentransfer

Der richtige Zeitpunkt

Der Embryonentransfer findet, abhängig von der Entwicklung und Qualität der befruchteten Eizellen, im frühen Teilungsstadium am zweiten oder dritten Tag nach der Follikelpunktion oder am fünften Tag nach der Follikelpunktion, wenn sich der Embryo schon im Blastozysten-Stadium befindet, statt. Die Implantationsraten bei Embryonen welche am zweiten oder dritten Tag transferiert werden sind mit ca. 12 % pro Embryo relativ niedrig. Deshalb werden oft mehrere Embryonen transferiert um eine bessere Schwangerschaftsrate zu erreichen. (vgl. Stecher et al. 1999) Dies führt jedoch zu einer erhöhten Rate an Mehrlingsschwangerschaften welche ein vermehrtes Risiko für perinatale, maternale und neonatanale Komplikationen aufweisen. (vgl. Kovacs 2014, Blondel et al. 2002) Im deutschsprachigen Raum ist daher die erlaubte Anzahl von transferierten Embryonen auf zwei bis maximal drei begrenzt. (vgl. Ferraretti et al. 2012) Bei den Transfers von Embryonen im Blastozysten-Stadium konnten höhere Implantationsraten beobachtet werden. Dies wird einerseits darauf zurückgeführt, dass der Embryo auch in vivo den Uterus erst im Morula- oder Blastozysten-Stadium erreicht und somit eine bessere physiologische Synchronisation mit dem Uterusgewebe besteht, andererseits darauf, dass Embryonen welche einmal das Blastozysten-Stadium erreicht haben, ein niedrigeres Risiko für vorhandene chromosomale Anomalien aufweisen. (vgl. Kaur et al. 2014)

In unserer Studie wurde die Befruchtung der Eizellen, welche durch das Vorhandensein von zwei Vorkernen und zwei Polkörperchen charakterisiert ist, 19 bis 20 Stunden nach der IVF beziehungsweise ISCI kontrolliert. Die Zygoten wurden in Gruppen von 2-5 Embryonen in 30 µl Tropfen von Blast Assist-Medium (Origio) eingebracht und in Inkubatoren (MinC, Cook, Wien, Österreich) bei reduziertem Sauerstoff-Gehalt inkubiert. Am zweiten und dritten Tag wurden die Embryonen hinsichtlich der Teilung, der Anzahl der Blastomeren, dem Grad der Fragmentierung sowie dem Vorhandensein von Nukleolen und ungleichgroßen Zellen observiert. Fand an diesen Tagen kein Transfer statt, wurden die Embryonen erneut in Blast Assist-Medium

eingebraucht und bis zum fünften Tag kultiviert. In unserer Studie wurden in 106 von 258 Zyklen Blastozysten kultiviert und transferiert, was einem Prozentsatz von 41,1 entspricht. Alle verwendeten Blastozysten wurden nach den aktuellen Guidelines (ALPHA & ESHRE 2011) hinsichtlich ihrer Expansion, ihres Embryoblasten und ihres Throphoblasten untersucht.

Die Durchführung

Die Patientin wird in Steinschnittlage gelagert. Individuell auf die Patientin abgestimmt, kann der Eingriff in Narkose oder in wachem Zustand erfolgen. Die Vagina wird desinfiziert, der Muttermund in der Spiegeleinstellung dargestellt und der Zervikalschleim entfernt. Der Transfer der Embryonen via Katheter in den Uterus kann blind oder ultraschallgezielt erfolgen. Empfohlen werden ultraschallgezielte Transfers, da mit diesen in Studien höhere Schwangerschaftsraten erzielt werden konnten. (vgl. Matorras et al. 2002) Dabei ist es von Vorteil wenn die Patientin während des Transfers eine volle Harnblase aufweist, da diese zu einer Geraderichtung des Uterus und zu einer besseren Sicht auf den Transferkatheter im transabdominalen Ultraschall führt. (Lorusso et al. 2005) Der Katheter wird durch den Muttermund in den Uterus geführt und der Embryo 15-20 mm unter dem Fundus uteri platziert. (Coroleu et al. 2002)

Dabei existieren mehrere Verfahren in Bezug auf die Katheter-Technik. Bei der „Probe-Transfertechnik“ wird zuerst ein leerer Katheter in den Uterus eingeführt um die Länge und Position des Uterus sowie die Schwierigkeit der Passage des Muttermundes zu überprüfen. Erst dann erfolgt der Embryonentransfer über einen zweiten Katheter. Eine andere Methode ist die „Afterload-Technik“, bei dieser wird ein leerer Katheter in den Uterus eingeführt, durch diesen wird dann ein zweiter Katheter mit dem Embryo in den Uterus vorgeschoben. So können die Vorteile der „Probe-Transfertechnik“ genutzt und die Manipulation am Embryo sowie Verletzungen des Endometriums minimiert werden. (vgl. Neithardt et al. 2005) Eine alternative Technik des Embryonentransfers stellt der transmyometrale Embryotransfer dar welcher auch als „Towako-Methode“ bezeichnet wird. Eine endovaginale

Ultraschallsonde sorgt für direkte Sicht, unter dieser wird eine Hohlnadel durch das Myometrium in den Uterus eingeführt. Durch die Hohlnadel wird dann der Katheter mit dem Embryo in den Uterus eingebracht. Diese Methode kann zum Beispiel bei einer schweren zervikalen Stenose eingesetzt werden. Nach erfolgtem Embryotransfer wird der Katheter zurückgezogen und gespült um etwaig zurückgebliebene Embryonen zu identifizieren. Die Patientin wird auf eine Liege umgelagert und bleibt noch für ca. 30 Minuten liegen, dann kann sie nach Hause entlassen werden. Eine anschließende, verlängerte Bettruhe wird nicht empfohlen. (vgl. Healy et al. 2015)

In der Studie wurde der Transfer mit Hilfe von Gynetics-Katheter (Gynemed, Lensahn, Deutschland) durchgeführt. Zuvor wurde kein „assisted hatching“ vorgenommen.

2.11. Das Ziel- eine Schwangerschaft

Zur Evaluierung des Erfolgs des Embryonentransfers wird 11 bis 13 Tage nach dem Transfer das Serum der Patientin hinsichtlich der Konzentration an humanem Choriongonadotropin der Untergruppe β (β -hCG) untersucht. (vgl. Zeadna et al. 2015) Dieses Hormon wird vom Trophoblastengewebe der Blastozyste gebildet um die Abstoßung des Endometriums zu verhindern. Diese β -hCG-Erhöhung welche als „biochemische Schwangerschaft“ bezeichnet wird, kann auch bei einer ektopen Schwangerschaft oder einer Molenschwangerschaft vorhanden sein. (vgl. Rath et al. 2010, S. 124-125) Die biochemische Schwangerschaft bezeichnet also eine erfolgte Implantation und nicht per se eine existente Schwangerschaft. Etwa zwei Wochen nach dem positiven Schwangerschaftstest wird eine transvaginale Ultraschalluntersuchung zur Evaluierung der klinischen, also tatsächlichen Schwangerschaft durchgeführt. Laut der World Health Organisation (WHO) definiert sich die bewiesene, klinische Schwangerschaft durch den Nachweis einer Fruchthöhle, des sogenannten „Gestationssacks“ im Ultraschall. In Österreich muss jedoch eine sonographisch gesicherte, bildlich dokumentierte Herzaktion ab der fünften Schwangerschaftswoche vorhanden sein, um von einer klinischen Schwangerschaft sprechen zu können und somit den Erfolg der künstlichen Befruchtung zu bestätigen. (vgl. Tews et al. 2005)

2.12. **Statistische Auswertung**

Die Daten wurden mit Hilfe des Statistikprogrammes SPSS der Version 22 (SPSS, Inc., Chicago, IL) analysiert. Der Effekt der verschiedenen Schweregrade der Endometriose (keine Endometriose, Stadium I, II, III und IV) auf die Befruchtungs-, Schwangerschafts-, Lebendgeburten- und Abortraten wurde unter Anwendung eines binär-logistischen Modells ermittelt, dabei wurden der AMH-Wert und das Alter als Kovariablen angenommen. Die Mittelwertdifferenz unter den vier Endometriosegruppen bezüglich der Daten zur Stimulation wurde durch ein allgemeines lineares Modell berechnet, wobei der Grad der Endometriose als Faktor und das Alter als Kovariable angenommen wurde. Mediane Differenzen der nicht-normal verteilten Parameter unter den vier Endometriosegruppen wurden durch einen Median-Test mit unabhängigen Stichproben erhoben. Für die univariate Analyse von unabhängigen kategorischen Variablen wurde der Qui-Quadrat Test verwendet. Der Wert für die Signifikanz wurde durchgehend bei 5% festgesetzt.

3. Ergebnisse

3.1. Hat die Endometriose-Erkrankung Einfluss auf die ovarielle Stimulation?

Wie aus **Tabelle 1** auf Seite 66 hervorgeht gab es keine signifikanten demografischen Unterschiede zwischen den beiden Patientengruppen. Ebenso wenig gab es markante Abweichungen in den hormonellen Ausgangswerten. Es zeigte sich jedoch eine tendenziell längere Stimulationszeit bei den Behandlungszyklen der Endometriosepatientinnen ($p= 0,08$). Wir betrachteten in weiterer Folge die gleichen Parameter unter Beachtung der verschiedenen Endometriosegrade. Dabei zeigte sich, dass bei Endometriose des Grades III und IV die Stimulation signifikant länger dauerte, als bei den mildereren Formen Grad I und Grad II und als in der Kontrollgruppe ($p<0,05$). Des Weiteren stellte sich heraus, dass die schwereren Formen der Endometriose Grad III und IV, im Vergleich zu den mildereren Formen Grad I und II ($p= 0,012$) und der Kontrollgruppe ($p=0,003$) signifikant mehr Gonadotropine brauchten um eine vergleichbare Anzahl an reifen Oozyten zu entwickeln. (siehe **Tabelle 2** auf S. 66)

	Keine Endometriose	Endometriose	P-Wert
Patienten	119	114	
Zyklen	129	129	
Zyklen mit IVF	23	23	
Alter (Jahre)	33,1 ± 4,4	33,2 ± 4,4	0,87
vorhergegangene Zyklen	0,5 ± 0,9	0,6 ± 1,0	0,72
Basales AMH (ng/ml)	3,1 ± 2,1	3,2 ± 2,3	0,94
Basales FSH (mU/ml)	7,7 ± 3,2	7,9 ± 2,6	0,60
Basales LH (mU/ml)	5,5 ± 2,4	5,3 ± 2,6	0,68
Basales Estradiol (mU/ml)	48,5 ± 30,0	49,7 ± 42,3	0,82
Antagonisten-Protokoll	66 (51,2%)	55 (42,6%)	0,17
Gonadotropin-Dosis (IU/ml)	2158 ± 815	2338 ± 1005	0,12
Stimulationsdauer (Tage)	10,4 ± 1,8	10,8 ± 2,2	0,08
Estradiolspiegel bei der Ovulations-Induktion (pg/ml)	1743 ± 1314	1475 ± 887	0,11
Progesteronspiegel bei der Ovulations-Induktion (pg/ml)	0,7 ± 0,3	0,6 ± 0,4	0,24
LH-Spiegel bei der Ovulations-Induktion (pg/ml)	2,2 ± 1,9	1,9 ± 1,3	0,30

Tabelle 1: Daten zur Demografie und ovariellen Stimulation bei Patientinnen mit und ohne Endometriose.

Schwere der Endometriose	verabreichte Gonadotropine (IU/ml)
Grad I	2164 ± 947
Grad II	2140 ± 990
Grad III	2624 ± 1092
Grad IV	2583 ± 884

Tabelle 2: Die benötigte Dosis an Gonadotropinen abhängig vom Schweregrad der Endometriose.

3.2. Hat die Endometriose-Erkrankung Einfluss auf die Reife und Qualität der Eizellen?

In unserer Studie wurden insgesamt 2343 Cumulus- Oozyten-Komplexe (COC) bei den Follikelpunktionen gewonnen. Davon stammten 1143 COC aus der Gruppe mit Endometriose und 1200 aus der Gruppe ohne Endometriose. Der Mittelwert der gewonnenen Anzahl an COC pro Patientin unterschied sich nicht signifikant zwischen der Endometriose negativen Gruppe ($9,3 \pm 5,9$) und der Endometriose positiven Gruppe ($8,9 \pm 5,5$). Auch das Vorhandensein von blutigen Rückständen an den COC zeigte sich gleichmäßig verteilt. In der Gruppe mit Endometriose belief sich der Anteil an COC mit blutigen Rückständen auf 11,6%, in der Gruppe ohne Endometriose auf 12,2%.

Insgesamt wurden in der Studie 1833 COCs der ICSI zugeführt. Wie in der **Tabelle 3** auf Seite 68 ersichtlich, zeigte sich, dass nicht nur die Nummer an, für die Spermieninjektion geeigneten, reifen Oozyten ($p < 0,05$) sondern auch der Prozentsatz an morphologisch normalen Oozyten ($p < 0,0001$) negativ durch die Endometriose-Erkrankung beeinflusst wurde. Dabei fand sich unter den morphologischen Anomalien der Oozyten, der von der Endometriose betroffenen Gruppe, eine Häufung von bräunlichen Verfärbungen des Zytoplasmas ($p < 0,0001$) sowie von refraktilen Körpern ($p < 0,001$). Des Weiteren betrachteten wir dieselben Parameter unter Beachtung der vier verschiedenen Schweregrade (siehe **Tabelle 4** auf S. 69). Dabei stellte sich heraus, dass refraktile Körper signifikant öfter bei Endometriose des Grades vier auftreten. Das Auftreten der bräunlichen Verfärbung der Oozyten konnte hingegen in allen vier Schweregraden gleich stark beobachtet werden. Diese beiden Anomalien hatten im späteren Verlauf jedoch weder einen Effekt auf die Befruchtung noch auf die Entwicklung und Qualität der Blastozysten.

ICSI	Keine Endometriose	Endometriose	P-Wert
Anzahl an COC	926	907	
MII geeignet für ICSI	729 (78,7)	675 (74,4)	0,03
MII normal	466 (63,9)	359 (53,2)	<0,0001
MII dysmorph:			
Refrakter Körper	43 (5,9)	80 (11,9)	<0,0001
Zentrale Granulation	136 (18,7)	140 (20,7)	0,33
Vakuolen	33 (4,5)	20 (3,0)	0,13
Aggregiertes gER	1 (0,1)	2 (0,3)	0,52
Braune Verfärbung	5 (0,7)	21 (3,1)	0,009
Granulationen im perivitellinen Spalt	38 (5,2)	42 (6,2)	0,42
Ovale Form	7 (1,0)	11 (1,6)	0,27
Befruchtung (2PN)	546 (74,9)	519 (76,9)	0,38
Embryos guter Qualität am Tag 3	339 (62,1)	311 (59,9)	0,47
Blastozystentransfers	41/106 (38,7)	45/106 (42,5)	0,58
Oozyten kultiviert bis Tag 5	298	314	
Blastozysten	175 (58,7)	204 (65,0)	0,11
Blastozysten guter Qualität	129 (73,7)	153 (75,0)	0,78
Reife Blastozysten	123 (70,3)	134 (65,7)	0,34
Die Werte in Klammer sind Prozentwerte. COC: Cumulus-Oozyten-Komplex, MII: Oozyte im Metaphase II-Stadium, PN: Pronuklei, gER: glattes endoplasmatisches Retikulum. Es wurde der Qui-Quadrat Test ohne Korrektur für multiple Zyklen pro Patient angewandt.			

Tabelle 3: Die Eizellqualität und das Outcome im Rahmen des ICSI-Verfahrens in der Endometriose- und in der Kontrollgruppe.

Grad der Endometriose	I	II	III	IV
Anzahl an ICSI	45	17	30	14
Anzahl an COC	389	144	290	84
Mittlere Anzahl der COC pro Patient	8,6±5,9	8,5±4,3	9,7±6,4	6,0±3,8
Blutige Rückstände an den COC	38 (9,8)	22 (15,3)	38 (13,1)	15 (17,9)
MII geeignet für ICSI	309 (80,5) ^{a,b}	94 (65,3) ^{a,c}	206 (71,0) ^{b,d}	72 (85,7) ^{c,d}
MII normal	176 (57,0) ^e	50 (53,2) ^f	117(56,8) ^g	22 (30,6) ^{e,f,g}
MII dysmorph				
Refrakter Körper*	28 (9,1)	21 (22,3)	6 (2,9)	25 (34,7)
Zentrale Granulation	61 (19,7)	13 (13,8)	53 (25,7)	13 (18,1)
Vakuolen	9 (2,9)	1 (1,1)	10 (4,9)	0
Aggregiertes gER	1 (0,3)	0	1 (0,5)	0
Braune Verfärbung	13 (4,2)	3 (3,2)	4 (1,9)	1 (1,4)
Granulationen im perivitellinen Spalt	20 (6,5)	3 (3,2)	11 (5,3)	8 (11,1)
Ovale Form	1 (0,3)	3 (3,2)	4 (1,9)	3 (4,2)
Befruchtung (2PN)	230 (74,7)	72 (76,6)	159 (77,2)	58 (80,6)
Blastozystentransfer	19 (42,2)	9 (52,9)	14 (46,7)	3 (21,4)
Oozyten kultiviert bis Tag 5	130	48	118	18
Blastozysten	93 (71,5)	27 (56,3)	73 (61,9)	11 (61,1)
Reife Blastozysten	65 (69,9)	19 (70,4)	45 (61,6)	5 (45,5)
Blastozysten guter Qualität**	74 (79,6)	22 (81,5)	50 (68,5)	7 (63,6)
^a P<0,05 ^{b,c,e} P<0,0001 ^{d,f} P<0,01 ^g P<0,001 * P<0,0001 (Endometriose Grad IV vs. Endometriose Grad I-III) ** P<0,05 (Endometriose Grad III+IV vs. Endometriose Grad I+II)				
Die Werte in Klammer sind Prozentwerte. COC: Cumulus-Oozyten-Komplex, MII: Oozyte im Metaphase II-Stadium, PN: Pronuklei, gER: glattes endoplasmatisches Retikulum. Es wurde der Qui-Quadrat Test ohne Korrektur für multiple Zyklen pro Patient angewandt.				

Tabelle 4: Die Eizellqualität und das Outcome im Rahmen des ICSI-Verfahrens abhängig vom Schweregrad der Endometriose.

Für das konventionelle IVF-Verfahren wurden in unserer Studie insgesamt 510 Cumulus-Oozyten-Komplexe herangezogen. Dabei zeigte sich, bei COC von Patientinnen mit Endometriose, eine signifikant erniedrigte Befruchtungsrate ($p < 0,05$) im Vergleich zur Kontrollgruppe. War die Befruchtung jedoch einmal erfolgt war die Entwicklungsrate zur Blastozyste fast gleich hoch wie in der Kontrollgruppe (siehe **Tabelle 5**). Auch bei der Qualität und Reifung der Blastozysten konnten keine Unterschiede zwischen den beiden Gruppen erhoben werden. Bei der Betrachtung der verschiedenen Schweregrade der Endometriose (siehe **Tabelle 6** auf S. 71) fiel in der Gruppe der Endometriose Grad IV eine tendenziell niedrigere Rate an Blastozystentransfers ($p = 0,08$) verglichen mit den Gruppen mit mildereren Schweregraden auf. Signifikant erhöht ($p = 0,02$) zeigte sich bei den schwereren Formen der Endometriose (Grad III- IV), die Rate an Befruchtungsversagen im Vergleich zu den mildereren Graden I-II. Auch in der Kontrollgruppe fanden sich signifikant weniger Fälle von Befruchtungsversagen als in der Gruppe mit der schweren Endometriose Grad IV ($p = 0,03$). Zur Gruppe mit der milden Endometriose Grad I gab es in dieser Hinsicht jedoch keinen Unterschied.

IVF	Keine Endometriose	Endometriose	P-Wert
Anzahl an COC	274	236	
Befruchtung (2PN)	149 (54,4)	106 (44,9)	0,03
Blastozystentransfers	12	8	
Oozyten kultiviert bis Tag 5	127	56	
Blastozysten	70 (55,1)	38 (67,9)	0,11
Blastozysten guter Qualität	52 (74,3)	25 (65,8)	0,35
Die Werte in Klammer sind Prozentwerte. COC: Cumulus-Oozyten-Komplex, MII: Oozyte im Metaphase II-Stadium, PN: Pronuklei, gER: glattes endoplasmatisches Retikulum. Es wurde der Qui-Quadrat Test ohne Korrektur für multiple Zyklen pro Patient angewandt.			

Tabelle 5: Die Eizellqualität und das Outcome im Rahmen des IVF-Verfahrens in der Endometriose- und in der Kontrollgruppe.

Grad der Endometriose	I	II	III	IV
Anzahl an IVF	9	5	6	3
Anzahl an COC	95	48	54	39
Befruchtung (2PN)**	43 (45,3)	27 (56,3)	20 (37,0)	16 (41,0)
Blastozystentransfer	3	4	0	1
Oozyten kultiviert bis Tag 5	20	25	0	11
Blastozysten	10 (50,0)	22 (88,0)	0	8 (72,7)
Blastozysten guter Qualität	8 (80,8)	13 (59,1)	0	4 (50,0)
** P<0,05 (Endometriose Grad III+IV vs. Endometriose Grad I+II)				
Die Werte in Klammer sind Prozentwerte. COC: Cumulus-Oozyten-Komplex, MII: Oozyte im Metaphase II-Stadium, PN: Pronuklei, gER: glattes endoplasmatisches Retikulum. Es wurde der Qui-Quadrat Test ohne Korrektur für multiple Zyklen pro Patient angewandt.				

Tabelle 6: Die Eizellqualität und das Outcome im Rahmen des IVF-Verfahrens abhängig vom Schweregrad der Endometriose.

3.3. Hat die Endometriose-Erkrankung Einfluss auf die Geburtenrate und das neonatale Outcome in der künstlichen Befruchtung?

Bei Endometriosepatientinnen wurde in 88% ein Embryonen- oder Blastozystentransfer durchgeführt, sie unterschieden sich hierbei nicht signifikant von der Kontrollgruppe, in welcher zu 85% ein Transfer stattfand. Die Rate an biochemischen, multiplen und klinischen Schwangerschaften, sowie die Rate an Implantationen und Lebendgeburten unterschieden sich in der Gruppe der Endometriosepatientinnen ebenfalls nicht signifikant von jenen in der Kontrollgruppe. Wie aus **Tabelle 7** auf Seite 73 hervorgeht zeigte sich das Babys von Endometriosepatientinnen durchschnittlich in der gleichen Gestationswoche, mit demselben Geburtsgewicht geboren wurden, wie die Babys von den Kontrollpatientinnen. Obwohl die Abortrate unter den Endometriosepatientinnen fast doppelt so hoch war wie in der Kontrollgruppe, konnte aufgrund der geringen Fallzahl keine signifikante Differenz erhoben werden ($p=0,11$). Bezüglich des Vorkommens an Missbildungen, wiesen beide Studiengruppen je einen Fall eines persistierenden Foramen ovale auf, zusätzlich gab es in der Gruppe der Endometriosepatientinnen einen Fall von Trisomie 21.

Grad der Endometriose	I	II	III	IV	Gruppe mit Endometriose	Kontrollgruppe
Befruchtungszyklen	54	22	36	17	129	129
Anzahl an Embryonen- oder Blastozystentransfers	49	21	29	15	114	110
positives hCG (positiver SS-Test)	21 (42,9)	10 (45,5)	10 (34,5)	5 (29,4)	46 (40,4)	41 (37,3)
Multiple SS	1/21 (4,8)	0	0	1/5 (20,0)	4/46 (8,7)	3/41 (6,8)
Anzahl an Lebendgeburten	17 (34,7)	5 (23,8)	3 (10,4)	5 (29,4)	30 (26,3)	33 (30,0)
Anzahl an Aborten	4 (19,0)	5 (50,0)	7 (70,0)	0	16 (34,8)	8 (19,5)
Implantationsraten	22/70 (31,4)	10/27 (37,0)	10/34 (29,4)	6/20 (30,0)	48/151 (31,8)	44/156 (28,2)
Gestationswoche	38,4±0,7	36,2±3,8	39,3±0,5	39,0±2,2	37,9±2,6	38,5±2,6
Geburtsgewicht	2947±233	2550±835	3299±226	3271±855	2911±681	3074±729
Geschlecht (m/w)	1,29	0,67	1,0	3,0	1,36	1,36
Geborene Kinder	18	5	4	6	33	36
Missbildungen	0	1 (20,0)	0	1 (20,0)	2 (6,1)	1 (2,8)
P>0,05 (binär-logistisches Modell mit den Kovariablen AMH-Wert und Alter)						
Die Werte in Klammer sind Prozentwerte. SS=Schwangerschaft. Das Geburtsgewicht wurde nur bei den Einling-Schwangerschaften erhoben.						

Tabelle 7: Schwangerschaftsraten und neonatales Outcome nach IVF- oder ICSI Verfahren beider verschiedenen Schweregraden der Endometriose und in der Kontrollgruppe.

4. Diskussion

Es ist allgemein bekannt, dass im Fall einer Endometriose-Erkrankung, die ovarielle Stimulation angepasst werden muss. Man fand heraus, dass sowohl die „Down-Regulierung“ im Agonisten-Protokoll (Norenstedt et al. 2001) als auch die Stimulation mit Gonadotropinen (Norenstedt et al. 2001; Dong et al. 2013) verlängert ist. Zusätzlich müssen mehr Einheiten an FSH verabreicht werden (Al-Fadhli et al. 2006; Coccia et al. 2011), eine Vorgehensweise welche oft dazu führt dass weniger Oozyten gewonnen werden als in den Kontrollgruppen ohne Endometriose. (Coccia et al. 2011; Dong et al. 2013). In unserer Studie konnten wir, abgesehen von einem Trend hin zur längeren Stimulation bei den Endometriosepatientinnen, keine weiteren Unterschiede zur Kontrollgruppe ohne Endometriose feststellen. Diese Abweichung von den anderen Studien könnte darin begründet sein, dass wir die beiden verglichenen Patientenkohorten auch nach dem AMH-Wert abstimmten. Da es Belege dafür gibt, dass in schwereren Formen der Endometriose (Grad III und IV) die AMH-Werte im Serum signifikant erniedrigt sind (Shebl et al. 2009), würde dies vielleicht erklären warum in unserer Studie die Anzahl der gewonnen Oozyten-Cumulus-Complexe sowohl in den vier verschiedenen Endometriosegraden als auch in der Kontrollgruppe ungefähr gleich war. Ein Umstand der uns zugutekam, da das Hauptaugenmerk unserer Studie auf der Qualität der Oozyten lag.

Abgesehen von dem erwiesenen Einfluss der Endometriose auf die uterine Rezeptivität (Giudice et al. 2002; Wei et al. 2009), die luteale Funktion (Cunha-Filho et al. 2003) und auf die Hypophysen-Ovarien-Achse (Cahill und Hull 2000) vermutet man heute, dass die Endometriose-Erkrankung auch direkten Einfluss auf das Ovar ausübt (Stilley et al. 2012). Dies bedeutet, dass das Risiko besteht dass auch die Eizellen direkt beeinflusst werden und somit in letzter Konsequenz auch die Embryonenentwicklung und das Implantationsverhalten betroffen sind.

In Tier-Studien mit Mäusen, mit induzierter Endometriose, zeigte die Gruppe, der von der Endometriose betroffenen Mäuse, signifikant mehr Eizellen mit Spindelanomalien und, als Konsequenz, inkomplett ausgestoßene erste Polkörper (Cohen et al. 2014). In einer anderen Studie beeinträchtigte die Follikelflüssigkeit

von Patientinnen mit milder Endometriose (Grad II), die Kernreifung und Leistung der Meiosespindel in Rindereizellen (Da Broi et al. 2014). In Studien mit humanem Patientengut wurden ähnliche Beobachtungen gemacht. Gianaroli et al. (2010) postulierten eine Verbindung zwischen Endometriose und der Formierung von aneuploiden Oozyten, da sie eine signifikant höhere Inzidenz von meiotischen Teilungsfehlern bei Oozyten von Endometriosepatientinnen feststellen konnten. Goud et al. (2014) unterstützten diese Hypothese, als sie eine Studie publizierten, in welcher sich erhöhte Raten von kortikalem Granula-Verlust sowie von Spindel-Rupturen bei Oozyten von Frauen mit Endometriose zeigten.

Da die, in den vorherig genannten Studien erhobenen, zytoskelettären Parameter nicht für jeden zugänglich sind, stellt sich uns die Frage ob es nicht auch morphologische Merkmale der, der Endometriose ausgesetzten, Oozyten gibt, welche eine Prognose für ihr weiteres Schicksal erlauben und wie die Stadieneinteilung der Endometriose in dieses Konzept passt. Bis jetzt existiert nur eine Publikation in welcher die Oozytenmorphologie bei Endometriosepatientinnen retrospektiv erhoben wurde, ohne dabei die Patientinnen nach der Schwere ihrer Erkrankung zu klassifizieren (Ceviren et al 2014). Die Autoren entdeckten, in Endometriose-positiven Zyklen, ein vermehrtes Auftreten einer Dymorphie der Oozyten, welche als „(dunkle) zentrale Granulation“ bezeichnet wird. Dieses Ergebnis konnten wir in unserer prospektiven Studie nicht bestätigen. Es wird vermutet, dass die beschriebene intrazytoplasmatische Anomalie im Zusammenhang mit dem Vorkommen von blutigen Rückständen in der Cumulus-Matrix der gewonnenen Cumulus-Oozyten-Komplexe steht (Ebner et al. 2008). Da sich in unserer Studie keine signifikante Differenz zwischen den beiden Studiengruppen, hinsichtlich dem Auftreten von blutigen Rückständen an den COC zeigte, würde dies gegen einen Zusammenhang der blutigen Kontamination mit der in unserer Studie signifikant erhöhten Rate an bräunlich verfärbten Gameten (sowohl das Ooplasma als auch die Zona pelucida waren betroffen) sprechen, obwohl er nicht ausgeschlossen werden kann. Zu erwähnen ist, dass das Auftreten der bräunlichen Verfärbung der Oozyten auch bei anderer Indikation als Endometriose dokumentiert wurde (Balaban et al. 1998; Esfandiari et al. 2006).

Die zweite signifikante Häufung eines morphologischen Phentypen zeigte sich in unserer Endometriose-positiven Studiengruppe, durch das vermehrte Auftreten von refraktilen Körpern. Diese zytoplasmatischen Inklusionen bestehen aus Lipofuszin (Otsuki et al. 2007) und haben vermutlich, abhängig von ihrer Größe, einen negativen Effekt auf die Befruchtung und weitere Entwicklung im ICSI-Verfahren (Fancsovits et al. 2012) und im Besonderen in der konventionellen IVF (Veeck 1999). Dies könnte eine mögliche Erklärung für die, in unserer Studie beim IVF-Verfahren aufgetretene, reduzierte Befruchtungsrate unter den Oozyten der Endometriosepatientinnen sein- ein Erklärungsansatz welcher vor kurzem auch in einer anderen Arbeit aufgegriffen wurde (Harb et al. 2013).

Alternativ könnte die verminderte Befruchtungsrate im IVF-Verfahren bei Endometriosepatientinnen auch mit einer niedrigeren Rate an reifen Oozyten zusammenhängen, wobei anzumerken ist, dass die COC welche unreife Gameten enthielten in unserem Endometriose-positiven Studienkollektiv gleichmäßig auf IVF- und ICSI-Zyklen verteilt waren. Andererseits lässt der signifikante Anstieg an komplettem Befruchtungsversagen durch IVF, bei schweren Formen der Endometriose, eher vermuten, dass die Spermien-Oozyten-Interaktion durch die Endometriose beeinträchtigt wird (Hull et al 1998). Tatsächlich zeigte sich im Elektronenmikroskop, dass eine dunkle, bräunliche Zona pellucida in ihrer äußeren Schicht zahlreiche, in ihrer Dichte erhöhte Partikel aufwies. Ein morphologisches Erscheinungsbild, welches sich von dem einer normalen Zona pellucida unterscheidet (Shi et al. 2012). Dies würde mit der beschriebenen, verlängerten Auflösungszeit der Zona pellucida bei Oozyten von Endometriosepatientinnen (Goud et al. 2014) in Einklang stehen. Des Weiteren existieren Hinweise dafür, dass die peritoneale Flüssigkeit von Endometriosepatientinnen die Bindungsfähigkeit der Spermien (Coddington et al. 1992) sowie die Spermienmotilität (Yoshida et al. 2004) beeinträchtigt und die DNA-Fragmentierung der Spermien (Mansour et al. 2009) fördert. Faktoren, welche alle Schlüsselrollen im Zusammenhang mit der Befruchtungskapazität spielen, in vivo, als auch in der konventionellen IVF. Das ICSI-Verfahren umgeht diese Problematik wie aus den Daten zur Befruchtung via ICSI-Verfahren und der gegenwärtigen Literatur hervorgeht (Balaban et al. 1998).

Im Gegensatz zu vorhergegangenen Publikationen (Norenstedt et al. 2001; Pauli et al. 2013) konnten wir keinen Einfluss der Endometriose-Erkrankung auf die präimplantative in vitro-Entwicklung des Embryos erheben. Auch andere Forscher (Al-Fadhli et al. 2006; Reinblatt et al. 2011) kamen zu diesem Ergebnis und unterstützen somit unsere Erkenntnisse bezüglich der unbeeinflussten Embryonenqualität und Blastozystenentwicklung. Lediglich der Umstand, dass in unserem Setting, besonders Patientinnen mit minimaler und milder Endometriose durchwegs häufiger Raten an Blastozysten guter Qualität aufwiesen, könnte Erklären warum die Raten von Implantation, klinischen Schwangerschaften und Lebendgeburten zwischen Patientinnen mit und ohne Endometriose, in unserer Studie, keine Unterschiede aufwiesen.

Wie dem auch sei, auch in der Literatur sind sich Kliniker und Embryologen nicht über diese Fragestellung einig. Manche sind davon überzeugt, dass Endometriose zu einer niedrigeren Rate an Implantationen als auch an Schwangerschaften führt (Cahill and Hull 2000; Kuivasaari et al 2005; Coccia et al. 2011) während andere diese Theorie nicht unterstützen (Norenstedt et al. 2001, Opøien et al. 2012; Dong et al. 2013; Barbosa et al. 2014). Kuivasaari et al. (2005) demonstrierten, dass wenn überhaupt, Endometriose der Grade III und IV für reduzierte Raten an Lebendgeburten verantwortlich ist. Der negative Effekt von Endometriose auf die Abortrate (Yanushpolsky et al. 1998; Hjordt Hansen et al. 2014) konnte in unserer Studie nicht bestätigt werden. Unsere Arbeit unterstützt die Publikationen von anderen Autoren welche keinen Zusammenhang zwischen Endometriose und der Abortrate feststellen konnten (Polat et al. 2014; Söritsa et al. 2015; Hamdan et al 2015). Es muss jedoch angemerkt werden, dass die Rate an Aborten und Missbildungen in unserer Kohorte mit Endometriose erhöht war, wenn auch nicht signifikant. Die Annahme, dass die meisten Missbildung durch Aneuploidien verursacht werden (Lathi and Miliki 2004) und das Auftreten eines Falles von Trisomie 21 in unserer Endometriosegruppe bestärkt die Arbeit von Gianaroli et al. 2010, welche der Endometriose einen Zusammenhang mit dem Auftreten von aneuploiden Oozyten zuschreibt. In diesem Fall wären höhere Raten an Aborten im Zusammenhang Endometriose ein durchaus denkbares Szenario.

Zusammenfassend betrachtet ist unsere Arbeit die Erste, welche sich detailliert mit der Oozytenmorphologie von, nach der Schwere ihrer Erkrankung klassifizierten, Endometriosepatientinnen befasst und mit deren möglichem Zusammenhang mit der Embryonenentwicklung in vitro sowie der Lebendgeburtenrate. Wir konnten zwei morphologische Anomalien erheben, das Auftreten von refraktilen Körpern und bräunlichen Verfärbungen, welche sich als typisch für Oozyten von Endometriosepatientinnen erwiesen. Besonders Oozyten von Patientinnen mit schwerer Endometriose Grad IV waren betroffen. Ob diese Dismorphismen die Ursache für die Befruchtungsprobleme im konventionellen IVF-Verfahren waren bleibt unklar. Basierend auf unseren Ergebnissen, sollte die Empfehlung ausgesprochen werden, das IVF-Verfahren nicht als erste Therapieoption bei Patientinnen mit Endometriose der Grade III und IV anzuwenden. In Fällen mit minimaler Endometriose Grad I oder milder Endometriose Grad II sehen wir keinen Grund dafür, sofort auf das ICSI-Verfahren zurückzugreifen. Waren die Oozyten erst einmal, via IVF- oder ICSI-Verfahren, befruchtet, machten wir in unserer Studie die Erfahrung, dass die Rate an Implantationen, Schwangerschaften und Lebendgeburten sowie, nicht uninteressant, auch das neonatale Outcome bei Patientinnen mit Endometriose sich als identisch mit jenem der Patientinnen ohne Endometriose erwies.

5. Quellenverzeichnis

1. Diedrich, Klaus; Ludwig, Michael; Griesinger, Georg: Reproduktionsmedizin. Heidelberg: Springer 2013.
2. Kaufmann, Manfred; Costa, Serban-Dan; Scharl, Anton: Die Gynäkologie. 3. Auflage, Heidelberg: Springer 2013.
3. Feige, Axel; Rempfen, Andreas; Würfel, Wolfgang; Jawny, Johannes; Rhode, Anke: Frauenheilkunde. Fortpflanzungsmedizin. Geburtsmedizin. Onkologie. Psychosomatik. 3. Auflage, München: Urban & Fischer, Elsevier GmbH 2006.
4. Jerman, L. F.; Hey-Cunningham, A. J.: The role of the lymphatic system in endometriosis: A comprehensive review of the literature. Biol Reprod 2015.
5. Ebert, Andreas D.: Endometriose: Ein Wegweiser für die Praxis. 3. Auflage, Berlin: Walter de Gruyter 2011.
6. Baltzer, Jörg; Friese, Klaus; Graf, Michael; Wolff, Friedrich: Praxis der Gynäkologie und Geburtshilfe. Das komplette Praxiswissen in einem Band. 1. Auflage, Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG 2004.
7. Laschke, M.W.; Menger, M.D.: Anti-angiogenic treatment strategies for the therapy of endometriosis. Human Reprod 2012.
8. Young, V.J.; Brown, J.K.; Sounders, P.T.K.; Horne, A.W.: The role of the peritoneum in the pathogenesis of endometriosis. Hum Reprod 2013.
9. Urdl, V.: Der derzeitige Stand der konservativen Therapie der Endometriose. J. Reproduktionsmed Endokrinol 2006.
10. Quinn, M. J.: Allen-Masters-Syndrome. AM J Obstet Gynecol 2006.

11. Dudenhauser, J. W.; Schneider, H. P. G.; Bastert, G.: Frauenheilkunde und Geburtshilfe. 2. Auflage, Berlin: Walter de Gruyter GmbH & Co. KG 2003.
12. Kiechle, Marion: Gynäkologie und Geburtshilfe. 2. Auflage, München: Elsevier GmbH 2011.
13. Schmidt-Matthiesen, Heinrich; Wallwiener, Diethelm: Gynäkologie und Geburtshilfe. Lehrbuch für Studium und Praxis. 10. Auflage, Stuttgart: Schattauer GmbH 2005.
14. Gätje, Regine; Eberle, Christine; Schulz, Christoph; Lübke, Marion; Solbach, Christine; Muschl, Katharina; Kissler, Stefan; Siedentopf, Frederike; Weißenbacher, Tobias; Debus, Gerlinde; Schuhmacher, Ina; Sänger, Nicole: Kurzlehrbuch. Gynäkologie und Geburtshilfe. 1. Auflage, Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG 2011.
15. von Wolff, Michael; Stute, Petra: Gynäkologie und Reproduktionsmedizin. Das Praxisbuch. 1. Auflage, Stuttgart: Schattauer GmbH 2013.
16. Ludwig, Michael: Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin. Aktuelle Themen der frauenärztlichen Praxis. 1. Auflage, München: Hans Marseille Verlag GmbH 2010.
17. Steck, Thomas; Felberbaum, Ricardo; Küpker, Wolfgang; Bruckner, Cosima; Finas, Dominique: Endometriose. Entstehung, Diagnose, Verlauf, Therapie. 1. Auflage, Wien: Springer-Verlag Wien 2004.
18. Haas, D.; Shebl, O.; Shamiyeh, A.; Oppelt, P.: The rASM score and the enzian classification for endometriosis: their strength and weaknesses. Acta Obstet Gynecol 2012.
19. Tuttlies, F.; Keckstein, J.; Ulrich, U.; Passover, M.; Schweppe, K. W.; Wustlich, M.; Buchweiz, O.; Greb, R.; Kandolf, O.; Mangold, R.; Masetti, W.; Neis, K.; Rauter, G.; Reeka, N.; Richter, O.; Schindler, A. E.; Sillem, M.;

- Terrhun, V.; Tinneberg, H. R.: Enzian-Klassifikation zur Diskussion gestellt: Eine neu differenzierte Klassifikation der tief infiltrierenden Endometriose. J Gynäkol Endokrinol. 2008.
20. Pfeleiderer, Albrecht; Breckwoltd, Meinert; Martius, Gerhard: Gynäkologie und Geburtshilfe. Sicher durch Studium und Praxis. 4. Auflage, Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG 2002.
21. Petru, Edgar: Gynäkologie. 8. Auflage, Graz: Servicebetrieb ÖH-Uni Graz GmbH 2010.
22. Mettler, L.; Ruprai, R.; Alkatout, I.: Impact of medical and surgical treatment of endometriosis on the cure of endometriosis and pain. BioMed Research International 2014.
23. Sõritsa, D.; Saare, M.; Laisk-Podar, T.; Peters, M.; Sõritsa, A.; Matt, K.; Karro, H.; Salumets, A.: Pregnancy rate in endometriosis patients according to the severity of the disease after using a combined approach of laparoscopy, GnRH agonist treatment and in vitro fertilization. Gynecol Obstet Invest 2015.
24. Fadhlou, A.; de la Jolinière, J. B.; Feki, A.: Endometriosis and infertility: how and when to treat? Frontiers in surgery 2014.
25. Bergquist, A.; Hooghe, T. D.: Mini symposium on pathogenesis of endometriosis and treatment of endometriosis-associated subfertility. Introduction: The endometriosis enigma. Human Reprod 2002.
26. Lemos, N. A.; Arbo, E.; Scalco, R.; Weiler, E.; Rosa, V.; Cunha-Filho, J. S.: Decreased anti-Müllerian hormone and altered ovarian follicular cohort in infertile patients with mild/minimal endometriosis. Fertil Steril 2008.
27. Ludwig, M.; Sonntag B.: LUF-Syndrom. Häufig, selten oder nicht existent? J Gynäkol Endokrinol 2010.

28. Revelli, A.; Martiny, G.; Delle Piane L.; Benescetto C.; Rinaudo P.; Turkaspa I.: A critical review of bi-dimensional and three-dimensional ultrasound techniques to monitor follicle growth: do they help improving IVF outcome? *Reprod Biol Endocrinol* 2014.
29. Magowan, Brian A.; Owen, Philip; Thomson, Andrew: *Clinical obstetrics and gynecology*. Third Edition, London: Elsevier Ltd. 2014.
30. Schmidt, Werner; Kurjak, Asim: *Farbdopplersonographie in Gynäkologie und Geburtshilfe*. 1. Auflage, Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG 2000.
31. Netter, Frank H.: *Netters Gynäkologie*. 1. Auflage, Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG 2006.
32. Felberbaum, R. E.; Diedrich, K.; Jonat ,W.; Ortmann, O.; Crohns, C.; Hußlein, E.-M.; Kolberg, H.-C.: *Facharztprüfung Gynäkologie und Geburtshilfe in Fällen, Fragen und Antworten*. 2. Auflage, München: Elsevier GmbH, Urban und Fischer Verlag 2009.
33. Nieschlag, Eberhard; Behre, Hermann M.; Nieschlag, Susan: *Andrologie. Grundlagen und Klinik der reproduktiven Gesundheit des Mannes*. 3. Auflage, Heidelberg: Springer Medizin Verlag 2009.
34. Malvezzi, H.; Sharma, R.; Agarwal, A.; Abuzenadah, A. M.; Abu-Elmagd, M.: Sperm quality after density gradient centrifugation with three commercially available media: a controlled trial. *Reprod Biol Endocrinol* 2014.
35. Ebner, T.; Filicori, M.; Tews, G.; Parmegiani, L.: A plea for a more physiological ISCI. *J Androl* 2011.

36. Lo Monte, G.; Murisier, F.; Piva, I.; Germond, M.; Marci, R.: Focus on intracytoplasmatic morphologically selected sperm injection (IMSI): a mini-review. Asian J Androl 2013.
37. Krause, Walter; Weidner, Wolfgang; Sperling, Herbert; Diemer, Thorsten: Andrologie. Krankheiten der männlichen Geschlechtsorgane. 4. Auflage, Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG 2011.
38. Anheuser, Petra; Steffens, Joachim: Risiken und Komplikationen in der Urologie: systematisch – praxisnah – präventiv. 1. Auflage, Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG 2012.
39. Keck, Christoph; Neulen, Joseph; Behre, Hermann M.; Breckwoldt, M.: Praxis der Frauenheilkunde: in 3 Bänden. Bd. 1. Endokrinologie, Reproduktionsmedizin, Andrologie. 2. Auflage, Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG 2002.
40. Hassa, H.; Aydin, Y.; Taplamacioğlu, F.: The role of perivitelline space abnormalities of oocytes in the development potential of embryos. J Turk Ger Gynecol Assoc 2014.
41. Ebner, T.; Moser, M.; Tews, G.: The importance of oocyte morphology with regard to further developmental capacity. J Reproduktionsmed Endokrinol 2006.
42. Rienzi, L.; Balaban, B.; Ebner, T.; Mandelbaum, J.: The oocyte. Human Reprod 2012.
43. Macas, Erwin; Wunder, Dorothea: Assistierte Reproduktionsmedizin. Techniken im IVF-Labor. Bern: Verlag Hans Huber Hogrefe AG 2006.
44. Balaban, B.; Sakkos, D.; Gardner, D. K.: Laboratory procedures for human in vitro fertilisation. Semin Reprod Med 2014.

45. Elder, Kay; Dale, Brian: In-Vitro Fertilisation. Third Edition, New York: Cambridge University Press 2011.
46. Seiringer, M.; Maurer, M.; Shebl, O.; Dreier, K.; Tews, G.; Ziehr, S.; Schappacher-Tilp, G.; Petek, E.; Ebner, T.: Efficacy of a sperm-selection chamber in terms of morphology, aneuploidy and DNA packaging. *Reprod Biomed Online* 2013.
47. Velaers, A.; Paternot, G.; Debrock, S.; D'Hooghe, T.; Spiessens C.: Triple touch sperm immobilization vs. single touch sperm immobilization in ISCI – a randomised trial. *Reprod Biol Endocrinol* 2012.
48. Merchant, R.; Gandhi, G.; Allahbadia, G. N.: In vitro fertilization/intracytoplasmatic sperm injection for male infertility. *Indian J Urol* 2011.
49. Ambartsumyan, G.; Clark, A. T.: Aneuploidy and early human embryo development. *Hum Mol Gen* 2008.
50. Lawler, C.; Baker, H. W.; Edgar, D. H.: Relationship between timing of syngamy, female age and implantation potential in human in- vitro fertilized oocytes. *Reprod Fertil* 2007.
51. Lundin, K.; Bergh, C.; Hardarson, T.: Early embryo cleavage is a strong indicator of embryo quality in human IVF. *Hum Reprod* 2001.
52. Ulfig, Norbert: *Kurzlehrbuch. Embryologie. 2. Auflage*, Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG 2009.
53. Nasiri, N.; Eftekhari-Yazdi, P.: An overview of the available methods for morphological scoring of pre-implantation embryos in in vitro fertilisation. *Cell J* 2015.

54. Gardner, D.K.; Lane, M.; Steven, J.; Schoolcraft W. B.: Blastocyst score affects implantation and pregnancy outcome: towards a single blastocyst transfer. *Fertil Steril* 2000.
55. Stecher, A.; Nijs, M.; Vandamme, B.; Vanderzwalmen, P.; Zech, H.; Zech, I.: Embryonalentwicklung in sequentiellen Kulturmedien. *J Fertil Reprod* 1999.
56. Kovacs, P.: Embryo selection: the role of time lapse monitoring. *Reprod Biol Endocrinol* 2014.
57. Blondel, B.; Kogan, M. D.; Alexander, G. R.; Dattani, N.; Kramer, M. S.; Macfarlane A.: The impact of the increasing number of multiple birth on the rates of preterm birth and low birthweight: an international study. *Am J Public Health* 2002.
58. Ferraretti, A. P.; Goossens, V.; de Mouzon, J.; Bhattacharya S.; Castilla, J. A.; Korsak, V.: Assisted reproductive technology in Europe, 2008: results generated from european registers by ESHRE. *Hum Reprod* 2012.
59. Kaur, P.; Swarankar, M. L.; Maheshwari, M.; Acharya, V.: A comparative study between cleavage stage embryo transfer at day 3 and blastocyst stage transfer at day 5 in in-vitro fertilization/intra-cytoplasmic sperm injection on clinical pregnancy rates. *J Hum Reprod Sci* 2014.
60. Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embryology. Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. *Reprod Biomed Online* 2011.
61. Matorras, R.; Urquijo, E.; Mendoza, R.; Corcóstegui, B.; Expósito, A.; Rodriguez-Escudero F. J.: Ultrasound guided embryo transfer improves pregnancy rates and increases the frequency of easy transfers. *Hum Reprod* 2002.

62. Lorusso, F.; Depalo, R.; Bettocchi, S.; Vacca, M.; Vimercati, A.; Selvaggi, L.: Outcome of in vitro fertilization after transabdominal ultrasound-assisted embryo transfer with a full or empty bladder. *Fertil Steril* 2005.
63. Coroleu B.; Barri P. N.; Carreras, O.; Marinez, F.; Parriego, M.; Hereter, L.; Parera, N.; Veiga, A.; Balasch, J.: The influence of the depth of embryo replacement into the uterine cavity on implantation rates after IVF: a controlled, ultrasound-guided study. *Hum Reprod* 2002.
64. Neithardt, A. B.; Segars, J. H.; Hennessy, S.; James, A. N.; McKeeby, J. L.: Embryo afterloading: a refinement in embryo transfer technique that may increase clinical pregnancy. *Fertil Steril* 2005.
65. Healy, M. W.; Hill, M. J.; Levens, E. D.: Optimal oocyte retrieval and embryo transfer techniques: where we are and how we got here. *Semin Reprod Med* 2015.
66. Zeadna, A.; Son, W. Y.; Moon, J. H.; Dahan, M. H.: A comparison of biochemical pregnancy rates between women who underwent IVF and fertile controls who conceived spontaneously. *Hum Reprod* 2015.
67. Rath, Werner; Gembruch, Ulrich; Schmidt, Stephan; Martius, Gerhard: *Geburtshilfe und Perinatalmedizin. Pränataldiagnostik – Erkrankungen – Entbindung*. 2. Auflage, Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG 2010.
68. Tews, G.; Bayr, M.; Ebner, T.; Radner, A.: Neuerungen im österreichischen IVF-Fonds- und Fortpflanzungsmedizingesetz sowie deren Folgerungen für die IVF-Institute. *J Reproduktionsmed Endokrinol* 2005.
69. Norenstedt, S. N.; Linderth-Nagy, C.; Bergendal, A.; Sjöblom, P.; Bergquist, A.: Reduced developmental potential in oocytes from women with endometriosis. *J Assist Reprod Genetics* 2001.

70. Dong, X.; Liao, X.; Wang, R.; Zhang, H.: The impact of endometriosis on IVF/ISCI outcomes. *Int J Clin Exp Pathol* 2013.
71. Al-Fadhli, R.; Kelly, S. M.; Tulandi, T.; Tanr, S. L.: Effects of different stages of endometriosis on the outcome of in vitro fertilization. *J Obstet Gynaecol Can* 2006.
72. Coccia, M. E.; Rizello, F.; Mariani, G.; Bulletti, C.; Palagiano, A.; Scarselli, G.: Impact of endometriosis on in vitro fertilization and embryo transfer cycles in young women: a stage-dependant interference. *Acta Obstet gynecol Scand* 2011.
73. Shebl, O.; Ebner, T.; Sommergruber, M.; Sir, A.; Tews, G.: Anti muellerian hormone serum levels in women with endometriosis: a case control study. *Gynecol Endocrinol* 2009.
74. Giudice, L. C.; Telles, T. L.; Lobo, S.; Kao, L.: The molecular basis for implantation failure in endometriosis: on the road to discovery. *Ann N Y Acad Sci* 2002.
75. Wei, Q.; St Clair, J. B.; Fu, T.; Stratton, P.; Nieman, L. K.: Reduced expression of biomarkers associated with the implantation window in women with endometriosis. *Fertil Steril* 2009.
76. Cunha-Filho, J. S.; Gross, J. L.; Bastos de Souza, C. A.; Lemos, N. A.; Giugliani, C.; Freitas, F.; Passos, E. P.: Physiopathological aspects of corpus luteum defect in infertile patients with mild/minimal endometriosis. *J Assist Reprod Genetics* 2003.
77. Cahill, D. J.; Hull, M. G.: Pituitary-ovarian dysfunction and endometriosis. *Hum Reprod Update* 2000.
78. Stilley, J. A.; Birt, J. A.; Sharpe-Timms, K. L.: Cellular and molecular basis for endometriosis-associated infertility. *Cell Tissue Res* 2012.

79. Cohen, J.; Ziyat, A.; Naoura, I.; Chabbert-Buffet, N.; Aractingi, S.; Darai, E.; Lefevre, B.: Effect of induced peritoneal endometriosis on oocyte and embryo quality in a mouse model. *J. Assist Reprod Genetics* 2014.
80. Da Broi, M. G.; Malvezzi, H.; Paz, C. C.; Ferriani, R. A.; Navarro, P. A.: Follicular fluid from infertile women with mild endometriosis may compromise the meiotic spindels of bovine metaphase II oocytes. *Hum Reprod* 2014.
81. Gianaroli, L.; Magli, M. C.; Cavallini, G.; Grippa, A.; Capoti, A.; Resta S.; Robles, F.; Ferraretti, A. P.: Predicting aneuploidy in human oocytes: key factors which affect the meiotic process. *Hum Reprod* 2010.
82. Goud, P. T.; Goud, A. P.; Joshi, N.; Puscheck, E.; Diamond, M. P.; Abu-Soud, H. M.: Dynamics of nitric oxide, altered follicular microenvironment, and oocyte quality in women with endometriosis. *Fertil Steril* 2014.
83. Ceviren, A. K.; Ozcelik, N. T.; Urfan, A.; Donmez, L.; Isikoglu, M.: Characteristic cytoplasmic morphology of oocytes in endometriosis patients and its effect on the outcome of assisted reproduction treatment cycles. *IVF Lite* 2014.
84. Ebner, T.; Moser, M.; Shebl, O.; Sommergruber, M.; Yaman, C.; Tews, G.: Blood clots in the cumulus-oocyte complex predict poor oocyte quality and post-fertilization development. *Reprod Biomed Online* 2008.
85. Balaban, B.; Urman, B.; Sertac, A.; Alatas, C.; Aksoy, S.; Mercan, R.: Oocyte morphology does not affect fertilization rate, embryo quality and implantation rate after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1998.
86. Esfandiari, N.; Burjaq, H.; Gotlieb, L.; Casper, R. F.: Brown oocytes: implications for assisted reproductive technology. *Fertil Steril* 2006.

87. Otsuki, J.; Nagai, Y.; Chiba, K.: Lipofuscin bodies in human oocytes as an indicator of oocyte quality. *J Assist Reprod Genetics* 2007.
88. Fancsovits, P.; Tóthné, Z. G.; Murber, Á.; Rigó J. Jr.; Urbancsek, J.: Importance of cytoplasmatic granularity of human oocytes in in vitro fertilization treatments. *Acta Biol Hung* 2012.
89. Veeck, Lucinda L.: An atlas of human gametes and conceptuses: an illustrated reference for assisted reproductive technology. First Edition, New York: Parthenon Publishing Group 1999.
90. Harb, H. M.; Gallos, I. D.; Chu, J.; Harb, M.; Coomarasamy, A.: The effect of endometriosis on in vitro fertilisation outcome: a systematic review and meta-analysis. *BJOG* 2013.
91. Hull, M. G.; Williams, J. A.; Ray, B.; McLaughlin, E. A.; Akande, V. A.; Ford, W. C.: The contribution of subtle oocyte or sperm dysfunction affecting fertilization in endometriosis-associated or unexplained infertility: a controlled comparison with tubal infertility and use of donor spermatozoa. *Hum Reprod* 1998.
92. Shi, W.; Xu, B.; Wu, L. M.; Jin, R. T.; Luan, H. B.; Luo, L. H.; Zhu, Q.; Johansson, L.; Liu, Y. S.; Tong, X. H.: Oocytes with a dark zona pellucida demonstrate lower fertilization, implantation and clinical pregnancy rates in IVF/ISCI cycles. *PLOS One* 2014.
93. Coddington, C. C.; Oehninger, S.; Cunningham, D. S.; Hansen, K.; Sueldo, C. E.; Hodgen, G. D.: Peritoneal fluid from patients with endometriosis decreases sperm binding to the zona pellucida in the hemizona assay: a preliminary report. *Fertil Steril* 1992.
94. Yoshida, S.; Harada, T.; Iwabe, T.; Taniguchi, F.; Mitsunari, M.; Yamauchi, N.; Deura, I.; Horie, S.; Terakawa, N.: A combination of interleukin-6 and ist

- soluble receptor impairs sperm motility: implications in infertility associated with endometriosis. *Hum Reprod* 2004.
95. Mansour, G.; Aziz, N.; Sharma, R.; Falcone, T.; Goldberg, J.; Agarwal, A.: The impact of peritoneal fluid from healthy women and from women with endometriosis on sperm DNA and its relationship to the sperm deformity index. *Fertil Steril* 2009.
96. Pauli, S. A.; Session, D. R.; Shang, W.; Easley, K.; Wieser, F.; Taylor, R. N.; Pierzchalski, K.; Napoli, J. L.; Kane, M. A.; Sidell, N.: Analysis of follicular fluid retinoids in women undergoing in vitro fertilization: retinoic acid influences embryo quality and is reduced in women with endometriosis. *Reprod Sci* 2013.
97. Reinblatt, S. L.; Ishai, L.; Shehata, F.; Son, W. Y.; Tulandi, T.; Almong, B.: Effects of ovarian endometrioma on embryo quality. *Fertil Steril* 2011.
98. Kuivasaari, P.; Hippeläinen, M.; Anttila, M.; Heinonen, S.: Effect of endometriosis on IVF/ISCI outcome: stage III/IV endometriosis worsens cumulative pregnancy and live-born rates. *Hum Reprod* 2005.
99. Opøien, H. K.; Fedorcsak, P.; Omland, A. K.; Abyholm, T.; Bjercke, S.; Ertzeid, G.; Oldereid, N.; Mellenbakken, J. R.; Tanbo, T.: In vitro fertilization is a successful treatment in endometriosis-associated infertility. *Fertil Steril* 2012.
100. Yanushpolsky, E.H.; Best, C. L.; Jackson, K. V.; Clarke, R.N.; Barbieri, R. L.; Hornstein, M. D.: Effects of endometriomas on oocyte quality and pregnancy rates in in vitro fertilization cycles: a prospective, case-controlled study. *J Assist Reprod Genetics* 1998.
101. Hjordt Hansen, M. V.; Dalsgaard, T.; Hartwell, D.; Skovlund, C. W.; Lidegaard, O.: Reproductive prognosis in endometriosis. A national cohort study. *Acta Obstet Gynecol* 2014.

102. Polat, M.; Boynukalın, F. K.; Yaralı, I.; Esinler, I.; Yaralı, H.: Endometriosis is not associated with inferior pregnancy rates in in vitro fertilization: an analysis of 616 patients. *Gynecol Obstet Invest* 2014.
103. Hamdan, M.; Omar, S. Z.; Dunselman, G.; Cheong, Y.: Influence of endometriosis on assisted reproductive technology outcomes: A Systematic review and meta-analysis. *Obstet Gynecol* 2015.
104. Lathi, R. B.; Milki, A. A.: Rate of aneuploidy in miscarriages following in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 2004.