

**Aus der Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe**  
**Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. med. Uwe Wagner**  
**des Fachbereichs Medizin der Philipps-Universität Marburg**

**Evaluation des Sexualhormon-bindenden Globulins  
in humaner Follikelflüssigkeit im Rahmen der Pilotstudie  
„Explorative biochemische Analyse aktueller Biomarker in  
humaner Follikelflüssigkeit und deren Einfluss auf die  
Befruchtungsrate in der assistierten Reproduktion“**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Humanmedizin

dem Fachbereich Medizin  
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

**Sina Marie Lehnert**

aus Gelnhausen

Marburg, 2022

Angenommen vom Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg am:  
13.04.2022

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches.

Dekanin: Frau Prof. Dr. D. Hilfiker-Kleiner

Referent: Herr PD Dr. V. Ziller

1. Korreferent: Herr Prof. Dr. O. Hantschel

# Inhaltsverzeichnis

|             |  |             |
|-------------|--|-------------|
| <b>I.</b>   | <b>Abkürzungsverzeichnis</b> .....   | <b>VIII</b> |
| <b>II.</b>  | <b>Abbildungsverzeichnis</b> .....   | <b>VIII</b> |
| <b>III.</b> | <b>Tabellenverzeichnis</b> .....   | <b>IX</b>   |
| <b>1</b>    | <b>Einleitung</b> .....  | <b>1</b>    |
| 1.1         | Unerfüllter Kinderwunsch .....   | 1           |
| 1.2         | Die Ovarialfollikel.....   | 3           |
| 1.2.1       | Funktion und Lokalisation .....  | 3           |
| 1.2.2       | Follikulogenese .....  | 3           |
| 1.2.3       | Der dominante Follikel .....   | 4           |
| 1.3         | Der weibliche Zyklus.....  | 5           |
| 1.3.1       | Funktion und Gliederung des Zyklus .....   | 5           |
| 1.3.2       | Hypophysär-ovarieller Regelkreis .....   | 5           |
| 1.3.3       | Die Follikelphase .....  | 6           |
| 1.3.4       | Die Ovulation .....  | 7           |
| 1.3.5       | Die Lutealphase .....  | 7           |
| 1.3.6       | Ausgang und Neuanfang des Zyklus .....   | 8           |
| 1.4         | Die Befruchtung.....   | 8           |
| 1.5         | Assistierte Reproduktionstechniken mit extrakorporaler Befruchtung ...                       | 9           |
| 1.5.1       | In-vitro-Fertilisation .....   | 9           |
| 1.5.1.1     | <i>Kontrollierte ovarielle Stimulation</i> .....   | 9           |
| 1.5.1.2     | <i>Eizellentnahme und extrakorporale Befruchtung</i> .....                                   | 11          |
| 1.5.2       | Intrazytoplasmatische Spermieninjektion .....  | 12          |
| 1.5.3       | Embryotransfer .....   | 12          |
| 1.6         | Untersuchung der Follikelflüssigkeit .....   | 13          |
| 1.6.1       | Beurteilung der Eizellqualität und weiterer Parameter der assistierten Reproduktion.....     | 13          |
| 1.6.1.1     | <i>Notwendigkeit der Evaluation neuer Techniken zur Beurteilung der Eizellqualität</i> ..... | 13          |
| 1.6.1.2     | <i>Die Follikelflüssigkeit als Mikroumgebung der Eizellreifung</i> .....                     | 14          |
| 1.6.1.3     | <i>Bestehender Forschungsbedarf</i> .....  | 16          |
| 1.6.2       | Zusammenhänge mit weiteren (patho)physiologischen Faktoren .....                             | 16          |
| 1.6.2.1     | <i>Follikelgröße</i> .....   | 16          |
| 1.6.2.2     | <i>Alter und Body-Mass-Index</i> .....   | 17          |
| 1.7         | Sexualhormon-bindendes Globulin in der Follikelflüssigkeit .....                             | 17          |
| 1.7.1       | SHBG und seine Funktionen.....   | 17          |

|          |  |           |
|----------|--|-----------|
| 1.7.2    | Literaturlage zu den Zusammenhängen des SHBG in der Follikelflüssigkeit mit Parametern der assistierten Reproduktion und weiteren Faktoren ..... | 20        |
| 1.7.3    | Freier Androgenindex .....   | 21        |
| 1.8      | Fragestellung und Zielsetzung.....   | 21        |
| <b>2</b> | <b>Material und Methoden .....</b>   | <b>23</b> |
| 2.1      | Dachprojekt und Patientinnenkollektiv .....  | 23        |
| 2.2      | Verwendete Geräte und Materialien .....  | 24        |
| 2.3      | Therapiezyklus der Patientinnen .....  | 30        |
| 2.3.1    | Kontrollierte ovarielle Stimulation .....  | 30        |
| 2.3.1.1  | <i>Verwendete Stimulationsprotokolle</i> .....   | 30        |
| 2.3.1.2  | <i>Verwendete Medikamente</i> .....  | 32        |
| 2.3.2    | Weiterbehandlung nach der Follikelpunktion.....  | 34        |
| 2.4      | Gewinnung der Follikelflüssigkeitsproben .....   | 36        |
| 2.5      | Gewinnung der Blutproben .....   | 38        |
| 2.6      | Zentrifugation und Aliquotierung .....   | 38        |
| 2.7      | Aufbewahrung der Proben.....   | 39        |
| 2.8      | Gewinnung der klinischen Daten .....   | 40        |
| 2.9      | Auswahl der analysierten Proben .....  | 40        |
| 2.10     | Laborbestimmungen.....   | 41        |
| 2.10.1   | Umgang mit Laborwerten außerhalb des Messbereichs .....  | 42        |
| 2.11     | Definition von Parametern und Gruppeneinteilungen .....  | 42        |
| 2.11.1   | Nichtanwendung des Freien Androgenindex.....   | 42        |
| 2.11.2   | Ebene der Patientinnen .....   | 42        |
| 2.11.2.1 | <i>Streuung der SHBG-Konzentrationen in den Follikeln</i> .....  | 42        |
| 2.11.2.2 | <i>Große und kleine Follikel</i> .....   | 43        |
| 2.11.2.3 | <i>Verschiedene IVF- und ICSI-Parameter</i> .....  | 43        |
| 2.11.2.4 | <i>Alter</i> .....   | 43        |
| 2.11.2.5 | <i>Body-Mass-Index</i> .....   | 43        |
| 2.11.3   | Ebene der Follikel .....   | 44        |
| 2.11.3.1 | <i>Follikeldurchmesser</i> .....   | 44        |
| 2.12     | Statistische Methoden .....  | 44        |
| 2.12.1   | Statistiksoftware.....   | 44        |
| 2.12.2   | Ebene der Patientinnen .....   | 44        |
| 2.12.2.1 | <i>Korrelationsanalysen</i> .....  | 45        |
| 2.12.2.2 | <i>Gruppenvergleiche bei unabhängigen Stichproben</i> .....  | 45        |
| 2.12.2.3 | <i>Gruppenvergleiche bei abhängigen Stichproben</i> .....  | 46        |
| 2.12.3   | Ebene der Follikel .....   | 47        |
| 2.12.3.1 | <i>Korrelationsanalysen</i> .....  | 47        |

|           |  |           |
|-----------|--|-----------|
| 2.12.3.2  | <i>Gruppenvergleiche bei unabhängigen Stichproben</i>                            | 47        |
| 2.12.3.3  | <i>Gruppenvergleiche bei abhängigen Stichproben</i>                              | 48        |
| 2.12.4    | Graphiken  | 48        |
| <b>3</b>  | <b>Ergebnisse</b>  | <b>49</b> |
| 3.1       | Beschreibung des Patientinnenkollektivs und der untersuchten Follikel            | 49        |
| 3.1.1     | Zugrundeliegende Daten   | 49        |
| 3.1.2     | Ebene der Patientinnen   | 49        |
| 3.1.2.1   | <i>Beschreibung des Patientinnenkollektivs und der Therapiezyklen</i>            | 49        |
| 3.1.2.2   | <i>SHBG-Konzentration in Follikelflüssigkeit und Serum</i>                       | 53        |
| 3.1.2.2.1 | <i>SHBG-Konzentration in der Follikelflüssigkeit</i>                             | 53        |
| 3.1.2.2.2 | <i>SHBG-Konzentration im Serum</i>   | 55        |
| 3.1.3     | Ebene der Follikel   | 56        |
| 3.1.3.1   | <i>Beschreibung der untersuchten Follikel</i>                                    | 56        |
| 3.1.3.2   | <i>SHBG-Konzentration in der Follikelflüssigkeit</i>                             | 57        |
| 3.2       | Ergebnisse auf Ebene der Patientinnen  | 57        |
| 3.2.1     | SHBG-Konzentration in Follikelflüssigkeit und Serum                              | 60        |
| 3.2.1.1   | <i>Vergleich zwischen Follikelflüssigkeit und Serum</i>                          | 60        |
| 3.2.1.2   | <i>Zusammenhang zwischen SHBG-Konzentration in Follikelflüssigkeit und Serum</i> | 61        |
| 3.2.2     | Vergleich zwischen Follikeln ohne gewonnene und mit gewonnener Eizelle           | 62        |
| 3.2.3     | Vergleich zwischen großen und kleinen Follikeln                                  | 64        |
| 3.2.4     | Zusammenhang mit verschiedenen IVF- und ICSI-Parametern                          | 65        |
| 3.2.4.1   | <i>Parameter der punktierten Follikel und gewonnenen Eizellen</i>                | 65        |
| 3.2.4.2   | <i>Parameter der behandelten Eizellen</i>  | 68        |
| 3.2.5     | Vergleich zwischen Nichtschwangeren und Schwangeren                              | 71        |
| 3.2.6     | Vergleich zwischen Patientinnen ohne und mit Lebendgeburt                        | 73        |
| 3.2.7     | Alter  | 74        |
| 3.2.7.1   | <i>Zusammenhang mit dem Alter</i>  | 74        |
| 3.2.7.2   | <i>Vergleich der Altersgruppen</i>   | 75        |
| 3.2.8     | Body-Mass-Index  | 77        |
| 3.2.8.1   | <i>Zusammenhang mit dem BMI</i>  | 77        |
| 3.2.8.2   | <i>Vergleich der BMI-Gruppen</i>   | 78        |
| 3.3       | Ergebnisse auf Ebene der Follikel  | 80        |
| 3.3.1     | Vergleich zwischen Follikelflüssigkeit und Serum                                 | 80        |
| 3.3.2     | Vergleich zwischen Follikeln ohne gewonnene und mit gewonnener Eizelle           | 80        |

|          |  |            |
|----------|--|------------|
| 3.3.3    | Folikeldurchmesser .....   | 81         |
| 3.3.3.1  | <i>Zusammenhang mit dem Folikeldurchmesser</i> .....   | 81         |
| 3.3.3.2  | <i>Vergleich der Folikeldurchmesser-Gruppen</i> .....  | 82         |
| <b>4</b> | <b>Diskussion</b> .....  | <b>85</b>  |
| 4.1      | Diskussion der Methoden .....  | 85         |
| 4.1.1    | Dachprojekt und Patientinnenkollektiv .....  | 85         |
| 4.1.2    | Weiterbehandlung nach der Folikelpunktion .....  | 86         |
| 4.1.3    | FF-Probengewinnung .....   | 88         |
| 4.1.3.1  | <i>Folikeldurchmesser</i> .....  | 88         |
| 4.1.3.2  | <i>Trennung der FF</i> .....   | 88         |
| 4.1.3.3  | <i>Eizellzuordenbarkeit</i> .....  | 89         |
| 4.1.4    | Zentrifugation und Aliquotierung .....   | 90         |
| 4.1.5    | Auswahl der analysierten Proben .....  | 91         |
| 4.1.6    | Laborbestimmungen .....  | 92         |
| 4.1.6.1  | <i>Umgang mit Laborwerten außerhalb des Messbereichs</i> .....   | 93         |
| 4.1.7    | Definition von Parametern und Gruppeneinteilungen .....  | 94         |
| 4.1.7.1  | <i>Nichtanwendung des Freien Androgenindex</i> .....   | 94         |
| 4.1.7.2  | <i>Untersuchung von Zusammenhängen und Gruppenunterschieden der Streuung der SHBG-Konzentrationen in den Follikeln</i> ..... | 95         |
| 4.1.7.3  | <i>Verschiedene IVF- und ICSI-Parameter</i> .....  | 96         |
| 4.1.7.4  | <i>Body-Mass-Index</i> .....   | 96         |
| 4.1.8    | Statistische Methoden .....  | 96         |
| 4.2      | Diskussion der Ergebnisse .....  | 97         |
| 4.2.1    | SHBG-Konzentration in FF und Serum .....   | 97         |
| 4.2.1.1  | <i>Höhe der SHBG-Konzentration in der FF</i> .....   | 97         |
| 4.2.1.2  | <i>Höhe der SHBG-Konzentration im Serum</i> .....  | 99         |
| 4.2.1.3  | <i>SHBG-Konzentration im Vergleich zwischen Follikelflüssigkeit und Serum</i> .....  | 101        |
| 4.2.1.4  | <i>Zusammenhang zwischen SHBG-Konzentration in Follikelflüssigkeit und Serum</i> .....                                       | 104        |
| 4.2.2    | Vergleich zwischen Follikeln ohne gewonnene und mit gewonnener Eizelle .....   | 106        |
| 4.2.3    | Folikeldurchmesser .....   | 107        |
| 4.2.4    | Zusammenhang mit verschiedenen IVF- und ICSI-Parametern .....  | 110        |
| 4.2.5    | Vergleich zwischen Nichtschwangeren und Schwangeren ....   | 116        |
| 4.2.6    | Vergleich zwischen Patientinnen ohne und mit Lebendgeburt .....  | 120        |
| 4.2.7    | Alter .....  | 120        |
| 4.2.8    | BMI .....  | 122        |
| <b>5</b> | <b>Zusammenfassung</b> .....   | <b>127</b> |

|          |   |            |
|----------|---|------------|
| 5.1      | Deutsche Zusammenfassung .....                  | 127        |
| 5.2      | Englische Zusammenfassung (Summary) .....       | 129        |
| <b>6</b> | <b>Literaturverzeichnis .....</b>               | <b>131</b> |
| <b>7</b> | <b>Anhang .....</b>                             | <b>155</b> |
| 7.1      | Tabellen .....                                  | 155        |
| 7.2      | Dokumentationsbogen.....                        | 157        |
| 7.3      | Lebenslauf.....                                 | 158        |
| 7.4      | Verzeichnis der akademischen Lehrer/-innen..... | 158        |
| 7.5      | Danksagung .....                                | 160        |
| 7.6      | Ehrenwörtliche Erklärung .....                  | 161        |

## I. Abkürzungsverzeichnis

|       |   |
|-------|---|
| BMI   | Body-Mass-Index   |
| CBBMR | Comprehensive Biomaterial Bank Marburg                              |
| COS   | kontrollierte ovarielle Stimulation, controlled ovarian stimulation |
| FAI   | Freier Androgenindex  |
| FM    | Flushing Medium   |
| FSH   | Follikelstimulierendes Hormon                                       |
| GnRH  | Gonadotropin-Releasing-Hormon                                       |
| hCG   | humanes Choriongonadotropin   |
| ICSI  | Intrazytoplasmatische Spermieninjektion                             |
| IQR   | Interquartilsrange, Interquartilsabstand                            |
| IVF   | In-vitro-Fertilisation  |
| LH    | Luteinisierendes Hormon   |
| MI    | Metaphase I   |
| MII   | Metaphase II  |
| PCOS  | Polyzystisches Ovar-Syndrom   |
| REPKO | Reproduktionsmedizinisches Kompetenzzentrum                         |
| UKGM  | Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH                        |

## II. Abbildungsverzeichnis

|               |  |    |
|---------------|--|----|
| Abbildung 1:  | Follikelpunktion zur Eizellentnahme (BZgA 2017)  | 11 |
| Abbildung 2:  | Histogramm: SHBG-Konzentration in der FF   | 55 |
| Abbildung 4:  | Histogramm: SHBG-Konzentration im Serum  | 56 |
| Abbildung 5:  | Boxplots: SHBG-Konzentration in der FF und im Serum  | 61 |
| Abbildung 6:  | Streudiagramm: Zusammenhang zwischen SHBG-Konzentration im Serum und in der FF   | 62 |
| Abbildung 7:  | Boxplots: SHBG-Konzentration in der FF (in nmol/l) im Vergleich zwischen Follikeln ohne gewonnene und mit gewonnener Eizelle | 63 |
| Abbildung 8:  | Boxplots: SHBG-Konzentration in der FF (in nmol/l) im Vergleich zwischen großen und kleinen Follikeln                        | 64 |
| Abbildung 9:  | Streudiagramm: Zusammenhang zwischen Anzahl punktierter Follikel und SHBG-Konzentration in der FF                            | 66 |
| Abbildung 10: | Streudiagramm: Zusammenhang zwischen Anzahl gewonnener Eizellen und SHBG-Konzentration in der FF                             | 67 |
| Abbildung 11: | Streudiagramm: Zusammenhang zwischen Anzahl reifer Eizellen und SHBG-Konzentration in der FF                                 | 67 |
| Abbildung 12: | Streudiagramm: Zusammenhang zwischen Rate reifer Eizellen und SHBG-Konzentration in der FF                                   | 68 |
| Abbildung 13: | Streudiagramm: Zusammenhang zwischen Anzahl korrekt befruchteter Eizellen und SHBG-Konzentration in der FF                   | 70 |



|  |    |
|--|----|
| Abbildung 14: Streudiagramm: Zusammenhang zwischen Gesamt-Befruchtungsrate und SHBG-Konzentration in der FF .....  | 70 |
| Abbildung 15: Streudiagramm: Zusammenhang zwischen ICSI-Befruchtungsrate und SHBG-Konzentration in der FF .....  | 71 |
| Abbildung 16: Boxplots: SHBG-Konzentration in der FF im Vergleich zwischen Nichtschwangeren und Schwangeren .....  | 72 |
| Abbildung 17: SHBG-Konzentration in der FF im Vergleich zwischen Patientinnen ohne und mit Lebendgeburt .....  | 74 |
| Abbildung 18: Streudiagramm: Zusammenhang zwischen Alter und SHBG-Konzentration in der FF .....  | 75 |
| Abbildung 19: Boxplots: SHBG-Konzentration in der FF im Vergleich der Altersgruppen .....  | 76 |
| Abbildung 20: Streudiagramm: Zusammenhang zwischen BMI und SHBG-Konzentration in der FF .....  | 78 |
| Abbildung 21: Boxplots: SHBG-Konzentration in der FF im Vergleich der BMI-Gruppen .....  | 80 |
| Abbildung 22: Boxplots: Ebene der Follikel: SHBG-Konzentration in der FF im Vergleich zwischen Follikeln ohne gewonnene und mit gewonnener Eizelle ..... | 81 |
| Abbildung 23: Streudiagramm: Ebene der Follikel: Zusammenhang zwischen Follikeldurchmesser und SHBG-Konzentration in der FF .....                        | 82 |
| Abbildung 24: Boxplots: Ebene der Follikel: SHBG-Konzentration in der FF im Vergleich der Follikeldurchmesser-Gruppen .....                              | 84 |

### III. Tabellenverzeichnis

|   |    |
|---|----|
| Tabelle 1: Auflistung der verwendeten Geräte und Materialien .....              | 24 |
| Tabelle 2: Medikamente zur kontrollierten ovariellen Stimulation .....          | 32 |
| Tabelle 3: Medikamente zur Lutealphasenunterstützung .....                      | 34 |
| Tabelle 4: Eigenschaften des verwendeten Immunoassays .....                     | 41 |
| Tabelle 5: Definition verschiedener IVF- und ICSI-Parameter .....               | 43 |
| Tabelle 6: Anzahl der analysierten Proben .....                                 | 49 |
| Tabelle 7: Merkmale des Patientinnenkollektivs .....                            | 50 |
| Tabelle 8: Therapieart .....  | 51 |
| Tabelle 9: Follikeldurchmesser .....  | 51 |
| Tabelle 10: Punktierte Follikel und gewonnene Eizellen .....                    | 52 |
| Tabelle 11: Behandelte Eizellen .....   | 52 |
| Tabelle 12: Klinische Therapieergebnisse .....                                  | 53 |
| Tabelle 13: SHBG-Konzentration in FF und Serum .....                            | 53 |
| Tabelle 14: SHBG-Konzentrationen in den Follikeln je Patientin (in nmol/l) .... | 54 |
| Tabelle 15: SHBG-Konzentration im Serum (in nmol/l) .....                       | 55 |

|   |    |
|---|----|
| Tabelle 16: Ebene der Follikel: Follikeldurchmesser und Eizellgewinn .....  | 56 |
| Tabelle 17: Ebene der Follikel: SHBG-Konzentration in der FF .....  | 57 |
| Tabelle 18: Korrelationsanalysen nach Spearman .....  | 58 |
| Tabelle 19: p-Werte der Gruppenvergleiche bei unabhängigen Stichproben<br>(Mann-Whitney-U- und Kruskal-Wallis-Tests).....                       | 59 |
| Tabelle 20: p-Werte der Gruppenvergleiche bei abhängigen Stichproben<br>(Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test).....                                    | 59 |
| Tabelle 21: SHBG-Konzentration im Vergleich zwischen FF und Serum .....   | 60 |
| Tabelle 22: FF-Serum-Verhältnisse der SHBG-Konzentration je Patientin .....   | 61 |
| Tabelle 23: Zusammenhang zwischen SHBG-Konzentration in FF und Serum<br>.....   | 62 |
| Tabelle 24: SHBG-Konzentration im Vergleich zwischen Follikeln ohne<br>gewonnene und mit gewonnener Eizelle .....                               | 63 |
| Tabelle 25: SHBG-Konzentration im Vergleich zwischen großen und kleinen<br>Follikeln.....   | 64 |
| Tabelle 26: Zusammenhang zwischen der SHBG-Konzentration und<br>Parametern der punktierten Follikel und gewonnenen Eizellen .....               | 65 |
| Tabelle 27: Zusammenhang zwischen SHBG-Konzentration und Parametern<br>der behandelten Eizellen .....   | 69 |
| Tabelle 28: SHBG-Konzentration im Vergleich zwischen Nichtschwangeren<br>und Schwangeren .....  | 72 |
| Tabelle 29: SHBG-Konzentration im Vergleich zwischen Patientinnen ohne<br>und mit Lebendgeburt .....  | 73 |
| Tabelle 30: Zusammenhang der SHBG-Konzentration in der FF und im Serum<br>mit dem Alter .....   | 74 |
| Tabelle 31: SHBG-Konzentration im Vergleich der Altersgruppen .....   | 76 |
| Tabelle 32: Zusammenhang der SHBG-Konzentration in der FF und im Serum<br>mit dem BMI.....  | 77 |
| Tabelle 33: SHBG-Konzentration im Vergleich der BMI-Gruppen.....  | 79 |
| Tabelle 34: Ebene der Follikel: SHBG-Konzentration in der FF im Vergleich<br>zwischen Follikeln ohne gewonnene und mit gewonnener Eizelle ..... | 81 |
| Tabelle 35: Ebene der Follikel: Zusammenhang zwischen SHBG-<br>Konzentration in der FF und Follikeldurchmesser.....                             | 82 |
| Tabelle 36: Ebene der Follikel: SHBG-Konzentration im Vergleich der<br>Follikeldurchmesser-Gruppen .....  | 83 |

# 1 Einleitung

## 1.1 Unerfüllter Kinderwunsch

Unfruchtbarkeit ist in den meisten Kulturen, auch in westlichen Industrieländern wie Deutschland, noch immer ein tabuisiertes Thema (BZgA 2013; Khetarpal und Singh 2012; Toth et al. 2019; Whiteford und Gonzalez 1995). Die Zahlen zur ungewollten Kinderlosigkeit variieren in amtlichen Statistiken und der Fachliteratur deutlich, da auf verschiedene Datensätze und Definitionen Bezug genommen wird (Stöbel-Richter et al. 2013). Definitionen sind deshalb diffizil, da die Übergänge zwischen gewollter und ungewollter Kinderlosigkeit fließend sein können (Brähler et al. 2001), und die meisten Paare keine 100 % eingeschränkte, sondern eine nicht genau bezifferbar eingeschränkte Fertilität aufweisen (Ludwig et al. 2020a). Vermutlich 20-30 % der Paare sind zumindest temporär vermindert fruchtbar (Iltner et al. 2000). Bei etwa 25 % der Paare ist die Frau nach einem Jahr mit regelmäßigem ungeschütztem Geschlechtsverkehr noch nicht schwanger geworden (Stöbel-Richter et al. 2013) und somit gemäß der WHO-Definition eingeschränkt fertil (Zegers-Hochschild et al. 2009). Ältere wie auch neuere Literatur schätzt die Prävalenz der Subfertilität auf etwa 10 % (ESHRE Capri Workshop Group 2001; Mascarenhas et al. 2012).

Laut einer Querschnittsbefragung in Großbritannien suchen ca. 55 % der von eingeschränkter Fertilität gemäß WHO-Definition Betroffenen medizinische Hilfe (Datta et al. 2016). Der ungewollten Kinderlosigkeit der Paare liegen verschiedene Ursachen zugrunde, wobei sich diese häufig bei beiden Partnern finden und eher selten eine eindeutige alleinige Ursache vorliegt (Ludwig et al. 2020a). Je nach zugrunde liegender Ursache stellt eine extrakorporale Befruchtung im Rahmen einer In-vitro-Fertilisations(IVF)-Behandlung und ggf. kombiniert eine Intrazytoplasmatische Spermieninjektion (ICSI) die Therapie der Wahl dar.

Im Jahr 2019 wurden über 100.000 IVF-Behandlungszyklen in deutschen Kinderwunschzentren durchgeführt (Deutsches IVF-Register e.V. 2020). Über 21.000 Kinder wurden aus den Behandlungen des Jahres 2018 geboren, und seit 1997 insgesamt über 319.000 Kinder nach extrakorporaler Befruchtung

(Deutsches IVF-Register e.V. 2020). Bereits im Jahr 2016 wurden nahezu 3 % aller lebend geborenen Kinder nach einer extrakorporalen Befruchtung geboren, sodass umgerechnet in fast jeder Schulklasse ein Kind sitzt, welches sein Leben einer künstlichen Befruchtung verdankt (Deutsches IVF-Register e.V. 2018, S. 9). Das mittlere Alter der behandelten Frauen war im Jahr 2019 35,5 Jahre und der zugehörigen männlichen Partner 38,9 Jahre (Deutsches IVF-Register e.V. 2020). Mit dem sich fortsetzenden Trend im demographischen Wandel in Deutschland, dass Frauen ihre Kinder in einem immer höheren Alter bekommen (Statistisches Bundesamt 2020), und daher abnehmenden Schwangerschaftschancen (Ludwig et al. 2020b), wird der Bedarf an reproduktionsmedizinischen Therapien in Zukunft steigen. Auch die steigende Rate von Adipositas und assoziierten metabolischen Störungen in der Bevölkerung macht dies wahrscheinlich (Gu et al. 2015). Gleichzeitig dürfte es angesichts des demographischen Wandels für die Gesellschaft noch wichtiger werden, ungewollt kinderlose Paare zu unterstützen (Bundesministerium des Innern 2012).

Ein unerfüllter Kinderwunsch wird von Betroffenen häufig als einschneidende Lebenskrise empfunden (Khetarpal und Singh 2012; Weblus et al. 2019; Whiteford und Gonzalez 1995). Paare aus stark pronatalistisch geprägten, z. B. muslimischen Gesellschaften, wo Kinderlosigkeit für eine Frau im Allgemeinen ein soziales Stigma darstellt (Abbasi-Shavazi et al. 2008; Hasson et al. 2017; Vanderlinden 2009), sind psychisch noch stärker belastet als Paare aus den westlichen Industrieländern (Hasson et al. 2017; Schmid et al. 2004; van Rooij et al. 2007; Weblus et al. 2019). Bei onkologischen Patientinnen/Patienten wird bereits die Möglichkeit einer später therapierefraktären Infertilität als ähnlich belastend eingestuft wie die maligne Erkrankung selbst (Dittrich et al. 2017).

Das Durchlaufen einer reproduktionsmedizinischen Behandlung stellt für die Paare ebenfalls eine Belastung dar (Cwikel et al. 2004; Verhaak et al. 2007). Etwa 15-20 % der behandelten Paare nehmen eine psychosoziale Beratung in Anspruch (Neulen und Neise 2011). Vermutlich ist Angst vor einem Misserfolg der wesentliche Grund für den durch die Therapie begründeten Stress (Verhaak et al. 2007). Die Schwangerschaftsrate liegt aktuell bei ca. 27 % pro Behandlungszyklus. Durch Wiederholungen der Behandlung lässt sie sich erhöhen, mit einer kumulativen Schwangerschaftsrate von ca. 80 % bei über 4 Behandlungen

(Deutsches IVF-Register e.V. 2020). Insbesondere ein Misserfolg wie auch eine daher nötige wiederholte, somit mehrere Monate lange, Behandlung ist für die Paare belastend (Ha et al. 2020; Stöbel-Richter et al. 2013; Thiering et al. 1993; Volgsten et al. 2010). Darüber hinaus erhöhen sich mit der Anzahl der Behandlungszyklen die Kosten, die von den Paaren und bei Erfüllung der Voraussetzungen anteilig von den Krankenkassen zu tragen sind (G-BA 2017), was insbesondere für finanziell schwächere Paare eine Limitation darstellen dürfte. Um die Anzahl erfolgloser Behandlungszyklen zu reduzieren, muss eine Optimierung der Therapien und ihrer Erfolgsraten, und somit auch der damit zusammenhängenden Diagnostik, angestrebt werden.

## **1.2 Die Ovarialfollikel**

### ***1.2.1 Funktion und Lokalisation***

Die Ovarialfollikel stellen die anatomisch-physiologische Grundlage der Fertilität der Frau dar. Sie beinhalten die Eizellen, wobei jeweils eine einzelne Eizelle von somatischen Begleitzellen umgeben ist (Lüllmann-Rauch und Asan 2019; Ross und Pawlina 2011). Ihre zwei Hauptfunktionen sind die Bereitstellung der Eizellen und die Produktion der weiblichen Geschlechtshormone (Lüllmann-Rauch und Asan 2019; Ross und Pawlina 2011). Sie befinden sich in den paarig angelegten, intraperitoneal an den Seiten des kleinen Beckens gelegenen Ovarien, den weiblichen Keimdrüsen (Mesiano und Jones 2017b; Welsch 2010a). Dort liegen sie in deren peripherer Rinde (Ross und Pawlina 2011).

### ***1.2.2 Follikulogenese***

Aus einem ruhenden Bestand an sog. Primordialfollikeln gehen während der reproduktionsfähigen Lebensphase regelmäßig Follikel in die wachsenden Follikelstadien der Primär-, Sekundär- und Tertiärfollikel über (Lüllmann-Rauch und Asan 2019; Welsch 2010a). Die Stadien folgen in einem Kontinuum zeitlich aufeinander, wobei aus jedem Stadium heraus ein spontanes atretisches Zugrundegehen mit Apoptose der Eizelle erfolgen kann (Lüllmann-Rauch und Asan 2019; Ross und Pawlina 2011; Welsch 2010a). Die zu Pubertätsbeginn vorhandenen ca. 0,4 Millionen Follikel werden aufgrund eines kontinuierlichen Verlusts durch Atresie, und insgesamt höchstens 400 Ovulationen von

sprungreif gewordenen Follikeln, etwa bis zum 50. Lebensjahr aufgebraucht (Lüllmann-Rauch und Asan 2019). Eine Neubildung an Follikeln findet nicht statt (Pfisterer 2011).

Die Follikelstadien unterliegen strukturellen und funktionellen Veränderungen. Die Eizelle vergrößert sich und sezerniert eine sie umgebende Glykoproteinhülle (Ross und Pawlina 2011; Welsch 2010a). Über Zellausläufer mit Zell-Zell-Kontakten bleibt sie mit den umgebenden Follikelepithelzellen verbunden (Ross und Pawlina 2011). Das Follikelepithel proliferiert. Im Bindegewebe außerhalb der das Follikelepithel umgebenden Basalmembran bildet sich eine Hüllschicht aus zirkulär angeordneten Rindenstromazellen, die Theca folliculi, und eine dichte Gefäßversorgung (Lüllmann-Rauch und Asan 2019; Welsch 2010a).

Das Follikelwachstum bis zum Tertiärfollikel erfolgt unabhängig vom weiblichen Zyklus, u. a. über komplexe parakrine und autokrine Signalwege (Deutzmann 2016; Jones und Shikanov 2019; Lüllmann-Rauch und Asan 2019). Zu Beginn jedes Monatszyklus wird eine Kohorte von 10-20 frühen Tertiärfollikeln sexualhormonabhängig erhalten. Sie vergrößern sich rasch und bilden zentral eine flüssigkeitsgefüllte Follikelhöhle aus (Lüllmann-Rauch und Asan 2019; Rodgers und Irving-Rodgers 2010). Diese ist von Follikelepithel ausgekleidet, das aus etwa 5 -10 Schichten von sog. Granulosazellen besteht (Welsch 2010a). Aufgrund ihrer Existenz kann die maximale Diffusionsstrecke der Zellen zur Blutversorgung eingehalten werden (Bächler et al. 2014; Rodgers et al. 2001). Die Eizelle liegt randständig innerhalb einer in die Follikelhöhle ragenden Epithelverdickung aus spezialisierten Granulosazellen, dem Cumulus oophorus (Rodgers et al. 1995; Welsch 2010a). Die Theca folliculi entwickelt eine Zweischichtigkeit, wobei die Theca interna mehrere Schichten epithelähnlicher Zellen aufweist (Lüllmann-Rauch und Asan 2019; Ross und Pawlina 2011).

### **1.2.3 Der dominante Follikel**

Von der Kohorte eines Zyklus wird i. d. R. nur ein Follikel dominant und sprungreif (Lüllmann-Rauch und Asan 2019). Ausnahmsweise kann es durch die Ovulation zweier Follikel zur Entstehung zweieiiger Zwillinge kommen (Buselmaier und Tariverdian 2007). Der dominante Follikel wächst auf eine Größe von ca. 15-25 mm (Welsch 2010a). Er verursacht eine Vorwölbung auf

der Ovaroberfläche (Ross und Pawlina 2011), welcher der Cumulus oophorus i. d. R. gegenüber liegt (Lüllmann-Rauch und Asan 2019). Kurz vor der Ovulation löst sich die Eizelle mitsamt angelagerten Cumuluszellen aus der Follikelwand. Dieser sog. Cumulus-Eizell-Komplex flottiert alsdann in der FF (Lüllmann-Rauch und Asan 2019; Ross und Pawlina 2011). Die FF macht schließlich bis zu über 95 % des Follikelvolumens aus (Rodgers et al. 2001; Rodgers und Irving-Rodgers 2010).

### **1.3 Der weibliche Zyklus**

#### **1.3.1 Funktion und Gliederung des Zyklus**

Der Reproduktionstrakt einer Frau im reproduktionsfähigen Alter unterliegt periodisch wiederkehrenden Veränderungen, dem weiblichen Zyklus (Lüllmann-Rauch und Asan 2019). Ziel ist die Bereitstellung einer einzelnen befruchtungsfähigen Eizelle sowie die Vorbereitung des Uterus auf die eventuelle Einnistung des Embryos (Rieger et al. 2018). Die mittlere Zyklusdauer beträgt 28 Tage. Sie wird nicht durch einen zentralen Zeigeber, sondern die Vorgänge in den Ovarien bestimmt. Der Beginn der ca. 5-tägigen Menstruationsblutung wird als Tag 1 definiert (Rieger et al. 2018). Die als Ovulation bezeichnete Freisetzung der Eizelle aus dem Ovar erfolgt im Mittel an Tag 14. Anhand dieser wird der Zyklus in eine präovulatorische Follikel- und eine postovulatorische Lutealphase gegliedert (Lüllmann-Rauch und Asan 2019).

#### **1.3.2 Hypophysär-ovarieller Regelkreis**

Vom Hypothalamus-Hypophysen-System wird der ovarielle Zyklus gesteuert, welcher wiederum von synchronen Änderungen in den Zielgeweben der ovariellen Hormone begleitet wird (Lüllmann-Rauch und Asan 2019). Die auf die Ovarien wirkenden Gonadotropine Follikelstimulierendes Hormon (FSH) und Luteinisierendes Hormon (LH) werden aus dem Hypophysenvorderlappen ins Blut freigesetzt (Deutzmann 2016). Ihre Ausschüttung wird u. a. durch das Steuerhormon Gonadotropin-Releasing-Hormon (GnRH) des Hypothalamus reguliert (Deutzmann 2016; Lüllmann-Rauch und Asan 2019; Rieger et al. 2018), wobei multiple physiologische und Umwelt-Signale integriert werden (Mesiano und Jones 2017b). Die Pulsfrequenz der GnRH-Ausschüttung beein-

flusst den FSH- bzw. LH-Anteil an der Gonadotropinproduktion (Rieger et al. 2018). FSH und LH werden beide über den gesamten Zyklus gebraucht, beherrschen aber die Phasen verschieden stark (Lüllmann-Rauch und Asan 2019). Sie werden über den Blutkreislauf zu den Follikeln transportiert, wo sie auf die Follikelzellen wirken (Rieger et al. 2018). Die daraufhin dort gebildeten Steroide (Estrogene und Gestagene) und Peptide (Inhibine und Aktivine) bewirken wiederum eine Rückkopplung auf die hypothalamisch-hypophysäre Achse (Mesiano und Jones 2017b).

### **1.3.3 Die Follikelphase**

Der in der späten Lutealphase des vorherigen Zyklus ansteigende FSH-Spiegel sorgt für die Erhaltung einer Kohorte von Tertiärfollikeln für den neuen Zyklus (Deutzmann 2016; Lüllmann-Rauch und Asan 2019). FSH dominiert auch die ersten 8-10 Tage der anschließenden Follikelphase (Lüllmann-Rauch und Asan 2019; Ross und Pawlina 2011). Die rasch wachsenden Follikel der Kohorte produzieren Estrogene und Inhibin (Lüllmann-Rauch und Asan 2019), die neben Veränderungen des Uterus eine negative Rückkopplung auf die Gonadotropin-Sekretion bewirken (Lüllmann-Rauch und Asan 2019; Mesiano und Jones 2017b). Die resultierende Abnahme des FSH-Spiegels führt zum Zugrundegehen aller Kohorten-Follikel mit Ausnahme des dominanten Follikels (Deutzmann 2016). Dieser am weitesten entwickelte Follikel hat einen Überlebensvorteil, da er mehr Granulosazellen, eine größere FSH-Rezeptordichte und bereits beginnend LH-Rezeptoren besitzt (Bächler et al. 2014; Collatz und Meier 2018; Lüllmann-Rauch und Asan 2019). Durch die sich erhöhende Empfindlichkeit gegenüber FSH und LH steigt seine Estrogenproduktion sogar an (Rieger et al. 2018). Er ist für den Anstieg des Estrogenspiegels in der 2. Woche des Zyklus verantwortlich (Lüllmann-Rauch und Asan 2019). Zum Ende der ersten Zyklushälfte vollendet er den Reifungsprozess (Deutzmann 2016). Es wird eine Estradiol-Schwellenkonzentration überschritten (Rieger et al. 2018), wodurch eine Umkehrung der sonstigen negativen Rückkopplung von Estradiol auf die GnRH-Sekretion in eine positive Rückkopplung erfolgt (Deutzmann 2016).



### **1.3.4 Die Ovulation**

Die drastisch gesteigerte GnRH-Ausschüttung führt in Kombination mit gefüllten LH-Speichern zu einem steilen, gipfelartigen LH-Spiegelanstieg (Cordes 2020; Lüllmann-Rauch und Asan 2019). Dieser stößt die Vorgänge in Eizelle und Follikel an, die später zu Ovulation und Gelbkörperbildung führen (Lüllmann-Rauch und Asan 2019). Die primäre Eizelle, die bisher innerhalb der ersten Reifeteilung der Meiose arretiert war (Lüllmann-Rauch und Asan 2019), vollendet ihre erste Reifeteilung (Ross und Pawlina 2011). Die entstehende sekundäre Eizelle enthält nur noch einen halbierten Chromosomensatz (Welsch 2010b). Dabei tritt die primäre Eizelle aus dem unreifen sog. Germinalvesikel zunächst in das noch nicht ausgereifte Metaphase I (MI)-Stadium über, das sie nach ca. 32 Stunden erreicht. Mit Abschluss der ersten Reifeteilung nach ca. 36 Stunden wird der erste sog. Polkörper ausgestoßen. Sie beginnt direkt mit der zweiten Reifeteilung, die in der Metaphase II (MII) anhält und erst im Falle einer Befruchtung vollendet wird. Die Eizelle hat somit das zur Befruchtung bereite MII-Stadium erreicht (Cordes 2020). Durch den LH-Gipfel wird außerdem die Progesteron-Bildung im dominanten Follikel induziert (Deutzmann 2016). U. a. progesteron- und flüssigkeitsdruckabhängig kommt es zur Eröffnung des Follikels (Deutzmann 2016; Rodgers und Irving-Rodgers 2010). Ca. 34-36 Stunden nach Beginn des LH-Gipfels wird der Cumulus-Eizell-Komplex mit FF in die ipsilaterale Tuba uterina freigesetzt (Ross und Pawlina 2011).

### **1.3.5 Die Lutealphase**

Neben der späten Follikelphase wird auch die Lutealphase von LH dominiert (Lüllmann-Rauch und Asan 2019). Allerdings ist durch die enorm hohe prä-ovulatorische LH-Konzentration die LH-Empfindlichkeit der Follikelzellen reduziert, und damit auch die Androgen- und Estrogenbildung (Rieger et al. 2018; Ross und Pawlina 2011). Daher wird die Rückkopplung auf die Gonadotropinproduktion wieder negativ (Rieger et al. 2018). Aus den verbliebenen Anteilen des gesprungenen Follikels bildet sich der Gelbkörper, das sog. Corpus luteum. Dessen umfunktionierte Granulosa-Luteinzellen bilden insbesondere Progesteron (Lüllmann-Rauch und Asan 2019). Progesteron ist für die Vorbereitung der Uterusschleimhaut im Hinblick auf eine potentielle Embryo-implantation verantwortlich (Deutzmann 2016). Außerdem bedingt Progesteron

eine deutliche Abnahme der GnRH-Sekretion und infolgedessen der FSH- und LH-Spiegel (Deutzmann 2016; Mesiano und Jones 2017b).

### **1.3.6 Ausgang und Neuanfang des Zyklus**

Im Falle einer Schwangerschaft wird vom Keim das LH-artig wirkende Hormon humanes Choriongonadotropin (hCG) gebildet, welches das Corpus luteum erhält (Lüllmann-Rauch und Asan 2019). Ohne Embryoimplantation kommt es zur Rückbildung des Corpus luteum (Rieger et al. 2018). In diesem Fall ist es nur während der 14 Tage der zweiten Zyklushälfte aktiv (Ross und Pawlina 2011) und die Progesteron- und Estrogenspiegel sinken ab dem 22. Zyklustag (Welsch 2010a). Die oberflächliche Schicht der Uterusschleimhaut wird nekrotisch und mit der am ersten Tag des nächsten Zyklus einsetzenden Menstruationsblutung ausgeschieden (Lüllmann-Rauch und Asan 2019; Mesiano und Jones 2017b). Da Estradiol, Inhibin und Progesteron als inhibitorische Signale wegfallen, steigt gegen Ende des Zyklus die GnRH-Ausschüttung wieder an. Der resultierende erneute Anstieg der FSH-Sekretion führt zur Rekrutierung einer Follikel-Kohorte für den nächsten Zyklus der Frau (Rieger et al. 2018).

## **1.4 Die Befruchtung**

Für die Befruchtung, auch Fertilisation genannt, müssen reife männliche und weibliche Keimzellen zusammentreffen (Basuino und Silveira 2016). Unbefruchtet degeneriert die Eizelle nach 12-24 Stunden (Welsch 2010a). Die Befruchtung und die ersten etwa 4 Tage der Keimentwicklung finden in der Tuba uterina statt (Lüllmann-Rauch und Asan 2019), bevor der Weitertransport in das Uteruslumen erfolgt (Neulen und Neise 2011). Physiologisch ist dazu eine Aszension von Spermien aus der Vagina, über Zervikalkanal und Uteruslumen, in die Tuba uterina notwendig. Nur bis zu einige Hundert von den ca. 200 Millionen Spermien des Ejakulats überleben diese (Rieger et al. 2018). I. d. R. können nach der Fusion eines Spermiums mit der Eizelle keine weiteren Spermien eintreten, sodass eine Mehrfachbefruchtung verhindert wird. Ein andernfalls entstehender polyploider Embryo kann sich nicht über frühe Stadien hinaus entwickeln (Mesiano und Jones 2017a). Ebenfalls durch die Fusion der

Keimzellen ausgelöst wird die Beendigung der zweiten Reifeteilung der Eizelle. Erst zu diesem Zeitpunkt entsteht somit die definitive weibliche Keimzelle mit dem weiblichen Vorkern (Ross und Pawlina 2011; Welsch 2010b). Durch die Verschmelzung des weiblichen und männlichen Vorkerns ist die Befruchtung beendet. Es ist eine gemeinsame Zelle, die Zygote, entstanden (Mesiano und Jones 2017a). Mit ihrer ersten mitotischen Furchungsteilung beginnt die Embryonalentwicklung (Ross und Pawlina 2011).

## **1.5 Assistierte Reproduktionstechniken mit extrakorporaler Befruchtung**

### **1.5.1 *In-vitro-Fertilisation***

Bei der IVF handelt es sich um ein Verfahren, bei dem einer Frau Eizellen entnommen und im Labor extrakorporal befruchtet werden (Mesiano und Jones 2017a; Rieger et al. 2018). Indikationen sind u. a. ein Funktionsverlust der Tuba uterina (auch bei der Erkrankung Endometriose), eine immunologisch bedingte oder idiopathische Sterilität sowie eine Subfertilität des Mannes – sofern diese nicht durch sonstige therapeutische Möglichkeiten behandelbar sind (G-BA 2017).

#### **1.5.1.1 *Kontrollierte ovarielle Stimulation***

Nicht aus jedem sprungreifen Ovarialfollikel kann eine reife oder überhaupt eine Eizelle gewonnen werden (Mesiano und Jones 2017a; Sunkara et al. 2011). In nahezu allen IVF-Behandlungszyklen werden aus einigen Follikeln keine Eizellen gewonnen (Stevenson und Lashen 2008). Ein Grund dafür kann eine noch nicht erfolgte Ablösung des Cumulus-Eizell-Komplexes von der Follikelwand sein (Meniru und Craft 1997). Ein weiterer möglicher Grund ist umstritten, und zwar, ob Follikel existieren, die keine Eizelle enthalten. Eine normale Ausbildung der restlichen Follikelstrukturen bei nicht angelegter Eizelle erscheint unwahrscheinlich (Mossman und Duke 1973). Als Erklärung für eizelleere Follikel wurde stattdessen ein frühes atretisches Zugrundegehen der Eizelle vorgeschlagen (Stevenson und Lashen 2008).

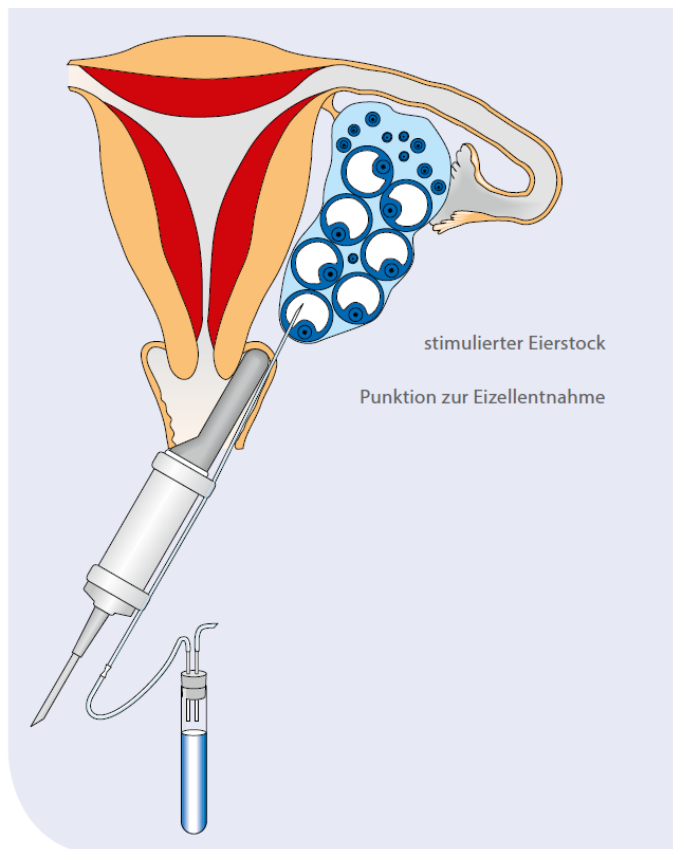
Auch die folgenden Teilschritte haben jeweils keine Erfolgsrate von 100 %. Deshalb werden beim konventionellen IVF-Verfahren nach Möglichkeit 8-18 Eizellen gewonnen (Mesiano und Jones 2017a; Sunkara et al. 2011). Für die

simultane Reifung mehrerer Follikel bedarf es einer kontrollierten ovariellen Stimulation (COS, controlled ovarian stimulation) durch die wiederholte exogene Gabe hoher Gonadotropin-Dosen (Mesiano und Jones 2017a). Es wird FSH verabreicht, und insbesondere bei Frauen mit sehr niedrigen LH-Spiegeln zusätzlich LH zur Verbesserung der Follikelreifung (Griesinger 2020). Da mehrere Follikel parallel Estrogene produzieren, würde die für den LH-Spiegelgipfel verantwortliche Estradiol-Schwellenkonzentration bereits während eines unreifen Follikelzustands erreicht und endogen eine vorzeitige Ovulation ausgelöst (Rieger et al. 2018). Um dies zu verhindern und den Ovulationszeitpunkt exogen steuerbar zu machen, werden die Patientinnen zur Durchbrechung des hypophysär-ovariellen Regelkreises mit GnRH-Analoga behandelt. Es werden je nach Stimulationsprotokoll GnRH-Agonisten oder GnRH-Antagonisten verwendet. Die GnRH-Antagonisten blockieren die Hypophyse mit raschem Wirkeintritt, während eine Behandlung mit GnRH-Agonisten aufgrund ihres verzögerten Wirkeintritts i. d. R. bereits in der Lutealphase des vorherigen Zyklus der Frau begonnen werden muss (Griesinger 2020). Ein nicht-pulsatiles, kontinuierliches Einwirken eines GnRH-Agonisten über 10-14 Tage desensibilisiert die Hypophyse und unterdrückt somit die Gonadotropin-Freisetzung (Griesinger 2020; Mesiano und Jones 2017c).

Das Follikelwachstum wird mit seriellen Ultraschalluntersuchungen bezüglich Anzahl und Größe der Follikel kontrolliert (Griesinger 2020). Zusätzlich erfolgen häufig Kontrollen der Hormonspiegel im Blut zur Überprüfung des Erfolgs der hypophysären Herabregulierung und der Follikelfunktion (Griesinger 2020; Mesiano und Jones 2017a). Zur Induktion der finalen Eizellreifung wird durch eine hCG-Gabe ein natürlicher LH-Gipfel simuliert (Mesiano und Jones 2017a; Rieger et al. 2018). Dies ist möglich, da LH und hCG aufgrund ihrer hohen Strukturähnlichkeit an dasselbe Rezeptorsystem binden können (Rieger et al. 2018). Alternativ ist bei GnRH-Antagonisten-Stimulationsprotokollen eine GnRH-Agonisten-Bolusgabe mit resultierender endogener LH-Ausschüttung möglich (Griesinger 2020). Kurz bevor die Ovulation stattfinden würde, d. h. 34-36 Stunden nach der hCG-Gabe, erfolgt die Entnahme der Eizellen (Mesiano und Jones 2017a).

### 1.5.1.2 Eizellentnahme und extrakorporale Befruchtung

Die ultraschallgesteuerte Follikelpunktion erfolgt i. d. R. transvaginal in Steinschnittlage. Eine Vaginalultraschallsonde wird mit leichtem Druck im lateralen Vaginalgewölbe an das Ovar herangeführt (Ludwig 2020). Über eine Führungsschiene an der Vaginalsonde wird die Punktionsnadel durch die Vaginalwand in die Follikel eingeführt und die FF mitsamt den Eizellen abgesaugt (Mesiano und Jones 2017a). I. d. R. werden möglichst alle über 10 mm großen Follikel punktiert (Ludwig 2020).



*Abbildung 1: Follikelpunktion zur Eizellentnahme (BZgA 2017). Die Verwendung erfolgt mit freundlicher Genehmigung der Bundeszentrale für gesundheitliche Aufklärung.*

Die Insemination, d. h. Zugabe beweglicher Spermien zu den gewonnenen Eizellen, erfolgt ca. 2-3 Stunden nach der Follikelpunktion (Ebner und Diedrich 2020). Die Befruchtungsrate liegt dabei bei ca. 60-85 % (Mesiano und Jones 2017a). In ca. 91 % wird mindestens eine Eizelle pro Behandlungszyklus erfolgreich befruchtet (Deutsches IVF-Register e.V. 2020). In diesem Stadium können

befruchtete Eizellen auch für zukünftige Behandlungszyklen kryokonserviert werden (Ross und Pawlina 2011).

### **1.5.2 Intrazytoplasmatische Spermieninjektion**

U. a. im Falle einer schweren Fertilitätsstörung des männlichen Partners mit einer sehr geringen Anzahl beweglicher Spermien oder eines totalen Fertilisationsversagens bei einem IVF-Versuch ist die Anwendung eines ICSI-Verfahrens sinnvoll (G-BA 2017; Mesiano und Jones 2017a). Hierbei wird im Labor ein ausgewähltes Spermium mittels einer Mikroinjektionsspipette direkt in die Eizelle injiziert (Ebner und Diedrich 2020). Die Befruchtungsrates liegt bei ca. 60-70 % (Mesiano und Jones 2017a). In nahezu 95 % wird mindestens eine Eizelle pro Behandlungszyklus erfolgreich befruchtet (Deutsches IVF-Register e.V. 2020).

### **1.5.3 Embryotransfer**

Der Embryotransfer in den Uterus der Frau erfolgt nach 2-5 Kulturtagen in einem mehrzelligen Stadium des Embryos (Mesiano und Jones 2017a; Rieger et al. 2018). Eine maximal erlaubte Anzahl von 3 Embryonen pro Embryotransfer soll Mehrlingsschwangerschaften reduzieren (Al-Hasani und Diedrich 2020b). Der Embryo oder die Embryonen werden über einen dünnen, flexiblen Katheter im Uteruslumen platziert (Al-Hasani und Diedrich 2020b; Mesiano und Jones 2017a). Da eine COS Lutealphasendefekte induzieren kann, wird zur Erhaltung einer eintretenden Schwangerschaft spätestens ab dem Embryotransfer eine Behandlung der Patientin mit Progesteron begonnen (Kleinstein und Brössner 2008; Ross und Pawlina 2011). Die Implantationsraten betragen ca. 8-15 % pro Embryo (Mesiano und Jones 2017a). Die Lebendgeburtenrate liegt bei ca. 21 % pro IVF- und bei ca. 19 % pro ICSI-Behandlung (Deutsches IVF-Register e.V. 2020).

## **1.6 Untersuchung der Follikelflüssigkeit**

### ***1.6.1 Beurteilung der Eizellqualität und weiterer Parameter der assistierten Reproduktion***

Biochemische Marker in der FF können vermutlich Therapieergebnisse der assistierten Reproduktion vorhersagen. Diese Idee hat sich in den letzten Jahrzehnten gefestigt. Die Konzentrationen einer Reihe von Substanzen in der FF werden mit dem Reifegrad der Eizelle und deren Entwicklungsfähigkeit, d. h. Befruchtung, Schwangerschaft und Geburt, sowie weiteren Parametern der assistierten Reproduktion in Zusammenhang gebracht (Basuino und Silveira 2016; Benkhalifa et al. 2015; Chen et al. 2016; Da Broi et al. 2018; McRae et al. 2013; Revelli et al. 2009). Außerdem könnten sich Substanzen in der FF auf die Wahrscheinlichkeit der Gewinnung einer Eizelle aus einem Follikel auswirken (Rosen et al. 2009). Neben Rückschlüssen auf die Qualität einzelner Follikel und Eizellen könnten biochemische Marker auch ermöglichen, Patientinnen mit einem höheren Risiko für einen unerfolgreichen Therapiezyklus frühzeitig zu erkennen, um Therapieanpassungen vornehmen zu können.

Die FF wird ohnehin zusammen mit der Eizelle gewonnen und üblicherweise verworfen. Sie bietet sich daher für Studien- und perspektivisch diagnostische Zwecke an. Auch in Bezug auf die Eizelle stellt ihre Untersuchung einen nicht-invasiven Ansatz dar (McRae et al. 2013). Prinzipiell wäre der Einsatz einer FF-Untersuchung in der klinischen Routine möglich, da zwischen Follikelpunktion und Insemination bzw. Spermieninjektion ein ausreichendes Zeitfenster besteht (Costa et al. 2004).

#### ***1.6.1.1 Notwendigkeit der Evaluation neuer Techniken zur Beurteilung der Eizellqualität***

Für eine Optimierung der Erfolgsraten der IVF- und ICSI-Therapie ist die Beurteilung der Qualität der Follikel, der gewonnenen Eizellen und derer weiterer Entwicklungsstadien zur Selektion der optimalen entscheidend. Von der Eizellentwicklung während der folliculären Reifung ist die Kompetenz zu einer erfolgreichen Befruchtung und folgenden embryonalen Entwicklungsschritten abhängig (Al-Hasani und Diedrich 2020a). Insbesondere vor dem Hintergrund des Ziels, risikobehaftete Mehrlingsschwangerschaften zu vermeiden und daher

möglichst wenige bzw. nur einen einzigen Embryo zu transferieren, ist eine solche Selektion bedeutsam (Al-Hasani und Diedrich 2020a; Deutsches IVF-Register e.V. 2020).

Die aktuell gängige Methode ist die lichtmikroskopische morphologische Beurteilung der Eizell- und Zygotenqualität (Al-Hasani und Diedrich 2020a). Bei der IVF-Technik ist vor der Befruchtung sogar lediglich die Bewertung der Morphologie des Cumulus-Eizell-Komplexes möglich, da erst an Tag 1 nach der Follikelpunktion und Befruchtung die angelagerten Cumuluszellen für eine direkte Visualisierung der Eizelle entfernt werden (Al-Hasani und Diedrich 2020a). Außerdem sind die morphologischen Prädiktoren aufgrund ihrer begrenzten, nicht abschließend geklärten Vorhersagefähigkeit und Untersucherabhängigkeit nicht vollkommen ideal (Balaban und Urman 2006; Rienzi et al. 2011; Singh und Sinclair 2007; Wang und Sun 2007). Zunehmend werden weitere diagnostische Verfahren evaluiert, die diese seit langem etablierte Methode ergänzen könnten. Dabei sollen weitere der z. T. geringen Unterschiede zwischen qualitativ unterschiedlichen Eizellen erkennbar gemacht werden (Montag et al. 2009). Konzentrationsveränderungen der FF-Inhaltsstoffe könnten morphologischen Veränderungen sogar vorausgehen (Brailly et al. 1981). Eine kombinierte Anwendung von Kriterien könnte zu einer präziseren und objektiveren Beurteilung der Eizellkompetenz führen (Revelli et al. 2009; Singh und Sinclair 2007; Wang und Sun 2007).

#### *1.6.1.2 Die Follikelflüssigkeit als Mikroumgebung der Eizellreifung*

Die FF stellt gemeinsam mit weiteren Follikelbestandteilen eine komplexe und dynamische Mikroumgebung für die reifende Eizelle dar (Hennet und Combelles 2012; Revelli et al. 2009). Cumuluszellen und FF sind bestimmende Einflussfaktoren der Eizellqualität, da ihre funktionelle Integrität für die notwendige Feinabstimmung des folliculären Milieus sorgt (Da Broi et al. 2018). Die FF umgibt die Follikelepithelzellen und kann sie wahrscheinlich relativ frei umfließen (Gosden et al. 1988; Rodgers und Irving-Rodgers 2010). Sie steht somit in engem Kontakt mit dem Cumulus-Eizell-Komplex (Da Broi et al. 2018; Gosden et al. 1988).



Die FF enthält eine komplexe Mischung von Hormonen, Zytokinen, Wachstumsfaktoren, Enzymen, weiteren Proteinen, (Poly-)Sacchariden, Metaboliten etc. (Basuino und Silveira 2016; Revelli et al. 2009; Zamah et al. 2015). Es handelt sich um ein Blutserumtranssudat, welches durch folliculäre metabolische Aktivitäten und lokal produzierte Substanzen modifiziert wird (Moradi-Kor et al. 2013).

Follikelepithel und -höhle sind avaskulär (Ross und Pawlina 2011) und werden nur per Diffusion erreicht (Bächler et al. 2014). Eine Blut-Follikel-Schranke könnte insbesondere aus dem Kapillarendothel und der Basalmembran des Follikelepithels bestehen (Zhou et al. 2007). Ihre Permeabilität ist vermutlich von der Follikelentwicklung und dem weiblichen Zyklus abhängig (Cavender und Murdoch 1988; Espey 1980; Hess et al. 1998; Siu und Cheng 2012). Die Passage ist u. a. von der Molekülmasse abhängig. Die meisten Substanzen mit relativ geringer Molekülmasse können passieren (Cran et al. 1976; Gosden et al. 1988; Rodgers et al. 2003; Rodgers und Irving-Rodgers 2010; Shalgi et al. 1973; Zhou et al. 2007). Auch Ladung und Dichte könnten eine Rolle spielen (Hess et al. 1998). Insgesamt ist nicht von einer bloßen Filtration, sondern auch der Beteiligung selektiver Transportprozesse auszugehen (Siu und Cheng 2012). Zudem ist eine Sequestration oder Degradierung von Substanzen innerhalb des Follikels denkbar (Bächler et al. 2014; Göbel und Meuth 2018).

Durch lokale Synthese und Sekretion von Substanzen kommt es zu intra-follikulär erhöhten Konzentrationen (Gosden et al. 1988). Im Laufe der Follikelentwicklung kommt es zu deutlichen lokalen biochemischen Veränderungen durch sich ändernde Stoffwechselaktivitäten im Follikel (Gérard et al. 2002; Moradi-Kor et al. 2013).

Dabei soll die FF als Kulturmedium stets geeignete Bedingungen zur Versorgung und Reifung der Eizelle bieten (Shalgi et al. 1973). Ebenso stellt sie ein wichtiges Medium bei der Kommunikationsvermittlung zwischen den Zellen des Follikels dar (Basuino und Silveira 2016; Hennet und Combelles 2012). Hormonelle, parakrine und autokrine Signalwege laufen über die FF ab (Da Broi et al. 2018). Es wird vermutet, dass in der FF ein hochdynamisches funktionales Netzwerk besteht (Bianchi et al. 2016). Änderungen des Status der FF könnten daher über nachgeschaltete Signalwege u. a. zu einer Störung der symbiotischen Eizell-Cumuluszell-Beziehung führen (Da Broi et al. 2018). Die kontinuierliche,

bidirektionale Kommunikation zwischen Granulosazellen und Eizelle ist für die nukleäre und zytoplasmatische Eizellreifung essenziell (Da Broi et al. 2018; Dumesic et al. 2015; Gilchrist et al. 2008; Sánchez und Smitz 2012). Manche Hormoneinflüsse wie jene der Gonadotropine werden indirekt durch die somatischen Follikelzellen vermittelt, wenn die Eizelle selbst keine entsprechenden Rezeptoren besitzt (Griesinger 2020; Rieger et al. 2018). Umgekehrt schüttet die Eizelle Faktoren aus, die Steroidhormonproduktion und metabolische Aktivität der Cumuluszellen mitregulieren (Otsuka et al. 2011; Sonntag 2020b).

Insgesamt laufen im Follikel systemisch und lokal beeinflusste (patho)physiologische Prozesse ab (Bianchi et al. 2016), und die in der FF vorhandenen Substanzen spiegeln diese wieder (Zamah et al. 2015).

### ***1.6.1.3 Bestehender Forschungsbedarf***

Bisherige Studien zu Zusammenhängen der FF-Inhaltsstoffe mit Parametern der assistierten Reproduktion widersprachen sich z. T. untereinander. Zudem wurde in vielen bisherigen Studien FF aus nur wenigen Leitfollikeln pro Patientin oder nicht die FF der einzelnen Follikel, sondern gepoolte FF, verwendet. Insgesamt konnten zwar Kandidaten biochemischer Prädiktoren der Follikel- bzw. Eizellkompetenz identifiziert werden, aber es ist noch kein verlässlicher biochemischer Prädiktor etabliert worden (Benkhalifa et al. 2015; Kosteria et al. 2017; Revelli et al. 2009). Weitere Studien sind daher erforderlich, um Biomarker zu etablieren, die für neue Messverfahren in der reproduktionsmedizinischen Diagnostik herangezogen werden können. Langfristig gesehen könnten Erkenntnisse aus der Untersuchung der FF zur Neuentwicklung, Optimierung und Individualisierung zukünftiger Diagnostik und Therapien der Infertilität beitragen (Da Broi et al. 2018).

## ***1.6.2 Zusammenhänge mit weiteren (patho)physiologischen Faktoren***

### ***1.6.2.1 Follikelgröße***

Betrachtungswert ist zudem ein Zusammenhang von FF-Inhaltsstoffen mit der Follikelgröße. Wie in Kapitel 1.2 beschrieben, nimmt der Follikel mit zunehmender Reifung an Größe zu. Die Durchmesser der reifenden Follikel werden regelmäßig im Rahmen der COS kontrolliert (Griesinger 2020). Denn es handelt sich um ein etabliertes Maß zur Einschätzung der Follikelreife, anhand dessen der

Zeitpunkt der Follikelpunktion hauptsächlich festgelegt wird. Bereits einige Studien zeigten eine Abnahme der Wahrscheinlichkeit des Eizellgewinns bei geringerer Follikelgröße (Rosen et al. 2009).

Allgemein ist das Wissen über die komplexen Prozesse im Ovarialfollikel noch inkomplett (Da Broi et al. 2018). Von Erkenntnissen über die Veränderung der FF-Zusammensetzung mit der Follikelgröße könnte – weiter in die Zukunft gedacht – auch die Weiterentwicklung therapeutischer Verfahren wie den Kulturbedingungen bei der In-Vitro-Maturation (IVM) profitieren. Dabei werden die Eizellen bereits ab einem früheren Zeitpunkt extrakorporal kultiviert, sodass eine COS bzw. deren Nebenwirkungsrisiko entfällt (Siristatidis et al. 2018).

#### *1.6.2.2 Alter und Body-Mass-Index*

Es ist bekannt, dass die Fertilität der Frau im Alter zunehmend eingeschränkt ist (Ludwig et al. 2020b). Im Allgemeinen lässt sich etwa ab dem 35. Lebensjahr eine klinisch relevante Fertilitätsabnahme beobachten, einhergehend mit einer Abnahme der Ovarialfollikelanzahl und der Eizellqualität (Li et al. 2021). Das Alter der Frau gilt als wichtigster prognostischer Faktor für die Erfüllung des Kinderwunsches (Dorn und Wischmann 2020). Ebenfalls ist bekannt, dass sich Übergewicht negativ auf die Fertilität auswirkt, sowie auf die Therapieergebnisse der assistierten Reproduktion (Dağ und Dilbaz 2015). In diesem Zusammenhang, oder unabhängig davon, könnten sich die FF-Konzentrationen von Biomarkerkandidaten für erfolgreiche IVF- bzw. ICSI-Therapieergebnisse mit dem Alter oder Body-Mass-Index (BMI) ändern. Generell konnten bereits Veränderungen der FF im Alter festgestellt werden (Li et al. 2021). Auch ein Einfluss einer Adipositas und assoziierter metabolischer Störungen auf die FF-Zusammensetzung ist plausibel (Gu et al. 2015; Liu et al. 2020b).

### **1.7 Sexualhormon-bindendes Globulin in der Follikelflüssigkeit**

#### **1.7.1 SHBG und seine Funktionen**

SHBG ist ein homodimeres Glykoprotein mit einer Molekülmasse von etwa 90 kDa (Rosner und Smith 1975; Thaler et al. 2015; Walsh et al. 1986). Das Serumprotein wird hauptsächlich durch die Hepatozyten in der Leber produziert (Ben-

Rafael et al. 1986; Hammond 2011; Pugeat et al. 2010; Simó et al. 2015; Thaler et al. 2015; Weil 2018). Die SHBG-Serumspiegel zeigen ausgeprägte interindividuelle Schwankungen (Thaler et al. 2015). Außer durch die Sexualsteroidhormone werden sie durch zahlreiche, auch nicht-hormonelle Faktoren beeinflusst. Dies können z. B. genetische Faktoren, die Lebensphase, Schilddrüsenhormone, Endokrinopathien, metabolische Faktoren, die Nahrungszusammensetzung, proinflammatorische Zytokine oder Medikamenteneinnahmen sein (Deswal et al. 2018; Hammond 2011; Kamberi et al. 1988; Rosner 1990; Simó et al. 2015; Thaler et al. 2015). Daher ist SHBG im Blutserum als Biomarker nicht nur in der Diagnostik des weiblichen Hyperandrogenismus etabliert (Bidlingmaier 2018; Deswal et al. 2018; Thaler et al. 2015), sondern wurde z. B. auch als sehr früher und sensitiver Prädiktor der Entwicklung eines metabolischen Syndroms und Diabetes mellitus Typ 2 vorgeschlagen (Goldštajn et al. 2016; Le et al. 2012; Lindstedt et al. 1991; Thaler et al. 2015).

Als Hauptfunktion von SHBG wird noch immer der Transport und die Speicherung von Sexualsteroidhormonen und die Regulation ihrer Bioverfügbarkeit im Blut angesehen, entsprechend der klassischen Freien-Hormon-Hypothese (Forges et al. 2004; Paschke 2018; Weil 2018). Dabei handelt es sich um die vereinfachte, aber gegenwärtig bevorzugte Auffassung, dass nur die freie und Albumin-gebundene Fraktion der Sexualsteroiden biologische Effekte bewirken kann (Ly und Handelsman 2005; Rosner 2006). Da die SHBG-Serumspiegel selbst vom Estrogen/Androgen-Verhältnis beeinflusst werden, könnte SHBG zudem als ein Verstärker der Sexualsteroidwirkungen angesehen werden (Anderson 1974; Thaler et al. 2015). SHBG bindet bestimmte Sexualsteroiden mit hoher Affinität und Spezifität (Thaler et al. 2015), wobei seine Affinität zu Testosteron etwa 2,5-fach höher ist als zu Estradiol (Weil 2018). In der FF präovulatorischer Follikel hingegen bindet SHBG überwiegend Estradiol aufgrund der in Relation ca. 50-100-fach niedrigeren Testosteronkonzentration. Die kompetitive Bindung weiterer Steroide ist i. d. R. in FF vernachlässigbar (Yding Andersen 1991). Früher wurde eine Beteiligung von SHBG an der Regulation des Steroidflusses zwischen Follikel und Blutstrom vermutet (Ben-Rafael et al. 1986; Phocas et al. 1995), doch vermutlich ist diese unwesentlich, da es dazu in der FF nicht ausreichend hoch konzentriert ist (Martin et al. 1981;

Phocas et al. 1995; Yding Andersen 1990, 1991). Auch eine relevante Rolle von SHBG bei der Regulation des biologisch aktiven Anteils der Steroidhormone in der FF ist umstritten (Lin und Sun 2005; Phocas et al. 1995; Yding Andersen 1990). Zumindest in präovulatorischen Follikeln ist SHBG höchstwahrscheinlich durch die hohen Steroidhormonspiegel gesättigt (Ben-Rafael et al. 1986; Campo et al. 1989; Yding Andersen 1991). Daher scheinen diese passiven Funktionen von SHBG dort nicht im Vordergrund zu stehen. Allgemein ist mittlerweile ein aktiveres Konzept mit potentiellen weitergehenden Funktionen etabliert worden (Caldwell und Jirikowski 2009; Forges et al. 2004; Joseph 1994; Kahn et al. 2002).

Obwohl laut bisherigen Studien ein Großteil des folliculären SHBG vermutlich aus dem Blutkreislauf stammt (Ben-Rafael et al. 1986; Kamberi et al. 1988; Phocas et al. 1995), wurde eine intrafollikuläre Synthese nachgewiesen (Forges et al. 2004; Forges et al. 2005; Misao et al. 1997). SHBG findet sich in allen Stadien der Follikulogenese im Follikelepithel und u. a. in unmittelbarer Nähe der Zellmembran reifer Eizellen (Forges et al. 2005). Daher erscheint eine bedeutsame Rolle von SHBG in der folliculären Physiologie plausibel (Forges et al. 2004; Hatzi et al. 2011). Vorgeschlagen wurde eine wichtige Rolle von SHBG über parakrine und autokrine Effekte in der lokalen Regulation der ovariellen Funktion, wie Follikelreifung und Lutealfunktion (Forges et al. 2004; Forges et al. 2005; Hanrieder et al. 2008; Rosner et al. 2010). Ein Einfluss von lokal synthetisiertem, membrangebundenem SHBG auf Zellfunktionen wurde in anderen steroidresponsiven Geweben bereits beobachtet (Forges et al. 2004; Fortunati 1999). Es scheint Teil eines komplexen Steroid-Signalsystems zu sein, das parallel zu den klassischen intrazellulären Steroidrezeptoren existiert (Kahn et al. 2002; Rosner et al. 1992; Rosner et al. 1999), und u. a. die transkriptionelle Aktivität der Steroidrezeptoren und die Effekte von Androgenen und Estrogenen in Zellen beeinflusst (Fortunati 1999; Rosner et al. 1999; Rosner et al. 2010). Im Hoden der Ratte wird das sich bloß in der Glykosylierung unterscheidende Androgen-bindende Protein (ABP) zu den Keimzellen transferiert und kann deren DNA- und Proteinsynthese steigern (Forges et al. 2004; Gerard et al. 1994; Gerard 1995; Gérard et al. 1996). Eine Analogie der Prozesse im Ovar mit jenen im Hoden erscheint naheliegend (Forges et al. 2004).

### **1.7.2 Literaturlage zu den Zusammenhängen des SHBG in der Follikelflüssigkeit mit Parametern der assistierten Reproduktion und weiteren Faktoren**

Die meisten bisherigen Studien zeigten einen Anstieg der SHBG-Serumspiegel während der COS im Vergleich zu unstimulierten Zyklen (Ben-Rafael et al. 1987b; Dowsett et al. 1985; Fridström et al. 1999; Lin und Sun 2005; Odland et al. 1982; Phocas et al. 1995; Thuesen et al. 2013; Yding Andersen 1990; Yding Andersen et al. 1992b), und auch der FF-Spiegel (Phocas et al. 1995). Mehrere Berichte über niedrigere SHBG-Spiegel in Serum und FF von Patientinnen mit einem schlechten im Vergleich zu Patientinnen mit einem guten Ansprechen auf die COS existieren (Ben-Rafael et al. 1986; Ben-Rafael et al. 1987b; Fuentes et al. 2019; Kamberi et al. 1988; Zhai et al. 2021).

Niedrige SHBG-Spiegel wurden in Follikeln mit enthaltener atretischer Eizelle beobachtet (Ben-Rafael et al. 1986) und wurden mit einer größeren Anzahl atretischer Eizellen assoziiert (Kamberi et al. 1988). Eine Assoziation mit der Follikelgröße, und auch mit der Gesamtfollikelzahl, wurde beschrieben (Lin und Sun 2005). In manchen Studien waren die SHBG-FF- und -Serumspiegel signifikant höher bei Frauen, die später schwanger wurden (Lin und Sun 2005; Yding Andersen 1990; Yding Andersen et al. 1992b). Insgesamt wurde SHBG daher bereits als Biomarker zur Vorhersage erfolgreicher IVF-Therapieergebnisse vorgeschlagen (Kamberi et al. 1988; Lin und Sun 2005; Yding Andersen 1990).

Hinsichtlich des Zusammenhangs der SHBG-FF-Spiegel mit soziodemographischen und pathologischen Faktoren wurden bisher nur wenige Studien publiziert. Hier wurde z. B. ein erhöhter BMI mit erniedrigten SHBG-Spiegeln in Serum und FF assoziiert (Robker et al. 2009; Thaler et al. 2015).

Insgesamt erscheint die bisherige Literaturlage vielversprechend, aber es besteht noch Forschungsbedarf. Die vorhandenen Forschungsergebnisse widersprechen sich teilweise und gehen auf Studien unter unterschiedlichen Bedingungen, z. B. Stimulationsprotokollen, zurück. Weitere Untersuchungen sind notwendig zur Untermauerung oder Widerlegung, sowie zur Erweiterung

der Kenntnisse über SHBG in der FF und dessen Assoziationen in der (assistierten) Reproduktion.

### **1.7.3 Freier Androgenindex**

Der Freie Androgenindex (FAI) ist ein Maß, um bei der Betrachtung der Serum-Testosteronspiegel die SHBG-Konzentration zu berücksichtigen und somit das bioverfügbare Testosteron abzuschätzen (Kapoor et al. 1993; Schulte und Jacobeit 2013a). Der FAI wird als Quotient aus den Gesamt-Testosteronspiegeln in nmol/l und den SHBG-Spiegeln in nmol/l x 100 (Prozentsatz) berechnet, und ist daher ein dimensionsloser Wert (Niu et al. 2014; Schulte und Jacobeit 2013b). Da die Referenzmethoden aufwändig und teuer sind, wird der FAI in der klinischen Routine häufig verwendet (Sartorius et al. 2009; Vermeulen et al. 1999). Erst in wenigen Studien wurde der FAI für FF verwendet (Li et al. 2000; Lin und Sun 2005; Qu et al. 2010; Robker et al. 2009; Smitz et al. 2007). Ggf. kann die Möglichkeit einer Pilotstudie genutzt werden, um auch den FAI in der FF zu betrachten.

## **1.8 Fragestellung und Zielsetzung**

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war eine Hypothesengenerierung über die Zusammenhänge des potentiellen Biomarkers SHBG in der FF mit Parametern der assistierten Reproduktion, wie die Eizellkompetenz wiederspiegelnde erfolgreiche Therapieergebnisse, sowie soziodemographischen und klinischen Parametern wie Alter und BMI. Dabei sollte die SHBG-Konzentration in der FF einzelner humaner Follikel, sowie auch im Blutserum, von Patientinnen des Reproduktionsmedizinischen Kompetenzzentrums (REPKO) Standort Marburg untersucht werden. Je Patientin sollte die FF mehrerer Follikel unterschiedlicher Größen analysiert werden.

Es sollten folgende Fragestellungen bezüglich der SHBG-Konzentration in der FF betrachtet werden: Unterscheidet sie sich von der SHBG-Konzentration im Blutserum, und inwiefern existiert dazu ein Zusammenhang? Existieren Unterschiede in Abhängigkeit davon, ob aus den Follikeln eine Eizelle gewonnen werden konnte oder nicht, sowie vom Follikeldurchmesser? Können Zusammenhänge mit verschiedenen IVF- und ICSI-Parametern wie Follikel-

und Eizellanzahlen und Behandlungsergebnissen wie z. B. der Befruchtungsrates gefunden werden? Gibt es einen Unterschied zwischen Patientinnen, die eine Schwangerschaft bzw. Lebendgeburt erreichten, und denjenigen, die keine erreichten? Bestehen Unterschiede in Abhängigkeit von Alter und BMI?

Diese Zusammenhänge sollten jeweils auch mit der SHBG-Konzentration im Serum betrachtet werden, um einen Vergleich mit der Betrachtung der SHBG-Konzentration in der FF zu ermöglichen. Des Weiteren sollte untersucht werden, ob die Streuung der SHBG-Konzentrationen der Follikel einer Patientin mit einem Teil der genannten Parameter zusammenhängt.

Darüber hinaus sollte die Anwendung des Freien Androgenindex (FAI) in der FF erwogen werden. Ggf. sollten die genannten Fragestellungen zusätzlich hinsichtlich des FAI betrachtet werden.



## **2 Material und Methoden**

### **2.1 Dachprojekt und Patientinnenkollektiv**

Die Datengewinnung erfolgte im Rahmen der Pilotstudie „Explorative biochemische Analyse aktueller Biomarker in humaner Follikelflüssigkeit und deren Einfluss auf die Befruchtungsrates in der assistierten Reproduktion“. Ein positives Votum der Ethikkommission des Fachbereichs Medizin der Philipps-Universität Marburg lag vor (Ethikvotum Aktenzeichen 43/18). Der Beginn der Pilotstudie datierte sich auf Dezember 2017. Es handelte sich um eine unizentrische, prospektive, explorative Kohortenstudie im Auftrag und in Eigenfinanzierung der Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Schwerpunkt gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin, des Universitätsklinikums Gießen und Marburg GmbH (UKGM) in Kooperation mit der „Comprehensive Bio-material Bank Marburg“ (CBBMR).

Rekrutiert wurden Patientinnen, bei denen am Reproduktionsmedizinischen Kompetenzzentrum (REPKO) Standort Marburg eine IVF- oder ICSI-Behandlung mit Eizellentnahme durchgeführt wurde. Die Rekrutierung erfolgte punktuell. Einschlusskriterien waren die erfolgreiche Asservierung von Serum und FF der Patientin gemäß des Studienprotokolls, Volljährigkeit und eine schriftliche Einwilligung der Patientin nach einem Aufklärungsgespräch mit der behandelnden Ärztin/dem behandelnden Arzt des REPKO. Ausschlusskriterien gab es bei der Rekrutierung für die Pilotstudie keine. Zur Pseudonymisierung erhielten die Patientinnen entsprechend der Reihenfolge ihrer Aufnahme in die Studie eine fortlaufende, aufsteigende Nummerierung. Diese Fallnummer war dreistellig und begann bei 001 für die erste Patientin.

Ein Anteil der rekrutierten Patientinnen und deren FF-Proben wurde auf das in vorliegender Arbeit betrachtete SHBG hin analysiert. Das untersuchte Patientinnenkollektiv umfasste 54 Patientinnen, die zwischen Dezember 2018 und August 2020 behandelt wurden. Die Patientinnen waren zwischen 25 und 47 (durchschnittlich ca. 35,4) Jahre alt. Hinsichtlich der Indikationen bestanden bei 32 Patientinnen Indikationen des Partners, bei 21 Patientinnen Tubenpathologien, bei 11 Patientinnen endokrine Faktoren, bei 9 Patientinnen eine

Endometriose, bei 4 Patientinnen uterine bzw. zervikale Faktoren, bei 6 Patientinnen idiopathische und bei 2 Patientinnen sonstige Indikationen. Dabei wurden 26 Patientinnen mehreren Indikationen zugeordnet. 39 Patientinnen erhielten ausschließlich eine ICSI-, 5 Patientinnen ausschließlich eine IVF-Behandlung, und bei 7 Patientinnen wurden die Eizellen anteilig mit beiden Verfahren behandelt. Bei 3 Patientinnen konnte keine ICSI- oder IVF-Behandlung von Eizellen stattfinden, da keine oder ausschließlich atretische oder unreife Eizellen gewonnen wurden. Es wurde nie mehr als ein Therapiezyklus pro Patientin einbezogen. Pro Patientin wurde eine Serum-Probe sowie zwischen 2 und 17 (durchschnittlich ca. 6,1) FF-Proben analysiert. Insgesamt wurden somit 54 Serum- und 327 FF-Proben analysiert. Die Auswahl der Proben erfolgte primär anhand der Eigenschaften der Probe bzw. des Follikels, und nicht anhand von Patientinnenmerkmalen wie z. B. die der Behandlung zugrundeliegenden Indikation (s. a. Kapitel 2.9).

## 2.2 Verwendete Geräte und Materialien

*Tabelle 1: Auflistung der verwendeten Geräte und Materialien*

| Material  | Bezeichnung                   | Hersteller | Artikelnummer | Hersteller/Anbieter                             |
|---|-------------------------------|------------|---------------|---|
| <i>Gewinnung der FF-Proben</i>  |                               |            |               |   |
| Ultraschallgerät mit Vaginalultraschallsonde und Punktionssnadel-Führungssystem | ACUSON X150; EC9-4 Transducer | SIEMENS    |               | Siemens Healthcare GmbH, Erlangen, Deutschland  |
| Absaugpumpe zur Follikelpunktion  | Aspirator 3                   | Labotect   | 14193 - 0673  | Labotect Labor-Technik-Göttingen GmbH, Rosdorf, |

|                                 |   |           |             |  |
|---------------------------------|---|-----------|-------------|--|
|                                 |   |           |             | Deutsch-land                                       |
| Follikelpunktions-Set           | Follicle-Puncture-System  | Reproline | 711724T-100 | Reproline, Rheinbach, Deutschland                  |
| Rundbodenröhrchen               | Falcon 14 mL Rundboden-Poly-styrolröhrchen, mit Schnappverschluss, steril | Corning   | 352057      | Corning Incorporated Life Sciences, Tewksbury, USA |
| Wärmeplatte                     | OTS 40 Stretching Platte  | Medite    | 04742       | Medite Medical GmbH, Burgdorf, Deutschland         |
| <i>Gewinnung der Blutproben</i> |   |           |             |  |
| periphere Venenverweilkanüle    | Vasofix Safety  | B Braun   |             | B. Braun SE, Melsungen, Deutschland                |
| Adapter                         | Multi-Adapter   | Sarstedt  | 14.1205     | SARSTEDT AG & Co. KG, Nümbrecht, Deutschland       |
| Butterfly                       | Safety-Multi-fly-Kanüle   | Sarstedt  | 85.1638.235 | SARSTEDT AG & Co.                                  |

|                           |                                    |          |                |   |
|---------------------------|------------------------------------|----------|----------------|---|
|                           |                                    |          |                | KG, Nüm-<br>brecht,<br>Deutsch-<br>land   |
| Blutentnahmeröhr-<br>chen | S-Monovette<br>Serum-Gel<br>4,9 ml | Sarstedt | 04.1935        | SARSTED<br>T AG & Co.<br>KG, Nüm-<br>brecht,<br>Deutsch-<br>land                    |
| <i>IVF-Labor</i>          |                                    |          |                |   |
| Wärmeplatte               | Hot Plate 062                      | Labotect | 13854          | Labotect<br>Labor-<br>Technik-<br>Göttingen<br>GmbH,<br>Rosdorf,<br>Deutschlan<br>d |
| Petrischalen              | TC-Schale<br>60, Standard          | Sarstedt | 83.3901        | SARSTED<br>T AG &<br>Co. KG,<br>Nüm-<br>brecht,<br>Deutschlan<br>d                  |
| Eizellsuchbesteck         | Steripette                         | Minitüb  | 19025/00<br>50 | Minitüb<br>GmbH,<br>Tie-<br>fenbach,<br>Deutschlan<br>d                             |

|   |   |           |            |  |
|---|---|-----------|------------|--|
| Spülmedium  | Flushing Medium                             | Origio    | 1084       | Origio a/s, Måløv, Denmark   |
| Hyaluronidase   | Hyaluronidase 80 U/mL in HEPES-HTF          | SAGE      | ART-4007-A | SAGE In Vitro Fertilization, Inc. a Cooper-Surgical Company, Trumbull, USA |
| Medium Kultur bis zur PN Kontrolle an Tag 1 nach Follikelpunktion | Universal IVF Medium                        | Origio    | 1031       | Origio a/s, Måløv, Denmark   |
| Medium weitere Kultur bis zum Embryotransfer                      | G-TL  | Vitrolife | 10145      | Vitrolife Sweden AB, Göteborg, Sweden                                      |
| <i>Zentrifugation und Aliquotierung der FF-Proben</i>             |   |           |            |  |
| Zentrifuge  | Thermo Fisher Multifuge 1 L-R               | Heraeus   |            | Heraeus Holding GmbH, Hanau, Deutschland                                   |
| Manuelle Mikroliterpipetten                                       | Eppendorf Reference, 20-200 µl, 100-1000 µl | Eppendorf |            | Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland   |

|  |  |                       |                                     |   |
|--|--|-----------------------|-------------------------------------|---|
| Pipettenspitzen  | epT.I.P.S.<br>Standard,<br>2-200 µl,<br>50-1000 µl | Eppendorf             | 0030<br>000.870,<br>0030<br>000.919 | Eppendorf<br>AG, Ham-<br>burg,<br>Deutschlan<br>d                             |
| Kryoröhrchen   | Cryo.s   | Greiner<br>Bio-One    | 126263-<br>2DG                      | Greiner<br>Bio-One<br>GmbH,<br>Frickenhau<br>sen,<br>Deutsch-<br>land         |
|  | SAFE 48 XT,<br>XLX 2000<br>Tubes                   | LVL tech-<br>nologies | 2DSC-<br>X20-BL-<br>NS-BU-L         | LVL tech-<br>nologies<br>GmbH &<br>Co. KG,<br>Crailsheim,<br>Deutsch-<br>land |
| <i>Zentrifugation und Aliquotierung der Blutproben</i> |  |                       |                                     |   |
| Zentrifuge   | Megafuge 8   | Heraeus               |                                     | Heraeus<br>Holding<br>GmbH,<br>Hanau,<br>Deutsch-<br>land                     |
| Pipetten   | Research<br>plus                                   | Eppendorf             |                                     | Eppendorf<br>AG, Ham-<br>burg,<br>Deutsch-<br>land                            |
| Pipettenspitzen  | SafeSeal<br>SurPhob                                | Biozym                | VT0230                              | Biozym<br>Scientific<br>GmbH,   |

|                             |   |                        |                 |   |
|-----------------------------|---|------------------------|-----------------|---|
|                             | Spitzen, 100<br>µl  |                        |                 | Hessisch<br>Oldendorf,<br>Deutsch-<br>land                          |
| Kryoröhrchen<br>(Serum)     | FluidX 96-for-<br>mat, Next-<br>Gen Dual-<br>coded Tube     | Brooks Life<br>Science | 68-0701-<br>10  | Brooks<br>Automa-<br>tion, Inc.,<br>Chelms-<br>ford, USA            |
| <i>Laborbestimmungen</i>    |   |                        |                 |   |
| Laboranalysegerät           | cobas e 601<br>Modul der<br>cobas 6000<br>Analyzer<br>Serie | Roche                  |                 | Roche<br>Diagnos-<br>tics GmbH,<br>Mannheim,<br>Deutsch-<br>land    |
| Immunoassay                 | Elecsys<br>SHBG   | Roche                  | 0305200<br>1190 | Roche<br>Diagnos-<br>tics GmbH,<br>Mannheim,<br>Deutsch-<br>land    |
| Probenverdünnungs<br>medium | Diluent<br>MultiAssay                                       | Roche                  | 0360998<br>7190 | Roche<br>Diag-<br>nostics<br>GmbH,<br>Mannheim,<br>Deutsch-<br>land |
| Probenröhrchen              | Röhre, 3,5<br>ml, (LxØ): 55<br>x 12 mm, PS                  | Sarstedt               | 55.484.0<br>05  | SARSTED<br>T AG &<br>Co. KG,<br>Nüm-<br>brecht,                     |

|                 |   |           |              |   |
|-----------------|---|-----------|--------------|---|
|                 |   |           |              | Deutschland                                   |
| Proben-Cups     | cobas Proben-Cups                       | Roche     |              | Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland |
| Pipetten        | Eppendorf Reference, 10 µl, 200-1000 µl | Eppendorf |              | Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland            |
| Pipettenspitzen | epT.I.P.S. Standard, 50-1000 µl         | Eppendorf | 0030 000.919 | Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland            |
|                 | Eurotips 10 µl                          | Eppendorf |              | Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland            |

## 2.3 Therapiezyklus der Patientinnen

### 2.3.1 Kontrollierte ovarielle Stimulation

#### 2.3.1.1 Verwendete Stimulationsprotokolle

Die Behandlung und die Untersuchungen erfolgten im Rahmen der Routinebehandlung. Die Studienteilnahme hatte darauf keinen Einfluss. Die im Patientinnenkollektiv verwendeten Stimulationsprotokolle ließen sich anhand ihres



Grundschemas in drei Arten einteilen, die hier als short-, long- und ultralong-Protokoll bezeichnet werden. Dabei unterschieden sich die verwendeten Präparate (GnRH-Antagonisten beim short-, GnRH-Agonisten beim long- und ultralong-Protokoll) und die Dauer ihrer Gabe.

Hier soll nur eine orientierende Beschreibung der Stimulationsprotokolle erfolgen. Die Medikamentengaben und -dosen variierten individuell u. a. abhängig vom erwarteten Ansprechen und eventuellen Vorerkrankungen, und wurden u. a. in Abhängigkeit von der ovariellen Reaktion auf die Stimulation adaptiert. Zur ovariellen Stimulation erfolgte täglich bis zur Ovulationsinduktion die Gabe eines Gonadotropinpräparats mit FSH-Wirkung und bei klinischer Erforderlichkeit zusätzlich eine Gabe von LH. 38 Patientinnen erhielten eine Behandlung mit einem short-Protokoll, wobei die COS ab Tag 1-3 des Zyklus erfolgte und nach zumeist 5 Tagen COS zusätzlich ein GnRH-Antagonist verabreicht wurde. 15 Patientinnen erhielten eine Behandlung mit einem long-Protokoll, wobei bereits ab Tag 21 des vorhergehenden Zyklus ein GnRH-Agonist gegeben wurde, bevor zusätzlich die COS des Behandlungszyklus begonnen wurde. Eine Patientin erhielt eine Behandlung mit einem ultralong-Protokoll, wobei der GnRH-Agonist bereits über mehrere Monate vor dem Stimulationsbeginn angewandt wurde.

Das hypophysäre und ovarielle Ansprechen auf die Therapie wurde über Blut- und Transvaginalultraschalluntersuchungen gemonitort. Etwa ab der Mitte der Follikelphase bis zur Follikelpunktion fanden in einem Abstand von 2-3 Tagen Ultraschalluntersuchungen statt. Dabei wurden Anzahl und Größe der antralen Follikel beider Ovarien erhoben. Im Allgemeinen, wenn mind. 3 Follikel von über 17 mm Durchmesser beobachtet wurden, erfolgte abends die einmalige Gabe von hCG (bzw. bei 2 Patientinnen die Gabe eines GnRH-Agonisten) zur finalen Eizellreifung bzw. Ovulationsinduktion. 35-36 Stunden danach wurde morgens die Follikelpunktion durchgeführt. Allen Patientinnen, bei denen im selben Zyklus ein Embryotransfer durchgeführt wurde, wurde ab dem Tag der Follikelpunktion täglich Progesteron, und ggf. zusätzlich hCG, zur Lutealphasenunterstützung gegeben.

### 2.3.1.2 Verwendete Medikamente

Tabelle 2: Medikamente zur kontrollierten ovariellen Stimulation

| Wirkstoffgruppe | Wirkstoff                     | Handelsname                     | Hersteller/<br>Anbieter                                    |
|-----------------|-------------------------------|---------------------------------|--|
| GnRH-Agonist    | Nafarelinacetat               | Synarela                        | Pfizer Service<br>Company<br>BVBA,<br>Zaventem,<br>Belgien |
|                 | Leuprorelinacetat             | Enantone-<br>Gyn<br>Monatsdepot | Delpharm<br>Novara S.r.l.,<br>Cerano, Italien              |
| GnRH-Antagonist | Ganirelix                     | Orgalutran                      | N.V. Organon,<br>Oss,<br>Niederlande                       |
| FSH             | Follitropin alfa (r-hFSH)     | Gonal-f                         | Merck Serono<br>S.p.A.,<br>Modugno<br>(Bari), Italien      |
|                 |                               | Bemfola                         | Gedeon<br>Richter,<br>Budapest,<br>Ungarn                  |
|                 |                               | Ovaleap                         | Teva Biotech<br>GmbH, Ulm,<br>Deutschland                  |
|                 | Follitropin beta (r-<br>hFSH) | Puregon                         | N.V. Organon,<br>Oss,<br>Niederlande                       |

|  |  |                     |  |
|--|--|---------------------|--|
|  | Follitropin delta (r-hFSH)                         | Rekovele            | Ferring GmbH, Kiel, Deutschland              |
| LH   | Lutropin alfa (r-hLH)                              | Luveris             | Merck Serono S.p.A., Modugno (Bari), Italien |
| FSH u. LH  | Follitropin alfa (r-hFSH) u. Lutropin alfa (r-hLH) | Pergoveris          | Merck Serono S.p.A., Modugno (Bari), Italien |
|  | humanes Menopausengonadotropin (u-hMG)             | Menogon HP, Menopur | Ferring GmbH, Kiel, Deutschland              |
| hCG  | Choriogonadotropin alfa (r-hCG)                    | Ovitrelle           | Merck Serono S.p.A., Modugno (Bari), Italien |
|  | humanes Choriogonadotropin (u-hCG)                 | Brevactid           | Ferring GmbH, Kiel, Deutschland              |
| GnRH-Agonist (zur Ovulationsinduktion)   | Triptorelinacetat                                  | Triptofem           | Alfasigma S.p.A., Alanno, Italien            |
|  |  | Decapeptyl          | Ferring GmbH, Kiel, Deutschland              |
| <p><i>Abkürzungen:</i><br/> r-hFSH: rekombinantes humanes FSH. r-hLH: rekombinantes humanes LH. u-hMG: urinäres humanes Menopausengonadotropin. r-hCG: rekombinantes humanes Choriogonadotropin. u-hCG: urinäres humanes Choriogonadotropin.</p> |  |                     |  |

**Tabelle 3: Medikamente zur Lutealphasenunterstützung**

| Wirkstoff                           | Handelsname     | Darreichungsform           | Hersteller/Anbieter                                 |
|-------------------------------------|-----------------|----------------------------|---|
| Progesteron                         | Utrogest luteal | Weichkapseln, vaginal      | Besins Healthcare Germany GmbH, Berlin, Deutschland |
|                                     | Prolutex        | Injektionslösung, subkutan | HÄLSA Pharma GmbH, Lübeck, Deutschland              |
|                                     | Famentina       | Weichkapseln, oral         | Exeltis Germany GmbH, Ismaning, Deutschland         |
|                                     | Utrogest        | Weichkapseln, oral         | Besins Healthcare Germany GmbH, Berlin, Deutschland |
|                                     | Progestan       | Weichkapseln, oral         | Besins Healthcare Germany GmbH, Berlin, Deutschland |
| humanes Choriongonadotropin (u-hCG) | Brevactid       | Injektionslösung, subkutan | Ferring GmbH, Kiel, Deutschland                     |

### **2.3.2 Weiterbehandlung nach der Follikelpunktion**

Die bei der Follikelpunktion gewonnene FF wurde lichtmikroskopisch auf Eizellen durchsucht. Während der Eizellsuche wurden die Eizellen aus der FF in HEPES-gepuffertes Flushing Medium (FM, ein Spülmedium) überführt. Dieses wurde aufgrund seiner höheren pH-Stabilität außerhalb des Inkubators verwendet. Schnellstmöglich wurden die Eizellen im Inkubator bei ca. 37° C und

ca. 6 %iger CO<sub>2</sub>-Begasung in speziellen Nährmedien kultiviert. Hierfür wurde zunächst Bicarbonat-gepuffertes IVF-Medium verwendet. Nach der Beurteilung der Befruchtung erfolgte die weitere Kultur bis zum Embryotransfer in sog. G-TL-Medium.

Die Beurteilung des Reifegrads der Eizellen erfolgte mit einem Stereomikroskop, d. h. einem Lichtmikroskop mit zwei getrennten Strahlengängen für die Augen. Bei einer ICSI-Behandlung erfolgte die Beurteilung am Tag der Follikelpunktion bei der Durchführung der Spermieninjektion, da dafür bereits zu diesem Zeitpunkt die Denudation, d. h. die Entfernung der Cumuluszellen von der Eizelle, notwendig war. Hierbei wurde die Denudation kombiniert mechanisch mittels einer Pipette und enzymatisch mittels Hyaluronidase durchgeführt. Bei einer IVF-Behandlung erfolgte zunächst eine Übernachtskultur, wobei bei der Insemination zu jeder Eizelle möglichst 100.000-120.000 Spermien gegeben wurden und nicht mehr als 3 Eizellen pro Kulturgefäß inkubiert wurden. Die Beurteilung des Reifegrads der Eizelle erfolgte dann am ersten Tag nach der Follikelpunktion, und zwar nach einer rein mechanischen Denudation.

Als reife Eizellen galten Eizellen im MII-Stadium, d. h. mit einem vorhandenen Polkörper. Bei der IVF-Behandlung zählten hierzu auch die bereits befruchteten Eizellen. Als unreife Eizellen galten Eizellen im MI- und Germinalvesikel-Stadium. Zur Gesamtzahl der Eizellen wurden reife, unreife und atretische Eizellen gezählt. Atretische Eizellen wurden nicht weiterverwendet. Für eine ICSI-Behandlung wurden Eizellen im MII-Stadium verwendet und nur in Ausnahmefällen Eizellen im MI-Stadium.

Die Beurteilung der Befruchtung erfolgte 16-20 Stunden nach der Injektion bei der ICSI- bzw. Insemination bei der IVF-Behandlung. Als befruchtete Eizellen galten Eizellen mit mehr als einem Vorkern. Als korrekt befruchtete Eizellen galten Eizellen mit 2 Vorkernen. Nur korrekt befruchtete Eizellen wurden weiter kultiviert und für den an Tag 2, 3 oder 5 nach der Follikelpunktion erfolgenden Embryotransfer verwendet. Maximal 3 Embryonen, die sich entwickelt hatten, wurden transferiert. Bei 15 % (8/54) der Patientinnen wurde ungeplant kein Embryo transferiert, bei 39 % (21/54) ein Embryo, bei 35 % (19/54) 2 Embryonen und bei 2 % (1/54) 3 Embryonen. Die restlichen befruchteten Eizellen wurden kryokonserviert oder verworfen. Bei 9 % der Patientinnen (5/54) wurde

geplant kein Embryotransfer im selben, sprich betrachteten Zyklus durchgeführt, sondern alle Eizellen kryokonserviert.

Das Eintreten einer Schwangerschaft wurde durch Blutentnahmen und sonographisch kontrolliert. Der Ausschluss einer Schwangerschaft erfolgte 14 Tage nach dem Embryotransfer anhand des hCG-Spiegels im Blut. Der Eintritt einer Schwangerschaft wurde definiert als klinische Schwangerschaft mit sonographischer Detektion der Fruchthöhle. Die Patientinnen wurden mindestens bis zum Ausschluss einer Schwangerschaft bzw. bei Eintreten einer Schwangerschaft bis zur Feststellung einer kindlichen Herzaktion im REPKO betreut. Der Schwangerschaftsausgang (Lebendgeburt oder Abort) wurde routinemäßig durch das REPKO über einen Telefonanruf bei den Patientinnen erhoben.

#### **2.4 Gewinnung der Follikelflüssigkeitsproben**

Die Probengewinnung erfolgte im Rahmen der klinischen Routine bei der Eizellentnahme zur künstlichen Befruchtung. Arbeitsplatz war der Punktions-Behandlungs- bzw. Operationsraum mit direkter Verbindung zum IVF-Labor über eine Durchreiche. Die Eizellentnahme geschah mittels einer transvaginalen, ultraschallgesteuerten Follikelpunktion. Dafür erhielt die Patientin eine Kurznarkose mit dem Injektionsanästhetikum Propofol und einem Opioid (meist Fentanyl). Sie hatte mindestens 6 Stunden vor dem Eingriff keine Nahrung oder Flüssigkeit zu sich genommen. Die Follikelpunktion erfolgte zwischen ca. 8:00 und 9:30 Uhr morgens. Sie wurde jeweils durch eine/n von zwei Ärztinnen/Ärzten durchgeführt.

Die routinemäßige Identitätssicherung erfolgte anhand der Patientenakte einmal innerhalb der Schleuse des Operationsraums und nochmalig durch die OP-Pflegekraft im Operationsraum in Absprache mit der Labormitarbeiterin/dem Labormitarbeiter im IVF-Labor. Zusätzlich wurde ein Formular, das Vor- und Nachnamen, Geburtsdatum und PID-Nummer der Patientin enthielt, an der den Operationsraum mit dem IVF-Labor verbindenden Durchreiche platziert. Der Name der Patientin wurde kurz vor Beginn der Follikelpunktion durch die punktierende Ärztin/den punktierenden Arzt laut angesagt und musste damit übereinstimmen.

Es wurde mit puderfreien Handschuhen gearbeitet. Vor der Punktion wurde die Vagina der Patientin mit physiologischer Kochsalzlösung ausgespült. Für die Follikelpunktion wurde der Saugdruck der Absaugpumpe auf 118 mmHg eingestellt. Es erfolgte ein Saugtest zur Überprüfung der Durchgängigkeit der Punktionsnadel. Die Punktionsnadel und das Absaug Schlauchsystem wurden mit ca. 2 ml FM gespült.

Es wurde nach Möglichkeit die FF aller punktierbaren Follikel der Patientin gewonnen. Dabei wurden keine wesentlichen Nachteile oder gar Komplikationen für die Patientin riskiert. Die Reihenfolge der punktierten Follikel richtete sich nach deren Erreichbarkeit, um möglichst keine Follikel durch eine Verletzung mit der Punktionsnadel vorzeitig zu eröffnen. Jeweils vor der Aspiration der FF eines Follikels wurde dessen Durchmesser sonographisch erfasst. Sonographisch wurde kontrolliert, dass die FF bis zum Kollaps des jeweiligen Follikels vollständig aspiriert wurde. Die FF der einzelnen Follikel wurde bestmöglich separiert. Sie wurde aus dem Absaug Schlauchsystem in einzelne, mit einer fortlaufenden aufsteigenden Nummerierung vorbeschriftete Rundbodenröhrchen (im Folgenden vereinfachend als Röhrchen bezeichnet) geleitet. Der Wechsel der Röhrchen wurde anhand des Zeitpunkts des sonographisch beobachteten Kollaps des Follikels und der Beobachtung der FF im transparenten Absaug Schlauchsystem entschieden.

Bei Follikeln mit geringem Durchmesser wurde z. T. die FF mehrerer Follikel gemeinsam in ein Röhrchen geleitet. In diesem Fall wurde von der Ärztin/dem Arzt angesagt, dass es sich um ein Mischpunktat handelte. Es wurde entsprechend markiert. Des Weiteren wurde angesagt und notiert, wann während der Follikelpunktion FM verwendet wurde. Das FM wurde möglichst von der FF getrennt in Röhrchen aspiriert.

Ein Auskühlen der FF wurde durch den Einsatz von Wärmeblöcken und -platten ohne Unterbrechung der Wärmekette verhindert. Durch zügiges und konzentriertes Arbeiten wurde die Aufenthaltsdauer der Eizellen außerhalb der Inkubatoren so gering wie möglich gehalten. Die FF aus einem Röhrchen wurde in eine vornummerierte Petrischale umgefüllt. Darin durchmusterte die Labormitarbeiterin/der Labormitarbeiter sie lichtmikroskopisch auf das Vorhandensein von Eizellen, und überführte die Eizellen in ein Kulturmedium. Die Anzahl der

Eizellen wurde für jede Petrischale einzeln angesagt und notiert. Anschließend wurde die FF aus der Petrischale wieder in analog nummerierte Röhrchen umgefüllt. Anhand der Skala der Röhrchen wurde die enthaltene FF-Menge auf etwa einen halben Milliliter genau abgelesen. Die FF wurde visuell auf eine Kontamination mit Blut hin beurteilt.

Die zusätzlich zur klinischen Routine für die Studie erhobenen Daten wurden in einem datierten und mit der Fallnummer codierten Dokumentationsbogen notiert (s. Anhang).

## **2.5 Gewinnung der Blutproben**

Eine venöse Blutentnahme wurde am Morgen desselben Tages durchgeführt. Verwendet wurden Serum-Gel-Blutentnahmeröhrchen des Aspirationsprinzips. Die Blutproben wurden bis spätestens 1,5 Stunden nach Blutentnahme der Comprehensive Biomaterial Bank Marburg (CBBMR) zugeführt.

## **2.6 Zentrifugation und Aliquotierung**

Die Röhrchen mit der darin enthaltenen FF wurden so zeitnah wie möglich 11 Minuten lang bei 1882 g zentrifugiert. Der Überstand wurde visuell auf eine eventuelle Verfärbung durch eine Vermischung mit dem rötlichen FM untersucht. Pro Röhrchen wurden Teilportionen des Überstands in bis zu 3 Kryoröhrchen pipettiert (Aliquot 001 bis max. 003). Die Mindestmenge pro Kryoröhrchen betrug 1 ml. Dies sollte später die Umsetzbarkeit der Laborbestimmungen multipler Substanzen im Rahmen der Pilotstudie gewährleisten. Dieses Kriterium wurde als akzeptabel erachtet, da es nur in wenigen Fällen zum Verwurf der Probe führte. In folgenden Fällen wurde eine Probe bereits zu diesem Zeitpunkt verworfen: wenn sie stark blutig war, wenn der Überstand eines Röhrchens nach Zentrifugation durch FM verfärbt war und/oder wenn die Mindestprobenmenge von 1 ml Überstand unterschritten wurde.

Den aufbewahrten Röhrchen der Patientin wurde eine neue Nummerierung zugeteilt. Diese Nummerierung war dreistellig, fortlaufend ansteigend und begann mit 001. Mischpunktate wurden in einer separaten Kategorie nummeriert, wobei die Nummer des nicht verworfenen Röhrchens durch die



Benennung „MP“ und eine Nummer in aufsteigender Reihenfolge ersetzt wurde („MP1“, „MP2“, „MP3“ usw.). Somit ergab sich für jedes Aliquot eine eindeutig zuordenbare Codenummer, die sog. Probennummer. Diese neunstellige Probennummer setzte sich zusammen aus der dreistelligen Fallnummer der Patientin, der dreistelligen Nummer des aufbewahrten Röhrchens sowie des Aliquots. Die befüllten Kryoröhrchen wurden mit der Probennummer und dem Datum der Probengewinnung etikettiert.

Die Blutproben wurden so zeitnah wie möglich 10 Minuten lang bei 2500 g zentrifugiert. Der Überstand wurde ebenfalls in Kryoröhrchen aliquotiert, und diese etikettiert.

## **2.7 Aufbewahrung der Proben**

Die Proben wurden so zeitnah wie möglich in die im Gebäude des UKGM befindliche CBBMR gebracht. Bei dieser zentralen Biomaterialienbank des Fachbereichs Medizin an der Philipps-Universität Marburg handelte es sich um eine Sammlung von menschlichen Biomaterialien und ausgewählten zugehörigen medizinischen Daten zur langfristigen Aufbewahrung für die Forschung (CBBMR Marburg 2021).

Es erfolgte eine tabellarische Dokumentation der Patientenproben. Die Kryoröhrchen besaßen einen Barcode für die spätere Identifikation. In die Excel-Tabelle (Microsoft Corporation, Redmond, USA) wurde die Probennummer eingetragen, und der zugehörige Barcode wurde mittels eines Scanners in die Tabelle eingelesen. Die Kryoröhrchen wurden ihrer Reihenfolge nach in Kryoboxen einsortiert. Die Nummer der Kryobox und die Lokalisation innerhalb der Kryobox wurden ebenfalls in der Tabelle vermerkt.

Die FF- und Serum-Proben wurden bis zur Laborbestimmung bei ca. -80 °C in der CBBMR aufbewahrt. Der Anschluss an die Gebäudeleittechnik bzw. eine Alarmanlage gewährleistete eine Temperaturspanne zwischen unter -75 °C und über -85 °C. Die maximale Aufbewahrungsdauer bis zur Laborbestimmung betrug unter 1 Jahr und 10 Monate.

## **2.8 Gewinnung der klinischen Daten**

Die Erfassung der für die Diagnostik und Therapie der Patientinnen relevanten Daten sowie die Dokumentation der Therapieergebnisse erfolgte im Rahmen der klinischen Routine mit dem Datenmanagement-Softwareprogramm MedITEX IVF (Medical IT Experts IVF, CRITEX GmbH, Regensburg, Deutschland). Dieses Programm wurde dabei sowohl von Ärztinnen/Ärzten, Medizinischen Fachangestellten und Pflegekräften, als auch von den Labormitarbeiterinnen/Labormitarbeitern des IVF-Labors des REPKO verwendet. Die Patientinnen wurden zudem in dem im UKGM verwendeten Krankenhaus-Informationssystem ORBIS (DH Healthcare GmbH, Bonn, Deutschland) erfasst, und erhielten eine Papierakte. Im Falle von fehlenden, für die Studie relevanten Daten wurden diese hieraus in der MedITEX IVF-Datenbank ergänzt. Im April 2021 erfolgte der Export der klinischen Daten aus der MedITEX IVF-Datenbank über eine pseudonymisierte SQL (Structured Query Language)-Abfrage in eine Excel-Tabelle.

## **2.9 Auswahl der analysierten Proben**

Ausschlusskriterium für die Verwendung der Serum- und FF-Proben des Therapiezyklus einer Patientin waren ein bereits in die Analyse einbezogener Therapiezyklus dieser Patientin, eine bekannt gewordene fehlerhafte Durchführung der Medikamenten-Gaben durch die Patientin, ein Fehlen der Serum-Proben und/oder ein Überschreiten des vorgegebenen Zeitmaximums von 1,5 Stunden ab der Blutentnahme, bis zu welchem die Serum-Proben der CBBMR zugeführt werden mussten. Weitere Ausschlusskriterien für die FF-Proben waren eine visuell vorhandene Kontamination mit Blut, laut Dokumentationsbogen in der Probe enthaltenes FM, nach der Zentrifugation visuell enthaltenes FM und/oder das Fehlen eines der Probe eindeutig zuordenbaren Follikeldurchmessers.

Bei der Auswahl der FF-Proben für die explorative Analyse wurden mehrere Bestrebungen nach Möglichkeit miteinander vereinbart. Zum einen sollte eine möglichst hohe Anzahl an Patientinnen einbezogen werden. Zum anderen sollte eine möglichst hohe Anzahl an Proben pro Patientin analysiert werden. Es

wurden daher mind. 6 Proben pro Patientin analysiert, sofern dies möglich war. Es wurden möglichst Proben von Follikeln mit unterschiedlichen Durchmesser einbezogen, sowie mit unterschiedlicher Merkmalsausprägung, ob eine Eizelle aus dem Follikel gewonnen werden konnte oder nicht. Insgesamt wurden 6 Mischpunktate, die FF von zwischen 2 und 5 nicht getrennten Follikeln beinhalteten, verwendet. Dabei handelte es sich ausschließlich um Follikel mit einem geringen Durchmesser von 12 mm oder weniger, um diese trotz des Mindestprobenvolumens von 1 ml einbeziehen zu können.

## 2.10 Laborbestimmungen

Für die Messung der SHBG-Konzentration der Serum- und FF-Proben wurde ein immunologischer In-vitro-Test zur quantitativen Bestimmung der Substanz angewandt, nämlich ein Elecsys Immunoassay der Firma Roche mittels eines vollautomatischen Laboranalysegeräts (s. Tabelle 4). Der Immunoassay verwendete die Detektionstechnologie der Elektrochemilumineszenz (F. Hoffmann-La Roche Ltd 2021). Er beruhte auf einem Sandwichprinzip (Roche Diagnostics 2018). Für detailliertere Informationen bezüglich des Prinzips des im klinisch-chemischen Labor breit eingesetzten Analyseverfahrens Elektrochemilumineszenz Immunoassay (ECLIA) siehe Töpfer (2019) und F. Hoffmann-La Roche Ltd (2021).

Die FF- und Serumproben wurden vor der Messung ca. 1 Stunde lang aufgetaut. Der Test wurde den Herstellerangaben entsprechend verwendet. Allerdings wurde er auch für die FF-Proben verwendet, obwohl er seitens des Herstellers nur für die Verwendung bei Humanserum- und -plasma-Proben getestet war (Roche Diagnostics 2018). Im Falle einer Fehlermeldung des Laboranalysegeräts wurde die Laborbestimmung der Probe wiederholt, sofern ein weiteres Aliquot verfügbar war.

*Tabelle 4: Eigenschaften des verwendeten Immunoassays*

| Analyt                         | Test         | Messbereich      | Präzision in Humanserum        |
|--------------------------------|--------------|------------------|--------------------------------|
| Sexualhormonbindendes Globulin | Elecsys SHBG | 0,350-200 nmol/l | WP: 1,1-1,7 %<br>ZP: 1,8-4,0 % |

|   |  |  |  |
|---|--|--|--|
|   |  |  | (mit Probenkonzentrationen im Bereich 14,9-219 nmol/l) |
| <p><i>Abkürzungen:</i><br/> VK: Variationskoeffizient. WP: Variationskoeffizient für die Wiederholpräzision (Intraassay-VK). ZP: Variationskoeffizient für die Zwischenpräzision (Interassay-VK).</p> |  |  |  |
| <p><i>Quelle:</i> Roche Diagnostics 2018</p>  |  |  |  |

### **2.10.1 Umgang mit Laborwerten außerhalb des Messbereichs**

Bei 62 FF-Proben von 11 Patientinnen, sowie 19 Serumproben traten Laborwerte oberhalb des Messbereichs auf. Für diese wurde als Zahlenwert der Wert verwendet, der sich durch Addition eines Hundertstels der Größenordnung des Werts zu der oberen Messbereichsgrenze ergab. So wurde für die SHBG-Konzentration bei einem vom Gerät ausgegebenen Laborwert von ‚> 200 nmol/l‘ der Zahlenwert ‚201 nmol/l‘ verwendet. Dies sollte eine Unterscheidung von Werten, die identisch der oberen Messgrenze waren, und Werten, die oberhalb der oberen Messgrenze waren, ermöglichen.

## **2.11 Definition von Parametern und Gruppeneinteilungen**

### **2.11.1 Nichtanwendung des Freien Androgenindex**

Es wurde sich gegen die Anwendung des FAI in der FF entschieden. Die Begründung hierfür wird in Kapitel 4.1.9 erörtert.

### **2.11.2 Ebene der Patientinnen**

#### **2.11.2.1 Streuung der SHBG-Konzentrationen in den Follikeln**

Für die Untersuchung von Zusammenhängen und Gruppenunterschieden der Streuung der SHBG-Konzentrationen in den Follikeln wurde mit der Standardabweichung der SHBG-Konzentrationen in den FF-Proben je Patientin gerechnet (s. Kapitel 2.12.2).

### 2.11.2.2 Große und kleine Follikel

Follikel mit einem Durchmesser unter 16 mm wurden als ‚kleine Follikel‘ definiert. Follikel mit einem Durchmesser ab 16 mm wurden als ‚große Follikel‘ definiert.

### 2.11.2.3 Verschiedene IVF- und ICSI-Parameter

Die nicht selbsterklärenden, festgelegten Parameter sind in Tabelle 5 definiert.

*Tabelle 5: Definition verschiedener IVF- und ICSI-Parameter*

| Parameter                | Definition   |
|--------------------------|--|
| Rate gewonnener Eizellen | Gesamtanzahl der gewonnenen Eizellen im Verhältnis zur Gesamtanzahl der punktierten Follikel |
| Rate reifer Eizellen     | Anzahl der reifen Eizellen im Verhältnis zur Gesamtanzahl der punktierten Follikel           |
| Gesamt-Befruchtungsrate  | Anteil korrekt befruchteter Eizellen an Anzahl behandelter Eizellen                          |
| ICSI-Befruchtungsrate    | Anteil korrekt befruchteter Eizellen an Anzahl ICSI-behandelter Eizellen                     |
| IVF-Befruchtungsrate     | Anteil korrekt befruchteter Eizellen an Anzahl IVF-behandelter Eizellen                      |

### 2.11.2.4 Alter

Als Stichtag für das Alter wurde der Therapiezyklusbeginn festgelegt. Die Patientinnen wurden anhand ihres Alters in drei Gruppen kategorisiert. Die Kategorisierung beruhte darauf, ob die Patientinnen zu Therapiebeginn unter 35, zwischen 35 und 39 oder über 39 Jahre alt waren.

### 2.11.2.5 Body-Mass-Index

Es wurden drei Gruppen von Patientinnen anhand des BMI eingeteilt. Dabei wurde der BMI wie üblich als Quotient aus dem Körpergewicht in Kilogramm und der Körpergröße in Metern zum Quadrat berechnet (Herold 2021). Die Patientinnen wurden anhand ihres BMI gemäß der in Europa und in den USA üblichen Gewichtsklassifikation in untergewichtige, normalgewichtige, präadipöse und

adipöse Patientinnen eingeteilt (Herold 2021). Die Gruppe Untergewicht mit einem BMI von unter 18,5 kg/m<sup>2</sup> wurde nicht weiter betrachtet, da nur eine Patientin dieser Gruppe zugeordnet wurde. Bei den drei betrachteten Gruppen handelte es sich somit um anhand eines BMI von 18,5 bis unter 25,0 kg/m<sup>2</sup> als normalgewichtig, von 25,0 bis unter 30,0 kg/m<sup>2</sup> als präadipös, und ab 30,0 kg/m<sup>2</sup> als adipös eingestufte Patientinnen.

### **2.11.3 Ebene der Follikel**

#### **2.11.3.1 Follikeldurchmesser**

Die Follikel wurden anhand ihres Durchmessers in vier Gruppen kategorisiert. Follikel mit einem Durchmesser von über 20 mm wurden als ‚sehr groß‘, mit einem Durchmesser von 18-20 mm als ‚groß‘, mit einem Durchmesser von 15-17 mm als ‚mittelgroß‘ und mit einem Durchmesser von unter 15 mm als ‚klein‘ definiert.

## **2.12 Statistische Methoden**

Es handelte sich um eine orientierende statistische Auswertung ohne Adjustierung für multiples Testen im Rahmen der explorativen Pilotstudie. Diese ist nicht auf die Grundgesamtheit übertragbar. Dennoch wird für die Ergebnisse der Signifikanz- bzw. p-Wert, als standardisiertes Evidenzmaß für die Glaubwürdigkeit von Nullhypothesen, angegeben.

### **2.12.1 Statistiksoftware**

Für die statistische Analyse der gewonnenen Daten wurde das Programm IBM SPSS Statistics 27.0 für Windows (International Business Machines Corporation, Armonk, New York, USA) verwendet.

### **2.12.2 Ebene der Patientinnen**

Aufgrund der unterschiedlichen Anzahl der FF-Proben pro Patientin wurden zunächst Betrachtungen auf Patientinnenebene durchgeführt, um dabei jede Patientin gleich stark gewichtet in die Auswertung eingehen zu lassen. Bei den Daten, wo mehrere Werte pro Patientin vorhanden waren, handelte es sich um die SHBG-Konzentrationen in den FF-Proben, die FF-Serum-Verhältnisse der

SHBG-Konzentrationen und die Durchmesser der analysierten Follikel. Von diesen Daten wurden als Maß der zentralen Tendenz die Mittelwerte und als Streuungsmaß die Standardabweichungen der Mittelwerte berechnet. Für die statistische Analyse auf Patientinnenebene wurde mit diesen Mittelwerten und Standardabweichungen gerechnet. Ausschließlich zur Deskription wurde für die SHBG-Konzentration auch der Median, das 1. und 3. Quartil und das Minimum und Maximum berechnet.

Es wurde der Kolmogorov-Smirnov-Test durchgeführt, um zu überprüfen, ob von einer Normalverteilung der einzelnen betrachteten Parameter ausgegangen werden kann. Die Entscheidung über eine Abweichung von der Normalverteilung wurde auf einem Signifikanzniveau von 5 % getroffen. Da der Großteil der Parameter gemäß des Testergebnisses als nicht normalverteilt eingestuft wurde, wurden für die Datenanalysen nicht-parametrische statistische Tests angewandt. Bei einer orientierenden Analyse mit parametrischen statistischen Tests wurden keine wesentlichen Unterschiede der Ergebnisse festgestellt.

#### *2.12.2.1 Korrelationsanalysen*

Zur Bestimmung der Stärke der Zusammenhänge von Parametern wurde jeweils eine Korrelationsanalyse nach Spearman durchgeführt. Das Signifikanzniveau wurde bei 5 % festgelegt. Für die Feststellung der Stärke der Korrelation wurden die Korrelationskoeffizienten nach Cohen interpretiert (Cohen 1988).

#### *2.12.2.2 Gruppenvergleiche bei unabhängigen Stichproben*

Es wurden Vergleiche von zwei Gruppen von Variablen-Werten aus zwei sich in dem betrachteten Merkmal unterscheidenden Gruppen durchgeführt. Hierzu wurde der Mann-Whitney-U-Test eingesetzt. Das Signifikanzniveau wurde bei 5 % festgelegt. Die betrachteten Gruppen waren zum einen Patientinnen mit und ohne Eintritt einer Schwangerschaft, und zum anderen Patientinnen mit und ohne erreichter Lebendgeburt. Die Analyse erfolgte unter Ausschluss der 5 Patientinnen, wo geplant eine ausschließliche Kryokonservierung der Eizellen und somit kein Embryotransfer stattfand.

Es wurden Vergleiche von drei Gruppen von Variablen-Werten aus drei sich in dem betrachteten Merkmal unterscheidenden Gruppen durchgeführt. Es wurde der Kruskal-Wallis-Test eingesetzt, um zu bestimmen, ob ein Effekt der

Gruppenzugehörigkeit bestand. Das Signifikanzniveau wurde bei 5 % festgelegt. Um zu bestimmen, welche Gruppen sich signifikant unterschieden, wurden als Post-hoc-Tests für die Vergleiche von je zwei der drei Gruppen untereinander Mann-Whitney-U-Tests eingesetzt. Hier erfolgte die Entscheidung auf einem Signifikanzniveau von  $5\%/3 = \text{ca. } 1,67\%$  entsprechend der Bonferroni-Korrektur bei einer Anzahl von 3 Gruppenvergleichen. Es wurden die Alters- und die BMI-Gruppen verglichen. Obwohl bereits die Korrelation mit dem Alter sowie BMI bestimmt wurde, wurden zur Veranschaulichung des Effektes zusätzlich die Gruppen betrachtet.

### *2.12.2.3 Gruppenvergleiche bei abhängigen Stichproben*

Es wurden Vergleiche von zwei abhängigen Gruppen von Variablen-Werten durchgeführt, wo je Patientin zwei Werte vorlagen. Hierzu wurde der Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test eingesetzt. Das Signifikanzniveau wurde bei 5 % festgelegt. Folgende Vergleiche wurden durchgeführt: Erstens wurden die SHBG-Konzentrationen in der FF und im Serum verglichen. Zweitens wurden die SHBG-Konzentrationen von großen und kleinen Follikeln verglichen. Dafür wurden für jede einzelne Patientin die Mittelwerte der Follikeldurchmesser- und SHBG-Konzentrationswerte zum einen für ihre ‚großen‘ und zum anderen für ihre ‚kleinen‘ Follikel berechnet. Insgesamt gingen in den Vergleich die Wertpaare von 28 Patientinnen ein. Von den übrigen Patientinnen waren keine entsprechenden Wertpaare vorhanden. Für diesen Gruppenvergleich wurde die Standardabweichung nicht untersucht. Denn es ist anzunehmen, dass aufgrund einer unterschiedlichen Anzahl und Spannweite von ‚kleinen‘ und ‚großen‘ Follikeldurchmessern a priori eine größere Streuung in einer der Gruppen gegeben gewesen wäre. Mit nur von 8 Patientinnen vorhandenen Wertpaaren wäre die betrachtete Patientinnenzahl ohnehin recht gering gewesen. Drittens wurde ein Vergleich der SHBG-Konzentrationen und derer Streuung von Follikeln mit daraus gewonnener und ohne daraus gewonnene Eizelle durchgeführt. Für jede einzelne Patientin wurden die Mittelwerte und die Standardabweichungen der Mittelwerte der SHBG-Konzentrations-Werte zum einen für ihre FF-Proben von Follikeln mit daraus gewonnener Eizelle und zum anderen für ihre FF-Proben von Follikeln ohne daraus gewonnene Eizelle berechnet. Insgesamt gingen in den Vergleich für die Mittelwerte die Wertpaare von 49



Patientinnen ein. Für die Standardabweichungen wurden die Wertpaare von 39 Patientinnen verglichen. Von den übrigen Patientinnen waren keine entsprechenden Wertpaare vorhanden.

### **2.12.3 Ebene der Follikel**

Anschließend wurden Betrachtungen auf Ebene der Follikel durchgeführt, wobei jeder einzelne Follikel gleich stark gewichtet in die Auswertung einging. Hierbei wurden nur Betrachtungen durchgeführt, bei denen es für die einzelnen Follikel jeweils einen individuellen Wert gab.

Es wurde der Kolmogorov-Smirnov-Test durchgeführt, um zu überprüfen, ob von einer Normalverteilung der einzelnen betrachteten Parameter ausgegangen werden kann. Die Entscheidung über eine Abweichung von der Normalverteilung wurde auf einem Signifikanzniveau von 5 % getroffen. Da der Großteil der Parameter gemäß des Testergebnisses als nicht normalverteilt eingestuft wurde, wurden für die Datenanalysen nicht-parametrische statistische Tests angewandt. Bei einer orientierenden Analyse mit parametrischen statistischen Tests wurden keine wesentlichen Unterschiede der Ergebnisse festgestellt.

#### **2.12.3.1 Korrelationsanalysen**

Zur Bestimmung der Stärke des Zusammenhangs zwischen den SHBG-Konzentrationen in der FF und den Follikeldurchmessern wurde eine Korrelationsanalyse nach Spearman durchgeführt. Das Signifikanzniveau wurde bei 5 % festgelegt. Für die Feststellung der Stärke der Korrelation wurde der Korrelationskoeffizient nach Cohen interpretiert (Cohen 1988).

#### **2.12.3.2 Gruppenvergleiche bei unabhängigen Stichproben**

Es wurde ein Vergleich von zwei Gruppen von Variablen-Werten aus zwei sich in dem betrachteten Merkmal unterscheidenden Gruppen durchgeführt. Die zwei verglichenen Gruppen waren Follikel, aus denen eine Eizelle gewonnen wurde, und Follikel, aus denen keine Eizelle gewonnen wurde. Hierzu wurde der Mann-Whitney-U-Test eingesetzt. Das Signifikanzniveau wurde bei 5 % festgelegt.

### 2.12.3.3 *Gruppenvergleiche bei abhängigen Stichproben*

Es wurde ein Vergleich von vier Gruppen von Variablen-Werten aus vier sich in dem betrachteten Merkmal unterscheidenden Gruppen durchgeführt. Es handelte sich um die vier anhand ihres Durchmessers eingeteilten Follikelgruppen. Es wurde der Kruskal-Wallis-Test eingesetzt, um zu bestimmen, ob ein Effekt der Gruppenzugehörigkeit bestand. Das Signifikanzniveau wurde bei 5 % festgelegt. Um zu bestimmen, welche Gruppen sich signifikant unterschieden, wurden als Post-hoc-Tests für die Vergleiche von je zwei der vier Gruppen untereinander Mann-Whitney-U-Tests eingesetzt. Hier erfolgte die Entscheidung auf einem Signifikanzniveau von  $5\%/6 = \text{ca. } 0,83\%$  entsprechend der Bonferroni-Korrektur bei einer Anzahl von 6 Gruppenvergleichen.

### 2.12.4 *Graphiken*

Zur graphischen Darstellung der Daten wurden Histogramme, Streudiagramme und Boxplots verwendet. In den Streudiagrammen findet sich als bloßes visuelles Hilfsmittel eine Regressions- bzw. Trendgerade, unabhängig von der berechneten Korrelation. Bei den Boxplots entsprechen die Kastengrenzen dem 1. und 3. Quartil, und die Teilungslinie dem Median. Die Whiskers unter- bzw. oberhalb der Kastengrenzen haben die Länge eines 1,5-fachen Interquartilsabstands (Interquartilsrange, IQR), falls es darunter bzw. darüber liegende Daten gibt. Diese Daten werden bei einem Abstand zum 1. bzw. 3. Quartil zwischen dem 1,5- bis 3-fachen Interquartilsabstand mit einem kleinen Kreis gekennzeichnet, und bei einem Abstand von mehr als dem 3-fachen Interquartilsabstand mit einem Stern-Symbol. Ansonsten reichen die Whiskers bis zum Minimum bzw. Maximum der Daten.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Beschreibung des Patientinnenkollektivs und der untersuchten Follikel

Die im Folgenden berichteten Ergebnisse werden entsprechend der Einstufung ihrer Normalverteilung gemäß des Kolmogorov-Smirnov-Tests entweder als ‚Median (1. Quartil, 3. Quartil; Range)‘ oder ‚Mittelwert  $\pm$  SD (Range)‘ angegeben.

##### 3.1.1 Zugrundeliegende Daten

Die Analyse der Daten bezieht sich auf 54 Patientinnen bzw. deren Therapiezyklen, wie in Kapitel 2.1 beschrieben. Somit bezieht sie sich auf die in Tabelle 6 aufgelisteten Serum- und FF-Proben-Anzahlen. Wenn sich Ergebnisse auf eine Subgruppe oder aufgrund fehlender Daten auf eine geringere Patientinnenanzahl als  $n = 54$  beziehen, ist dies an den entsprechenden Stellen angemerkt.

*Tabelle 6: Anzahl der analysierten Proben*

|             |              |                              |
|-------------|--------------|------------------------------|
| Serumproben | insgesamt    | 54                           |
|             | je Patientin | 1                            |
| FF-Proben   | insgesamt    | 327                          |
|             | je Patientin | Durchschnitt $6,1 \pm 2,4$ ; |
|             |              | Range 2-17                   |

##### 3.1.2 Ebene der Patientinnen

###### 3.1.2.1 Beschreibung des Patientinnenkollektivs und der Therapiezyklen

Die Tabellen 7 bis 12 geben eine Übersicht über die Basischarakteristika des Patientinnenkollektivs (Tabelle 7), die Therapie (Tabelle 8), die Follikeldurchmesser (Tabelle 9), die punktierten Follikel und gewonnenen Eizellen (Tabelle 10), die behandelten und darunter die korrekt befruchteten Eizellen (Tabelle 11), sowie die klinischen Therapieergebnisse des Eintretens von Schwangerschaft und Lebendgeburt (Tabelle 12).

Tabelle 7: Merkmale des Patientinnenkollektivs

|                         |                                   |                              |
|-------------------------|-----------------------------------|------------------------------|
| Alter / Jahre           | <i>Durchschnitt:</i>              | 35,4 ± 4,2 (25-47) #         |
|                         | <i>Einteilung in Kategorien:</i>  |                              |
|                         | <b>&lt; 35:</b>                   |                              |
|                         | Anteil                            | 44 % (24/54)                 |
|                         | Durchschnittliches Alter          | 31,7 ± 2,6 (25-34) #         |
|                         | <b>35-39:</b>                     |                              |
|                         | Anteil                            | 46 % (25/54)                 |
|                         | Durchschnittliches Alter          | 37,4 ± 1,4 (35-39) #         |
|                         | <b>&gt; 39:</b>                   |                              |
|                         | Anteil                            | 9 % (5/54)                   |
|                         | Durchschnittliches Alter          | 42,6 ± 3,0 (40-47) #         |
| BMI / kg/m <sup>2</sup> | <i>Median:</i>                    | 23,6 (21,2, 26,2; 18,4-50,1) |
|                         | <i>Einteilung in Kategorien:</i>  |                              |
|                         | <b>Untergewicht (&lt; 18,5):</b>  |                              |
|                         | Anteil                            | 2% (1/54)                    |
|                         | -                                 | -                            |
|                         | <b>Normalgewicht (18,5-25,0):</b> |                              |
|                         | Anteil                            | 67 % (36/54)                 |
|                         | Median-BMI                        | 22,6 (20,6, 23,9; 18,6-24,9) |
|                         | <b>Präadipositas (25,0-30,0)</b>  |                              |
|                         | Anteil                            | 20 % (11/54)                 |
|                         | Median-BMI                        | 26,4 (25,7, 27,1; 25,3-27,8) |
|                         | <b>Adipositas (≥ 30,0)</b>        |                              |
|                         | Anteil                            | 11 % (6/54)                  |
|                         | Median-BMI                        | 38,4 (36,1, 46,6; 30,5-50,1) |

|                           |                          |              |
|---------------------------|--------------------------|--------------|
| Indikationen <sup>a</sup> | Männliche Indikation     | 59 % (32/54) |
|                           | Tubenpathologien         | 39 % (21/54) |
|                           | Endokrine Faktoren       | 20 % (11/54) |
|                           | Endometriose             | 17 % (9/54)  |
|                           | Uterine/zervikale Faktor | 7 % (4/54)   |
|                           | Idiopathische Indikation | 11 % (6/54)  |
|                           | Sonstige Indikationen    | 4 % (2/54)   |

*Anmerkungen:*

Die Werte sind angegeben als ‚Median (1. Quartil, 3. Quartil; Range)‘; # ‚Mittelwert ± SD (Range)‘.

<sup>a</sup> 26 Patientinnen wurden mehreren Indikationen zugeordnet.

*Tabelle 8: Therapieart*

| Therapieart                | Anteil der Patientinnen |
|----------------------------|-------------------------|
| ICSI                       | 72 % (39/54)            |
| IVF                        | 9 % (5/54)              |
| ICSI und IVF               | 13 % (7/54)             |
| Keine behandelbare Eizelle | 6 % (3/54)              |

*Tabelle 9: Follikeldurchmesser*

|  |   |                              |
|--|---|------------------------------|
| Mittlerer Durchmesser<br>der analysierten Follikel<br>der Patientin / mm | <i>Median:</i>                                    | 18,6 (17,0, 20,0; 14,5-27,2) |
|  | <i>Einteilung in<br/>Kategorien <sup>a</sup>:</i> |                              |
|  | <b>Groß (≥ 16):</b>                               |                              |
|  | Median-Follikel-<br>durchmesser                   | 18,1 (17,4, 19,6; 16,7-23,3) |
|  | <b>Klein (&lt; 16):</b>                           |                              |
|  | Median-Follikel-<br>durchmesser                   | 14,0 (12,9, 14,0; 10,0-15,0) |

*Anmerkungen:*

Die Werte sind angegeben als ‚Median (1. Quartil, 3. Quartil; Range)‘.

<sup>a</sup> n = 28

*Tabelle 10: Punktierte Follikel und gewonnene Eizellen*

| Parameter der punktierten Follikel und gewonnenen Eizellen |                              |
|--|------------------------------|
| Anzahl punktierter Follikel <sup>a</sup>                   | 16 (11,5, 24; 4-49)          |
| Anzahl gewonnener Eizellen                                 | 7 (5, 14; 0-26)              |
| Rate gewonnener Eizellen <sup>a</sup>                      | 0,49 ± 0,18 (0,00-0,93) #    |
| Anzahl reifer Eizellen                                     | 5 (3,75, 12; 0-21)           |
| Anteil reifer Eizellen <sup>a</sup>                        | 0,83 (0,63, 1,00; 0,00-1,00) |
| Rate reifer Eizellen                                       | 0,38 ± 0,21 (0,00-0,88) #    |

*Anmerkungen:*  
Die Werte sind angegeben als ‚Median (1. Quartil, 3. Quartil; Range)‘; # ‚Mittelwert ± SD (Range)‘.  
<sup>a</sup> n = 53

*Tabelle 11: Behandelte Eizellen*

| Parameter der behandelten Eizellen   |                           |
|--------------------------------------|---------------------------|
| Anzahl behandelter Eizellen          | 6 (4, 12; 0-22)           |
| Anzahl ICSI-behandelter Eizellen     | 5 (3, 8,25; 0-21)         |
| Anzahl IVF-behandelter Eizellen      | 0 (0, 0; 0-20)            |
| Anzahl korrekt befruchteter Eizellen | 4 (2, 8; 0-20)            |
| Gesamt-Befruchtungsrate <sup>a</sup> | 0,68 ± 0,26 (0,00-1,00) # |
| ICSI-Befruchtungsrate <sup>b</sup>   | 0,72 ± 0,23 (0,00-1,00) # |
| IVF-Befruchtungsrate <sup>c</sup>    | 0,54 ± 0,37 (0,00-1,00) # |

*Anmerkungen:*  
Die Werte sind angegeben als ‚Median (1. Quartil, 3. Quartil; Range)‘; # ‚Mittelwert ± SD (Range)‘.  
<sup>a</sup> n = 51  
<sup>b</sup> n = 46  
<sup>c</sup> n = 12

*Tabelle 12: Klinische Therapieergebnisse*

| Klinisches Therapieergebnis |                       | Anteil der Patientinnen |
|-----------------------------|-----------------------|-------------------------|
| Schwangerschaft             | Schwangerschaft       | 33 % (16/49)            |
| a:                          | Darunter Lebendgeburt | 81 % (13/16)            |
|                             | Darunter Abort        | 19 % (3/16)             |
|                             | Keine Schwangerschaft | 67 % (33/49)            |
| Lebendgeburt a:             | Lebendgeburt          | 27 % (13/49)            |
|                             | Keine Lebendgeburt    | 73 % (36/49)            |

*Anmerkung:*  
<sup>a</sup> n = 49

### 3.1.2.2 SHBG-Konzentration in Follikelflüssigkeit und Serum

Die in den FF- und Serum-Proben gemessenen SHBG-Konzentrationen sind in Tabelle 13 zu sehen. Für die Berechnung der Ergebnisse auf Patientinnenebene sind die Werte für die mehreren Follikel je Patientin zusammengefasst worden durch die Berechnung des Mittelwerts in den Follikeln je Patientin.

*Tabelle 13: SHBG-Konzentration in FF und Serum*

|               | Konzentration in der FF | Konzentration im Serum   |
|---------------|-------------------------|--------------------------|
| SHBG / nmol/l | 125 ± 51,5 (16,9-201) # | 164 (108, 201; 45,4-201) |

*Anmerkung:*  
Die Werte sind angegeben als ‚Median (1. Quartil, 3. Quartil; Range)‘; # ‚Mittelwert ± SD (Range)‘.

#### 3.1.2.2.1 SHBG-Konzentration in der Follikelflüssigkeit

Tabelle 14 stellt die Lage und Variabilität der SHBG-Konzentrationen in den FF-Proben bzw. Follikeln je Patientin dar. Der Median des Mittelwerts und des Medians der SHBG-Konzentrationen der Follikel je Patientin lagen sehr nahe beieinander. Für die weiteren statistischen Auswertungen auf Patientinnenebene wurde der Mittelwert der SHBG-Konzentrationen der Follikel je Patientin verwendet. Als Median-SHBG-Konzentration in der FF ist somit 125 nmol/l anzugeben.

*Tabelle 14: SHBG-Konzentrationen in den Follikeln je Patientin (in nmol/l)*

|                    |                                |                  |
|--------------------|--------------------------------|------------------|
| Mittelwert         | Mittelwert $\pm$ SD            | 125 $\pm$ 51,5   |
|                    | Median; 1. Quartil, 3. Quartil | 125; 81,6, 168   |
|                    | Range                          | 16,9-201         |
| Standardabweichung | Mittelwert $\pm$ SD            | 10,2 $\pm$ 12,2  |
|                    | Median; 1. Quartil, 3. Quartil | 6,04; 3,21, 14,2 |
|                    | Range                          | 0,00-71,5        |
| Median             | Mittelwert $\pm$ SD            | 127 $\pm$ 52,8   |
|                    | Median; 1. Quartil, 3. Quartil | 126; 84,0, 174   |
|                    | Range                          | 23,5-201         |
| 1. Quartil         | Mittelwert $\pm$ SD            | 121 $\pm$ 51,5   |
|                    | Median; 1. Quartil, 3. Quartil | 123; 81,1, 163   |
|                    | Range                          | 12,10-201        |
| 3. Quartil         | Mittelwert $\pm$ SD            | 131 $\pm$ 53,4   |
|                    | Median; 1. Quartil, 3. Quartil | 132; 84,5, 178   |
|                    | Range                          | 25,0-201         |
| Minimum            | Mittelwert $\pm$ SD            | 109 $\pm$ 50,8   |
|                    | Median; 1. Quartil, 3. Quartil | 105; 73,3, 146   |
|                    | Range                          | 0,64-201         |
| Maximum            | Mittelwert $\pm$ SD            | 134 $\pm$ 54,3   |
|                    | Median; 1. Quartil, 3. Quartil | 136; 85,5, 189   |
|                    | Range                          | 26,4-201         |

Abbildung 2 zeigt die Verteilung der Mittelwerte der SHBG-Konzentrationen in den Follikeln je Patientin. Gemäß Kolmogorov-Smirnov-Test konnte für sie eine Normalverteilung angenommen werden.



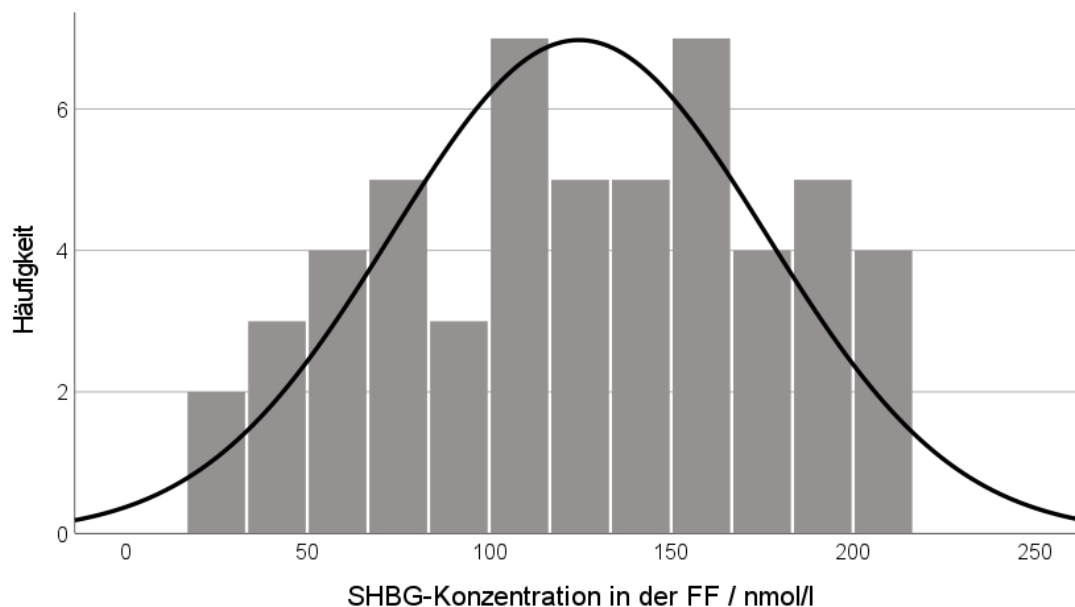


Abbildung 2: Histogramm: SHBG-Konzentration in der FF

### 3.1.2.2.2 SHBG-Konzentration im Serum

Tabelle 15 stellt die Lage und Variabilität der SHBG-Konzentrationen im Serum der Patientinnen dar.

Tabelle 15: SHBG-Konzentration im Serum (in nmol/l)

|                    |      |
|--------------------|------|
| Mittelwert         | 150  |
| Standardabweichung | 52,1 |
| Median             | 164  |
| 1. Quartil         | 108  |
| 3. Quartil         | 201  |
| Minimum            | 45,4 |
| Maximum            | 201  |

Die SHBG-Konzentrationen im Serum waren nicht normalverteilt, wie in Abbildung 3 zu sehen ist.

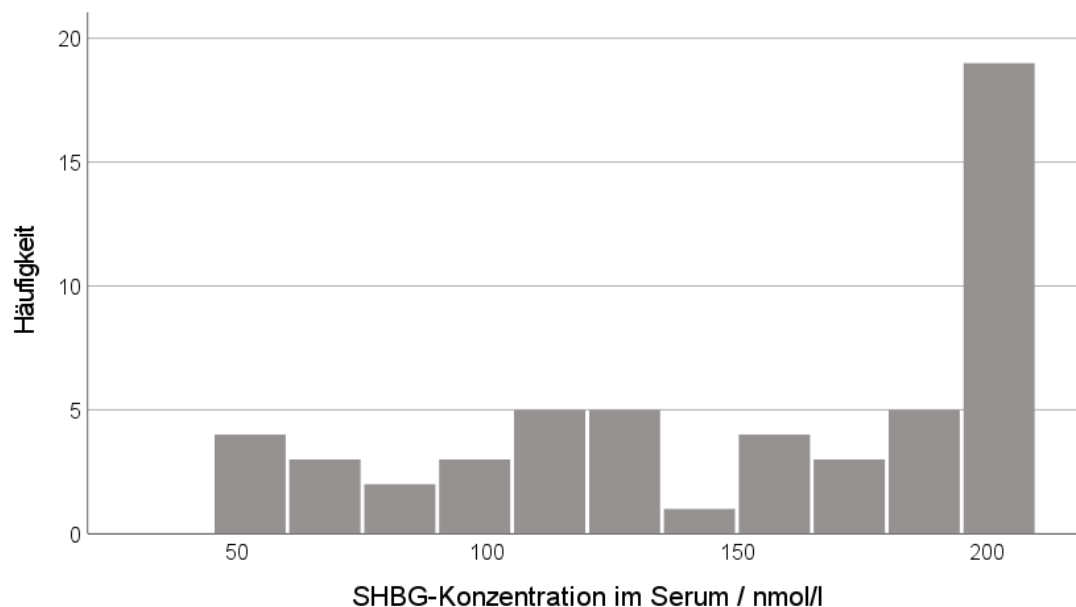


Abbildung 3: Histogramm: SHBG-Konzentration im Serum

### 3.1.3 Ebene der Follikel

#### 3.1.3.1 Beschreibung der untersuchten Follikel

Die Tabelle 16 gibt eine Übersicht über die Merkmale der untersuchten Follikel.

Tabelle 16: Ebene der Follikel: Follikeldurchmesser und Eizellgewinn

|               |                                  |                    |
|---------------|----------------------------------|--------------------|
| Durchmesser / | <b>Median:</b>                   | 18 (16-20; 9-40)   |
| mm            | <b>Einteilung in Kategorien:</b> |                    |
|               | <b>Sehr groß (&gt; 20):</b>      |                    |
|               | Anteil                           | 18 % (59/327)      |
|               | Median-Durchmesser               | 24 (22, 28; 21-40) |
|               | <b>Groß (18-20):</b>             |                    |
|               | Anteil                           | 46 % (149/327)     |
|               | Median-Durchmesser               | 20 (18, 20; 18-20) |
|               | <b>Mittelgroß (15-17):</b>       |                    |
|               | Anteil                           | 25 % (82/327)      |
|               | Median-Durchmesser               | 16 (16, 17; 15-17) |

|  |                         |                    |
|--|-------------------------|--------------------|
|  | <b>Klein (&lt; 15):</b> |                    |
|  | Anteil                  | 11 % (37/327)      |
|  | Median-Durchmesser      | 14 (12, 14; 9 -14) |
| Eizellgewinn   | Eizelle gewonnen        | 54 % (175/327)     |
|  | keine Eizelle gewonnen  | 46 % (152/327)     |
| <i>Anmerkung:</i>  |                         |                    |
| Die Werte sind angegeben als ‚Median (1. Quartil, 3. Quartil; Range)‘. |                         |                    |

### 3.1.3.2 SHBG-Konzentration in der Follikelflüssigkeit

Tabelle 17 stellt die Lage und Variabilität der SHBG-Konzentrationen in allen untersuchten FF-Proben bzw. Follikeln dar. Sie waren nicht normalverteilt.

*Tabelle 17: Ebene der Follikel: SHBG-Konzentration in der FF*

|                    |      |
|--------------------|------|
| Mittelwert         | 134  |
| Standardabweichung | 52,9 |
| Median             | 141  |
| 1. Quartil         | 91,4 |
| 3. Quartil         | 183  |
| Minimum            | 0,68 |
| Maximum            | 201  |

## 3.2 Ergebnisse auf Ebene der Patientinnen

Für die Berechnung aller Ergebnisse von auf einzelne Follikel bezogene Parameter sind auf Patientinnenebene die Werte für die mehreren Follikel je Patientin zusammengefasst worden durch die Berechnung von Mittelwert und Standardabweichung des Mittelwerts je Patientin.

Die folgenden Tabellen 18, 19 und 20 sollen einen ersten Überblick über die Ergebnisse geben.

Tabelle 18: Korrelationsanalysen nach Spearman

|  |        | SHBG in<br>der FF /<br>nmol/l | Streuung<br>des<br>SHBG in<br>der FF /<br>nmol/l | SHBG im<br>Serum /<br>nmol/l |
|--|--------|-------------------------------|--|------------------------------|
| SHBG im Serum / nmol/l                   | $\rho$ | 0,866*                        | -  | -                            |
|  | $p$    | < 0,001                       | -  | -                            |
| Anzahl punktierter Follikel <sup>a</sup> | $\rho$ | 0,320*                        | 0,012  | 0,425*                       |
|  | $p$    | 0,020                         | 0,935  | 0,001                        |
| Anzahl gewonnener Eizellen               | $\rho$ | 0,339*                        | -0,047   | 0,443*                       |
|  | $p$    | 0,012                         | 0,734  | 0,001                        |
| Rate gewonnener Eizellen <sup>a</sup>    | $\rho$ | 0,193                         | -0,113   | 0,232                        |
|  | $p$    | 0,167                         | 0,422  | 0,094                        |
| Anzahl reifer Eizellen                   | $\rho$ | 0,401*                        | -0,107   | 0,469*                       |
|  | $p$    | 0,003                         | 0,440  | < 0,001                      |
| Anteil reifer Eizellen <sup>a</sup>      | $\rho$ | 0,192                         | -0,133   | 0,137                        |
|  | $p$    | 0,169                         | 0,344  | 0,327                        |
| Rate reifer Eizellen <sup>a</sup>        | $\rho$ | 0,298*                        | -0,143   | 0,297*                       |
|  | $p$    | 0,030                         | 0,309  | 0,031                        |
| Anzahl korrekt befruchteter<br>Eizellen  | $\rho$ | 0,415*                        | -0,105   | 0,445*                       |
|  | $p$    | 0,002                         | 0,449  | 0,001                        |
| Gesamt-Befruchtungsrate <sup>b</sup>     | $\rho$ | 0,291*                        | -0,018   | 0,164                        |
|  | $p$    | 0,038                         | 0,902  | 0,250                        |
| ICSI-Befruchtungsrate <sup>c</sup>       | $\rho$ | 0,326*                        | -0,007   | 0,214                        |
|  | $p$    | 0,027                         | 0,963  | 0,152                        |
| IVF-Befruchtungsrate <sup>d</sup>        | $\rho$ | 0,463                         | -0,298   | 0,407                        |
|  | $p$    | 0,130                         | 0,348  | 0,189                        |
| Alter                                    | $\rho$ | 0,017                         | -0,035   | -0,011                       |
|  | $p$    | 0,900                         | 0,800  | 0,938                        |
| BMI                                      | $\rho$ | -0,384*                       | -0,210   | -0,224                       |
|  | $p$    | 0,004                         | 0,127  | 0,104                        |

---

*Anmerkungen:*

$\rho$  = Spearmans Rangkorrelationskoeffizient (Spearmans Rho)

\*  $p < 0,05$

<sup>a</sup>  $n = 53$ ; <sup>b</sup>  $n = 51$ ; <sup>c</sup>  $n = 46$ ; <sup>d</sup>  $n = 12$

---

*Tabelle 19: p-Werte der Gruppenvergleiche bei unabhängigen Stichproben  
(Mann-Whitney-U- und Kruskal-Wallis-Tests)*

|   | SHBG in<br>der FF /<br>nmol/l | Streuung des<br>SHBG in der FF<br>/ nmol/l | SHBG im<br>Serum /<br>nmol/l |
|---|-------------------------------|--|------------------------------|
| Keine Schwangerschaft ( $n = 33$ )<br>vs. Schwangerschaft ( $n = 16$ )                          | 0,996                         | 0,623                                      | 0,971                        |
| Keine Lebendgeburt ( $n = 36$ )<br>vs. Lebendgeburt ( $n = 13$ )                                | 0,889                         | 0,556                                      | 0,759                        |
| $\leq 34$ Jahre ( $n = 24$ )<br>vs. 35-39 Jahre ( $n = 25$ )<br>vs. $\geq 40$ Jahre ( $n = 5$ ) | 0,354                         | 0,086                                      | 0,391                        |
| Normalgewicht ( $n = 36$ )<br>vs. Präadipositas ( $n = 11$ )<br>vs. Adipositas ( $n = 6$ )      | 0,093                         | 0,263                                      | 0,232                        |

*Anmerkungen:*

Es wurde keine statistische Signifikanz ( $p < 0,05$ ) erreicht.

---

*Tabelle 20: p-Werte der Gruppenvergleiche bei abhängigen Stichproben  
(Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test)*

|  | SHBG / nmol/l              |   |
|--|----------------------------|---|
| FF<br>vs. Serum                                | $< 0,001^*$                |   |
|  | SHBG in der FF<br>/ nmol/l | Streuung des SHBG in der FF<br>/ nmol/l |
| Keine Eizelle gewonnen<br>vs. Eizelle gewonnen | $0,229^a$                  | $0,957^b$                               |

|   |                    |   |
|---|--------------------|---|
| Groß ( $\geq 16$ mm)<br>vs. klein ( $< 16$ mm)                        | 0,055 <sup>c</sup> | - |
| <i>Anmerkungen:</i>   |                    |   |
| * $p < 0,05$  |                    |   |
| <sup>a</sup> $n = 49$ ; <sup>b</sup> $n = 39$ ; <sup>c</sup> $n = 28$ |                    |   |

### 3.2.1 SHBG-Konzentration in Follikelflüssigkeit und Serum

#### 3.2.1.1 Vergleich zwischen Follikelflüssigkeit und Serum

Die SHBG-Konzentrationen waren im Serum statistisch signifikant höher als in der FF ( $z = 5,27$ ,  $p < 0,001$ ,  $r = 0,72$ ). Die Median-SHBG-Konzentration in der FF betrug 125 nmol/l, was etwa 76 % der Median-SHBG-Konzentration im Serum von 164 nmol/l entsprach. Sie war somit in der FF etwa 1,3-fach niedriger als im Serum. Nur knapp 4 % (2/54) der Patientinnen hatten einen höheren FF- im Vergleich zum Serumwert.

*Tabelle 21: SHBG-Konzentration im Vergleich zwischen FF und Serum*

|               | FF             | Serum          | $p$     |
|---------------|----------------|----------------|---------|
| SHBG / nmol/l | 125 $\pm$ 51,5 | 150 $\pm$ 52,1 |         |
|               | 125; 81,6, 168 | 164; 108, 201  | < 0,001 |

*Anmerkung:*

Die Ergebnisse sind angegeben als ‚Mittelwert  $\pm$  SD‘ sowie ‚Median; 1. Quartil, 3. Quartil‘.

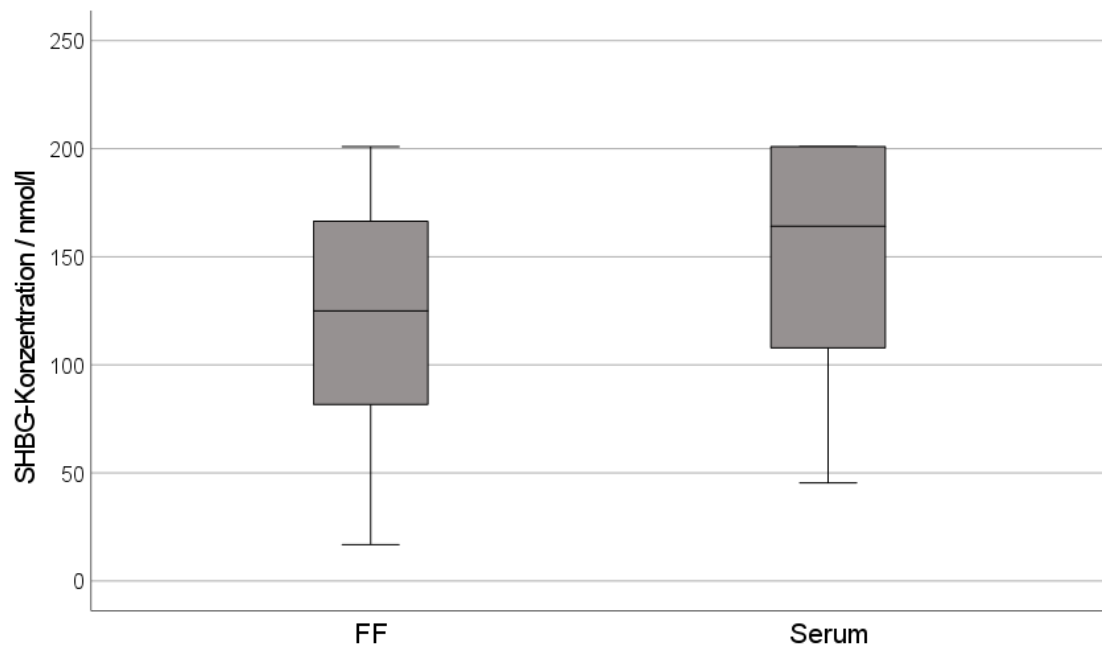


Abbildung 4: Boxplots: SHBG-Konzentration in der FF und im Serum

Tabelle 22 stellt die Lage und Variabilität der FF-Serum-Verhältnisse der SHBG-Konzentration je Patientin dar. Das Median-FF-Serum-Verhältnis betrug 0,78. Mit anderen Worten betrug die SHBG-Konzentration in der FF, ausgedrückt als prozentualer Anteil der SHBG-Konzentration im Serum bei derselben Patientin, im Median 78 % (Range 37-278 %).

Tabelle 22: FF-Serum-Verhältnisse der SHBG-Konzentration je Patientin

|                    |                                |                  |
|--------------------|--------------------------------|------------------|
| Mittelwert         | Mittelwert $\pm$ SD            | 0,84 $\pm$ 0,34  |
|                    | Median; 1. Quartil, 3. Quartil | 0,78; 0,69, 0,88 |
|                    | Range                          | 0,37-2,78        |
| Standardabweichung | Mittelwert $\pm$ SD            | 0,08 $\pm$ 0,11  |
|                    | Median; 1. Quartil, 3. Quartil | 0,04; 0,03, 0,09 |
|                    | Range                          | 0,00-0,68        |

### 3.2.1.2 Zusammenhang zwischen SHBG-Konzentration in Follikelflüssigkeit und Serum

Zwischen der SHBG-Konzentration in der FF und im Serum bestand eine statistisch signifikante, starke, positive monotone Beziehung (Spearman's  $\rho =$

0,866,  $p < 0,001$ ). Abbildung 5 veranschaulicht dies anhand eines Streudiagramms.

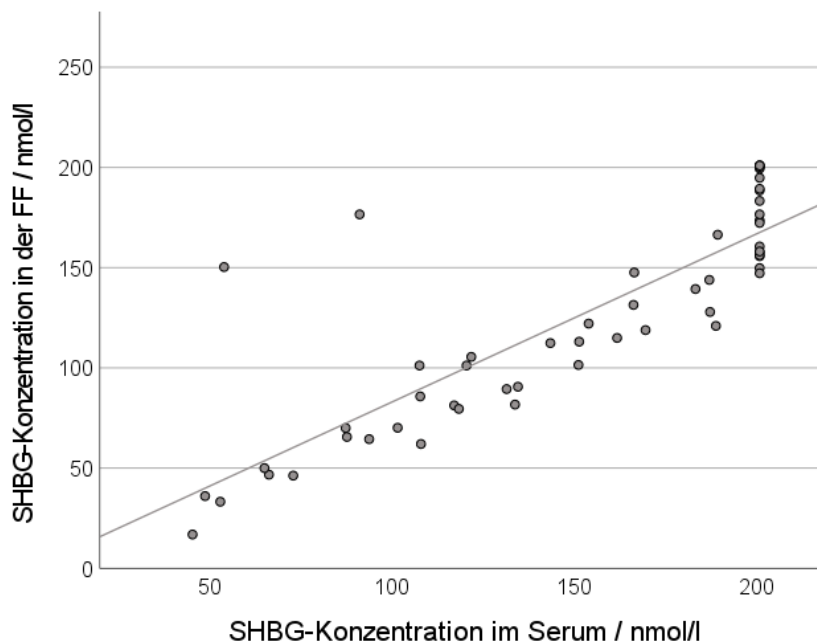
*Tabelle 23: Zusammenhang zwischen SHBG-Konzentration in FF und Serum*

|                        | SHBG in der FF / nmol/l |
|------------------------|-------------------------|
| SHBG im Serum / nmol/l | $\rho$ 0,866*           |
|                        | $p < 0,001$             |

*Anmerkungen:*

$\rho$  = Spearmans Rangkorrelationskoeffizient (Spearmans Rho)

\*  $p < 0,05$



*Abbildung 5: Streudiagramm: Zusammenhang zwischen SHBG-Konzentration im Serum und in der FF*

### **3.2.2 Vergleich zwischen Follikeln ohne gewonnene und mit gewonnener Eizelle**

Die Median-SHBG-Konzentration in den Follikeln ohne gewonnene Eizelle (130 nmol/l) und mit (128 nmol/l) gewonnener Eizelle unterschied sich kaum voneinander. Der Unterschied war nicht statistisch signifikant ( $z = -1,22$ ,  $p = 0,229$ ). Auch die Streuung der SHBG-Konzentration in den Follikeln je Patientin unter-



schied sich nicht statistisch signifikant zwischen diesen beiden Gruppen ( $z = 0,06$ ,  $p = 0,957$ ).

**Tabelle 24: SHBG-Konzentration im Vergleich zwischen Follikeln ohne gewonnene und mit gewonnener Eizelle**

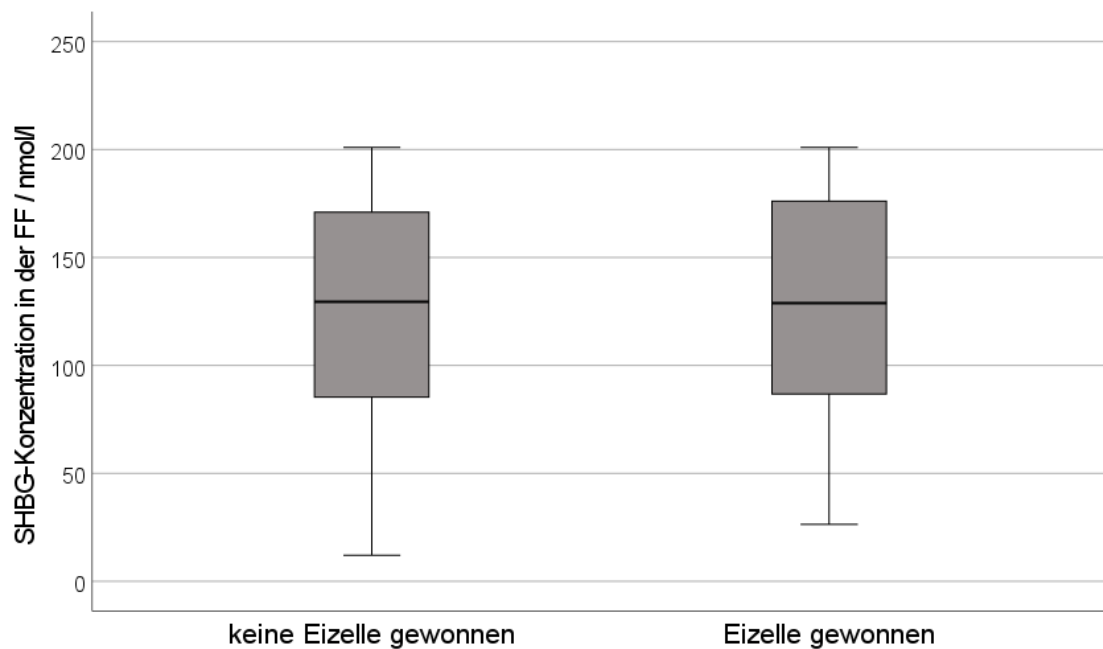
|   | Keine Eizelle gewonnen          | Eizelle gewonnen                | <i>p</i> |
|---|---------------------------------|---------------------------------|----------|
| SHBG in der FF <sup>a</sup> / nmol/l              | 126 ± 52,6<br>130; 85,4, 171    | 127 ± 51,4<br>128; 86,8, 176    | 0,229    |
| Streuung des SHBG in der FF <sup>b</sup> / nmol/l | 10,5 ± 16,9<br>5,88; 1,28, 9,75 | 9,27 ± 11,0<br>5,23; 2,11, 9,36 | 0,957    |

**Anmerkungen:**

Die Ergebnisse sind angegeben als ‚Mittelwert ± SD‘ sowie ‚Median; 1. Quartil, 3. Quartil‘.

<sup>a</sup>  $n = 49$

<sup>b</sup>  $n = 39$



**Abbildung 6: Boxplots: SHBG-Konzentration in der FF (in nmol/l) im Vergleich zwischen Follikeln ohne gewonnene und mit gewonnener Eizelle**

### 3.2.3 Vergleich zwischen großen und kleinen Follikeln

Zwischen der SHBG-Konzentration in großen und kleinen Follikeln bestand ein Unterschied, der knapp die statistische Signifikanz verfehlte ( $z = 1,92$ ,  $p = 0,055$ ). Die Median-SHBG-Konzentration in den Follikeln mit einem Durchmesser von mind. 16 mm (143 nmol/l) war niedriger als die Median-SHBG-Konzentration in den Follikeln mit einem Durchmesser von unter 16 mm (155 nmol/l).

Tabelle 25: SHBG-Konzentration im Vergleich zwischen großen und kleinen Follikeln

|                                      | Groß ( $\geq 16$ mm) | Klein ( $< 16$ mm) | $p$   |
|--------------------------------------|----------------------|--------------------|-------|
| SHBG in der FF <sup>a</sup> / nmol/l | $134 \pm 50,4$       | $141 \pm 57,4$     |       |
|                                      | 143; 97,1, 178       | 155; 100, 196      | 0,055 |

**Anmerkungen:**

Die Ergebnisse sind angegeben als ‚Mittelwert  $\pm$  SD‘ sowie ‚Median; 1. Quartil, 3. Quartil‘.

<sup>a</sup>  $n = 28$

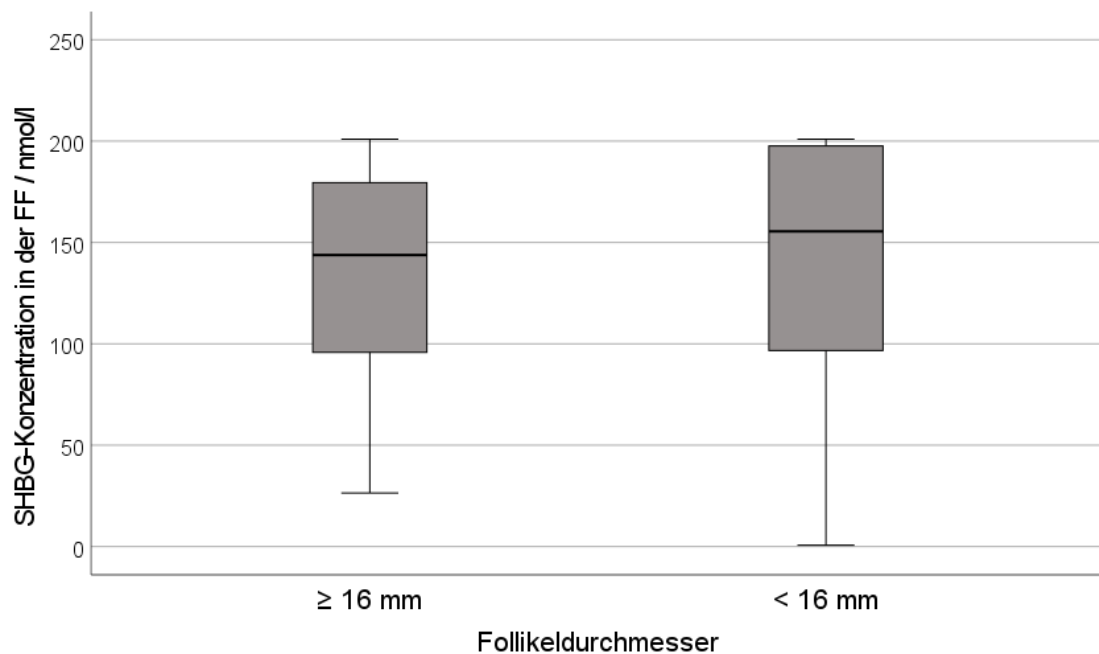


Abbildung 7: Boxplots: SHBG-Konzentration in der FF (in nmol/l) im Vergleich zwischen großen und kleinen Follikeln

### 3.2.4 Zusammenhang mit verschiedenen IVF- und ICSI-Parametern

#### 3.2.4.1 Parameter der punktierten Follikel und gewonnenen Eizellen

Mithilfe der Spearman-Korrelationsanalyse konnten statistisch signifikante monotone Zusammenhänge der SHBG-Konzentration in der FF mit folgenden Parametern der punktierten Follikel und gewonnenen Eizellen festgestellt werden: eine moderate positive Korrelation mit der Anzahl der punktierten Follikel (Spearman's  $\rho = 0,320$ ,  $p = 0,020$ ), der Anzahl der gewonnenen (Spearman's  $\rho = 0,339$ ,  $p = 0,012$ ) und der reifen Eizellen (Spearman's  $\rho = 0,401$ ,  $p = 0,003$ ) sowie eine geringe bis moderate positive Korrelation mit der Rate reifer Eizellen (Spearman's  $\rho = 0,298$ ,  $p = 0,030$ ). Für diese Zusammenhänge sind in den Abbildungen 8 bis 11 die Streudiagramme dargestellt.

Die SHBG-Konzentration im Serum wies ebenso mit allen diesen Parametern eine statistisch signifikante, moderate bzw. geringe bis moderate positive Korrelation auf. Diese war für die Anzahl punktierter Follikel (Spearman's  $\rho = 0,425$ ,  $p = 0,001$ ), die Anzahl der gewonnenen (Spearman's  $\rho = 0,443$ ,  $p = 0,001$ ) und der reifen Eizellen (Spearman's  $\rho = 0,469$ ,  $p < 0,001$ ) etwas stärker als als die Korrelation dieser Parameter mit der SHBG-Konzentration in der FF. Für die Rate reifer Eizellen war sie etwa gleich groß (Spearman's  $\rho = 0,297$ ,  $p = 0,031$ ).

Ansonsten fanden sich keine statistisch signifikanten oder starken Korrelationen mit der SHBG-Konzentration in der FF, der Streuung der SHBG-Konzentration in den Follikeln der Patientin oder der SHBG-Konzentration im Serum.

*Tabelle 26: Zusammenhang zwischen der SHBG-Konzentration und Parametern der punktierten Follikel und gewonnenen Eizellen*

|   |        | SHBG in der<br>FF / nmol/l | Streuung des<br>SHBG in der FF /<br>nmol/l | SHBG im<br>Serum /<br>nmol/l |
|---|--------|----------------------------|--|------------------------------|
| Anzahl punktierter<br>Follikel <sup>a</sup> | $\rho$ | 0,320*                     | 0,012                                      | 0,425*                       |
|   | $p$    | 0,020                      | 0,935                                      | 0,001                        |
| Anzahl gewonnener<br>Eizellen               | $\rho$ | 0,339*                     | -0,047                                     | 0,443*                       |
|   | $p$    | 0,012                      | 0,734                                      | 0,001                        |
| Rate gewonnener<br>Eizellen <sup>a</sup>    | $\rho$ | 0,193                      | -0,113                                     | 0,232                        |
|   | $p$    | 0,167                      | 0,422                                      | 0,094                        |

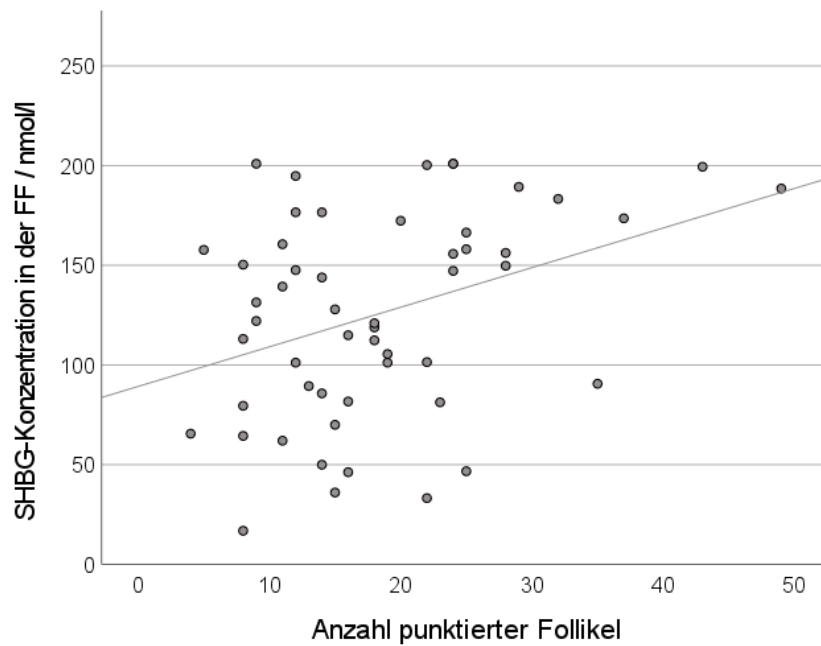
|                                     |        |        |        |         |
|-------------------------------------|--------|--------|--------|---------|
| Anzahl reifer Eizellen              | $\rho$ | 0,401* | -0,107 | 0,469*  |
|                                     | $p$    | 0,003  | 0,440  | < 0,001 |
| Anteil reifer Eizellen <sup>a</sup> | $\rho$ | 0,192  | -0,133 | 0,137   |
|                                     | $p$    | 0,169  | 0,344  | 0,327   |
| Rate reifer Eizellen <sup>a</sup>   | $\rho$ | 0,298* | -0,143 | 0,297*  |
|                                     | $p$    | 0,030  | 0,309  | 0,031   |

*Anmerkungen:*

$\rho$  = Spearmans Rangkorrelationskoeffizient (Spearmans Rho)

\*  $p < 0,05$

<sup>a</sup>  $n = 53$



*Abbildung 8: Streudiagramm: Zusammenhang zwischen Anzahl punktierter Follikel und SHBG-Konzentration in der FF*

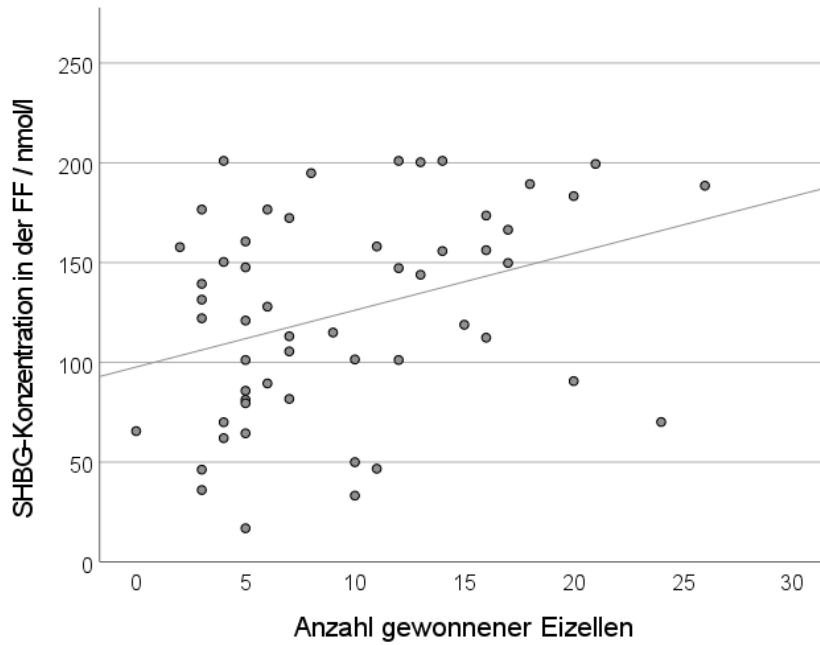


Abbildung 9: Streudiagramm: Zusammenhang zwischen Anzahl gewonnener Eizellen und SHBG-Konzentration in der FF

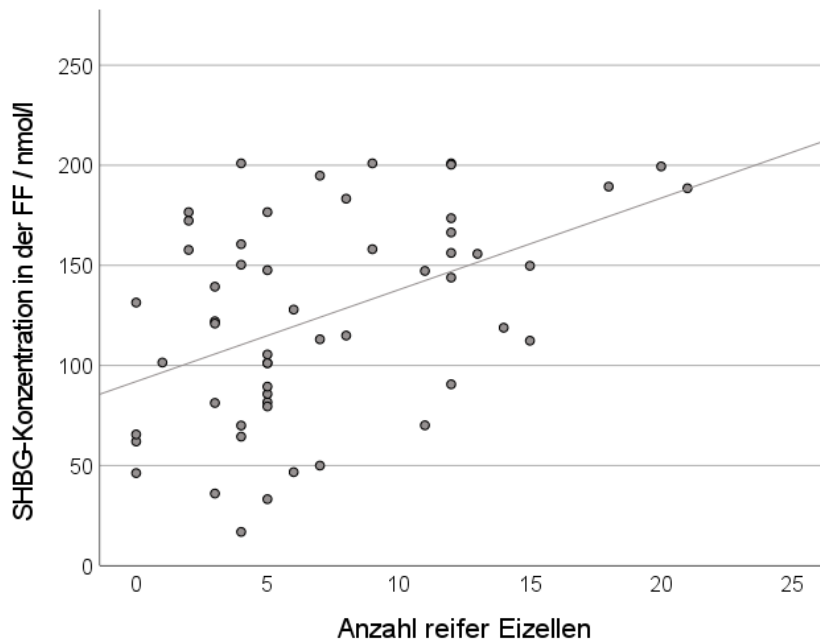
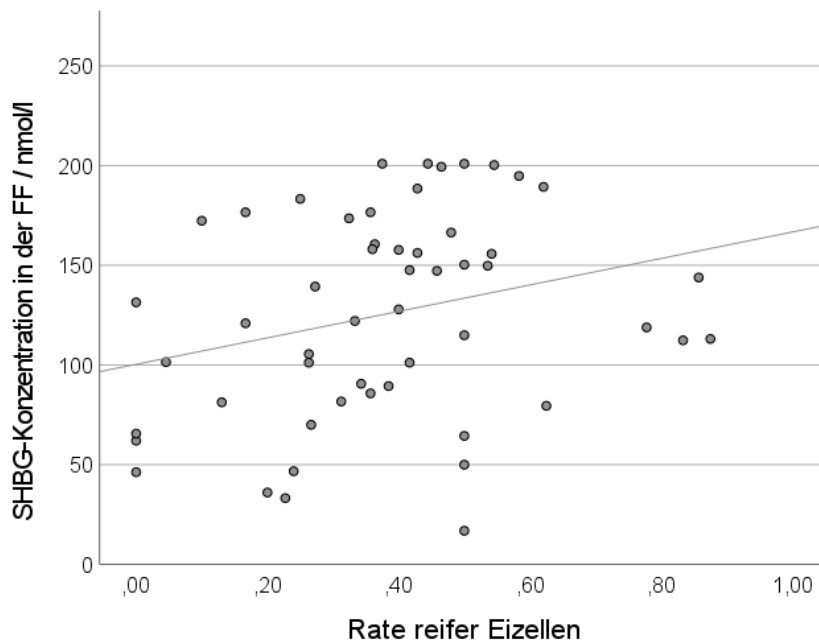


Abbildung 10: Streudiagramm: Zusammenhang zwischen Anzahl reifer Eizellen und SHBG-Konzentration in der FF



*Abbildung 11: Streudiagramm: Zusammenhang zwischen Rate reifer Eizellen und SHBG-Konzentration in der FF*

#### 3.2.4.2 Parameter der behandelten Eizellen

Des Weiteren konnten statistisch signifikante monotone Zusammenhänge der SHBG-Konzentration in der FF mit folgenden Parametern der behandelten Eizellen festgestellt werden: eine moderate positive Korrelation mit der Anzahl korrekt befruchteter Eizellen (Spearman's  $\rho = 0,415$ ,  $p = 0,002$ ) und der ICSI-Befruchtungsrate (Spearman's  $\rho = 0,326$ ,  $p = 0,027$ ), sowie eine geringe bis moderate positive Korrelation mit der Gesamt-Befruchtungsrate (Spearman's  $\rho = 0,291$ ,  $p = 0,038$ ). Für diese Zusammenhänge sind in den Abbildungen 12 bis 14 die Streudiagramme dargestellt.

Für die SHBG-Konzentration im Serum ließ sich ausschließlich eine statistisch signifikante, moderate positive Korrelation mit der Anzahl der korrekt befruchteten Eizellen feststellen (Spearman's  $\rho = 0,445$ ,  $p = 0,001$ ).

Eine zwischen der IVF-Befruchtungsrate und der SHBG-Konzentration in der FF (Spearman's  $\rho = 0,463$ ,  $p = 0,130$ ) sowie der SHBG-Konzentration im Serum (Spearman's  $\rho = 0,407$ ,  $p = 0,189$ ) gefundene moderate Korrelation erreichte keine statistische Signifikanz.

Ansonsten fanden sich keine statistisch signifikanten oder starken Korrelationen mit der SHBG-Konzentration in der FF, der Streuung der SHBG-Konzentration in den Follikeln der Patientin oder der SHBG-Konzentration im Serum.

*Tabelle 27: Zusammenhang zwischen SHBG-Konzentration und Parametern der behandelten Eizellen*

|                               |        | SHBG in der FF<br>/ nmol/l | Streuung des<br>SHBG in der FF /<br>nmol/l | SHBG im<br>Serum /<br>nmol/l |
|-------------------------------|--------|----------------------------|--|------------------------------|
| Anzahl korrekt be-            | $\rho$ | 0,415*                     | -0,105                                     | 0,445*                       |
| fruchteter Eizellen           | $p$    | 0,002                      | 0,449                                      | 0,001                        |
| Gesamt-                       | $\rho$ | 0,291*                     | -0,018                                     | 0,164                        |
| Befruchtungsrate <sup>a</sup> | $p$    | 0,038                      | 0,902                                      | 0,250                        |
| ICSI-                         | $\rho$ | 0,326*                     | -0,007                                     | 0,214                        |
| Befruchtungsrate <sup>b</sup> | $p$    | 0,027                      | 0,963                                      | 0,152                        |
| IVF-                          | $\rho$ | 0,463                      | -0,298                                     | 0,407                        |
| Befruchtungsrate <sup>c</sup> | $p$    | 0,130                      | 0,348                                      | 0,189                        |

*Anmerkungen:*

$\rho$  = Spearmans Rangkorrelationskoeffizient (Spearmans Rho)

\*  $p < 0,05$

<sup>a</sup>  $n = 51$

<sup>b</sup>  $n = 46$

<sup>c</sup>  $n = 12$

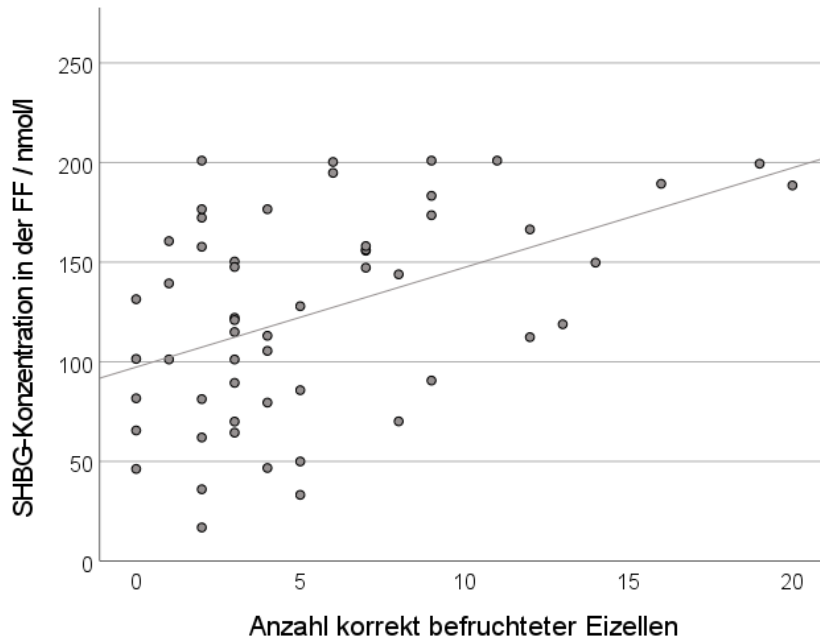


Abbildung 12: Streudiagramm: Zusammenhang zwischen Anzahl korrekt befruchteter Eizellen und SHBG-Konzentration in der FF

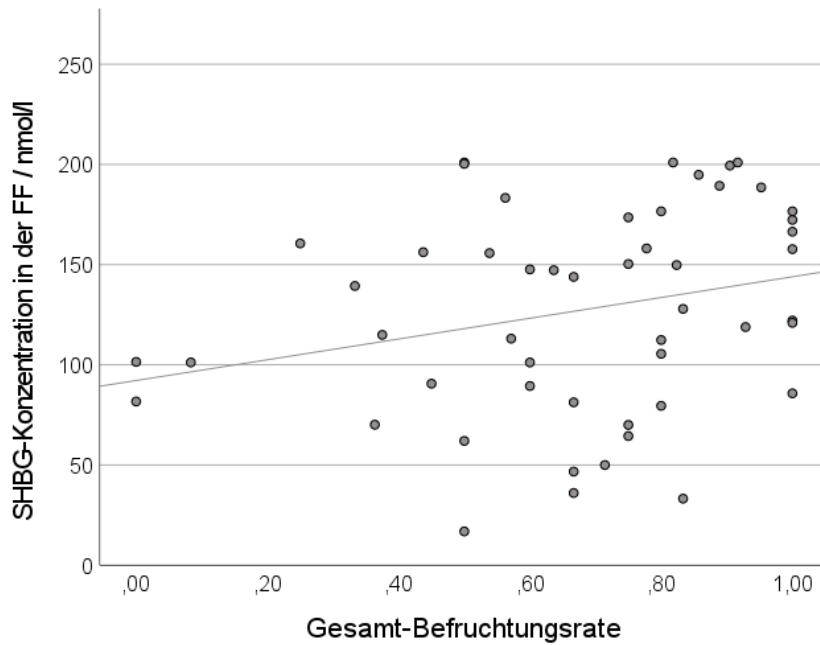


Abbildung 13: Streudiagramm: Zusammenhang zwischen Gesamt-Befruchtungsrate und SHBG-Konzentration in der FF



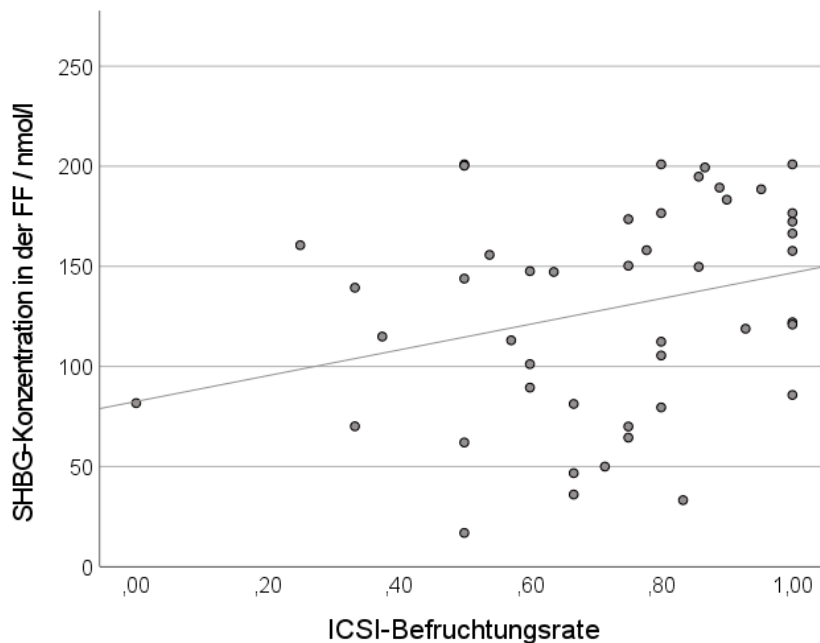


Abbildung 14: Streudiagramm: Zusammenhang zwischen ICSI-Befruchtungsrate und SHBG-Konzentration in der FF

### 3.2.5 Vergleich zwischen Nichtschwangeren und Schwangeren

Der Median der SHBG-Konzentrationen in der FF der im Verlauf Schwangeren (124 nmol/l) war etwas höher als jener der Patientinnen ohne erreichte Schwangerschaft (119 nmol/l). Dies ist auch in Abbildung 15 anhand der zugehörigen Boxplots zu erkennen. Der Unterschied war nicht statistisch signifikant ( $U = 263,50$ ,  $Z = -0,011$ ,  $p = 0,996$ ).

Die Mediane der SHBG-Konzentrationen im Serum von Patientinnen mit (155 nmol/l) und ohne im Verlauf erreichte Schwangerschaft (154 nmol/l) entsprachen sich in etwa. Es existierte kein statistisch signifikanter Unterschied ( $U = 262,00$ ,  $Z = -0,043$ ,  $p = 0,971$ ).

Es wurden keine signifikanten Unterschiede der Streuung der SHBG-Konzentrationen in den Follikeln der Patientin zwischen den zwei Gruppen gefunden ( $U = 240,50$ ,  $Z = -0,501$ ,  $p = 0,623$ ).

**Tabelle 28: SHBG-Konzentration im Vergleich zwischen Nichtschwangeren und Schwangeren**

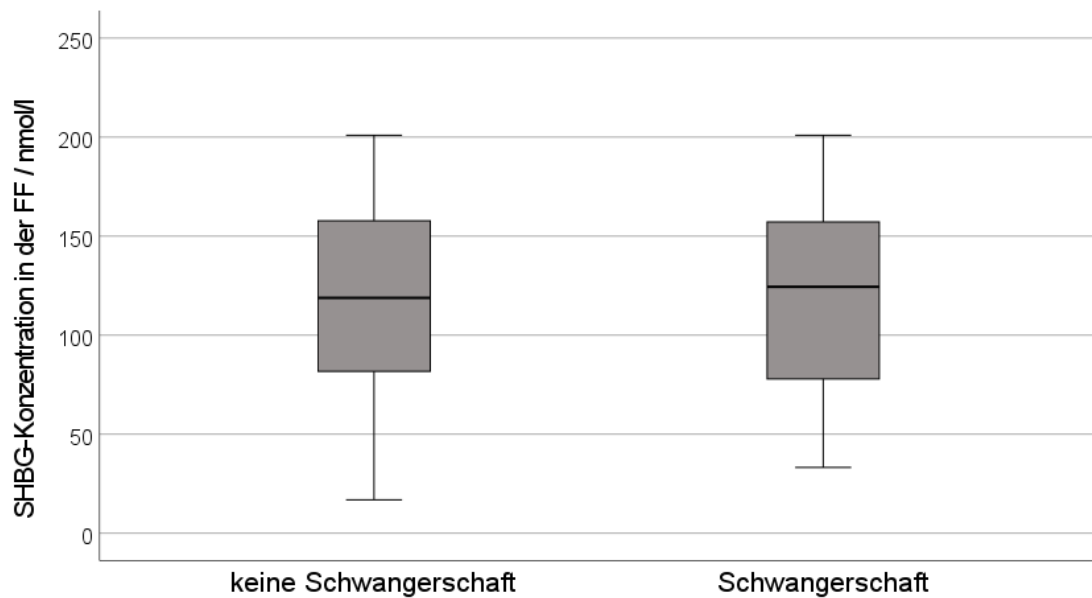
|                                      | Keine Schwangerschaft <sup>a</sup> | Schwangerschaft <sup>b</sup>    | <i>p</i> |
|--------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------|----------|
| SHBG in der FF / nmol/l              | 120 ± 49,8<br>119; 81,5, 159       | 120 ± 50,0<br>124; 74,0, 158    | 0,996    |
| Streuung des SHBG in der FF / nmol/l | 11,4 ± 14,0<br>6,50; 3,30, 16,2    | 8,40 ± 8,22<br>5,65; 2,62, 13,2 | 0,623    |
| SHBG im Serum / nmol/l               | 148 ± 51,7<br>154; 113, 201        | 145 ± 54,8<br>155; 91,9, 201    | 0,971    |

**Anmerkungen:**

Die Ergebnisse sind angegeben als ‚Mittelwert ± SD‘ sowie ‚Median; 1. Quartil, 3. Quartil‘.

<sup>a</sup> *n* = 33

<sup>b</sup> *n* = 16



**Abbildung 15: Boxplots: SHBG-Konzentration in der FF im Vergleich zwischen Nichtschwangeren und Schwangeren**

### 3.2.6 Vergleich zwischen Patientinnen ohne und mit Lebendgeburt

Die Mediane der SHBG-Konzentrationen in der FF der Patientinnen mit und ohne im Verlauf erreichte Lebendgeburt entsprachen sich in etwa (121 nmol/l). Abbildung 16 zeigt die zugehörigen Boxplots, die dies auch erkennen lassen. Ein statistisch signifikanter Unterschied existierte nicht ( $U = 224,00$ ,  $Z = -0,227$ ,  $p = 0,827$ ).

Der Median der SHBG-Konzentration im Serum von Patientinnen mit Lebendgeburt im Verlauf (144 nmol/l) war niedriger als jener von Patientinnen ohne spätere Lebendgeburt (158 nmol/l). Der Unterschied war nicht statistisch signifikant ( $U = 220,00$ ,  $Z = -0,322$ ,  $p = 0,759$ ).

Es wurden keine signifikanten Unterschiede der Streuung der SHBG-Konzentration in den Follikeln der Patientin zwischen den zwei Gruppen gefunden ( $U = 207,5$ ,  $Z = -0,600$ ,  $p = 0,556$ ).

*Tabelle 29: SHBG-Konzentration im Vergleich zwischen Patientinnen ohne und mit Lebendgeburt*

|                                      | Keine Lebendgeburt <sup>a</sup> | Lebendgeburt <sup>b</sup>       | <i>p</i> |
|--------------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|----------|
| SHBG in der FF / nmol/l              | 121 ± 48,5<br>121; 82,7, 157    | 118 ± 53,3<br>121; 67,2, 167    | 0,889    |
| Streuung des SHBG in der FF / nmol/l | 11,0 ± 13,5<br>6,51; 3,44, 13,9 | 8,74 ± 9,08<br>5,55; 2,08, 14,9 | 0,556    |
| SHBG im Serum / nmol/l               | 148 ± 50,8<br>158; 110, 201     | 142 ± 57,7<br>144; 89,4, 201    | 0,759    |

*Anmerkungen:*

Die Ergebnisse sind angegeben als ‚Mittelwert ± SD‘ sowie ‚Median; 1. Quartil, 3. Quartil‘.

<sup>a</sup>  $n = 36$

<sup>b</sup>  $n = 13$

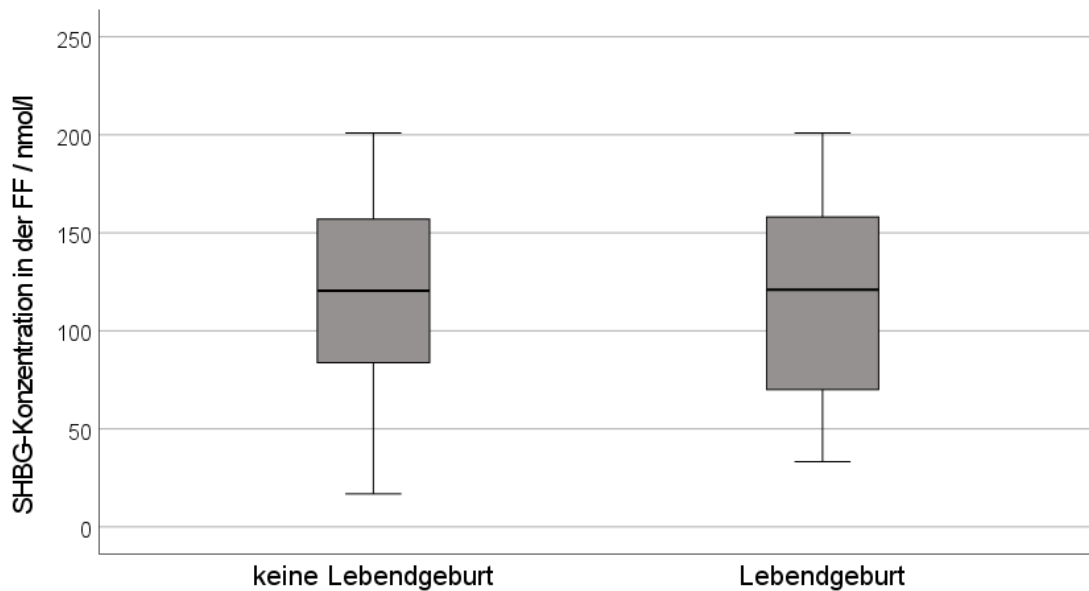


Abbildung 16: SHBG-Konzentration in der FF im Vergleich zwischen Patientinnen ohne und mit Lebendgeburt

### 3.2.7 Alter

#### 3.2.7.1 Zusammenhang mit dem Alter

Es wurde weder eine statistisch signifikante monotone Beziehung zwischen der SHBG-Konzentration in der FF, noch der SHBG-Konzentration im Serum, und dem Alter der Patientinnen gefunden. Auch wurde keine statistisch signifikante Korrelation zwischen der Streuung der SHBG-Konzentration in den Follikeln der Patientin und dem Alter gefunden. In Tabelle 30 sind die Korrelationskoeffizienten aufgeführt, die die statistisch nicht signifikante, nur schwache Korrelation zeigen.

Tabelle 30: Zusammenhang der SHBG-Konzentration in der FF und im Serum mit dem Alter

|              | SHBG in der FF /<br>nmol/l | Streuung des SHBG in<br>der FF / nmol/l | SHBG im Serum /<br>nmol/l |
|--------------|----------------------------|---|---------------------------|
| Alter $\rho$ | 0,017                      | -0,035                                  | -0,011                    |
|              | $p$ 0,900                  | 0,800                                   | 0,938                     |

Anmerkungen:

$\rho$  = Spearmans Rangkorrelationskoeffizient (Spearmans Rho)

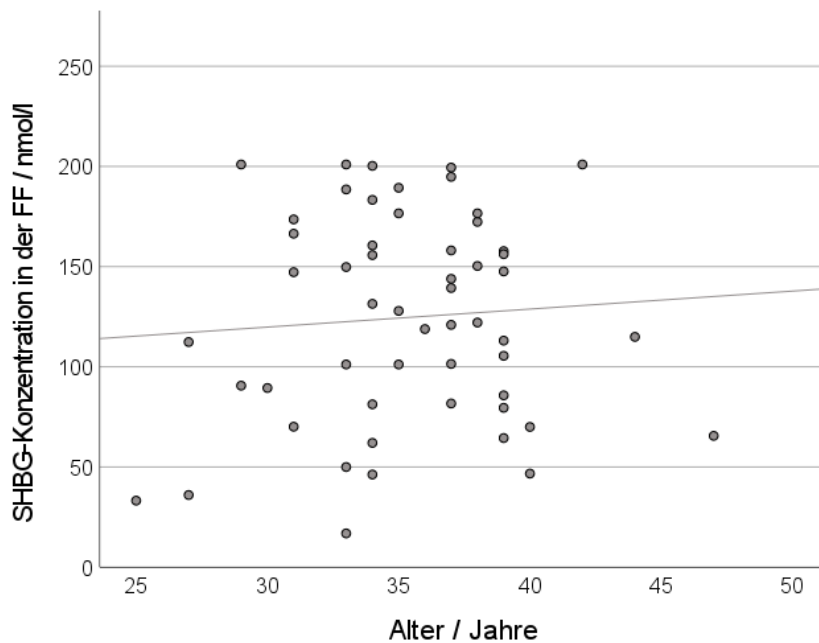


Abbildung 17: Streudiagramm: Zusammenhang zwischen Alter und SHBG-Konzentration in der FF

### 3.2.7.2 Vergleich der Altersgruppen

Den niedrigsten Median der SHBG-Konzentrationen in der FF wies die älteste Altersgruppe auf (70,0 nmol/l), gefolgt von der jüngsten Altersgruppe (122 nmol/l) und dann der mittleren Altersgruppe mit dem höchsten Median (139 nmol/l). Abbildung 18 zeigt zur Veranschaulichung die zugehörigen Boxplots. Die SHBG-Konzentration in der FF der drei Gruppen unterschied sich nicht statistisch signifikant voneinander ( $H(2) = 2,075$ ,  $p = 0,354$ ).

Auch bei der SHBG-Konzentration im Serum zeigte die älteste Altersgruppe den niedrigsten Median (87,8 nmol/l), gefolgt von der jüngsten Altersgruppe (155 nmol/l) und dann der mittleren Altersgruppe mit dem höchsten Median (170 nmol/l). Auch hier wurden keine signifikanten Unterschiede bezüglich der zentralen Tendenz der Gruppen gefunden ( $H(2) = 1,877$ ,  $p = 0,391$ ).

Die Streuung der SHBG-Konzentration in den Follikeln der Patientin der drei Gruppen unterschied sich nicht statistisch signifikant voneinander ( $H(2) = 4,917$ ,  $p = 0,086$ ).

Tabelle 31: SHBG-Konzentration im Vergleich der Altersgruppen

|                                      | ≤ 34 Jahre <sup>a</sup>         | 35-39 Jahre <sup>b</sup>        | ≥ 40 Jahre <sup>c</sup>         | p     |
|--------------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|-------|
| SHBG in der FF / nmol/l              | 119 ± 60,1<br>122; 64,1, 172    | 135 ± 38,3<br>139; 103, 165     | 99,7 ± 61,9<br>70,0; 56,2, 158  | 0,354 |
| Streuung des SHBG in der FF / nmol/l | 12,0 ± 15,6<br>6,13; 1,84, 17,6 | 9,96 ± 8,85<br>6,63; 4,86, 12,0 | 2,86 ± 2,69<br>3,12; 0,14, 5,44 | 0,086 |
| SHBG im Serum / nmol/l               | 146 ± 58,2<br>155; 103, 201     | 159 ± 43,9<br>170; 120, 201     | 121 ± 57,6<br>87,8; 76,9, 181   | 0,391 |

**Anmerkungen:**

Die Ergebnisse sind angegeben als ‚Mittelwert ± SD‘ sowie ‚Median; 1. Quartil, 3. Quartil‘.

<sup>a</sup> n = 24

<sup>b</sup> n = 25

<sup>c</sup> n = 5

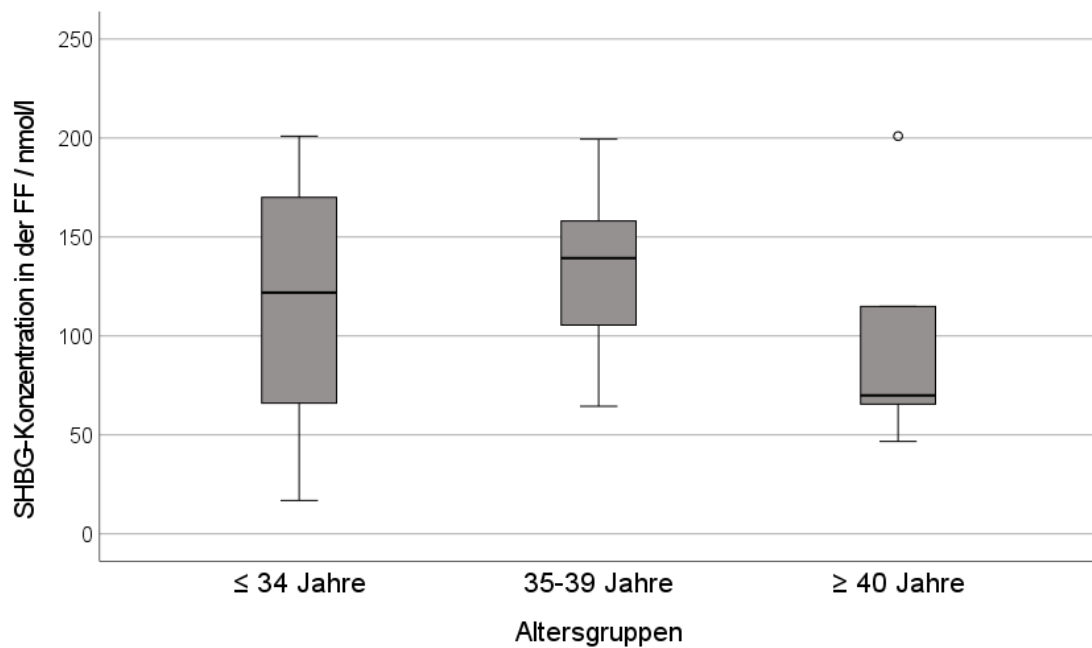


Abbildung 18: Boxplots: SHBG-Konzentration in der FF im Vergleich der Altersgruppen

### 3.2.8 Body-Mass-Index

#### 3.2.8.1 Zusammenhang mit dem BMI

Es wurde eine statistisch signifikante, moderate negative Korrelation zwischen der SHBG-Konzentration in der FF und dem BMI der Patientinnen gefunden (Spearman's  $\rho = 0,384$ ,  $p = 0,004$ ). Das zugehörige Streudiagramm ist in Abbildung 19 zu sehen. Zwischen der SHBG-Konzentration im Serum und dem BMI der Patientinnen wurde hingegen keine statistisch signifikante Korrelation gefunden, und die Korrelation war gering. Auch wurde keine statistisch signifikante Korrelation zwischen der Streuung der SHBG-Konzentration in den Follikeln der Patientin und dem BMI gefunden. In Tabelle 32 sind die Korrelationskoeffizienten aufgeführt.

*Tabelle 32: Zusammenhang der SHBG-Konzentration in der FF und im Serum mit dem BMI*

|            | SHBG in der FF /<br>nmol/l | Streuung des SHBG in der<br>FF / nmol/l | SHBG im Serum /<br>nmol/l |
|------------|----------------------------|---|---------------------------|
| BMI $\rho$ | -0,384*                    | -0,210                                  | -0,224                    |
| $p$        | 0,004                      | 0,127                                   | 0,104                     |

*Anmerkungen:*

$\rho$  = Spearman's Rangkorrelationskoeffizient (Spearman's Rho)

\*  $p < 0,05$

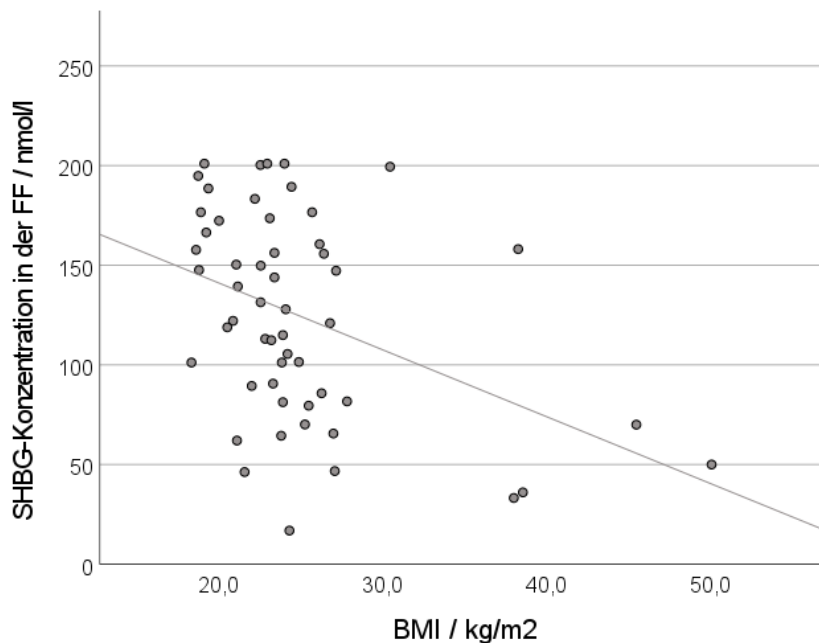


Abbildung 19: Streudiagramm: Zusammenhang zwischen BMI und SHBG-Konzentration in der FF

### 3.2.8.2 Vergleich der BMI-Gruppen

Den höchsten Median der SHBG-Konzentrationen in der FF wies die normalgewichtige Gruppe auf (142 nmol/l), und die adipöse Gruppe den niedrigsten (60,0 nmol/l). Es zeigte sich somit eine graduelle Abnahme der Werte mit dem zunehmenden BMI der Gruppen. Abbildung 20 zeigt zur Veranschaulichung die zugehörigen Boxplots. Die SHBG-Konzentrationen in der FF der drei Gruppen unterschieden sich jedoch nicht statistisch signifikant voneinander ( $H(2) = 4,747$ ,  $p = 0,093$ ).

Auch bei der SHBG-Konzentration im Serum besaß die normalgewichtige Gruppe den höchsten Median (168 nmol/l), und die adipöse Gruppe den niedrigsten (76,3 nmol/l). Auch für die SHBG-Konzentration im Serum der Patientinnen wurden keine signifikanten Unterschiede bezüglich der zentralen Tendenz der Gruppen gefunden ( $H(2) = 2,919$ ,  $p = 0,232$ ).

Die Streuung der SHBG-Konzentration in den Follikeln der Patientin der drei Gruppen unterschied sich nicht statistisch signifikant voneinander ( $H(2) = 2,668$ ,  $p = 0,263$ ).



*Tabelle 33: SHBG-Konzentration im Vergleich der BMI-Gruppen*

|   | Normalgewicht<br>(18,5 bis < 25,0<br>kg/m <sup>2</sup> ) <sup>a</sup> | Präadipositas<br>(25,0 bis < 30,0<br>kg/m <sup>2</sup> ) <sup>b</sup> | Adipositas (≥<br>30,0 kg/m <sup>2</sup> ) <sup>c</sup> | <i>p</i> |
|---|---|---|--|----------|
| SHBG in<br>der FF /<br>nmol/l                 | 136 ± 47,9<br>142; 102, 176   | 108 ± 45,2<br>85,8; 70,1, 156   | 91,1 ± 70,3<br>60,0; 35,3, 168                         | 0,093    |
| Streuung<br>des SHBG<br>in der FF /<br>nmol/l | 9,53 ± 9,10<br>6,28; 3,27, 13,9                                       | 14,4 ± 20,8<br>6,71; 3,67, 14,5                                       | 4,93 ± 6,08<br>3,26; 0,94,<br>7,84                     | 0,263    |
| SHBG im<br>Serum /<br>nmol/l                  | 159 ± 46,4<br>168; 124, 201   | 146 ± 52,9<br>134; 102, 201   | 109 ± 72,2<br>76,3; 52,9, 201                          | 0,232    |

*Anmerkungen:*

Die Ergebnisse sind angegeben als ‚Mittelwert ± SD‘ sowie ‚Median; 1. Quartil, 3. Quartil‘.

<sup>a</sup> *n* = 36

<sup>b</sup> *n* = 11

<sup>c</sup> *n* = 6

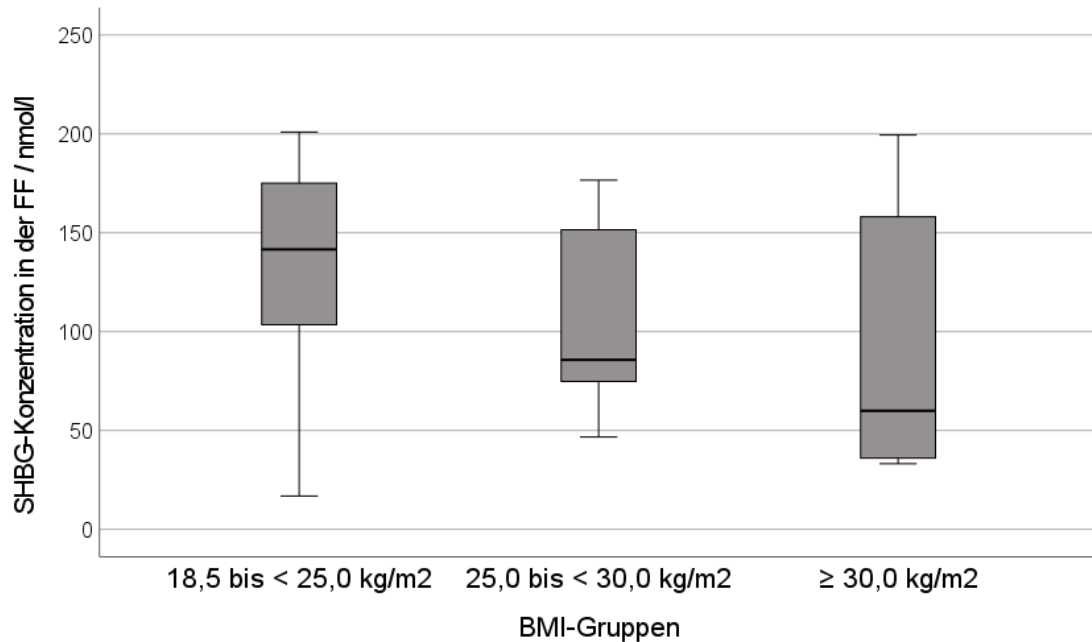


Abbildung 20: Boxplots: SHBG-Konzentration in der FF im Vergleich der BMI-Gruppen

### 3.3 Ergebnisse auf Ebene der Follikel

#### 3.3.1 Vergleich zwischen Follikelflüssigkeit und Serum

Ca. 76 % (250/327) der FF-Proben hatten eine niedrigere SHBG-Konzentration als die zugehörige Serumprobe. Nur knapp 5 % (16/327) der FF-Proben hatten eine höhere SHBG-Konzentration im Vergleich zum Serum. Bei knapp 19 % (61/327) der FF-Proben war die SHBG-Konzentration wie die der zugehörigen Serumprobe oberhalb des Messbereichs, sodass unbekannt ist, wo sie tatsächlich höher war.

#### 3.3.2 Vergleich zwischen Follikeln ohne gewonnene und mit gewonnener Eizelle

Der Median der SHBG-Konzentration in der FF von Follikeln mit daraus gewonnener Eizelle (140 nmol/l) entsprach in etwa jenem in der FF von Follikeln ohne daraus gewonnene Eizelle (141 nmol/l). Es existierte kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen ( $U = 12982,00$ ,  $Z = -0,374$ ,  $p = 0,708$ ).

*Tabelle 34: Ebene der Follikel: SHBG-Konzentration in der FF im Vergleich zwischen Follikeln ohne gewonnene und mit gewonnener Eizelle*

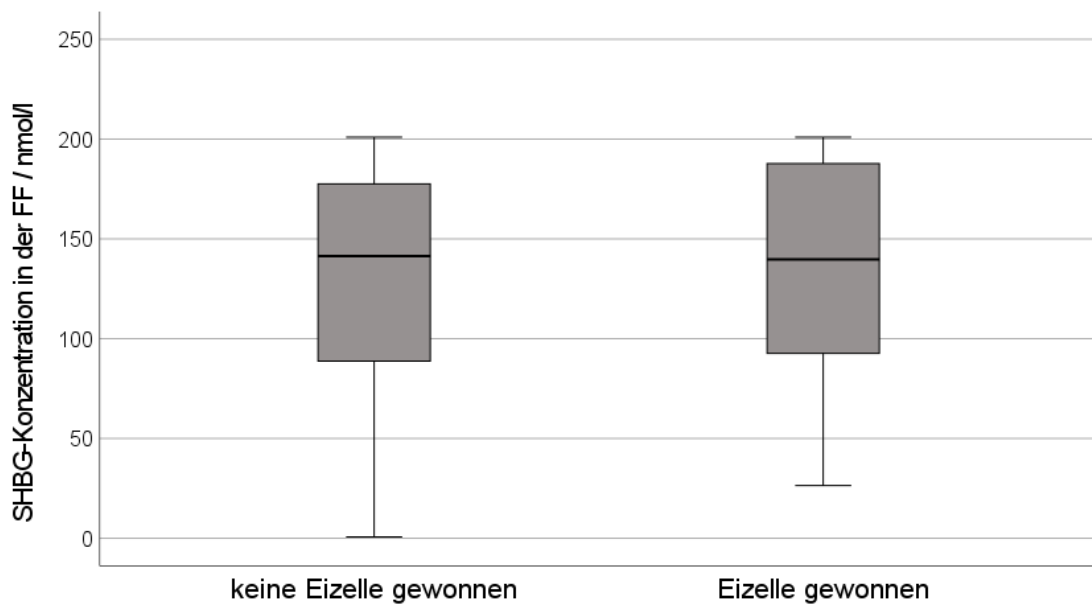
|                         | Keine Eizelle gewonnen <sup>a</sup> | Eizelle gewonnen <sup>b</sup> | <i>p</i> |
|-------------------------|-------------------------------------|-------------------------------|----------|
| SHBG in der FF / nmol/l | 133 ± 53,9<br>141; 88,6, 178        | 135 ± 52,2<br>140; 92,4, 189  | 0,708    |

*Anmerkungen:*

Die Ergebnisse sind angegeben als ‚Mittelwert ± SD‘ sowie ‚Median; 1. Quartil, 3. Quartil‘.

<sup>a</sup> *n* = 152

<sup>b</sup> *n* = 175



*Abbildung 21: Boxplots: Ebene der Follikel: SHBG-Konzentration in der FF im Vergleich zwischen Follikeln ohne gewonnene und mit gewonnener Eizelle*

### **3.3.3 Follikeldurchmesser**

#### **3.3.3.1 Zusammenhang mit dem Follikeldurchmesser**

Es wurde keine statistisch signifikante Korrelation der SHBG-Konzentration in der FF mit dem Follikeldurchmesser festgestellt, und der gefundene Korrelationskoeffizient war nur sehr gering (Spearman's  $\rho = -0,072$ ,  $p = 0,197$ ).

Tabelle 35: Ebene der Follikel: Zusammenhang zwischen SHBG-Konzentration in der FF und Follikeldurchmesser

| SHBF in der FF      |               |
|---------------------|---------------|
| Follikeldurchmesser | $\rho$ -0,072 |
|                     | $p$ 0,197     |

Anmerkungen:  
 $\rho$  = Spearmans Rangkorrelationskoeffizient (Spearmans Rho)

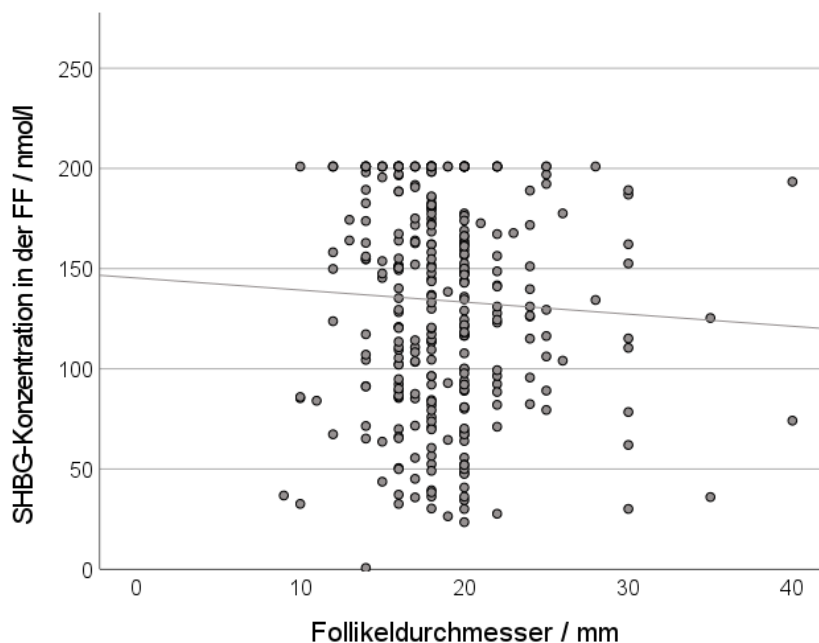


Abbildung 22: Streudiagramm: Ebene der Follikel: Zusammenhang zwischen Follikeldurchmesser und SHBG-Konzentration in der FF

### 3.3.3.2 Vergleich der Follikeldurchmesser-Gruppen

Die Gruppe der ‚sehr großen‘ Follikeldurchmesser besaß den niedrigsten Median der SHBG-Konzentrationen in der FF (131 nmol/l), gefolgt von der Gruppe der ‚großen‘ Follikeldurchmesser (139 nmol/l) und ‚mittelgroßen‘ Follikeldurchmesser (147 nmol/l), und dann der Gruppe der ‚kleinen‘ Follikeldurchmesser mit dem höchsten Median der SHBG-Konzentrationen in der FF (156 nmol/l). Somit zeigte sich tendenziell eine graduelle Abnahme der SHBG-Konzentrationen mit Zunahme des Follikeldurchmessers. Es konnten jedoch

keine statistisch signifikanten Unterschiede der SHBG-Konzentrationen in der FF der vier Gruppen gefunden werden ( $H(3) = 1,392$ ,  $p = 0,707$ ).

*Tabelle 36: Ebene der Follikel: SHBG-Konzentration im Vergleich der Follikeldurchmesser-Gruppen*

|                            | Sehr groß<br>(> 20 mm)<br><sup>a</sup> | Groß (18-<br>20 mm) <sup>b</sup> | Mittelgroß<br>(15-17 mm) <sup>c</sup> | Klein (<<br>15 mm) <sup>d</sup> | <i>p</i> |
|----------------------------|--|----------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------|----------|
| SHBG in der<br>FF / nmol/l | 135 ± 48,1                             | 131 ± 53,6                       | 136 ± 52,8                            | 140 ±<br>58,6                   |          |
|                            | 131; 96,5,<br>178                      | 139; 86,8,<br>178                | 147; 91,8, 193                        | 156; 88,6,                      | 0,707    |

*Anmerkungen:*

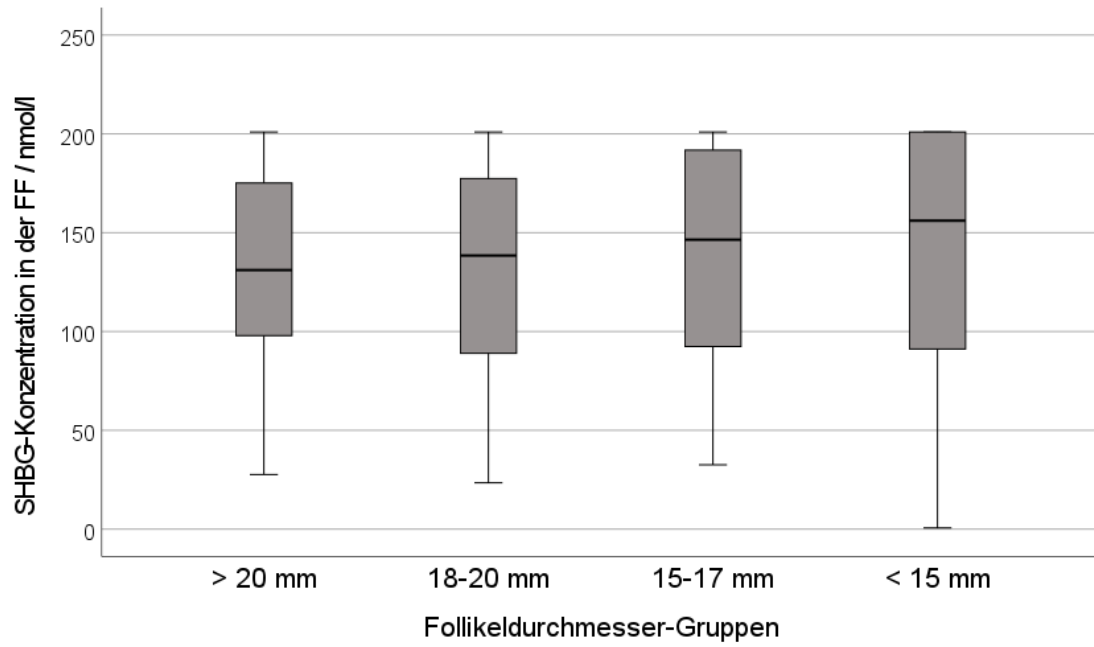
Die Ergebnisse sind angegeben als ‚Mittelwert ± SD‘ sowie ‚Median; 1. Quartil, 3. Quartil‘.

<sup>a</sup>  $n = 59$

<sup>b</sup>  $n = 149$

<sup>c</sup>  $n = 82$

<sup>d</sup>  $n = 37$



*Abbildung 23: Boxplots: Ebene der Follikel: SHBG-Konzentration in der FF im Vergleich der Follikeldurchmesser-Gruppen*

## 4 Diskussion

### 4.1 Diskussion der Methoden

#### 4.1.1 *Dachprojekt und Patientinnenkollektiv*

Die Pilotstudie fand nach einer punktuellen Rekrutierung der Patientinnen im Rahmen der Routineabläufe des REPKO statt. Die Vorgehensweise sollte einen für die Patientin nur minimal modifizierten Ablauf gewährleisten, insbesondere hinsichtlich Risiken und Unannehmlichkeiten. Aus diesem Grund wich bei der Follikelpunktion ausschließlich die Trennung der FF der einzelnen Follikel vom Routine-Vorgehen ab. Es handelte sich somit um eine Studie unter alltäglichen Bedingungen, deren Patientinnenkollektiv als Stichprobe dem alltäglichen Patientinnenklientel des REPKO entstammte. Das Patientinnenkollektiv war entsprechend heterogen bezüglich Patientinnenmerkmalen wie Alter, Indikation oder Anzahl der Vortherapien sowie Therapiemerkmalen wie verwendeten Stimulationsprotokollen oder Anzahl der transferierten Embryonen.

Vorteile der Studie unter alltäglichen Bedingungen sind die hohe Spannweite des nicht vorselektierten Patientinnenkollektivs, die Verwendung von aus der Routine gewonnenen Proben und resultierend nicht nur auf eine spezielle Subgruppe übertragbare, Alltagssituationen widerspiegelnde Ergebnisse. Ein Nachteil ist, dass die Trennung der FF nur mit eingeschränkter Genauigkeit möglich war (s. Kapitel 4.1.3). Außerdem kann es zu Verzerrungen der Ergebnisse der Gruppenvergleiche durch diverse Einflussgrößen auf die Konzentrationen der FF- und Serum-Inhaltsstoffe gekommen sein. Denn die verglichenen Gruppen können z. T. einen unterschiedlichen Aufbau bezüglich der Anteile an potentiellen Einflussgrößen wie Alter, BMI, Indikationen, Erkrankungen, Therapiemerkmalen etc. aufgewiesen haben. Es könnten Studienergebnisse durch einzelne enthaltene Subgruppen, z. B. Patientinnen mit bestimmten Infertilitätsursachen oder Stimulationsprotokollen, verzerrt worden sein. So könnte ein ggf. im restlichen Patientinnenkollektiv vorhandener signifikanter Zusammenhang oder Gruppenunterschied nicht gefunden worden sein - oder umgekehrt, bzw. ein Zusammenhang oder Gruppenunterschied kleiner - oder größer - festgestellt worden sein. Studien zeigen, dass Erkrankungen wie das

Polyzystische Ovar-Syndrom (PCOS) einen Einfluss auf den SHBG-Spiegel in der FF und im Serum haben können (Deswal et al. 2018; Henríquez et al. 2020; Liu et al. 2020a; Niu et al. 2014; Pan et al. 2021; Pierre et al. 2017; Qu et al. 2010; Thaler et al. 2015). Wie in den Kapiteln 1.6.2.2 und 1.7.2 bereits berichtet, wurden auch Abhängigkeiten von soziodemographischen, klinischen und therapeutischen Faktoren gefunden.

Auch Einflussfaktoren auf die betrachteten Parameter, wie z. B. ein Einfluss der Therapieart (IVF- oder ICSI-Therapie) oder der Anzahl der transferierten Embryonen auf die Therapieergebnisse, könnten zu derartigen Verzerrungen der Studienergebnisse geführt haben. Dadurch könnte auch die Vergleichbarkeit mit anderen reproduktionsmedizinischen Zentren begrenzt sein, da z. B. der Anteil der IVF- bzw. ICSI-Behandlungen von Zentrum zu Zentrum variieren kann.

Insgesamt muss beachtet werden, dass die unter COS-Bedingungen gewonnenen Studienergebnisse nicht direkt auf natürliche, unstimulierte Zyklen übertragen werden können. Denn wie in Kapitel 1.7.2 angesprochen, können unter COS die Konzentrationen von Serum- und FF-Inhaltsstoffen differieren (Da Broi et al. 2018; McRae et al. 2013).

#### **4.1.2 Weiterbehandlung nach der Follikelpunktion**

Eine Limitation der Studie ergibt sich daraus, dass mehrere Eizellen einer Patientin routinemäßig in einem gemeinsamen Kulturgefäß kultiviert wurden. Aus diesem Grund konnten die Eizellen nicht mehr bestimmten Follikeln bzw. FF-Proben zugeordnet werden. Dementsprechend ließen sich erfolgreich befruchtete Eizellen, resultierende Schwangerschaften oder Lebendgeburten nicht zu bestimmten Follikeln zurückverfolgen. Allerdings hätte bei den Transfers von mehr als einem Embryo ohnehin eine resultierende Schwangerschaft oder Lebendgeburt nicht einem bestimmten Follikel zugeordnet werden können, zumindest solange sich nur ein Embryo implantierte (McRae et al. 2013). Die Transfers von mehr als einem Embryo machten mit 20 von 41 Embryotransfers einen relativ hohen Anteil aus. In zukünftigen Studien sollten bei ausreichenden adäquaten Lagerungsmöglichkeiten der Kulturgefäße die Eizellen getrennt in einzelnen Kulturgefäßen kultiviert werden. So bestände u. a.



die Möglichkeit, die SHBG-Konzentration in der FF von Follikeln, aus denen sich korrekt befruchten lassende Eizellen hervorgehen, und von Follikeln, wo dies nicht der Fall ist, zu vergleichen. Um in solchen zukünftigen Studien dann auch Embryonen einer resultierenden Schwangerschaft bzw. Lebendgeburt zuordnen zu können, sollten möglichst Transfers von nur einem Embryo durchgeführt werden. Dafür könnte bei Patientinnen mit prognostisch nicht guten Behandlungszyklen statt des Transfers mehrerer Embryonen eine Kryokonservierung mit wiederholtem Transfer von nur einem Embryo in weiteren Zyklen durchgeführt werden (Deutsches IVF-Register e.V. 2020). Erst durch diese Zuordenbarkeit könnte z. B. untersucht werden, ob die Eignung verschiedener Eizellen derselben Patientin zur Erreichung einer Schwangerschaft anhand der SHBG-Konzentration in der FF der zugehörigen Follikel eingeschätzt werden kann.

Die Reife der IVF- und ICSI-behandelten Eizellen wurde zu unterschiedlichen Zeitpunkten beurteilt. Insbesondere bei den IVF-behandelten Eizellen, deren Reife erst am Folgetag der Follikelpunktion beurteilt wurde, bestand die Möglichkeit, dass zu diesem Zeitpunkt als reif beurteilte Eizellen zum Zeitpunkt der Follikelpunktion und somit FF-Probengewinnung noch unreif gewesen und erst in der Kultur nachgereift waren (Revelli et al. 2009). Das könnte die Studienergebnisse bei den Parametern, wo die Anzahl der reifen Eizellen eine Rolle spielt (Anzahl, Anteil und Rate reifer Eizellen), verzerren.

Wie bereits im Kapitel 4.1.1 angesprochen, könnten außerdem Verzerrungen der Studienergebnisse zu den Therapieergebnissen (Gesamt-Befruchtungsrate, sowie Schwangerschaft und Lebendgeburt) aufgetreten sein. Denn die unterschiedlichen Anteile der IVF- bzw. ICSI-behandelten Eizellen der Patientinnen stellen einen Einflussfaktor auf die Therapieerfolgsraten dar. Bei der Befruchtungsrate wurde daher neben dem Anteil der korrekt befruchteten Eizellen an den behandelten Eizellen zusätzlich der Anteil der korrekt befruchteten Eizellen unter IVF- und unter ICSI-Therapie getrennt voneinander betrachtet. Für die IVF-Therapie ergab sich dabei allerdings nur eine relativ geringe Fallzahl. Viele andere Studien zu FF-Inhaltsstoffen haben Patientinnen ausschließlich mit IVF- oder ausschließlich mit ICSI-Therapie eingeschlossen. Mit dieser Lösung hätte die vorliegende Studie jedoch nicht eine Stichprobe aus

dem gesamten alltäglichen Patientenklientel betrachten können, insbesondere nicht die anteilig mit beiden Verfahren behandelten Patientinnen.

Fälle von totalen Fertilisationsversagen bei IVF-Versuchen, wo aufgrund einer Inkompatibilität mit den Spermien trotz einer normalen Anzahl reifer Eizellen keine einzige Eizelle befruchtet wurde, hätten ebenfalls die Daten bezüglich Befruchtung, Schwangerschaft und Lebendgeburt verzerren können. Im Patientinnenkollektiv traten jedoch keine solchen Fällen auf.

### **4.1.3 FF-Probengewinnung**

#### **4.1.3.1 Follikeldurchmesser**

Die Follikelpunktionen wurden jeweils durch eine/einen von insgesamt zwei Ärztinnen/Ärzten durchgeführt, um technische Unterschiede gering zu halten. Eine Intra- und Inter-Untersuchervariabilität bei der sonographischen Erfassung der Follikeldurchmesser ist dennoch anzunehmen. Zur Bestätigung der Studienergebnisse könnte in zukünftigen Studien das Follikelvolumen durch eine auf einer dreidimensionalen Technologie beruhenden, Ultraschall-basierte, automatische Volumenberechnung erfasst werden (Re et al. 2019; Vandekerckhove et al. 2014). Es besteht Uneinigkeit, ob dies oder der verwendete zweidimensionale Ultraschall die optimale Methode ist (Weichert und Schröder 2020).

#### **4.1.3.2 Trennung der FF**

Das Trennungsverfahren der FF der einzelnen Follikel beruhte auf dem Umstecken des Absaugschlauchsystems auf das jeweils nachfolgende Röhrchen. Dieses Verfahren wurde im Hinblick auf eine möglichst geringe Modifizierung und Verlängerung des Ablaufs im Vergleich zur Routine ausgewählt, auf Kosten einer zu vermutenden Ungenauigkeit bei der Trennung der FF. Die Ungenauigkeit basierte auf der Möglichkeit eines vorzeitigen oder verspäteten Wechsels der Röhrchen. Eine Beimischung von FF eines anderen Follikels könnte dazu geführt haben, dass die gemessenen Substanzkonzentrationen in der FF der einzelnen Follikel sich geringer unterschieden als die tatsächlichen. Es ist anzunehmen, dass eine solche Beimischung von FF bei kleineren Follikeln mit einer entsprechend geringeren Probenmenge verhältnismäßig größer war und sich daher dort stärker auswirkte. Insbesondere relevant ist diese mögliche Fehler-

quelle für die Untersuchungen auf Ebene der einzelnen Follikel, wie u. a. auf einen Zusammenhang mit dem Follikeldurchmesser. Aus diesen Gründen wurde zunächst die Verwendung ausschließlich eines Mittelstrahls jedes einzelnen Follikels erwogen. Dabei hätte sich allerdings nicht nur die Eingriffsdauer erhöht, sondern es wären mindestens doppelt so viele Röhrchen angefallen, was einen zügigen und fehlerfreien Ablauf bei der mikroskopischen Begutachtung der FF auf Eizellen beeinträchtigen hätte können. Ein weiterer Nachteil wäre eine geringere gewonnene Probenmenge gewesen. Insbesondere bei Follikeln geringer Größe wäre die Mindestprobenmenge von 1 ml für die Laborbestimmung multipler Substanzen in mehr Fällen nicht erreicht worden. Ein weiteres, exakteres Trennungsverfahren wäre gewesen, die FF jedes Follikels über eine erneute vaginale Punktion mit nachfolgender Spülung von Punktionsnadel und Absaug Schlauchsystem mit einem bekannten Volumen FM zu gewinnen (Revelli et al. 2009). Die multiplen vaginalen Punktionen wären jedoch mit einem erhöhten Risiko vaginaler Blutungen, größeren Unannehmlichkeiten für die Patientinnen und einer wesentlich längeren Eingriffsdauer einhergegangen (Revelli et al. 2009). Ein solches Vorgehen kam daher nicht in Frage, zumal versucht wurde, die FF aller punktierbaren Follikel der Patientin zu gewinnen, und somit eine entsprechend hohe Anzahl vaginaler Punktionen notwendig gewesen wäre.

#### *4.1.3.3 Eizellzuordenbarkeit*

Des Weiteren ist es denkbar, dass eine falsche Zuordnung von Eizellen zu Follikeln bzw. deren FF-Proben vorkam. Dies könnte zu einem geringeren als dem realen Unterschied zwischen Follikeln mit gewonnener und ohne gewonnene Eizelle geführt haben. Am wahrscheinlichsten erscheint dabei die Möglichkeit, dass eine Eizelle im Absaug Schlauchsystem verblieben und erst mit der FF des nachfolgenden Follikels ins Röhrchen gespült worden ist. Es könnte jedoch zudem erwogen werden, dass Eizellen durch ein vorzeitiges oder verspätetes Wechseln der Röhrchen in ein nachfolgendes oder vorhergehendes Röhrchen gelangt sind. Bei den Follikelpunktionen kamen tatsächlich Röhrchen mit mehr als einer Eizelle vor, auch wenn es sich nicht um Mischpunktate handelte. Neben der genannten möglichen falschen Zuordnung von Eizellen zu Follikeln könnte hierfür prinzipiell eine weitere Erklärung existieren. Die humanen

Ovarialfollikel beinhalten zwar i. d. R. jeweils eine einzelne Eizelle, können jedoch auch mehrere Eizellen enthalten (Monget et al. 2021). Laut einer Studie sind allerdings nur bis zu ca. 2,4 % der Follikel polyovular, davon ca. 97 % zweieiig (Gougeon 1981). Auch wenn sich manche dieser Follikel bis hin zur Ovulation entwickeln zu können scheinen (Ron-El et al. 1990), erscheint diese Erklärung somit weniger relevant. Die Unsicherheit bezüglich der Eizellzuordenbarkeit hätte sich durch oben beschriebenes exakteres Trennungsvorgehen mit einer Spülung nach jedem Follikel deutlich reduzieren lassen (Revelli et al. 2009), wobei dieses jedoch wie bereits erörtert für diese Pilotstudie nicht in Frage kam.

Eine Intention der vorliegenden Studie war, einen Vergleich zu ziehen zwischen der SHBG-Konzentration in Follikeln mit per Punktion gewinnbarer Eizelle und Follikeln ohne solche. Letztere sollten Follikel ohne Eizelle sein, oder mit einer Eizelle, die aufgrund unzureichender Reife noch an der Follikelwand haftet und daher noch nicht per Punktion gewonnen werden kann (s. a. Kapitel 1.5.1.1). Neben diesen beiden Gründen existiert jedoch auch die Möglichkeit, dass es sich in Wahrheit um einen Follikel mit theoretisch per Punktion gewinnbarer Eizelle handelte. Mögliche Erklärungen hierfür wären: das oben beschriebene Eintreten der Eizelle in ein falsches, nicht zur FF des Follikels gehöriges Röhrchen nach der Punktion des Follikels; ein Verbleiben der Eizelle im Follikel trotz ausreichender Reife; oder ein Verlorengelangen der Eizelle in die Bauchhöhle durch eine punktionsbedingte Verletzung der Follikelwand. Diese Möglichkeiten könnten zu dem Ergebnis eines geringeren Unterschieds zwischen Follikeln mit und ohne theoretisch per Punktion gewinnbarer Eizelle geführt haben als eventuell in der Realität vorhanden. Allerdings sind insbesondere die letzten beiden Möglichkeiten nicht als regelhaft anzusehen.

#### **4.1.4 Zentrifugation und Aliquotierung**

Es wurde versucht, präanalytische ex vivo-Veränderungen der Substanzkonzentrationen so gering wie möglich zu halten. Dafür wurden durch die möglichst zeitnahe Zentrifugation in den Blut- und FF-Proben enthaltene zelluläre Bestandteile entfernt (Renz 2018). Die Langzeitlagerung von aus Blut oder Geweben gewonnenen Proben bei -80 °C ist derzeit ein üblicher,

empfohlener Umgang zur Erhaltung von Biomarkern (Becker et al. 2018; Wagner-Golbs et al. 2019), der Proteine über Jahre konservieren kann (Shabihkhani et al. 2014), und schon in vielen anderen Studien für Blut und FF genutzt wurde.

Bei der Follikelpunktion kam es z. T. zu einer Einblutung in die Follikel und somit die gewonnene FF. Wenn FM zum Spülen des Absaug Schlauchsystems verwendet wurde, konnte auch dieses in die FF-Probe gelangen. Bei einer makroskopischen Beimengung von Blut oder rotem FM nach der Zentrifugation wurde die FF-Probe nicht verwendet. Dies geschah mit der Begründung, dass in solchen Fällen ein entsprechend hoher Anteil von FM bzw. Blut an der Proben-Gesamtmenge anzunehmen war und somit von einer Verfälschung der später gemessenen Substanzkonzentrationen auszugehen gewesen wäre. Die visuelle Beurteilung war jedoch subjektiv und ggf. auch beleuchtungslicht-abhängig. Es kann daher nicht ausgeschlossen werden, dass dennoch geringe Mengen von FM oder Blut in Proben gelangten. Das FM enthielt u. a. Humanalbumin-Lösung, rekombinantes Humaninsulin und Gentamicinsulfat (ORIGIO a/s 2017). SHBG war nicht enthalten. Eine FM-Beimengung könnte somit durch eine Verdünnung der FF tendenziell zu einer Erniedrigung der Konzentration geführt haben. Eine Blutbeimengung könnte tendenziell zu einer Verfälschung der Substanzkonzentrationen hin zu den Blutspiegeln geführt haben.

#### **4.1.5 Auswahl der analysierten Proben**

Der FF-Proben-Bestand jeder Patientin war sehr unterschiedlich, was durch vielfältige Einflussfaktoren begründet war. Beispielsweise kam es je nach Ansprechen auf die COS zur Entwicklung einer unterschiedlichen Anzahl an punktierbaren Follikeln (zwischen 4 und 49) mit unterschiedlichen Follikeldurchmessern. Auch z. B. die Anzahl und der Anteil an FF-Proben von Follikeln, aus denen eine Eizelle gewonnen bzw. nicht gewonnen werden konnte, unterschied sich von Patientin zu Patientin. Unterschiedliche anatomische, physiologische und punktionstechnische Gegebenheiten resultierten z. B. in einer verschieden starken Neigung zur Einblutung von Follikeln bei der Punktion und somit einem verschieden großen Anteil mit Blut kontaminierter und daher von der Analyse ausgeschlossener Proben. Aufgrund dieses unterschiedlichen

Proben-Bestands der Patientinnen konnte keine einheitliche Anzahl an analysierten FF-Proben pro Patientin festgelegt werden. Aufgrund dessen wurden auch nach eigenem Ermessen ausgewählte FF-Proben verwendet, um die in Kapitel 2.9 beschriebenen mehreren Bestrebungen nach Möglichkeit miteinander zu vereinbaren. Die Auswahl der analysierten Proben erfolgte bloß anhand der Eigenschaften der Probe bzw. des Follikels, und nicht anhand von Patientinnenmerkmalen (s. a. Kapitel 2.9). Im Rahmen der explorativen Pilotstudie waren ohnehin keine inferenzstatistischen, auf die Grundgesamtheit übertragbaren Analysen erlaubt. Für den explorativen Zweck der Hypothesengewinnung waren die Daten jedoch geeignet (Tachtsoglou und König 2017).

Trotz der Probenauswahl konnten je Patientin nicht genau die gleichen Follikelprofile in Bezug auf Merkmale wie Follikeldurchmesser und enthaltene Eizelle erreicht werden. Daher sind unterschiedliche Follikelprofile in die Berechnung der Mittelwerte und Standardabweichungen der Mittelwerte je Patientin für die statistische Auswertung auf Patientinnenebene eingegangen. Dies könnte zu einer Verzerrung hinsichtlich der Ergebnisse der Korrelationsanalysen und Gruppenvergleiche bei den FF-Substanzkonzentrationen auf Patientinnenebene geführt haben.

#### **4.1.6 Laborbestimmungen**

Der Test war laut Herstellerangaben nur für die Verwendung bei Humanserum- und -plasma-Proben getestet. Es liegen daher keine Angaben der Präzisionen für eine Verwendung bei FF vor. Für eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse der Serum- und FF-Proben wurde der gleiche Test dennoch auch für die FF-Proben verwendet. Die meisten bisherigen Studien haben ebenso sonst für Serum verwendete Bestimmungsmethoden verwendet. Dies erscheint insofern sinnvoll, als dass es sich bei der FF um ein modifiziertes Serumtranssudat handelt, wie in Kapitel 1.6.1.2 beschrieben. Die analysierten Flüssigkeiten dürften daher vergleichbar sein (Wolff et al. 2018). Auch die ECLIA-Methode wurde bereits in anderen Studien für FF verwendet (Anifandis et al. 2010; Arnanz et al. 2020; Cai et al. 2007; Fan et al. 2019; Goldrat et al. 2019; Huang et al. 2015; Schenk et al. 2017; Smitz et al. 2007; Thuesen et al. 2014; Wolff et al. 2014; Wolff et al. 2017; Wu et al. 2017).

Bei Vergleichen mit anderen Studien sollte beachtet werden, wenn andere Messmethoden angewandt wurden. Denn Assay-abhängige Schwankungen der Messergebnisse kommen vor (Veldhuis et al. 2014).

Laut Methodenblatt des Elecsys Immunoassays können in seltenen Einzelfällen Störungen durch extrem hohe Titer von Antikörpern gegen Analyt-spezifische Antikörper, Streptavidin oder Ruthenium auftreten. Für 16 häufig verwendete Pharmaka konnten in vitro keine Störungen festgestellt werden (Roche Diagnostics 2018). Beeinflussungen der Laborbestimmungen durch derartige Interferenzen können jedoch nicht ausgeschlossen werden.

#### *4.1.6.1 Umgang mit Laborwerten außerhalb des Messbereichs*

Bei den Laborwerten außerhalb des Messbereichs war der tatsächliche Wert der Substanzkonzentration nicht bekannt. Der Anteil an Laborwerten außerhalb des Messbereichs war mit ca. 19 % (62/327) betroffenen FF- und ca. 35 % (19/54) betroffenen Serum-Proben relativ hoch. Es handelte sich ausschließlich um Laborwerte oberhalb des Messbereichs. Es ist zwar unbekannt, aber zu vermuten, dass diese zu niedrigeren als den tatsächlichen Mittelwerten, Standardabweichungen der Mittelwerte und Medianen der SHBG-Konzentration führten. Immerhin stimmen Mittelwert und Median nahezu überein. Dies könnte dafür sprechen, dass die Mittelwerte dadurch nicht wesentlich stärker beeinflusst wurden als die Mediane.

Die Begrenzung der Werte auf den Messbereich und ein addiertes bzw. subtrahiertes Hundertstel der Größenordnung der Messgrenze könnte auch z. B. bei Gruppenvergleichen zu geringeren als den tatsächlichen Gruppenunterschieden geführt haben.

In folgenden Studien unter COS mit Verwendung der gleichen Laborbestimmungsmethode ist zu empfehlen, eine entsprechende Verdünnung der FF und des Serums vor der Bestimmung der SHBG-Konzentration durchzuführen.

#### **4.1.7 Definition von Parametern und Gruppeneinteilungen**

##### **4.1.7.1 Nichtanwendung des Freien Androgenindex**

Es mag zunächst naheliegend erscheinen, die Möglichkeit der im Rahmen der Pilotstudie gewonnenen Daten über SHBG und Gesamt-Testosteron in der FF zu nutzen, und auch den FAI in der FF zu betrachten. In der vorliegenden Arbeit wurde sich jedoch gegen die Verwendung des FAI für die FF entschieden.

Bereits bei Serum ist seine Verlässlichkeit nicht unumstritten, doch aufgrund der Aufwändigkeit und Kosten der Referenzmethoden wird er in der klinischen Routine verwendet (Sartorius et al. 2009; Vermeulen et al. 1999). Es handelt sich um ein einfaches Modell, das andere Testosteron-Binder wie Albumin und kompetitierende Steroide nicht berücksichtigt (Kapoor et al. 1993). Im Serum sind keine anderen relevanten Testosteron-Binder bekannt, und da Testosteron nur locker an Albumin gebunden ist, stellt auch Albumin-gebundenes Testosteron bioverfügbares Testosteron dar (Rivera-Woll et al. 2004). In FF hingegen müssten wahrscheinlich weitere Testosteron-Binder berücksichtigt werden. Z. B. wurde Perlecan als wahrscheinlicher Kandidat für ein Steroid-bindendes Protein in FF vorgeschlagen (Bentov et al. 2016).

Darüber hinaus ist der FAI nur valide, wenn die Bindungskapazität von SHBG die Testosteronkonzentration deutlich übertrifft (Kapoor et al. 1993) – oder in anderen Worten, wenn das Molverhältnis von Gesamt-Testosteron zu SHBG sehr klein ist (Sartorius et al. 2009). Dies ist eine Voraussetzung für die Herleitung des FAI vom Massenwirkungsgesetz (Kapoor et al. 1993). Aus diesem Grund wurde bereits angemahnt, den FAI nicht für das Serum erwachsener Männer zu verwenden (Kapoor et al. 1993; Ly und Handelsman 2005; Sartorius et al. 2009). Auch bei Serum von Frauen mit extrem niedrigen SHBG-Konzentrationen ist der FAI nicht verlässlich (Keevil und Adaway 2019). Die SHBG-Konzentration in FF war in stimulierten wie natürlichen weiblichen Zyklen meistens ähnlich oder niedriger jener im Serum (Ben-Rafael et al. 1986; Martin et al. 1981; Phocas et al. 1995; Yding Andersen 1990), während die Testosteronkonzentration in FF erheblich höher war als im Serum (Lin et al. 2002; Wolff et al. 2017). Dies dürfte problematisch bezüglich der oben genannten Voraussetzung zur Verwendbarkeit des FAI sein (Kapoor et al. 1993).



Außerdem sind insbesondere in der FF von präovulatorischen Follikeln die Estradiolkonzentrationen im Vergleich zu den normalen Serumspiegeln wesentlich erhöht (Hillier et al. 1981; Lin und Sun 2005; Schulte und Jacobeit 2013c; Wolff et al. 2017; Yding Andersen 1993). Die hohen Estradiolkonzentrationen könnten ein Störfaktor in der FF sein, und vielleicht auch im Serum während der COS (Hillier et al. 1981; Lin und Sun 2005; Wolff et al. 2017; Yding Andersen 1993). Ähnlich der Situation während einer Schwangerschaft könnte Estradiol mit Testosteron um die SHBG-Bindung kompetitieren und zu einer Überschätzung der tatsächlichen Bindungskapazität und somit zu einer Unterschätzung der freien Testosteronkonzentration führen (Schuijt et al. 2019; Vermeulen et al. 1999). Es bleibt abzuwarten, ob neuere Erkenntnisse bezüglich der differentiellen Bindung von Testosteron und Estradiol an SHBG und der Vorschlag eines mehrschrittigen dynamischen Modells der allosterischen Regulation der Testosteronbindung an SHBG zumindest diesen Estradioleffekt infrage stellen können (Goldman et al. 2017; Schuijt et al. 2019).

Insgesamt ist es dennoch höchst fraglich, ob die FF-FAI-Werte wie ursprünglich beabsichtigt die Konzentration des freien Testosterons widerspiegeln. Es scheint bisher keine Studien zu geben, die die Korrelation zwischen dem FAI und der Konzentration des freien Testosterons in der FF evaluiert haben. Diese Gründe sind vermutlich mitverantwortlich dafür, dass bisher nur wenige Studien existieren, die den FAI für FF verwendet haben (Li et al. 2000; Lin und Sun 2005; Qu et al. 2010; Robker et al. 2009; Smitz et al. 2007). In der vorliegenden Arbeit wurde sich aus diesen Gründen gegen die Verwendung des FAI für die FF entschieden.

#### *4.1.7.2 Untersuchung von Zusammenhängen und Gruppenunterschieden der Streuung der SHBG-Konzentrationen in den Follikeln*

Für eine ideale Untersuchung von Zusammenhängen und Gruppenunterschieden der Streuung der SHBG-Konzentrationen in den Follikeln hätten zum einen alle Follikel je Patientin in die Berechnung eingehen müssen. Wegen Ausschlusskriterien wie z. B. Blutkontaminationen der Proben wurden jedoch nicht alle Proben je Patientin untersucht. Zum anderen hätte dazu ein noch exakteres Trennungsverfahren mit multiplen vaginalen Punktionen und nachfolgender Spülung des Punktionssystems angewandt werden müssen (Revelli

et al. 2009). Deshalb können die Studienergebnisse nur als Hinweise angesehen werden, es ist jedoch kein sicherer Ausschluss dieser Zusammenhänge und Gruppenunterschiede möglich.

#### *4.1.7.3 Verschiedene IVF- und ICSI-Parameter*

Die Diskussion verwendeter verschiedener IVF- und ICSI-Parameter wurde bereits in Kapitel 4.1.2 abgehandelt.

#### *4.1.7.4 Body-Mass-Index*

Beim BMI handelt es sich um einen etablierten Surrogatparameter für Übergewicht, der zur Klassifikation von Übergewicht und Adipositas gemäß der Weltgesundheitsorganisation (WHO) verwendet wird (World Health Organization 2021). Es ist allerdings zu beachten, dass der BMI nicht mit einer Messung des Körperfettanteils gleichzusetzen ist. Insbesondere können Personen mit vermehrter Muskelmasse fälschlicherweise als übergewichtig eingeschätzt werden. Auch eine gesundheitlich relevante unterschiedliche Fettverteilung wird nicht vom BMI berücksichtigt (Ulmer 2005). Dies ist jedoch v. a. für die Betrachtung individueller Einzelfälle bedeutsam. Im Allgemeinen kann die Heranziehung der Klassifikation über den BMI für populationsstatistische Studien akzeptiert werden (Ulmer 2005). Im Rahmen der Pilotstudie erscheint sie zur orientierenden Abschätzung eines Zusammenhangs mit Übergewicht ausreichend, auch wenn es zu Fehleinschätzungen bei Patientinnen gekommen sein kann.

### **4.1.8 Statistische Methoden**

Es ist die in Kapitel 2.12 getätigte Aussage zu betonen, dass es sich um eine orientierende statistische Auswertung im Rahmen der explorativen Pilotstudie handelte. Diese ist nicht auf die Grundgesamtheit übertragbar. Es erfolgte keine Adjustierung für multiples Testen zur Neutralisierung einer Alphafehler-Kumulierung. Daher sind zur Bestätigung der als signifikant bezeichneten Ergebnisse Studien nötig, wo die entsprechenden Parameter als einzelnes primäres Zielkriterium untersucht werden oder bei mehreren Zielkriterien eine Alpha-Adjustierung stattfindet – und somit Aussagen der schließenden Statistik getroffen werden dürfen. Diese Studien sollten dann auch durch entsprechende

Adjustierung potentielle Confounder berücksichtigen, wie z. B. Stimulationsprotokolltyp, Alter und BMI (Ola und Sun 2012).

Außerdem sollte betont werden, dass nur Assoziationen gefunden werden können, aber keine Aussagen bezüglich der Kausalität getroffen werden können.

## **4.2 Diskussion der Ergebnisse**

### **4.2.1 SHBG-Konzentration in FF und Serum**

#### *4.2.1.1 Höhe der SHBG-Konzentration in der FF*

Die Durchschnitts- und Median-SHBG-Konzentration in den FF-Proben je Patientin betrug 125 nmol/l. Aufgrund der vergleichsweise hohen SHBG-Konzentrationen in der vorliegenden Studie kam es zu einem relativ hohen Anteil an Laborwerten oberhalb des Messbereichs. Vermutlich war die tatsächliche Durchschnitts- und Median-SHBG-Konzentration sogar noch etwas höher.

Es war am ehesten zu erwarten, dass die Werte höher als in der FF von natürlichen Zyklen ohne COS sein würden. Phocas et al. (1995) berichteten von einem derartigen, signifikanten Unterschied. Außerdem existieren Berichte über signifikant höhere SHBG-Spiegel in der FF von Patientinnen mit einer normalen bzw. starken ovariellen Reaktion auf die COS im Vergleich zu Low Respondern (Ben-Rafael et al. 1986; Kamberi et al. 1988), auch wenn dieser Unterschied in einer anderen Studie keine Signifikanz erreichte (Fuentes et al. 2019).

Allerdings ist es auffällig, dass die SHBG-Konzentrationen in der FF in der vorliegenden Studie höher als in nahezu allen gefundenen bisherigen Studien waren. Nur in der Gruppe der High Responder in der Studie von Ben-Rafael et al. (1986) waren diese mit im Mittel 142 nmol/l höher. Dies lag höchstwahrscheinlich daran, dass in der vorliegenden Studie nicht ausschließlich High Responder eingeschlossen wurden. Aber in zwei weiteren Studien, wo die Subgruppe der Patientinnen mit normaler bzw. starker ovarieller Reaktion betrachtet wurde, war die mittlere SHBG-Konzentration mit 112 und 91,1 nmol/l sogar in dieser Gruppe etwas niedriger als im Patientinnenkollektiv der vorliegenden Studie (Fuentes et al. 2019; Kamberi et al. 1988).

Eine mögliche Erklärung für die vergleichsweise hohen SHBG-Konzentrationen in der vorliegenden Studie könnte die Laborbestimmungsmethode sein. Denn die bisherigen Studien verwendeten andere Methoden. Es wurden Radioimmunoassays (RIA) (Fuentes et al. 2019; Kamberi et al. 1988; Lin und Sun 2005), immunradiometrische Assays (IRMA) (Ben-Rafael et al. 1986; Ben-Rafael et al. 1987a; Gustafson et al. 1996), Enzyme-linked Immunosorbent Assays (ELISA) (Hatzi et al. 2011; Pan et al. 2021; Yding Andersen 1990) und durch Dissoziation verstärkte Lanthanid-Fluoreszenz-Immunoassays (DELFLIA) (Li et al. 2000; Phocas et al. 1995) angewandt. Zumindest im Vergleich zur RIA-Methode wurde bereits von der Messung höherer SHBG-Konzentrationswerte mit einem neueren automatisierten SHBG-Assay berichtet (Penrose et al. 2013). Die Autoren führten dies auf die höhere Sensitivität des neueren automatisierten Assays zurück (Penrose et al. 2013), was als Erklärung auch hier plausibel erscheint. Hanrieder et al. (2008) schreiben zwar, dass sie ebenfalls einen ECLIA verwendeten. Es wurde allerdings kein Laboranalysegerät von Roche, sondern ein IMMULITE Analyzer von Siemens Medical Solutions Diagnostics verwendet. Damit wurde stattdessen vermutlich ein Chemilumineszenz-Assay durchgeführt (Siemens Healthcare 2007). Abgesehen davon wurde geschätzt, dass der Elecsys Immunoassay der Firma Roche zur Messung von bis zu 40 % höheren SHBG-Konzentrationen als der automatisierte SHBG-Immunoassay mit dem IMMULITE 2000 Analyzer führen kann (Jin et al. 2006). Dabei konnte für das mit dem IMMULITE 2000 Analyzer verwendete Produkt keine Information über die Reinheit des SHBG-Proteins, an dem es kalibriert wurde, herausgefunden werden (Jin et al. 2006). Der in vorliegender Studie verwendete Assay von Roche hingegen wurde am 1. International Standard für SHBG des National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC) Code 95/560 standardisiert (Roche Diagnostics 2018). Dies spricht für den verwendeten Assay.

Allerdings stimmt die Höhe der SHBG-Konzentrationen auch nicht bei allen anderen Studien untereinander überein. Nur etwas niedriger als in der vorliegenden Studie war die Durchschnitts- bzw. Median-SHBG-Konzentration bei Li et al. (2000) mit ca. 111 bzw. 105 nmol/l. Bei vier Studien lag sie bei ca. 80-100 nmol/l (Ben-Rafael et al. 1987a; Hanrieder et al. 2008; Hatzi et al. 2011; Phocas et al. 1995). SHBG-Konzentrationen im Bereich von ca. 50-60 nmol/l

wurden bei drei Studien gefunden (Gustafson et al. 1996; Lin und Sun 2005; Pan et al. 2021). Besonders niedrig war die mittlere SHBG-Konzentration in der Studie von Yding Andersen (1990) mit ca. 50 nmol/l.

Dies könnte sich u. a. dadurch erklären lassen, dass die bisherigen Studien großteils unter unterschiedlichen Bedingungen wie verschiedenen verwendeten Stimulationsprotokollen, einbezogenen Infertilitätsursachen oder zur Analyse ausgewählten Follikelprofilen durchgeführt wurden. Es wurden zwar keine Studien gefunden, die die Signifikanz von Unterschieden durch verschiedene Stimulationsprotokolle untersuchen. Angesichts der Abhängigkeit der SHBG-Konzentration von der COS an sich erscheinen solche Unterschiede jedoch nicht unrealistisch. Zu Unterschieden je nach Therapieindikation liegen nur wenige Studien vor, Abhängigkeiten vom BMI und dem PCOS wurden jedoch berichtet (Pan et al. 2021; Qu et al. 2010; Robker et al. 2009). Auch zur Abhängigkeit der SHBG-Konzentration von Follikelmerkmalen existieren nur wenige Studien, doch es wurden bereits höhere SHBG-Konzentrationen in kleineren Follikeln festgestellt (Hatzi et al. 2011). Dies könnte im Übrigen auch eine weitere mögliche, anteilige Erklärung für die höhere SHBG-Konzentration in der vorliegenden Studie sein. Denn im Vergleich zu den meisten der anderen Studien wurden durchschnittlich kleinere Follikel untersucht.

Aber auch unter ähnlichen Bedingungen kamen differierende Konzentrationshöhen in den bisherigen Studien vor. Anteil an diesen Schwankungen unter den Studien könnten daher auch die z. T. relativ geringen Fallzahlen an betrachteten Patientinnen und Follikeln, die die Grundgesamtheit bzw. deren mittlere Werte nicht exakt repräsentieren können, haben. Letztlich bleiben die diesen Schwankungen und den vergleichsweise hohen SHBG-Konzentrationen in der vorliegenden Studie tatsächlich zugrundeliegenden Gründe jedoch weitgehend unbekannt.

#### *4.2.1.2 Höhe der SHBG-Konzentration im Serum*

Für die Plausibilität der FF-Werte der vorliegenden Studie relevant ist die Plausibilität der Serumwerte, da diese mit derselben Messmethode bestimmt wurden. Mit 164 nmol/l lag der Median der Serumwerte deutlich oberhalb des im Methodenblatt des verwendeten Immunoassays angegebenen Referenz-

bereichs von 32,4-128 nmol/l für 20-49-jährige Frauen bzw. war ca. 2,4-fach höher als der dort angegebene Median von 67,8 nmol/l. Diese Referenzwerte bezogen sich allerdings auf gesunde, nicht schwangere Frauen ohne Einnahme relevanter verschreibungspflichtiger Medikamente (Roche Diagnostics 2018). Sie sind somit nicht auf das Patientinnenkollektiv der Studie übertragbar. Die meisten Studien zeigen, dass die SHBG-Serumspiegel während der COS im Vergleich zu unstimulierten Zyklen ansteigen (Ben-Rafael et al. 1987b; Dowsett et al. 1985; Fridström et al. 1999; Hatzi et al. 2011; Lin und Sun 2005; Odland et al. 1982; Phocas et al. 1995; Thuesen et al. 2013; Yding Andersen 1990; Yding Andersen et al. 1992b). Es gibt zwar auch widersprechende Berichte unter einer COS mit Antagonisten-Stimulationsprotokollen sowie gemischten Stimulationsprotokollen (Penrose et al. 2013; Zhai et al. 2021). Doch ein Spiegelanstieg erscheint insofern schlüssig, als dass bei der COS eine Parallele zur Situation während der Schwangerschaft gezogen werden kann. Dort ist es vermutlich der enorme Anstieg der Estradiolserumspiegel, der einen ausgeprägten Anstieg der SHBG-Produktion und -Serumspiegel stimuliert (Kamberi et al. 1988; Lin und Sun 2005; Odland et al. 1982; Pearlman et al. 1967; Phocas et al. 1995). Somit erscheint die Richtung dieser Abweichung der Werte plausibel. Allerdings wurde von Yding Andersen (1990) eine deutlich geringere Erhöhung um den Faktor 1,12 gegenüber der laut Labortestanleitung erwarteten mittleren Serumkonzentration ohne COS berichtet. Anhand der Daten von Fridström et al. (1999) lässt sich die Erhöhung auf ca. 1,5-fach beziffern, bei Lin und Sun (2005) auf ca. 1,7-fach, und bei Phocas et al. (1995) sogar auf ca. 2,7-fach. Somit liegt die Erhöhung gegenüber dem Referenzbereich ohne COS in der vorliegenden Studie im deutlich oberen des bisher berichteten Bereichs.

Vergleicht man die Serumwerte am Tag der Follikelpunktion, so hatte eine Studie mit 179 nmol/l einen etwas höheren Median der SHBG-Konzentration als die vorliegende Studie (Phocas et al. 1995). Eine weitere Studie in der Subgruppe der Patientinnen mit normalem Ansprechen auf die COS hatte mit 161 nmol/l einen etwa gleich großen Median (Fuentes et al. 2019). Mit 136 nmol/l hatte eine weitere Studie einen etwas geringeren Median (Hatzi et al. 2011). Bei einer Studie, obwohl diese die Gruppe der normalen und High Responder betrachtete, lagen die mittleren Werte jedoch niedriger, um 100 nmol/l (Kamberi et al. 1988). Zwei weitere Studien berichteten mittlere Werte

von knapp 90 nmol/l (Lin und Sun 2005; Tapanainen et al. 1992), und wiederum zwei weitere von nur etwa 60-70 nmol/l (Fridström et al. 1999; Yding Andersen 1990). Die Werte sind auch beim Serum aufgrund der unterschiedlichen Studienbedingungen wie Stimulationsprotokollen und eingeschlossenen Therapieindikationen, und der anzunehmenden Abhängigkeit der Referenzbereiche von der jeweiligen Laborbestimmungsmethode nicht direkt miteinander vergleichbar. Dies ist auch daran zu erkennen, dass die mittleren Werte der letzten beiden Studien in etwa gleich groß sind wie der Median, der im Methodenblatt des in der vorliegenden Studie verwendeten Immunoassays für Frauen ohne COS angegeben ist.

Insgesamt liegen also auch die SHBG-Serum-Konzentrationen in der vorliegenden Studie vergleichsweise hoch, aber noch in einem plausibel erscheinenden Rahmen. Die hohen SHBG-FF-Konzentrationen erscheinen damit stimmig, denn sehr wahrscheinlich sind sie von den Serum-Konzentrationen abhängig. So zeigten die vorliegende Studie wie auch die meisten bisherigen Studien eine signifikant positive Korrelation zwischen SHBG-Serum- und -FF-Spiegel (Ben-Rafael et al. 1986; Kamberi et al. 1988; Lin und Sun 2005; Yding Andersen 1990).

#### *4.2.1.3 SHBG-Konzentration im Vergleich zwischen Follikelflüssigkeit und Serum*

Die SHBG-Konzentrationen waren im Serum höher als in der FF. Der Unterschied war hochsignifikant, und anhand der hohen Effektstärke als groß einzustufen. Die SHBG-Konzentration in der FF, ausgedrückt als prozentualer Anteil der SHBG-Konzentration im Serum bei derselben Patientin, betrug im Median 78 %.

Die Studienergebnisse stimmen mit bisherigen überein. Die meiste vorhandene Literatur gibt an, dass die Konzentration von SHBG in der FF geringer als jene – bis ähnlich jener – im Serum ist (Ben-Rafael et al. 1986; Martin et al. 1981; Phocas et al. 1995; Yding Andersen 1990). Phocas et al. (1995) konnten dafür ebenso einen hochsignifikanten Unterschied zeigen, und zwar sowohl in Zyklen unter COS als auch natürlichen Zyklen. Von einer Studie wurden allerdings höhere mittlere Spiegel in der FF als im Serum berichtet, auch wenn sich dies

ausschließlich auf die Subgruppe der normalen und High Responder bezog (Kamberi et al. 1988). Eine weitere Studie berichtete dies zwar ebenfalls, doch in diesem Fall waren die Serumproben nicht etwa simultan, sondern 36 Stunden vor der FF gewonnen worden (Ben-Rafael et al. 1986). Diese Daten sind daher nicht mit der vorliegenden Studie vergleichbar. Dieses widersprüchliche Ergebnis von Kamberi et al. (1988) bleibt daher ein Einzelfall.

Die SHBG-Spiegel in der FF, ausgedrückt als Prozentsatz der Spiegel in simultan gewonnenem Serum bei derselben Frau, wurden von zwei früheren Studien sehr ähnlich festgestellt. Hier betragen sie im Mittel 80 bzw. 84 % (Ben-Rafael et al. 1986; Yding Andersen 1990). Dabei lagen die FF-Konzentrationen bei Ben-Rafael et al. (1986) immer unterhalb der Serumkonzentrationen (Range 64-100 %). Bei Yding Andersen (1990) lagen sie z. T. etwas darüber (Range 59-117 %), und auch eine weitere Studie berichtete vom Vorkommen höherer FF-Konzentrationen als im Serum in einem Teil der Follikel (Campo et al. 1989). Zwar ist die Spannweite der vorliegenden Studie deutlich größer (Range 37-278 %), doch dies lässt sich auf die Werte eines geringen Anteils der Patientinnen bzw. Follikel zurückführen. So hatten nur 2 der 54 Patientinnen, bzw. nur knapp 5 % aller Follikel, einen höheren FF- im Vergleich zum Serumwert.

Für andere Studien wurde diese Angabe nicht berichtet, sodass hier nur der Prozentsatz der Durchschnitts- bzw. Median-FF-Konzentration an der Durchschnitts- bzw. Median-Serumkonzentration zum Vergleich herangezogen werden kann. Dieser betrug in der vorliegenden Studie 76 %. Bei 3 Studien befand er sich ebenfalls im Bereich von etwa 70-80 % (Campo et al. 1989; Lin und Sun 2005; Yding Andersen 1990). Für zwei andere Studien fiel er mit Werten um 50-60 % etwas geringer aus (Fuentes et al. 2019; Phocas et al. 1995), wobei sich diese Angabe für die Studie von Fuentes et al. (2019) sowohl auf die Subgruppe mit normalem Ansprechen auf die COS, als auch auf Subgruppen der Low Responder bezieht. Wie oben erwähnt, ergaben die Daten von Kamberi et al. (1988) als einzige höhere Prozentsätze mit 86 % bei den Low Respondern, und 111 % bei den normalen und High Respondern.

Wie für die Höhe der SHBG-Konzentrationen an sich, dürften auch für die FF-Serum-Verhältnisse der SHBG-Konzentration unterschiedliche Bedingungen wie verschiedene verwendete Stimulationsprotokollen, einbezogene Infertilitäts-



ursachen oder zur Analyse ausgewählte Follikelprofile für die unterschiedlichen Studienergebnisse relevant gewesen sein.

Die niedrigere SHBG-Konzentration innerhalb des Follikels als im Serum lässt darauf schließen, dass SHBG anteilig außerhalb des Follikels gehalten wird. Trotz seiner relativ geringen Molekülmasse kann SHBG anscheinend doch nicht vollständig frei in die präovulatorischen Follikel diffundieren, wie ursprünglich von Ben-Rafael et al. (1986) postuliert. Mögliche Mechanismen einer Blut-Follikel-Schranke aus Kapillarendothel und Basalmembran des Follikel­epithels könnten hierfür ursächlich sein (Zhou et al. 2007). Dabei könnte es sich um eine Abhängigkeit der Passage von Ladung und Dichte (Hess et al. 1998), selektive Transportprozesse (Siu und Cheng 2012) und eventuell eine Sequestration oder Degradierung innerhalb des Follikels (Bächler et al. 2014; Göbel und Meuth 2018) handeln. Außerdem lässt sich sagen, dass die bekannte Synthese von SHBG innerhalb des Follikels (Forges et al. 2004; Misao et al. 1995; Misao et al. 1997) i. d. R. in einem Ausmaß stattfindet, das diesen Konzentrationsunterschied zwischen FF und Serum nicht kompensiert. Dies schließt aber nicht die Möglichkeit eines Einflusses von lokal synthetisiertem, membran­gebundenem SHBG auf Zellfunktionen des Follikels aus (Forges et al. 2004; Fortunati 1999). Zudem wurde ein – wenn auch geringer – Anteil an Follikeln gefunden, wo SHBG konzentrierter vorlag als im Serum. Eine intrafollikuläre Konzentrierung von SHBG scheint daher möglich zu sein. Vielleicht existieren tatsächlich Mechanismen zur Regulation der intrafollikulären SHBG-Konzentration. Allerdings ließen sich keine diese Follikel verbindenden Merkmale feststellen, d. h. sie hatten unterschiedlich große Durchmesser und nur manche enthielten Eizellen. Somit sollte nicht voreilig ein physiologischer Sinn in diese Beobachtung hineininterpretiert werden. Ggf. haben bei diesen Follikeln die Regulationsmechanismen zur Passagehemmung von SHBG ins Follikelinnere versagt.

Die gefundenen Studienergebnisse bestätigen die These anderer Autoren, dass SHBG in der FF nicht ausreichend hoch konzentriert ist, um für die Aufrechterhaltung des Steroidgradienten zwischen FF und Blutstrom wesentlich verantwortlich zu sein (Martin et al. 1981; Phocas et al. 1995; Yding Andersen 1990, 1991). Es ist zu vermuten, dass andere, relevantere Steroidbinder innerhalb des

Follikels vorhanden sein müssen. Ein wahrscheinlicher Kandidat für ein Steroid-bindendes Protein in der FF könnte Perlecan sein (Bentov et al. 2016).

Aufgrund des gefundenen signifikanten Unterschieds erscheint die getrennte Betrachtung der SHBG-Konzentrationen in FF und Serum für die Fragestellungen der vorliegenden Arbeit lohnenswert.

#### *4.2.1.4 Zusammenhang zwischen SHBG-Konzentration in Follikelflüssigkeit und Serum*

Es wurde eine statistisch signifikante, starke, positive Korrelation zwischen der SHBG-Konzentration in der FF und im Serum gefunden.

Die meisten Studien, die unter COS durchgeführt wurden, zeigten hierfür ebenfalls eine signifikante positive Korrelation (Ben-Rafael et al. 1986; Hatzi et al. 2011; Kamberi et al. 1988; Yding Andersen 1990). In zwei Studien war die Korrelation ebenfalls stark (Low Responder Pearsons  $r = 0.611$ ,  $p < 0.05$ , High Responder Pearsons  $r = 0.824$ ,  $p < 0.01$ ; Pearsons  $r = 0,85$ ,  $p < 0,001$ ) (Ben-Rafael et al. 1986; Yding Andersen 1990), in einer Studie moderat (Pearsons  $r = 0,411$ ,  $p < 0,001$ ) (Hatzi et al. 2011).

Wie für diese bisherigen Studien lässt sich auch für die vorliegende Studie diese Korrelation so erklären, dass ein Großteil des SHBG in der FF aus dem Blutkreislauf stammt (Ben-Rafael et al. 1986; Kamberi et al. 1988). Während vorherige Autoren eine intrafollikuläre Synthese von SHBG noch für höchst unwahrscheinlich hielten (Phocas et al. 1995), zeigten jedoch spätere Forschungsergebnisse, dass SHBG zusätzlich durch die follikulären Granulosazellen zum Zeitpunkt der Follikelpunktion produziert und höchstwahrscheinlich auch sezerniert wird (Forges et al. 2004; Forges et al. 2005; Misao et al. 1997). Aufgrund des hohen Einflusses des aus dem Blutstrom stammenden SHBG scheint diese intrafollikuläre Synthese jedoch einen vergleichsweise geringen Einfluss auf die FF-Konzentration zu haben. Eine Relevanz innerhalb des Follikelepithels lokal synthetisierten SHBGs für para- und autokrine Wirkungen ist anhand des Studienergebnisses jedoch nicht beurteil- oder gar ausschließbar.

Eine Ausnahme war die Studie von Phocas et al. (1995), da hier trotz einer im Vergleich mit den anderen Studien hohen Fallzahl von 42 Patientinnen keine signifikante Korrelation zwischen der SHBG-Konzentration in der FF und im Serum in Zyklen unter COS gefunden wurde. Die Autoren selbst führten als mögliche Begründung an, dass sie im Gegensatz zu vorherigen Studien ein Stimulationsprotokoll mit einem GnRH-Agonisten verwendet hätten. Dieser könnte die SHBG-Verteilung verändert haben. Mittlerweile wurde zwar auch in der widersprechenden Studie von Hatzi et al. (2011) ein GnRH-Agonist verwendet, dennoch kann diese Begründung damit nicht ausgeschlossen werden. Denn bei Hatzi et al. (2011) wurde dieser ab der mittleren Lutealphase des Vorzyklus im Sinne eines long-Protokolls gegeben, während die Gabe bei Phocas et al. (1995) erst ab dem zweiten Zyklustag erfolgte. In der vorliegenden Studie wurde beim Großteil der Patientinnen ein GnRH-Antagonisten-Protokoll angewandt. Bei den Patientinnen mit GnRH-Agonisten-Protokoll handelte es sich um ein long-Protokoll.

Darüber hinaus wurde in dieser Studie von Phocas et al. (1995) auch keine signifikante Korrelation zwischen der SHBG-FF- und -Serumkonzentration in unstimulierten Zyklen gefunden. Für unstimulierte Zyklen handelt es sich um die einzige gefundene Studie. Entweder könnte es sein, dass wie für die Zyklen unter COS diese spezielle Studie eine Ausnahme darstellt und in anderen Studien eine Korrelation gefunden würde. Oder es könnte bedeuten, dass in unstimulierten Zyklen tatsächlich keine signifikante Korrelation zwischen FF- und Serumspiegeln vorhanden ist. Die Nichtangabe des p-Werts macht eine Einschätzung schwierig. Auch ein Korrelationskoeffizient ist nicht angegeben. Für eine Abhängigkeit der Korrelation von der COS könnte sprechen, dass die Korrelationsstärke für Low Responder im Vergleich zu Patientinnen mit starkem Ansprechen auf die COS etwas geringer war (Ben-Rafael et al. 1986). Zu betonen ist, dass daher das Ergebnis der vorliegenden Studie nur auf stimulierte Zyklen bezogen werden sollte.

#### **4.2.2 Vergleich zwischen Follikeln ohne gewonnene und mit gewonnener Eizelle**

Es bestand kein wesentlicher Unterschied der SHBG-Konzentration zwischen Follikeln, aus denen eine Eizelle gewonnen werden konnte, und solchen, wo dies nicht der Fall war. Es besteht daher kein Hinweis darauf, dass die SHBG-Konzentration in der FF aufschlussgebend über den Eizellgewinn ist.

Ursprünglich erschien das Bestehen eines solchen Unterschieds nicht abwegig. Bereits einige Studien zeigten eine Abnahme der Wahrscheinlichkeit des Eizellgewinns bei geringerer Follikelgröße (Rosen et al. 2009). Und eine Studie beobachtete unterschiedliche SHBG-Konzentrationen in kleinen gegenüber großen Follikeln (Hatzi et al. 2011).

Ein wahrscheinlicher Grund für die Nichtgewinnung einer Eizelle aus einem Follikel ist eine noch nicht erfolgte Ablösung des Cumulus-Eizell-Komplexes von der Follikelwand (Meniru und Craft 1997; Rosen et al. 2009). Daher könnte man das Studienergebnis so interpretieren, dass kein Hinweis darauf gefunden wurde, dass SHBG eine relevante Rolle bei der Ablösung des Cumulus-Eizell-Komplexes von der Follikelwand spielt. Eine solche Rolle kann jedoch auch nicht ausgeschlossen werden, da eventuell im Follikelepithel ablaufende para- und autokrine Effekte sich nicht zwingend in der FF-Konzentration widerspiegeln müssen. Ein umstrittener alternativer Grund für die Nichtgewinnung einer Eizelle ist ein eizelloser Follikel (Mossman und Duke 1973). Solche Follikel könnten durch ein frühes atretisches Zugrundegehen der Eizelle entstehen. Diese Ursache wurde zumindest für ein Auftreten von ausschließlich eizellleeren Follikeln bei Therapiezyklen vorgeschlagen (Stevenson und Lashen 2008). Falls solche Follikel aufgetreten sind, hat dies nicht zu einer unterschiedlichen SHBG-Konzentration in Follikeln ohne gewonnene und mit gewonnener Eizelle geführt. Vor diesem Hintergrund gesehen konnte kein Hinweis darauf gefunden werden, dass die Eizelle selbst oder die mit ihr direkt interagierenden Cumuluszellen eine für den FF-Spiegel relevante Menge SHBG produzieren, oder alternativ die Eizellosigkeit eines Follikels zu veränderten Eigenschaften einer Blut-Follikel-Schranke führt. Ggf. befanden sich unter den Follikeln ohne gewonnene Eizelle jedoch schlichtweg keine oder zu wenige eizellose Follikel für ein Zustandekommen eines Konzentrationsunterschieds. Denn bisherige Beobachtungen

einer Assoziation von Follikeln mit enthaltener atretischer Eizelle und niedrigen SHBG-Spiegeln hatten dies nicht unwahrscheinlich erscheinen lassen (Ben-Rafael et al. 1986; Kamberi et al. 1988). Eventuell hat die Eizellatresie, falls sie tatsächlich die Erklärung der Entstehung eizelloser Follikel sein sollte, zeitlich so entfernt stattgefunden, dass sich die SHBG-Konzentration in der FF bereits wieder normalisiert hat. Oder vielleicht befanden sich unter den Follikeln mit gewonnener Eizelle ebenso viele Follikel mit atretischer Eizelle, wo die SHBG-Konzentration in ähnlicher Weise verändert vorlag. Leider liegen keine vergleichbaren Studien hinsichtlich der Gegenüberstellung von Follikeln ohne und mit Eizellgewinn vor.

Die Streuung der SHBG-Konzentration in den Follikeln je Patientin unterschied sich nicht statistisch signifikant zwischen Follikeln ohne gewonnene und mit gewonnener Eizelle. Ursprünglich hätte man überlegen können, ob vielleicht in den Follikeln, damit eine Eizelle daraus gewonnen werden kann, eine bestimmte konstante SHBG-FF-Konzentration benötigt wird. In diesem Fall hätten die Follikel ohne gewonnene Eizelle eine größere Streuung, d. h. weniger gleichmäßige SHBG-Spiegel, aufgewiesen. Dies war jedoch nicht der Fall. Vergleichbare Studien liegen nicht vor.

Alles in allem erscheint es nicht aussichtsreich, dass bei weiterer Forschung doch noch ein relevanter Unterschied der SHBG-Konzentration oder derer Streuung zwischen Follikeln ohne gewonnene und mit gewonnener Eizelle gefunden wird. Dennoch wäre dies erst durch eine Studie mit Anwendung eines präziseren Trennungsverfahrens mit multiplen vaginalen Punktionen und nachfolgender Spülung des Punktionssystems endgültig beweisbar (Revelli et al. 2009), am besten zusätzlich unter Ausschluss von Follikeln mit gewonnener atretischer Eizelle.

#### **4.2.3 Follikeldurchmesser**

Auf Patientinnenebene, wo jede Patientin gleich gewichtet in die Betrachtung einging, war die Median-SHBG-Konzentration in kleinen ( $< 16$  mm) Follikeln um ca. 8 % höher als in großen ( $\geq 16$  mm) Follikeln. Es handelte sich somit um einen eher geringen Unterschied. Die statistische Signifikanz wurde knapp

verfehlt ( $p = 0,055$ ). Vermutlich könnte bei einer Erhöhung der Fallzahl in einer zukünftigen Studie der Unterschied signifikant werden.

Falls dies tatsächlich der Fall wäre, könnte dies an einer größeren Permeabilität kleinerer Follikel für SHBG liegen. Eine Abhängigkeit der Blut-Follikel-Schranke von Follikelentwicklung und weiblichem Zyklus allgemein wurde bereits vermutet (Cavender und Murdoch 1988; Espey 1980; Hess et al. 1998; Siu und Cheng 2012). Es könnte jedoch auch sein, dass in kleinen Follikeln mehr SHBG intrafollikulär synthetisiert wird als in großen. Dies könnte z. B. mittels einer Quantifizierung der SHBG-mRNA in den Granulosazellen oder immunhistochemischen Methoden weiter untersucht werden (Forges et al. 2005). Eine Frage dahinter könnte sein, ob SHBG in kleinen Follikeln ggf. eine größere Rolle bei der Regulation von Zellfunktionen und Steroideffekten spielt als in großen. Alternativ könnte sich ein Konzentrationsunterschied auch schlichtweg durch einen Verdünnungseffekt aufgrund einer Flüssigkeitszunahme mit zunehmender Follikelreife erklären lassen. Bezüglich Serumproteinkonzentrationen in der FF im Allgemeinen wurde ein solcher Verdünnungseffekt aufgrund der größeren Zunahme des Follikelvolumens im Verhältnis zur Follikeloberfläche gemutmaßt (Wen et al. 2009).

Auf Follikelebene zeichnete sich eine ähnliche Tendenz ab: In den vier Follikelgruppen mit zunehmendem Follikeldurchmesser zeigte sich tendenziell eine graduelle Abnahme der Median-SHBG-Konzentrationen. Es war jedoch keiner der Gruppenunterschiede signifikant. Zudem wurde auf Follikelebene keine signifikante Korrelation mit dem Follikeldurchmesser gefunden.

Es gibt eine mögliche Erklärung dafür, wieso die Signifikanz ausschließlich auf Patientinnenebene nur knapp verfehlt wurde. Es könnte sein, dass die Testergebnisse auf Follikelebene tatsächlich durch die unterschiedliche Gewichtung der Patientinnen aufgrund deren unterschiedlichen eingegangenen Probenanzahlen, bei gleichzeitiger relevanter Zwischensubjektvariabilität, verzerrt wurden. So ist bereits bekannt, dass die SHBG-Serumspiegel ausgeprägte interindividuelle Schwankungen zeigen (Thaler et al. 2015). Und in der aktuellen Studie war die interindividuelle Schwankung der FF-Spiegel ähnlich groß jener der Serumspiegel (IQR 86,4 vs. 93,2 nmol/l).

Insgesamt konnte somit weder ein klarer Hinweis auf einen Zusammenhang der Follikelgröße mit der SHBG-Konzentration in der FF gefunden werden, noch ein solcher ausgeschlossen werden.

Es konnten nur zwei Publikationen über weitere Studien gefunden werden, die bisher einen Zusammenhang der Follikelgröße mit dem SHBG-Spiegel in der FF untersuchten. Hatzi et al. (2011) berichteten von einer Assoziation, wobei kleine ( $\leq 12$  mm) Follikel um knapp 20 % höhere SHBG-Konzentrationen aufwiesen als große ( $\geq 18$  mm) Follikel. Bei dieser Untersuchung wurde allerdings nicht auf eine Gleichgewichtung der Patientinnen geachtet, da eine unterschiedliche Anzahl an Follikeln je Patientin verwendet wurde. Dies schränkt die Verlässlichkeit der Ergebnisse ein, wie oben erklärt. Andererseits konnte in dieser Studie auf Patientinnenebene gezeigt werden, dass auch ein bestimmter Polymorphismus im SHBG-Gen, ein  $(TAAAA)_n$  Penta-Nucleotid-Repeat-Polymorphismus an der Grenze des Promotors mit Einfluss auf die transkriptionelle Aktivität, mit der Follikelgröße assoziiert war. Ein Unterschied zur vorliegenden Studie war, dass die Gruppe der kleinen Follikel durch einen niedrigeren Follikeldurchmesser von unter 13 mm statt in der vorliegenden Studie auf Patientinnenebene unter 16 mm definiert war. Eventuell treten also die entscheidenden Konzentrationsunterschiede erst ab geringeren Follikeldurchmessern auf. Außerdem wurden bei der Betrachtung die mittelgroßen (13-17 mm) Follikel ausgeschlossen. Eventuell hätte sich bei einem solchen Vorgehen in der vorliegenden Studie auf Patientinnenebene ebenfalls ein signifikanter Unterschied ergeben.

Eine andere Studie verwendete als Parameter der Follikelgröße das FF-Volumen. Hier wurde von keiner wesentlichen oder signifikanten Korrelation mit der SHBG-Konzentration in der FF berichtet (Li et al. 2000). Dies entspricht dem Ergebnis der vorliegenden Studie auf Follikelebene, wobei dort wie auch bei Li et al. (2000) keine Gleichgewichtung der Patientinnen erfolgte, da eine unterschiedliche Anzahl an Follikeln je Patientin verwendet wurde.

Die bisherige Studienlage ist daher widersprüchlich und schwach. Studien mit einer höheren Fallzahl und einer Gleichgewichtung der Patientinnen könnten in Zukunft zur Klärung beitragen.

#### **4.2.4 Zusammenhang mit verschiedenen IVF- und ICSI-Parametern**

Interessanterweise korrelierte die SHBG-Konzentration in der FF mit einer ganzen Reihe der betrachteten IVF- bzw. ICSI-Parameter signifikant moderat positiv: der Anzahl der punktierten Follikel, der gewonnenen und der reifen Eizellen, die Rate der reifen Eizellen, der Anzahl und dem Anteil der korrekt befruchteten Eizellen. Neben dem Anteil der korrekt befruchteten Eizellen an allen behandelten Eizellen, sprich der Gesamt-Befruchtungsrate, wurden auch aufgetrennt der Anteil der korrekt befruchteten Eizellen unter ICSI-Therapie und unter IVF-Therapie betrachtet. Auch die ICSI-Befruchtungsrate korrelierte signifikant moderat positiv mit der SHBG-Konzentration in der FF. Eventuell hätte auch die moderate positive Korrelation mit der IVF-Befruchtungsrate Signifikanz erreicht ( $p = 0,130$ ), wenn nicht die untersuchte Fallzahl ( $n = 12$  Patientinnen) im Vergleich deutlich geringer gewesen wäre.

Diese Studienergebnisse lassen SHBG in der FF vielversprechend erscheinen, was eine mögliche Bedeutung als Biomarker für die Eizellkompetenz wieder-  
spiegelnde erfolgreiche IVF- bzw. ICSI-Therapieergebnisse betrifft. Die gefundenen Korrelationen können zu der Annahme führen, dass SHBG in der FF eine Rolle in der Follikelentwicklung und der ovariellen Reaktion während der COS spielt. Denn die genannten Follikel- und Eizellanzahlen spiegeln die ovarielle Reaktion auf die COS wider (Zhai et al. 2021). Allerdings korrelierte für alle aufgezählten Parameter bis auf die Befruchtungsraten ebenfalls die SHBG-Konzentration im Serum signifikant moderat positiv, und zwar mit der Rate reifer Eizellen etwa gleich stark und mit den restlichen aufgezählten Parametern sogar etwas stärker als die SHBG-Konzentration in der FF. In diesen Fällen scheint daher die SHBG-Serumkonzentration genauso gut bzw. sogar etwas besser aussagefähig zu sein wie bzw. als die SHBG-FF-Konzentration. Im Hinblick auf langfristig angestrebte, eventuelle spätere diagnostische Zwecke könnte man dies für diese Parameter so interpretieren, dass die FF-Gewinnung und -Untersuchung keinen Mehrwert gegenüber der Durchführung einer einfachen Blutentnahme mit Serumuntersuchung hätte.

Hingegen korrelierte die Gesamt- und ICSI-Befruchtungsrate ausschließlich signifikant mit der SHBG-Konzentration in der FF, und nicht mit jener im Serum. Zudem war die Korrelation mit der FF-Konzentration höher als mit der Serum-



konzentration (Spearman's  $\rho = 0,291$  vs.  $0,164$ ; Spearman's  $\rho = 0,326$  vs.  $0,214$ ). Je höher der SHBG-FF-Spiegel war, desto mehr der behandelten Eizellen konnten korrekt befruchtet werden. Dies ist ein Hinweis darauf, dass die SHBG-FF-Konzentration prädiktiv für die Erfolgsrate des entscheidenden Behandlungsschritts der extrakorporalen Befruchtung ist. Daher sollte SHBG als Kandidat für einen Biomarker der IVF- bzw. ICSI-Therapieergebnisse und somit auch Eizellkompetenz angesehen werden.

Eine bedeutsame Rolle von SHBG in der follikulären Physiologie erscheint plausibel (Forges et al. 2004; Hatzi et al. 2011), denn es findet sich in allen Stadien der Follikulogenese im Follikelepithel und u. a. in unmittelbarer Nähe der Zellmembran reifer Eizellen (Forges et al. 2005). Es könnte über parakrine und autokrine Effekte an der lokalen Regulation der ovariellen Funktion, wie Follikelreifung und Lutealfunktion, beteiligt sein (Forges et al. 2004; Forges et al. 2005; Hanrieder et al. 2008; Rosner et al. 2010). Lokal synthetisiertes, membrangebundenes SHBG könnte einen Einfluss auf Zellfunktionen haben, wie in anderen steroidresponsiven Geweben bereits beobachtet (Forges et al. 2004; Fortunati 1999). Als Teil eines komplexen Steroid-Signalsystems könnte es u. a. die transkriptionelle Aktivität der Steroidrezeptoren und die Effekte von Androgenen und Estrogenen in Zellen beeinflussen (Fortunati 1999; Kahn et al. 2002; Rosner et al. 1992; Rosner et al. 1999; Rosner et al. 2010). Zudem wurde im Hoden der Ratte gezeigt, dass das sich bloß in der Glykosylierung unterscheidende Androgen-bindende Protein (ABP) zu den Keimzellen transferiert wird und deren DNA- und Proteinsynthese steigern kann (Forges et al. 2004; Gerard et al. 1994; Gerard 1995; Gérard et al. 1996). Analoge Prozesse könnten auch im Ovar stattfinden (Forges et al. 2004).

Die genaueren physiologischen Hintergründe der gefundenen Studienergebnisse sind nicht leicht ersichtlich, u. a. aufgrund zahlreicher potentiell die SHBG-Spiegel beeinflussender Faktoren. Ohnehin können die Studienergebnisse nur Aussagen über Assoziationen, aber nicht Kausalitäten generieren. Ein veränderter SHBG-Spiegel könnte auch lediglich ein Epiphänomen darstellen, ohne selbst eine relevante pathophysiologische Wirkung auf die Eizelle zu haben. Dies würde dennoch die Möglichkeit bieten, SHBG als Surrogatmarker zu nutzen (Thaler et al. 2015).

Es wurde nur eine Studie gefunden, die zuvor auf diese Weise den Zusammenhang zwischen dem SHBG-Spiegel in der FF und einem der hier betrachteten IVF- und ICSI-Parameter untersucht hat. Da alle punktierbaren Follikel punktiert wurden, entsprach die Anzahl der punktierten Follikel der punktierbaren Gesamtfollikelzahl. Die Ergebnisse bestätigen somit die von Hatzi et al. (2011) berichtete signifikante positive Korrelation der SHBG-FF- und -Serumspiegel mit der Gesamtfollikelzahl, auch wenn die Stärke der Korrelation dort etwas geringer war (FF:  $r = 0,202$ ,  $p < 0,02$ ; Serum:  $r = 0,266$ ,  $p < 0,001$ ). Dort wies ebenfalls der SHBG-Serumspiegel eine etwas stärkere Korrelation damit auf als der SHBG-FF-Spiegel. Im Übrigen konnte auch eine Assoziation eines bestimmten Polymorphismus im SHBG-Gen, ein (TAAAA)<sub>n</sub> Penta-Nukleotid-Repeat-Polymorphismus an der Grenze des Promotors mit Einfluss auf die transkriptionelle Aktivität, in Kombination mit weiteren Polymorphismen mit Follikel- und Eizellanzahl gezeigt werden (Lazaros et al. 2012). Auch eine weitere Studie bestätigte eine signifikante moderate positive Korrelation zwischen der SHBG-Serumkonzentration und der Anzahl gewonnener Eizellen, und auch Embryonen (Zhai et al. 2021). Hier wurde allerdings die SHBG-Serumkonzentration am Tag der hCG-Gabe betrachtet, d. h. knapp zwei Tage vor dem in der vorliegenden Studie betrachteten Zeitpunkt (Zhai et al. 2021). D. h. diese Korrelation scheint nicht erst nach der Ovulationsinduktion vorzuliegen. Wiederum eine weitere Studie mit Serumwerten vom Tag der Follikelpunktion beschrieb bei Patientinnen mit Infertilität aufgrund tubarer oder männlicher Faktoren ebenfalls eine signifikante, wenn auch geringe Korrelation mit der Embryonenanzahl (Meriem et al. 2016). Hier verfehlte die Korrelation mit der Eizellanzahl die statistische Signifikanz ( $p = 0,08$ ) (Meriem et al. 2016). Allerdings zeigte sich in dieser Studie, dass im Unterschied dazu bei PCOS-Patientinnen für beide diese Korrelationen die statistische Signifikanz verfehlt wurde, und zwar mit einem deutlich höheren p-Wert (Meriem et al. 2016). Es könnte sich daher bei PCOS-Patientinnen um eine spezielle Subgruppe handeln, für die die beobachteten Zusammenhänge nicht gelten. Zudem soll an dieser Stelle anhand der Studie von Barbieri et al. (2005) noch einmal verdeutlicht werden, dass Studienergebnisse unter COS nicht direkt mit jenen ohne COS verglichen werden können. Denn in dieser Studie wurden die Ausgangsserumwerte aus dem unstimulierten Zyklus vor COS-Beginn

betrachtet, und im Gegensatz zu den zuvor angeführten Studien wurde nur eine sehr geringe und nicht signifikante Korrelation mit der Anzahl der im Verlauf gewonnenen Eizellen gefunden.

Eine andere Studie betrachtete umgekehrt statt den Zusammenhang mit erfolgreichen Therapieergebnissen jenen mit der Anzahl atretischer Eizellen. Hier wurde eine niedrige SHBG-Konzentration in der FF der Patientin mit einer größeren Anzahl atretischer Eizellen assoziiert (Kamberi et al. 1988). Diese Assoziation passt mit den in der vorliegenden Studie gefundenen Assoziationen erfolgreicher Therapieergebnisse mit einer höheren SHBG-FF-Konzentration zusammen. Über eine Korrelation mit dem SHBG-Serumspiegel wurde in dieser Studie nicht berichtet.

Ferner erscheint auch stimmig, dass bei einer Untersuchung von PCOS-Patientinnen eine Korrelation eines bestimmten Polymorphismus im SHBG-Gen, dem Einzelnukleotid-Polymorphismus rs6259, mit der Befruchtungsrate (dort definiert als Anteil der befruchteten Eizellen an der Anzahl gewonnener Eizellen) gefunden wurde (Liu et al. 2019). Allerdings wirft dies die Frage auf, ob die Befruchtungsrate nicht doch auch mit dem SHBG-Serumspiegel assoziiert sein könnte. Denn dieser Polymorphismus scheint mit höheren SHBG-Serumspiegeln verbunden zu sein (Sato et al. 2017). Zur direkten Untersuchung der Korrelation zwischen SHBG-Serumspiegel und Befruchtungsrate wurden nur zwei Studien gefunden, wovon nur bei einer die Serumproben am Tag der Follikelpunktion gewonnen wurden (Barbieri et al. 2005; Meriem et al. 2016). Letztere zeigte keine signifikante Korrelation und der Korrelationskoeffizient war gering (Meriem et al. 2016). Die andere Studie betrachtete mit den Ausgangsserumwerten aus dem unstimulierten Zyklus vor COS-Beginn einen abweichenden Zeitpunkt, sodass ihr Ergebnis nicht zum direkten Vergleich mit dem vorliegenden Studienergebnis herangezogen werden darf. Sie findet der Vollständigkeit halber Erwähnung. Auch hier wurde keine signifikante Korrelation festgestellt und der Korrelationskoeffizient war zudem sehr gering (Barbieri et al. 2005).

Zur Bestätigung oder zum Ausschluss von SHBG als Prädiktor der oben genannten IVF- bzw. ICSI-Therapieergebnisse sind weitere Studien nötig. Zunächst sind, wie in Kapitel 4.1.8 erläutert, zur Bestätigung auch der vor-

liegenden signifikanten Ergebnisse Studien notwendig, bei denen im Gegensatz zu dieser Pilotstudie mit Hilfe der schließenden Statistik Aussagen über die Grundgesamtheit getroffen werden dürfen. Diese Studien sollten dann auch potentielle Confounder berücksichtigen, wie z. B. Stimulationsprotokolltyp, Alter und BMI (Ola und Sun 2012). Und es sollte, wie in Kapitel 4.1.6.1 erklärt, eine Verdünnung der Proben vor der Messung der SHBG-Konzentration durchgeführt werden.

Außerdem sollten zukünftige Studien mit größerer Fallzahl darüber Aufschluss geben, ob es sich bei der Korrelation mit den Befruchtungsraten tatsächlich um eine speziell mit SHBG in der FF vorhandene Assoziation handelt, oder diese doch auch für den SHBG-Spiegel im Serum noch signifikant werden könnte. Zumindest in der vorliegenden Studie wurde die statistische Signifikanz jedoch nicht nur knapp verfehlt (Gesamt-Befruchtungsrate:  $p = 0,250$ ; ICSI-Befruchtungsrate:  $p = 0,152$ ).

Sollten sich die Studienergebnisse bestätigen, wäre eine Studie mit Zuordenbarkeit der einzelnen Eizellen zu ihren Follikeln bzw. FF-Proben auch nach der In-vitro-Befruchtung durchführungswert. Schließlich wurde in der vorliegenden Studie die mittlere SHBG-FF-Konzentration je Patientin betrachtet, sodass keine direkte Aussage über eine Eignung der SHBG-Konzentration in der FF für die Selektion einzelner Follikel bzw. Eizellen möglich ist. In einem nächsten Schritt erscheint es sinnvoll, Erkenntnisse darüber zu gewinnen, ob in Follikeln mit später korrekt befruchteter Eizelle die SHBG-Spiegel höher sind als in Follikeln ohne später korrekt befruchtete Eizelle. Dies erscheint angesichts des gefundenen Zusammenhangs zwischen SHBG-FF-Spiegel und Anzahl sowie Anteil der korrekt befruchteten Eizellen möglich. Nur dann könnte auch eine klare Aussage über SHBG als Marker der Eizellkompetenz zur Unterscheidung der Qualität individueller Follikel getroffen werden. Eine ähnliche Studie wurde bereits 1985 von Ben-Rafael et al. (1987a) durchgeführt. Deren Ergebnisse wiesen nicht auf das Vorhandensein eines solchen Unterschieds hin. Hier wurden vier Gruppen von Follikeln miteinander verglichen. Es wurde kein signifikanter Unterschied des SHBG-FF-Spiegels gefunden in Abhängigkeit davon, ob die aus dem Follikel stammende Eizelle nicht befruchtet wurde, abnormal befruchtet wurde, sich nach der Befruchtung nicht teilte oder sich

teilte. Hierbei wurden allerdings ausschließlich morphologisch als reif eingestufte Eizellen bzw. deren zugehörige FF-Proben untersucht. Die Studienpopulation bestand ausschließlich aus Frauen mit mechanischer Infertilität, das Stimulationsprotokoll bestand aus einer ausschließlichen hMG-Gabe ohne Gabe eines GnRH-Agonisten oder -Antagonisten und die extrakorporale Befruchtung wurde ausschließlich mit dem IVF-Verfahren durchgeführt. Dies alles sind zur vorliegenden Studie differierende Bedingungen. Hier wurde eine von den Infertilitätsursachen her gemischte Studienpopulation untersucht, alle Patientinnen wurden mit GnRH-Agonisten oder -Antagonisten und größtenteils mit dem ICSI-Verfahren behandelt. Außerdem geht aus der Publikation nicht klar hervor, wie viele Eizellen mit ihren zugehörigen FF-Proben je Frau untersucht wurden. Vermutlich wurden pro Frau verschiedene Anzahlen von Eizellen je Follikelgruppe untersucht, wodurch es zu Verzerrungen der Daten bei vorhandener Zwischensubjektvariabilität gekommen sein könnte. Auch zum Verfahren zur Separierung der FF der einzelnen Follikel wurden keine Angaben gemacht, sodass dessen Exaktheit nicht beurteilbar ist. Weitere derartige Studien konnten nicht gefunden werden. In zwei weiteren Studien wurde bloß die zwar ähnliche, aber andere und engere Fragestellung untersucht, ob Unterschiede der SHBG-FF-Konzentration bestehen zwischen Follikeln, aus denen Eizellen mit und ohne Furchungsteilung im Verlauf hervorgingen (Gustafson et al. 1996; Yding Andersen 1990). Folglich könnte es sich lohnen, die Ergebnisse von Ben-Rafael et al. (1987a) mittels einer Studie unter anderen, der vorliegenden Studie ähnlicheren Bedingungen noch einmal zu überprüfen. Die Erwartungen an eine solche Studie werden allerdings dadurch gedämpft, dass ein anderes Studienergebnis zumindest auf den ersten Blick nicht schlüssig im Hinblick auf die Eignung von SHBG zur Selektion einzelner kompetenter Follikel erscheint. Auf der einen Seite steht eine höhere SHBG-Konzentration in einem positiven Zusammenhang mit eher reifen Follikeln zuzuordnenden Therapieergebnissen wie der Befruchtungsrate der Eizellen. Darauf beruhend wäre in Follikeln mit daraus hervorgehender korrekt befruchtbarer Eizelle eine höhere SHBG-Konzentration als in Follikeln ohne solche zu erwarten. Auf der anderen Seite wurde eine tendenziell niedrigere SHBG-Konzentration in größeren, sprich reiferen, Follikeln gefunden. Im Gegensatz zu einer anderen Studie (Hatzi et al. 2011) war der Unterschied

zwischen größeren und kleineren Follikeln in der vorliegenden Studie allerdings nicht statistisch signifikant. Auf den zweiten Blick könnten außerdem ab einer bestimmten Follikelgröße die SHBG-Spiegel nicht mehr mit der Follikelgröße assoziiert sein, aber noch mit der Eizellkompetenz. Dennoch sollte an dieser Stelle auf diese widersprüchliche Tendenz hingewiesen werden. Sollte in einer solchen Studie wiederum kein Unterschied nachweisbar sein, könnte SHBG weiterhin ein Prädiktor für die genannten Therapieergebnisse wie die Befruchtungsrate zwischen verschiedenen Patientinnen sein, aber nicht ein Marker der Eizellkompetenz individueller Follikel.

#### ***4.2.5 Vergleich zwischen Nichtschwangeren und Schwangeren***

Es bestand kein relevanter Unterschied der SHBG-Konzentration in der FF oder im Serum zwischen Patientinnen, die im Verlauf eine Schwangerschaft erreichten, und solchen, wo dies nicht der Fall war. Es besteht daher in der vorliegenden Studie kein Hinweis darauf, dass die SHBG-Konzentration prädiktiv für einen Schwangerschaftseintritt im Rahmen einer IVF- bzw. ICSI-Therapie ist.

Im Kapitel 4.2.4 wurde der SHBG-FF-Spiegel aufgrund seiner Assoziation mit der Befruchtungsrate als Kandidat für einen Biomarker der IVF- bzw. ICSI-Therapieergebnisse vorgeschlagen. Seine Eignung wird dadurch limitiert, dass seine Vorhersagefähigkeit in der vorliegenden Studie allerdings nicht so weit reichte, als dass er den Eintritt einer Schwangerschaft hätte vorhersagen können. Dies könnte sich damit erklären lassen, dass im Vergleich zur Befruchtungsrate die Erzielung einer Schwangerschaft von noch zahlreicheren Faktoren neben der Eizellqualität abhängt, wie z. B. der Rezeptivität des Endometriums (Sonntag 2020a). Generell könnte angesichts der Komplexität der zahlreichen die Follikel- und Eizellreifung beeinflussenden Prozesse ein einzelner Biomarker ggf. nicht ausreichen (Chen et al. 2016). Eine Kombination von mehreren Markern könnte ein größeres Potential zur Prädiktion der besten Eizellen bzw. guter Therapieergebnisse der assistierten Reproduktion haben (Benkhalifa et al. 2015), und SHBG könnte einen Teil eines solchen Profils darstellen.

Bisherige Studienergebnisse waren bezüglich der Existenz einer Assoziation der SHBG-Konzentration in der FF und einem Schwangerschaftseintritt widersprüchlich. Zum einen waren in zwei Studien die SHBG-FF-Spiegel signifikant höher bei Patientinnen, die später schwanger wurden (Lin und Sun 2005; Yding Andersen 1990). Der SHBG-FF-Spiegel war dabei um etwa ein Fünftel höher als bei Patientinnen ohne Schwangerschaft im Verlauf. Yding Andersen (1990) konnte sogar noch einen signifikanten Unterschied der SHBG-FF-Spiegel zwischen später Schwangeren und Nichtschwangeren feststellen, wenn ausschließlich Follikel betrachtet wurden, aus denen Eizellen mit einsetzender Furchungsteilung hervorgingen. Zudem war hier der Unterschied zwischen Schwangeren und Nichtschwangeren speziell nur für die FF-, und nicht die Serumspiegel signifikant. Allerdings stellte eine nachfolgende Studie einen signifikanten Unterschied der Serumspiegel fest (Yding Andersen et al. 1992b). Und bei Lin und Sun (2005) bestand in derselben Studie neben dem Unterschied der FF- auch einer der Serumspiegel. Die von den Autoren vermuteten physiologischen Hintergründe der Studienergebnisse bezüglich der FF sind zwar fraglich, doch es existiert eine alternative mögliche Erklärung. Die Autoren hielten eine Inaktivierung von Estrogen- oder Androgenwirkung durch eine Bindung an SHBG mit z. B. konsekutiver Verbesserung der Eizellqualität für die mögliche Erklärung der höheren SHBG-Spiegel bei im Verlauf Schwangeren (Lin und Sun 2005; Yding Andersen 1990; Yding Andersen et al. 1992b). Auf den ersten Blick könnte man meinen, dass SHBG wie im Serum auch in der FF für eine derartige Balancierung der Sexsteroidhormonspiegel zuständig ist (Meriem et al. 2016). Doch in präovulatorischen Follikeln ist SHBG höchstwahrscheinlich durch die hohen Steroidhormonspiegel gesättigt (Ben-Rafael et al. 1986; Campo et al. 1989; Yding Andersen 1991). Der SHBG-gebundene Anteil des Estradiols wurde bisher zwischen 1,5 und 35 % geschätzt (Ben-Rafael et al. 1986; Yding Andersen 1991; Yding Andersen et al. 1992a). Daher scheinen solche passiven Funktionen dort nicht im Vordergrund zu stehen. Eine aktivere Funktion mit Beeinflussung von Transkription und Hormoneffekten in Zellen des Follikels über eine Membranbindung als Teil eines komplexen Steroid-Signalsystems erscheint demgegenüber plausibler (Fortunati 1999; Kahn et al. 2002; Rosner et al. 1992; Rosner et al. 1999; Rosner et al. 2010).

Zum anderen entsprach das Studienergebnis zweier weiterer Studien jenem der vorliegenden Studie. Sie zeigten keinen signifikanten Unterschied der SHBG-FF- sowie -Serumkonzentration zwischen später schwangeren und später nicht schwangeren Patientinnen (Hatzi et al. 2011; Phocas et al. 1995). In einer weiteren Studie wurde nur die Serumkonzentration betrachtet und ebenfalls keine Beziehung zum Therapieergebnis Schwangerschaft gefunden (Penrose et al. 2013).

Die Vergleichbarkeit mit den angeführten Studien ist eingeschränkt, da großteils unterschiedliche Bedingungen vorlagen. So wurden verschiedene Follikelprofile zur Analyse ausgewählt. Yding Andersen (1990) untersuchte ausschließlich Follikel mit enthaltener Eizelle, Lin und Sun (2005) poolten zwei Follikel von beiden Ovarien und Phocas et al. (1995) verwendeten ausschließlich Follikel mit enthaltener reifer Eizelle. Genauere Angaben zur Follikelgröße wurden nicht gemacht, doch anhand dessen ist von der Verwendung durchschnittlich größerer Follikel als in der vorliegenden Studie auszugehen. Bei Hatzi et al. (2011) wurden zwar ebenfalls FF-Proben von mehreren separierten und darunter auch kleinen Follikeln verwendet, jedoch vermutlich mittelgroße Follikel mit einem Durchmesser zwischen 13 und 17 mm von der Untersuchung ausgeschlossen. Auch unterschieden sich die Studienpopulationen anhand der einbezogenen Infertilitätsursachen. Lin und Sun (2005) und Hatzi et al. (2011) schlossen nur Patientinnen ein, die aufgrund tubarer Infertilität oder männlichen Faktoren behandelt wurden. Yding Andersen (1990) und Phocas et al. (1995) machten hierzu keine Angaben. Die zur Behandlung angewandten Stimulationsprotokolle unterschieden sich ebenfalls. Z. B. wurde bei Lin und Sun (2005) und Hatzi et al. (2011) ein long-Protokoll mit einem GnRH-Agonisten angewandt, während der Großteil der Patientinnen der vorliegenden Studie ein short-Protokoll mit einem GnRH-Antagonisten erhielt. Darüber hinaus wurde bei Yding Andersen (1990) und Lin und Sun (2005) der Schwangerschaftseintritt bereits durch einen positiven Schwangerschaftstest bzw. biochemisch definiert, während bei der vorliegenden Studie, Phocas et al. (1995) und Hatzi et al. (2011) ein sonographischer Nachweis gefordert wurde. Da insbesondere in den ersten Schwangerschaftswochen das Risiko eines Aborts am höchsten ist (Tong et al. 2008; Wang et al. 2003), könnte dieser Unterschied relevant sein. Immerhin wurde eine signifikante Assoziation mit dem SHBG-Spiegel in den beiden



Studien festgestellt, bei denen die früher feststellbare biochemische Schwangerschaft als Definition verwendet wurde. Allerdings wurde zumindest für die Studie von Yding Andersen (1990) berichtet, dass nur eine der 11 schwangeren Patientinnen nach der biochemischen keine klinische Schwangerschaft erreichte, was wiederum die Relevanz des Unterschieds zumindest für diese Studie eher gering erscheinen lässt.

Des Weiteren wurden bei Yding Andersen (1990), Phocas et al. (1995) und Hatzi et al. (2011) unterschiedlich viele Follikel je Patientin verwendet, sodass vermutet werden könnte, dass eine Ungleichgewichtung der Patientinnen stattfand und bei einer vorliegenden Zwischensubjektvariabilität der SHBG-Spiegel die Ergebnisse verzerrt haben könnte. Zudem erscheint die Zuverlässigkeit des Ergebnisses der Studie von Phocas et al. (1995) dadurch zweifelhaft, dass sie bei anderen Studienergebnissen eine den restlichen Studien widersprechende Ausnahme darstellte (s. Kapitel 4.2.1.4).

Insgesamt ist die Studienlage noch schwach, und die Existenz einer Assoziation zwischen SHBG-Konzentration in der FF und einem Schwangerschaftseintritt im Zuge einer IVF- bzw. ICSI-Therapie noch nicht abschließend geklärt. Zwei Studien zeigen, dass diese unter zu jenen in der vorliegenden Studie differierenden Bedingungen möglich sein könnte. Eventuell kann die SHBG-FF-Konzentration ausschließlich in Follikeln mit bestimmten Merkmalen ausschließlich für Patientinnen mit bestimmten Infertilitätsursachen und Therapieprotokollen als Marker für einen Schwangerschaftseintritt dienen.

Auch fanden sich keine Hinweise auf eine Assoziation der Streuung der SHBG-Konzentration der Follikel einer Patientin mit einem Schwangerschaftseintritt. Ursprünglich hätte man spekulieren können, dass vielleicht bei Patientinnen, die keine Schwangerschaft erreichen, die benötigten unterschiedlichen SHBG-Spiegel in den individuellen Follikeln nicht so gut aufrechterhalten werden können, und daher eine geringere Streuung vorliegt. Oder umgekehrt, dass vielleicht weniger gleichmäßige SHBG-Spiegel in den Follikeln vorliegen, weil deren Konstanz weniger gut aufrechterhalten werden kann. Vergleichbare Studien finden sich nicht. Ausgehend vom vorliegenden Studienergebnis scheinen diese Überlegungen jedoch nicht weiter verfolgenswert.

#### **4.2.6 Vergleich zwischen Patientinnen ohne und mit Lebendgeburt**

Es bestand kein relevanter Unterschied der SHBG-Konzentration zwischen Patientinnen, die im Verlauf eine Lebendgeburt erreichten, und solchen, wo dies nicht der Fall war. Es besteht daher in der vorliegenden Studie kein Hinweis darauf, dass die SHBG-Konzentration in der FF prädiktiv für die Erzielung einer Lebendgeburt im Rahmen einer IVF- bzw. ICSI-Therapie ist.

Angesichts des Fehlens einer Assoziation mit dem Schwangerschaftseintritt war dies zu erwarten. Auf dem Weg zur Erreichung einer Lebendgeburt haben noch vielzähligeren Faktoren einen Einfluss, als zur Erreichung einer Schwangerschaft. Dies bedeutet, dass dafür eine Vorhersagbarkeit über denselben Biomarker in der FF als geringer angenommen werden muss.

Es fanden sich keine Hinweise auf eine Assoziation der Streuung der SHBG-Konzentration der Follikel einer Patientin mit dem Eintritt einer Lebendgeburt. Wie für den Schwangerschaftseintritt (s. Kapitel 4.2.5) erscheinen derartige Überlegungen nicht weiter ergründenswert.

#### **4.2.7 Alter**

Es wurden keine Hinweise auf einen signifikanten Zusammenhang der SHBG-Konzentration in FF oder Serum mit dem Alter der Patientinnen gefunden. Insbesondere ist zu betonen, dass kein signifikanter Unterschied zwischen den Patientinnen unter 35 Jahren und den beiden älteren Gruppen gefunden wurde. Denn ab etwa dem 35. Lebensjahr beginnt im Allgemeinen die Fertilitätsabnahme mit Reduzierung der Ovarialfollikelzahl und Eizellqualität (Li et al. 2021), und auch die Erfolgsrate von Therapien der assistierten Reproduktion sinkt deutlich (Broekmans et al. 2009). Möglicherweise spiegelt sich dies generell nicht in der SHBG-Konzentration wieder. Es ist aber nicht auszuschließen, dass die per se eingeschränkte Infertilität bei den – auch jüngeren – Patientinnen mit weiteren außer mechanischen oder männlichen Faktoren mit dieser Betrachtung interferierte.

Es wurden keine anderen Studien bezüglich des Zusammenhangs der SHBG-Konzentration in der FF, oder im Serum unter COS, mit dem Alter gefunden. Auch wenn basierend auf Studien altersabhängige Veränderungen der SHBG-

Serumspiegel vorgeschlagen wurden, fehlen hierzu noch immer ausreichende robuste epidemiologische Daten (Aribas et al. 2021), insbesondere bei prämenopausalen Frauen. Dort ist die Studienlage noch widersprüchlich. Manche Studien fanden wie die vorliegende Studie keine Altersabhängigkeit (Koskova et al. 2009; Pasquali et al. 1997; Winters et al. 2014). Andere Studien fanden auch explizit in der prämenopausalen Lebensphase eine Abhängigkeit vom Alter (Cikim et al. 2004). Es ist anzunehmen, dass gefundene Altersabhängigkeiten teilweise durch eine Abhängigkeit vom BMI erklärt werden können (Cooper et al. 2015; Maggio et al. 2008). Bei Frauen konnten U-förmige Muster der Altersabhängigkeit mit einem Nadir in der 6.-7. Lebensdekade modelliert werden (Aribas et al. 2021; Maggio et al. 2008). Allerdings lagen die beobachteten Mittelwerte der Altersgruppen 20-29, 30-39 und 40-49 Jahre auch hier nicht in einer abnehmenden Reihenfolge, sondern erst die anhand von Regressionsmodellen geschätzten Mittelwerte nahmen graduell ab (Maggio et al. 2008). Im Gegensatz dazu wurden in einer anderen Studie, passend zur Beobachtung niedrigerer Spiegel bei jüngeren unter prämenopausalen Frauen (Cikim et al. 2004), innerhalb dieser Altersspanne graduell zunehmende SHBG-Serumwerte beobachtet (Handelsman et al. 2016). Dabei traten jedoch erst ab höherem Alter ausgeprägtere Veränderungen auf (Handelsman et al. 2016). Prinzipiell könnte demnach eine Altersabhängigkeit bestehen, jedoch in der vorliegenden Studie aufgrund der Begrenzung der Betrachtung auf die Altersspanne von 25-47 Jahren nicht gefunden worden sein. Schließlich wurde auch im Methodenblatt des verwendeten Immunoassays erst ab 50 Jahren ein differierender Referenzbereich für die SHBG-Serumspiegel ohne COS angegeben, während für 20-49-jährige Frauen ein gemeinsamer Referenzbereich angegeben wurde (Roche Diagnostics 2018). Ohnehin sind die Daten nicht direkt vergleichbar, da die angeführten Studien nicht unter COS-Bedingungen stattfanden. Die SHBG-Serumspiegel verändern sich während der COS im Vergleich zu unstimulierten Zyklen (Dowsett et al. 1985; Fridström et al. 1999; Hatzi et al. 2011; Lin und Sun 2005; Odlind et al. 1982; Penrose et al. 2013; Phocas et al. 1995; Thuesen et al. 2013; Yding Andersen 1990; Yding Andersen et al. 1992b; Zhai et al. 2021). So könnte es sein, dass die COS zu einer Angleichung ggf. ohne COS bestehender altersabhängiger Unterschiede der SHBG-Serumspiegel geführt hat.

Auch fand sich kein signifikanter monotoner Zusammenhang zwischen der Streuung der SHBG-Konzentration der Follikel einer Patientin mit dem Alter. Ursprünglich hätte man spekulieren können, dass vielleicht bei Patientinnen im fortgeschritteneren reproduktiven Alter die unterschiedlichen SHBG-Spiegel in den individuellen Follikeln nicht mehr so gut aufrechterhalten werden können, und daher eine geringere Streuung vorliegt. Oder umgekehrt, dass vielleicht weniger gleichmäßige SHBG-Spiegel in den Follikeln vorliegen, weil deren Konstanz weniger gut aufrechterhalten werden kann. Diese Überlegungen scheinen somit nicht primär weiter verfolgenswert. Allerdings hätte angesichts des  $p$ -Werts von 0,086 eventuell bei einer größeren Fallzahl für einen Unterschied zwischen zwei der Altersgruppen Signifikanz erreicht werden können.

#### **4.2.8 BMI**

Es wurde eine statistisch signifikante, moderate negative monotone Beziehung zwischen dem BMI der Patientin und der SHBG-Konzentration in der FF, aber nicht im Serum, gefunden. Der SHBG-FF-Spiegel zeigte eine diese Beziehung bestätigende graduelle Abnahme mit zunehmenden BMI in den BMI-Gruppen. Die Unterschiede der BMI-Gruppen verfehlten allerdings die statistische Signifikanz ( $p = 0,093$ ). Es ist nicht auszuschließen, dass die Korrelation zwischen BMI und SHBG-Konzentration im Serum bei einer größeren Fallzahl auch noch Signifikanz hätte erreichen können, da der  $p$ -Wert 0,104 betrug. Jedoch war diese Korrelation auch geringer als jene zwischen BMI und SHBG-Konzentration in der FF.

Dies ist im Rahmen der vorliegenden Arbeit insbesondere deshalb interessant, als dass sich Übergewicht bekanntermaßen negativ auf die Fertilität und die Therapieergebnisse der assistierten Reproduktion auswirkt (Dağ und Dilbaz 2015; Pasquali et al. 2003). Es erscheint somit in sich schlüssig, dass in der vorliegenden Studie die SHBG-Konzentration in der FF positiv mit einer Reihe der betrachteten erfolgreichen IVF- und ICSI-Parameter korreliert, und negativ mit dem BMI. Dies könnte ein Anhaltspunkt dafür sein, dass der SHBG-Spiegel einen pathophysiologischen Einfluss auf die Follikel- bzw. Eizellqualität besitzt, und – zumindest anteilig – den negativen Effekt von Übergewicht darauf vermittelt. Es muss allerdings betont werden, dass es sich bei dieser Über-

legung um einen indirekten Rückschluss handelt. Es ist möglich, dass die SHBG-Konzentrationsveränderung bloß ein Epiphänomen eines erhöhten BMI darstellt, und daher nur indirekt mit den in Kapitel 4.2.4 genannten IVF- und ICSI-Parametern assoziiert ist. Darauf weist die vorliegende Pilotstudie jedoch nicht hin, denn hier korrelierte der SHBG-FF-Spiegel signifikant moderat mit den IVF- und ICSI-Parametern, während der BMI damit nur eine nicht signifikante, schwache Korrelation aufwies (s. Anhang, Tabelle A und B).

Bereits in einer früheren Studie wurde von einer wesentlichen Erniedrigung der SHBG-FF-Spiegel mit steigendem BMI berichtet (Robker et al. 2009). Auch dort wurde eine moderate negative signifikante Korrelation festgestellt ( $r = -0,41$ ,  $p = 0,001$ ). In dieser Studie war pro Patientin statt mehreren nur ein Follikel, meist der als erstes punktierte, und keine Blutprobe untersucht worden. PCOS-Patientinnen waren ausgeschlossen worden. Trotz dieser differierenden Bedingungen bestätigen die Studienergebnisse jene der einzigen diesbezüglich gefundenen bisherigen Studie. Wie großteils in der vorliegenden Studie war ein GnRH-Antagonisten-Protokoll angewandt worden, sodass diese Aussage vorrangig für eine Therapie unter diesem Stimulationsprotokoll getroffen werden kann.

Eigentlich erschien es zu erwarten zu sein, dass ebenfalls eine signifikante negative Assoziation des SHBG-Serumspiegels mit dem BMI gefunden würde. In der Literatur finden sich vielfach Berichte über negative Assoziationen des SHBG-Serumspiegels mit zur Beschreibung von Übergewicht verwendeten Parametern. Auch explizit für die betrachtete Patientinnengruppe der prämenopausalen Frauen wurde über eine Assoziation mit dem BMI berichtet (Akin et al. 2008; Maggio et al. 2008; Pasquali et al. 1997; Pedersen et al. 1995), sowie mit dem Gesamtkörperfett (Azrad et al. 2012; Hajamor et al. 2003; Pedersen et al. 1995; Tchernof et al. 1999; Zumoff 1988). Insbesondere scheint die SHBG-Konzentration im Serum mit einer zentralen Adipositas, d. h. einer abdominalen Fettverteilung, assoziiert zu sein. So konnten für prämenopausale Frauen abnehmende SHBG-Serumspiegel bei zunehmendem Taille-Hüft-Verhältnis festgestellt werden (Cikim et al. 2004; Evans et al. 1983; Hauner et al. 1988; Pasquali et al. 1990; Pasquali et al. 1997), sowie mit höherem Taillenumfang (Akin et al. 2008). Eine erhöhte Menge an subkutanem abdominellem

und intraabdominalem Fettgewebe war bei prämenopausalen Frauen mit erniedrigten SHBG-Serumspiegeln verbunden (Azrad et al. 2012; Evans et al. 1983; Hajamor et al. 2003; Pedersen et al. 1995; Tchernof et al. 1999), wobei moderate bis starke inverse Korrelationen gefunden wurden. Die inversen Assoziationen mit BMI und Taillenumfang fanden sich auch bei eine IVF benötigenden Frauen (Dumesic et al. 2007), sogar bei der speziellen Subgruppe der PCOS-Patientinnen, wo die SHBG-Konzentration bereits aufgrund des PCOS erniedrigt ist (Luo et al. 2020; Niu et al. 2014; Pasquali und Casimirri 1993), und auch bei Kindern, postmenopausalen Frauen und Männern (Selva et al. 2007; Simó et al. 2015), und sogar bei normalgewichtigen Personen (Thaler et al. 2015). Allgemein scheint die Menge an Leberfett noch stärkeren Einfluss auf die SHBG-Serumspiegel zu haben als das Gesamtkörperfett oder abdominelle Fett (Simó et al. 2015; Stefan et al. 2009). Es wurde gezeigt, dass die SHBG mRNA in Leberproben und darauf basierend auch das SHBG im Serum von der Höhe der hepatischen Triglyzerid-Konzentration abhängen (Winters et al. 2014). Diese Beobachtungen sind stimmig mit der biologischen Erklärung, die für die Assoziation einer SHBG-Spiegelsenkung mit dem metabolischen Syndrom und einem erhöhten Diabetesrisiko herangezogen wurde. Eine durch Monosaccharide wie Glucose oder Fructose induzierte hepatische Lipogenese in den Hepatozyten senkt die Spiegel des Transkriptionsfaktors HNF-4 $\alpha$  (Pugeat et al. 2010; Selva et al. 2007; Thaler et al. 2015). Da HNF-4 $\alpha$  am Promotor des SHBG-Gens hauptverantwortlich für die Verstärkung der SHBG-Transkription ist, führt dies in der Folge auch zu einer reduzierten SHBG-Expression (Pugeat et al. 2010). Lange wurde Insulin eine Hauptrolle bei der SHBG-Regulation zugeschrieben, jedoch sprechen neuere Forschungsergebnisse gegen eine direkte derartige Wirkung (Simó et al. 2015; Zhai et al. 2021). Stattdessen scheinen weitere Nahrungskomponenten und Zytokine wie das aus Fettgewebe sezernierte Adiponectin relevant zu sein (Simó et al. 2015). Im Hinblick auf Fertilitätseinschränkungen wurde SHBG als verbindendes Glied zwischen metabolischen und reproduktiven Prozessen vorgeschlagen (Meriem et al. 2016). Für einen erniedrigten SHBG-Serumspiegel wurde bereits spekuliert, dass er, ggf. in Verknüpfung mit einem funktionellen Hyperandrogenismus, einen Teil der zu im Rahmen von Übergewicht auftretenden Verschlechterung der IVF- bzw. ICSI-Therapieergebnisse

führenden Faktoren darstellen könnte (Pasquali et al. 2003). Insgesamt erschien aufgrund der vorherigen Studienergebnisse eine signifikante negative Assoziation des BMI mit dem SHBG-Serumspiegel auch in der vorliegenden Studie zu erwarten zu sein. Zu deren Fehlen könnte beigetragen haben, dass SHBG im Serum tatsächlich, im Gegensatz zu mit dem Leberfett, mit dem BMI nur eine indirekte Assoziation aufweist. Wie oben erwähnt, könnte das Nichterreichen der Signifikanz aber auch schlichtweg an einer zu geringen Fallzahl gelegen haben. Generell ist zu betonen, dass die in diesem Absatz angeführten Studienergebnisse allerdings nicht unter COS-Bedingungen erzielt wurden, welche jedoch in der vorliegenden Studie bestanden. Eine Überlagerung des BMI-bedingten Effektes durch Effekte der COS kann nicht ausgeschlossen werden als Ursache dafür, dass in der vorliegenden Studie die Korrelation des SHBG-Serumspiegels mit dem BMI die Signifikanz verfehlte. Allerdings zeigte sich die genannte Assoziation mit dem BMI auch unter Schwangerschaftsbedingungen (Xargay-Torrent et al. 2018). Auch wenn es eine vereinfachte Sichtweise ist, sind diese eventuell mit der Situation während der COS vergleichbar, da es hier in ähnlicher Weise zu einem Anstieg der SHBG-Serumspiegel kommt (Kamberi et al. 1988; Lin und Sun 2005; Odlind et al. 1982; Pearlman et al. 1967; Phocas et al. 1995). Aus diesem Grund erscheint eigentlich auch unter COS-Bedingungen eine Assoziation der SHBG-Serumspiegel mit dem BMI wahrscheinlich.

Da in der vorliegenden Studie die SHBG-Konzentration in der FF stärker invers mit dem BMI korrelierte als jene im Serum, kann spekuliert werden, dass zusätzliche Effekte neben den fürs Serum bekannten pathophysiologischen Mechanismen auftreten. Z. B. könnte Übergewicht über noch unbekannte Mechanismen zu einer geringeren Transsudation von SHBG in die Ovarialfollikel oder zu einer geringeren intrafollikulären SHBG-Produktion führen.

Des Weiteren fand sich kein signifikanter monotoner Zusammenhang zwischen der Streuung der SHBG-Konzentration der Follikel einer Patientin mit dem BMI. Ursprünglich hätte man spekulieren können, dass vielleicht bei Patientinnen mit Übergewicht die unterschiedlichen SHBG-Spiegel in den individuellen Follikeln nicht so gut aufrechterhalten werden können, und daher eine geringere Streuung vorliegt. Oder umgekehrt, dass vielleicht weniger gleichmäßige

SHBG-Spiegel in den Follikeln vorliegen, weil deren Konstanz weniger gut aufrechterhalten werden kann. Diese Überlegungen scheinen somit nicht weiter verfolgenswert.



## 5 Zusammenfassung

### 5.1 Deutsche Zusammenfassung

In den letzten Jahrzehnten hat sich die Idee gefestigt, dass Biomarker in der Ovarialfollikelflüssigkeit Therapieergebnisse der In-vitro-Fertilisation (IVF) bzw. Intrazytoplasmatischen Spermieninjektion (ICSI) vorhersagen können. Das Sexualhormon-bindende-Globulin (SHBG) könnte ein Kandidat sein, da eine Rolle in der lokalen Regulation der ovariellen Funktion vermutet wird.

Ziel dieser Arbeit war die Hypothesengenerierung über die Zusammenhänge der SHBG-Follikelflüssigkeitskonzentration mit den Follikelmerkmalen Eizellgewinn und Follikelgröße, IVF- und ICSI-Parametern wie Follikel- und Eizellanzahlen, Befruchtungsrate, Schwangerschafts- und Lebendgeburtseintritt, sowie den soziodemographischen und klinischen Parametern Alter und Body-Mass-Index (BMI). Zum Vergleich sollten diese Zusammenhänge auch mit der SHBG-Serumkonzentration am Tag der Follikelpunktion betrachtet werden. Des Weiteren sollte untersucht werden, ob die Streuung der SHBG-Konzentrationen der Follikel einer Patientin mit einem Teil der genannten Parameter zusammenhängt.

Es wurde eine prospektive, explorative Kohortenstudie am Reproduktionsmedizinischen Kompetenzzentrum Marburg durchgeführt. Insgesamt 327 Follikelflüssigkeitsproben von einzeln separierten Follikeln von 54 Patientinnen mit IVF- bzw. ICSI-Therapie wurden analysiert. Die statistische Auswertung erfolgte orientierend, ohne Adjustierung für multiples Testen.

SHBG war in der Follikelflüssigkeit signifikant niedriger konzentriert als im Serum. Es scheint eine teilweise Passagehemmung in den Follikel zu bestehen. Die SHBG-Konzentrationen in Follikelflüssigkeit und Serum korrelierten signifikant stark positiv. Dies spricht dafür, dass das SHBG in der Follikelflüssigkeit großteils aus dem Blutstrom stammt, während die intrafollikuläre SHBG-Synthese einen geringeren Einfluss auf den Follikelflüssigkeitsspiegel hat.

Es bestand kein wesentlicher Unterschied der SHBG-Konzentration zwischen Follikeln ohne gewonnene und mit gewonnener Eizelle. Somit wurde kein Hinweis darauf gefunden, dass SHBG eine relevante Rolle bei der Ablösung

des Cumulus-Eizell-Komplexes von der Follikelwand spielt. In kleinen ( $< 16$  mm) Follikeln war die SHBG-Konzentration höher als in großen ( $\geq 16$  mm) Follikeln. Der Unterschied verfehlte knapp die statistische Signifikanz ( $p = 0,055$ ).

Interessanterweise korrelierte der SHBG-Follikelflüssigkeitsspiegel mit einer Reihe von IVF- und ICSI-Parametern signifikant moderat positiv: der Anzahl der punktierten Follikel, der gewonnenen und der reifen Eizellen, die Rate der reifen Eizellen, der Anzahl der korrekt befruchteten Eizellen und der Befruchtungsrate. Der Serumspiegel korrelierte ausschließlich mit der Befruchtungsrate geringer und nicht signifikant, sodass für diese speziell der Follikelflüssigkeitsspiegel prädiktiv sein könnte. Daher sollte SHBG in der FF als Kandidat für einen Biomarker erfolgreicher IVF- bzw. ICSI-Therapieergebnisse angesehen werden. Allerdings reichte seine Vorhersagefähigkeit in der vorliegenden Studie nicht so weit, als dass er ein relevanter Unterschied der Spiegel zwischen Patientinnen ohne und mit Schwangerschafts- bzw. Lebendgeburtseintritt gefunden worden wäre. Zwei bisherige Studien berichteten hingegen signifikant höhere SHBG-Follikelflüssigkeitsspiegel bei später Schwangeren. Eventuell existiert diese Assoziation nur für eine bestimmte Konstellation von Follikelprofilen, Infertilitätsursachen und Therapieprotokollen.

Die SHBG-Konzentration korrelierte nicht signifikant mit dem Alter. Es ist zu beachten, dass die Betrachtung auf eine Altersspanne zwischen 25 und 47 Jahren begrenzt war. Zwischen SHBG-Follikelflüssigkeitsspiegel und BMI wurde eine signifikante, moderate negative Beziehung festgestellt. Dies ist interessant, da sich Übergewicht negativ auf Fertilität und IVF- bzw. ICSI-Therapieergebnisse auswirkt. Das Vorliegen einer negativen Korrelation mit dem BMI und einer positiven Korrelation mit einer Reihe erfolgreicher Therapieparameter erscheint daher in sich schlüssig.

Für keinen der betrachteten Parameter wurde eine Assoziation mit der Streuung der SHBG-Konzentration der Follikel der Patientin gefunden.

Die Studienergebnisse tragen ein Teil zum Mosaik der Erkenntnisse über Follikelflüssigkeitinhaltsstoffe und deren Assoziationen mit diversen Parametern bei. Letztendlich sind zur Bestätigung auch der signifikanten Studienergebnisse weitere Studien notwendig, bei denen mit Hilfe der schließenden Statistik Aussagen über die Grundgesamtheit getroffen werden dürfen.

## 5.2 Englische Zusammenfassung (Summary)

Over the last decades the idea has been established that biomarkers in the ovarian follicular fluid can predict in vitro fertilisation (IVF) and intracytoplasmic sperm injection (ICSI) outcomes. Sex hormone-binding globulin (SHBG) could be a candidate, as an important role in the local regulation of ovarian function is presumed.

The aim of this thesis was to generate hypotheses about the relationships between the follicular fluid SHBG concentration and the follicle characteristics oocyte retrieval and follicle size, IVF and ICSI parameters like follicle and oocyte counts, fertilisation rate, the occurrence of a pregnancy or live birth, and the sociodemographic and clinical parameters age and body mass index (BMI). For comparison, these relationships should also be examined with the serum SHBG concentration on oocyte retrieval day. Moreover, it should be examined whether the dispersion of the SHBG concentrations of the follicles from a patient is associated with some of those parameters.

A prospective, explorative cohort study was carried out at the competence centre of reproductive medicine in Marburg. A total of 327 follicular fluid samples of individually separated follicles from 54 patients undergoing IVF or ICSI treatment was analysed. Statistical analysis was orientative, without adjustment for multiple testing.

SHBG was significantly lower concentrated in follicular fluid than in serum. Its passage into the follicle seems to be partially inhibited. The SHBG concentrations in follicular fluid and serum correlated significantly and strongly positively. This indicates that SHBG in follicular fluid largely derives from the bloodstream, while intrafollicular SHBG synthesis has a lesser impact on the follicular fluid level.

No marked difference of the SHBG level between follicles without and with retrieved oocyte was found. Thus, there was no indication that SHBG plays a relevant role in the process of cumulus-oocyte complex detachment. In small (< 16 mm) follicles, the SHBG concentration was higher than in large ( $\geq 16$  mm) follicles. The difference narrowly missed statistical significance ( $p = 0,055$ ).

Interestingly, the follicular fluid SHBG level showed a significant moderate positive correlation with several of the IVF and ICSI parameters: the number of

punctured follicles, of retrieved and of mature oocytes, the rate of mature oocytes, the number of correctly fertilised oocytes and the fertilisation rate. Solely with the fertilisation rate, the serum SHBG level showed a lower and not significant correlation. Thus, the follicular fluid level in particular could be predictive of it. Therefore, SHBG in follicular fluid should be considered as a candidate for a biomarker of successful IVF and ICSI treatment outcomes. However, its predictive ability did not reach as far as the occurrence of pregnancy or live birth. No relevant difference of the SHBG levels between patients without and with pregnancy, or live birth, was observed. Conversely, two previous studies reported significantly higher follicular fluid SHBG levels in women who subsequently conceived. This association may exist solely for a particular constellation of follicle profiles, causes of infertility and treatment protocols.

The SHBG level did not correlate with age. It should be noted that the examination was limited to an age span from 25 to 47 years. A significant moderate negative correlation between follicular fluid SHBG level and BMI was found. This is interesting, as overweight negatively impacts fertility and IVF and ICSI treatment outcomes. The existence of a negative correlation with BMI and a positive correlation with several successful treatment parameters seems to be consistent.

None of the examined parameters showed an association with the dispersion of the SHBG concentrations of the follicles from the patient.

The study results contribute a piece to the mosaic of the knowledge about follicular fluid constituents and their association with various parameters. Eventually, to confirm the study results including the significant ones, further studies that allow to make statements about the population using inferential statistics are needed.

## 6 Literaturverzeichnis

- Abbasi-Shavazi MJ, Inhorn MC, Razeghi-Nasrabad HB, Toloo G (2008): The “Iranian ART Revolution”: Infertility, assisted reproductive technology, and third-party donation in the Islamic Republic of Iran. In: *Journal of Middle East Women's Studies* 4 (2), S. 1–28. DOI: 10.2979/MEW.2008.4.2.1.
- Akin F, Bastemir M, Alkis E, Kaptanoglu B (2008): Associations between sex hormone binding globulin and metabolic syndrome parameters in premenopausal obese women. In: *Indian journal of medical sciences* 62 (10), S. 407–415. DOI: 10.4103/0019-5359.44020.
- Al-Hasani S, Diedrich K (2020a): Bewertung der Qualität menschlicher Oozyten und Embryonen. In: Diedrich K, Ludwig M, Griesinger G (Hg.): *Reproduktionsmedizin*. Berlin, Heidelberg: Springer (Springer Reference Medizin), S. 227–234.
- Al-Hasani S, Diedrich K (2020b): Embryonentransfer. In: Diedrich K, Ludwig M, Griesinger G (Hg.): *Reproduktionsmedizin*. Berlin, Heidelberg: Springer (Springer Reference Medizin), S. 257–262.
- Anderson DC (1974): Sex-hormone-binding globulin. In: *Clinical endocrinology* 3 (1), S. 69–96. DOI: 10.1111/j.1365-2265.1974.tb03298.x.
- Anifandis GM, Dafopoulos K, Messini CI, Chalvatzas N, Liakos N, Pournaras S, Messinis IE (2010): Prognostic value of follicular fluid 25-OH vitamin D and glucose levels in the IVF outcome. In: *Reproductive Biology and Endocrinology* 8, S. 91. DOI: 10.1186/1477-7827-8-91.
- Aribas E, Kavousi M, Laven JSE, Ikram MA, van Roeters Lennep JE (2021): Aging, Cardiovascular Risk, and SHBG Levels in Men and Women From the General Population. In: *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 106 (10), S. 2890–2900. DOI: 10.1210/clinem/dgab470.
- Arnanz A, Munck N de, El Khatib I, Bayram A, Abdala A, Melado L et al. (2020): Vitamin D in Follicular Fluid Correlates With the Euploid Status of Blastocysts in a Vitamin D Deficient Population. In: *Frontiers in endocrinology* 11, S. 609524. DOI: 10.3389/fendo.2020.609524.
- Azrad M, Gower BA, Hunter GR, Nagy TR (2012): Intra-abdominal adipose tissue is independently associated with sex-hormone binding globulin in premenopausal women. In: *Obesity (Silver Spring)* 20 (5), S. 1012–1015. DOI: 10.1038/oby.2011.375.
- Bächler M, Menshykau D, Geyter C de, Iber D (2014): Species-specific differences in follicular antral sizes result from diffusion-based limitations on the thickness of the granulosa cell layer. In: *Molecular human reproduction* 20 (3), S. 208–221. DOI: 10.1093/molehr/gat078.

- Balaban B, Urman B (2006): Effect of oocyte morphology on embryo development and implantation. In: *Reproductive biomedicine online* 12 (5), S. 608–615. DOI: 10.1016/S1472-6483(10)61187-X.
- Barbieri RL, Sluss PM, Powers RD, McShane PM, Vitonis A, Ginsburg E, Cramer DC (2005): Association of body mass index, age, and cigarette smoking with serum testosterone levels in cycling women undergoing in vitro fertilization. In: *Fertility and Sterility* 83 (2), S. 302–308. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2004.07.956.
- Basuino L, Silveira CF (2016): Human follicular fluid and effects on reproduction. In: *JBRA assisted reproduction* 20 (1), S. 38–40. DOI: 10.5935/1518-0557.20160009.
- Becker K-F, Wipperfurth J, Herpel E (2018): Präanalytik und Biobanking : Einfluss präanalytischer Faktoren auf die Gewebeprobenqualität. In: *Der Pathologe* 39 (4), S. 297–302. DOI: 10.1007/s00292-018-0437-7.
- Benkhalifa M, Madkour A, Louanjli N, Bouamoud N, Saadani B, Kaarouch I et al. (2015): From global proteome profiling to single targeted molecules of follicular fluid and oocyte: contribution to embryo development and IVF outcome. In: *Expert Review of Proteomics* 12 (4), S. 407–423. DOI: 10.1586/14789450.2015.1056782.
- Ben-Rafael Z, Mastroianni L, Meloni F, Lee MS, Flickinger GL (1986): Total estradiol, free estradiol, sex hormone-binding globulin, and the fraction of estradiol bound to sex hormone-binding globulin in human follicular fluid. In: *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 63 (5), S. 1106–1111. DOI: 10.1210/jcem-63-5-1106.
- Ben-Rafael Z, Meloni F, Strauss JF, Blasco L, Mastroianni L, Flickinger GL (1987a): Relationships between polypronuclear fertilization and follicular fluid hormones in gonadotropin-treated women. In: *Fertility and Sterility* 47 (2), S. 284–288. DOI: 10.1016/S0015-0282(16)50007-7.
- Ben-Rafael Z, Strauss JF, Arendash-Durand B, Mastroianni L, Flickinger GL (1987b): Changes in thyroid function tests and sex hormone binding globulin associated with treatment by gonadotropin. In: *Fertility and Sterility* 48 (2), S. 318–320. DOI: 10.1016/S0015-0282(16)59363-7.
- Bentov Y, Jurisicova A, Kenigsberg S, Casper RF (2016): What maintains the high intra-follicular estradiol concentration in pre-ovulatory follicles? In: *Journal of assisted reproduction and genetics* 33 (1), S. 85–94. DOI: 10.1007/s10815-015-0612-1.
- Bianchi L, Gagliardi A, Landi C, Focarelli R, Leo V de, Luddi A et al. (2016): Protein pathways working in human follicular fluid: the future for tailored IVF? In: *Expert Reviews in Molecular Medicine* 18, e9. DOI: 10.1017/erm.2016.4.

- Bidlingmaier M (2018): Sexualhormon-bindendes Globulin. In: Gressner AM, Arndt T (Hg.): Lexikon der medizinischen Laboratoriumsdiagnostik. Berlin: Springer (Springer Reference Medizin), S. 2155–2157.
- Brähler E, Stöbel-Richter Y, Huinink J, Glander HJ (2001): Zur Epidemiologie gewollter und ungewollter Kinderlosigkeit in Ost- und Westdeutschland. In: *Reproduktionsmedizin* 17 (3), S. 157–162. DOI: 10.1007/s004440100264.
- Brailly S, Gougeon A, Milgrom E, Bomsel-Helmreich O, Papiernik E (1981): Androgens and progestins in the human ovarian follicle: differences in the evolution of preovulatory, healthy nonovulatory, and atretic follicles. In: *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 53 (1), S. 128–134. DOI: 10.1210/jcem-53-1-128.
- Broekmans FJ, Soules MR, Fauser BC (2009): Ovarian aging: mechanisms and clinical consequences. In: *Endocrine reviews* 30 (5), S. 465–493. DOI: 10.1210/er.2009-0006.
- Bundesministerium des Innern (Hg.) (2012): Jedes Alter zählt. Demografiestrategie der Bundesregierung. Berlin. Online verfügbar unter <https://www.demografie-portal.de/DE/Politik/Bund/demografiestrategie.html>, zuletzt geprüft am 02.08.2021.
- Buselmaier W, Tariverdian G (2007): Zwillingsmethoden in der humangenetischen Forschung. In: Buselmaier W, Tariverdian G (Hg.): Humangenetik. 4., neu bearbeitete Auflage. Berlin, Heidelberg: Springer Medizin Verlag (Springer-Lehrbuch), S. 351–364.
- BZgA (2013): Warum gerade wir? Wenn ungewollte Kinderlosigkeit die Seele belastet. Kinderwunsch 4. Hg. v. Bundeszentrale für gesundheitliche Aufklärung. Köln. Online verfügbar unter <https://www.bzga.de/infomaterialien/familienplanung/kinderwunsch/>, zuletzt geprüft am 19.08.2021.
- BZgA (2017): Sehnsucht nach einem Kind. Möglichkeiten und Grenzen der Medizin. Kinderwunsch 3. Hg. v. Bundeszentrale für gesundheitliche Aufklärung. Köln. Online verfügbar unter <https://www.bzga.de/infomaterialien/familienplanung/kinderwunsch/>, zuletzt geprüft am 31.08.2021.
- Cai J, Lou H-y, Dong M-Y, Lu X-E, Zhu Y-m, Gao H-j, Huang H-F (2007): Poor ovarian response to gonadotropin stimulation is associated with low expression of follicle-stimulating hormone receptor in granulosa cells. In: *Fertility and Sterility* 87 (6), S. 1350–1356. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2006.11.034.
- Caldwell JD, Jirikowski GF (2009): Sex hormone binding globulin and aging. In: *Hormone and metabolic research* 41 (3), S. 173–182. DOI: 10.1055/s-0028-1093351.

- Campo SM, Rogers PA, Findlay JK (1989): Sex-hormone-binding globulin in human follicular fluid and serum at the time of oocyte recovery. In: *Reproduction, fertility, and development* 1 (4), S. 289–297. DOI: 10.1071/rd9890289.
- Cavender JL, Murdoch WJ (1988): Morphological studies of the microcirculatory system of periovulatory ovine follicles. In: *Biology of reproduction* 39 (4), S. 989–997. DOI: 10.1095/biolreprod39.4.989.
- CBBMR Marburg (2021): Was ist eine Biobank? Online verfügbar unter <https://www.cbbmr.de/was-ist-eine-biobank>, zuletzt geprüft am 21.07.2021.
- Chen F, Spiessens C, D'Hooghe T, Peeraer K, Carpentier S (2016): Follicular fluid biomarkers for human in vitro fertilization outcome: Proof of principle. In: *Proteome Science* 14 (1), S. 17. DOI: 10.1186/s12953-016-0106-9.
- Cikim AS, Ozbey N, Sencer E, Molvalilar S, Orhan Y (2004): Associations among sex hormone binding globulin concentrations and characteristics of the metabolic syndrome in obese women. In: *Diabetes, nutrition & metabolism* 17 (5), S. 290–295.
- Cohen J (1988): *Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences*. 2nd ed. Hillsdale: L. Erlbaum Associates.
- Collatz K-G, Meier K (2018): *Menstruationszyklus*. Spektrum der Wissenschaft Verlagsgesellschaft mbH. Heidelberg. Online verfügbar unter <https://www.spektrum.de/lexikon/biologie/menstruationszyklus/42128>, zuletzt aktualisiert am 04.09.2018, zuletzt geprüft am 07.08.2019.
- Cooper LA, Page ST, Amory JK, Anawalt BD, Matsumoto AM (2015): The association of obesity with sex hormone-binding globulin is stronger than the association with ageing--implications for the interpretation of total testosterone measurements. In: *Clinical endocrinology* 83 (6), S. 828–833. DOI: 10.1111/cen.12768.
- Cordes T (2020): Endokrine Kontrolle der Ovarfunktion. In: Diedrich K, Ludwig M, Griesinger G (Hg.): *Reproduktionsmedizin*. Berlin, Heidelberg: Springer (Springer Reference Medizin), S. 23–38.
- Costa LOB, Mendes MC, Ferriani RA, Moura MD, Reis RM, Silva de Sá MF (2004): Estradiol and testosterone concentrations in follicular fluid as criteria to discriminate between mature and immature oocytes. In: *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 37 (11), S. 1747–1755. DOI: 10.1590/S0100-879X2004001100021.
- Cran DG, Moor RM, Hay MF (1976): Permeability of ovarian follicles to electron-dense macromolecules. In: *Acta endocrinologica* 82 (3), S. 631–636. DOI: 10.1530/acta.0.0820631.



Cwikel J, Gidron Y, Sheiner E (2004): Psychological interactions with infertility among women. In: *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology* 117 (2), S. 126–131. DOI: 10.1016/j.ejogrb.2004.05.004.

Da Broi MG, Giorgi VSI, Wang F, Keefe DL, Albertini D, Navarro PA (2018): Influence of follicular fluid and cumulus cells on oocyte quality: clinical implications. In: *Journal of assisted reproduction and genetics* 35 (5), S. 735–751. DOI: 10.1007/s10815-018-1143-3.

Dağ ZÖ, Dilbaz B (2015): Impact of obesity on infertility in women. In: *Journal of the Turkish German Gynecological Association* 16 (2), S. 111–117. DOI: 10.5152/jtgga.2015.15232.

Datta J, Palmer MJ, Tanton C, Gibson LJ, Jones KG, Macdowall W et al. (2016): Prevalence of infertility and help seeking among 15 000 women and men. In: *Human reproduction (Oxford, England)* 31 (9), S. 2108–2118. DOI: 10.1093/humrep/dew123.

Deswal R, Yadav A, Dang AS (2018): Sex hormone binding globulin - an important biomarker for predicting PCOS risk: A systematic review and meta-analysis. In: *Systems biology in reproductive medicine* 64 (1), S. 12–24. DOI: 10.1080/19396368.2017.1410591.

Deutsches IVF-Register e.V. (Hg.) (2018): DIR Jahrbuch 2017. Sonderheft 1 2018. *Journal für Reproduktionsmedizin und Endokrinologie*: Krause & Pachernegg GmbH.

Deutsches IVF-Register e.V. (Hg.) (2020): DIR Jahrbuch 2019. Sonderheft 1 2020. *Journal für Reproduktionsmedizin und Endokrinologie*: Krause & Pachernegg GmbH.

Deutzmann R (2016): Hormone. In: Rassow J, Hauser K, Netzker R, Deutzmann R (Hg.): *Biochemie*. 4. Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, S. 582–648.

Dittrich R, Kliesch S, Schüring A (2017): Einleitung in die Thematik Fertilitätsprotektion bei onkologischen Erkrankungen. In: DGGG e.V., DGRM e. V., DGU e.V. (Hg.): *Fertilitätserhalt bei onkologischen Erkrankungen*. S2k-Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe e.V., Deutschen Gesellschaft für Reproduktionsmedizin e.V. und Deutschen Gesellschaft für Urologie e.V. Registernummer 015 - 082, S. 39–44. Online verfügbar unter <https://www.awmf.org/leitlinien/detail/II/015-082.html>, zuletzt geprüft am 02.08.2021.

Dorn A, Wischmann T (2020): Psychosomatik und psychosoziale Betreuung in der Reproduktionsmedizin. In: Diedrich K, Ludwig M, Griesinger G (Hg.): *Reproduktionsmedizin*. Berlin, Heidelberg: Springer (Springer Reference Medizin), S. 491–507.

- Dowsett M, Attree SL, Virdee SS, Jeffcoate SL (1985): Oestrogen-related changes in sex hormone binding globulin levels during normal and gonadotrophin-stimulated menstrual cycles. In: *Clinical endocrinology* 23 (3), S. 303–312. DOI: 10.1111/j.1365-2265.1985.tb00228.x.
- Dumesic DA, Lesnick TG, Abbott DH (2007): Increased adiposity enhances intrafollicular estradiol levels in normoandrogenic ovulatory women receiving gonadotropin-releasing hormone analog/recombinant human follicle-stimulating hormone therapy for in vitro fertilization. In: *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 92 (4), S. 1438–1441. DOI: 10.1210/jc.2006-2161.
- Dumesic DA, Meldrum DR, Katz-Jaffe MG, Krisher RL, Schoolcraft WB (2015): Oocyte environment: follicular fluid and cumulus cells are critical for oocyte health. In: *Fertility and Sterility* 103 (2), S. 303–316. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2014.11.015.
- Ebner T, Diedrich K (2020): In-vitro-Fertilisation und intrazytoplasmatische Spermieninjektion. In: Diedrich K, Ludwig M, Griesinger G (Hg.): Reproduktionsmedizin. Berlin, Heidelberg: Springer (Springer Reference Medizin), S. 217–226.
- ESHRE Capri Workshop Group (2001): Social determinants of human reproduction. In: *Human reproduction (Oxford, England)* 16 (7), S. 1518–1526. DOI: 10.1093/humrep/16.7.1518.
- Espey LL (1980): Ovulation as an inflammatory reaction - A hypothesis. In: *Biology of reproduction* 22 (1), S. 73–106. DOI: 10.1095/biolreprod22.1.73.
- Evans DJ, Hoffmann RG, Kalkhoff RK, Kissebah AH (1983): Relationship of androgenic activity to body fat topography, fat cell morphology, and metabolic aberrations in premenopausal women. In: *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 57 (2), S. 304–310. DOI: 10.1210/jcem-57-2-304.
- F. Hoffmann-La Roche Ltd (2021): Elektrochemilumineszenz (ECL). Einzigartige Immunoassay-Technologie. Online verfügbar unter <https://diagnostics.roche.com/ch/de/products/systems/electrochemiluminescence-ecl-unique-immunoassay-technology.html>, zuletzt aktualisiert am 02.07.2021, zuletzt geprüft am 15.07.2021.
- Fan Y, Chang Y, Wei L, Chen J, Li J, Goldsmith S et al. (2019): Apoptosis of mural granulosa cells is increased in women with diminished ovarian reserve. In: *Journal of assisted reproduction and genetics* 36 (6), S. 1225–1235. DOI: 10.1007/s10815-019-01446-5.
- Forges T, Gérard A, Hess K, Monnier-Barbarino P, Gérard H (2004): Expression of sex hormone-binding globulin (SHBG) in human granulosa-lutein cells. In: *Molecular and Cellular Endocrinology* 219 (1-2), S. 61–68. DOI: 10.1016/j.mce.2004.01.011.

- Forges T, Gérard A, Monnier-Barbarino P, Gérard H (2005): Immunolocalization of sex hormone-binding globulin (SHBG) in human ovarian follicles and corpus luteum. In: *Histochemistry and cell biology* 124 (3-4), S. 285–290. DOI: 10.1007/s00418-005-0006-z.
- Fortunati N (1999): Sex hormone-binding globulin: not only a transport protein. What news is around the corner? In: *Journal of endocrinological investigation* 22 (3), S. 223–234. DOI: 10.1007/BF03343547.
- Fridström M, Carlström K, Sjöblom P, Hillensjö T (1999): Effect of prednisolone on serum and follicular fluid androgen concentrations in women with polycystic ovary syndrome undergoing in-vitro fertilization. In: *Human reproduction (Oxford, England)* 14 (6), S. 1440–1444. DOI: 10.1093/humrep/14.6.1440.
- Fuentes A, Sequeira K, Tapia-Pizarro A, Muñoz A, Salinas A, Céspedes P et al. (2019): Androgens profile in blood serum and follicular fluid of women with poor ovarian response during controlled ovarian stimulation reveals differences amongst POSEIDON stratification groups: A pilot study. In: *Frontiers in endocrinology* 10, S. 458. DOI: 10.3389/fendo.2019.00458.
- G-BA (2017): Richtlinien des Bundesausschusses der Ärzte und Krankenkassen über ärztliche Maßnahmen zur künstlichen Befruchtung ("Richtlinien über künstliche Befruchtung"). Gemeinsamer Bundesausschuss. Online verfügbar unter <https://www.g-ba.de/richtlinien/1/>, zuletzt geprüft am 07.11.2019.
- Gerard A (1995): Endocytosis of androgen-binding protein (ABP) by spermatogenic cells. In: *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology* 53 (1-6), S. 533–542. DOI: 10.1016/0960-0760(95)00109-D.
- Gerard H, Gerard A, En Nya A, Felden F, Gueant JL (1994): Spermatogenic cells do internalize Sertoli androgen-binding protein: a transmission electron microscopy autoradiographic study in the rat. In: *Endocrinology* 134 (3), S. 1515–1527. DOI: 10.1210/endo.134.3.8119194.
- Gérard A, Bedjou R, Clerc A, Maachi F, Closset J, Hammond GL et al. (1996): Growth response of adult germ cells to rat androgen-binding protein and human sex hormone-binding globulin. In: *Hormone research* 45 (3-5), S. 218–221. DOI: 10.1159/000184791.
- Gérard N, Loiseau S, Duchamp G, Seguin F (2002): Analysis of the variations of follicular fluid composition during follicular growth and maturation in the mare using proton nuclear magnetic resonance (1H NMR). In: *Reproduction (Cambridge, England)* 124 (2), S. 241–248.
- Gilchrist RB, Lane M, Thompson JG (2008): Oocyte-secreted factors: regulators of cumulus cell function and oocyte quality. In: *Human reproduction update* 14 (2), S. 159–177. DOI: 10.1093/humupd/dmm040.

- Göbel K, Meuth SG (2018): Blut-Hirn-Schranke, Liquor cerebrospinalis, Hirndurchblutung und Hirnstoffwechsel. In: Pape H-C, Kurtz A, Silbernagl S (Hg.): Physiologie. 8., unveränderte Auflag. Stuttgart: Thieme, S. 949–956.
- Goldman AL, Bhasin S, Wu FCW, Krishna M, Matsumoto AM, Jasuja R (2017): A Reappraisal of Testosterone's Binding in Circulation: Physiological and Clinical Implications. In: *Endocrine reviews* 38 (4), S. 302–324. DOI: 10.1210/er.2017-00025.
- Goldrat O, van den Steen G, Gonzalez-Merino E, Dechène J, Gervy C, Delbaere A et al. (2019): Letrozole-associated controlled ovarian hyperstimulation in breast cancer patients versus conventional controlled ovarian hyperstimulation in infertile patients: assessment of oocyte quality related biomarkers. In: *Reproductive Biology and Endocrinology* 17 (1), S. 3. DOI: 10.1186/s12958-018-0443-x.
- Goldštajn MŠ, Toljan K, Grgić F, Jurković I, Baldani DP (2016): Sex hormone binding globulin (SHBG) as a marker of clinical disorders. In: *Collegium antropologicum* 40 (3), S. 199–209.
- Gosden RG, Hunter RH, Telfer E, Torrance C, Brown N (1988): Physiological factors underlying the formation of ovarian follicular fluid. In: *Journal of reproduction and fertility* 82 (2), S. 813–825. DOI: 10.1530/jrf.0.0820813.
- Gougeon A (1981): Frequent occurrence of multiovular follicles and multinuclear oocytes in the adult human ovary\*\*Supported by the Paris Sud School of Medicine, U. E. R., Kremlin Bicêtre, and the Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM). In: *Fertility and Sterility* 35 (4), S. 417–422. DOI: 10.1016/S0015-0282(16)45436-1.
- Griesinger G (2020): Ovulationsinduktion und ovarielle Stimulation. In: Diedrich K, Ludwig M, Griesinger G (Hg.): Reproduktionsmedizin. Berlin, Heidelberg: Springer (Springer Reference Medizin), S. 115–141.
- Gu L, Liu H, Gu X, Boots C, Moley KH, Wang Q (2015): Metabolic control of oocyte development: linking maternal nutrition and reproductive outcomes. In: *Cell. Mol. Life Sci.* 72 (2), S. 251–271. DOI: 10.1007/s00018-014-1739-4.
- Gustafson O, Nylund L, Carlström K (1996): Does hyperandrogenism explain lower in vitro fertilization (IVF) success rates in smokers? In: *Acta obstetricia et gynecologica Scandinavica* 75 (2), S. 149–156. DOI: 10.3109/00016349609033308.
- Ha JY, Ban SH, Lee HJ, Lee M (2020): Effects of First Assisted Reproductive Technologies on Anxiety and Depression among Infertile Women: A Systematic Review and Meta-Analysis. In: *Journal of Korean Academy of Nursing* 50 (3), S. 369–384. DOI: 10.4040/jkan.19187.
- Hajamor S, Després J-P, Couillard C, Lemieux S, Tremblay A, Prud'homme D, Tchernof A (2003): Relationship between sex hormone-binding globulin levels

and features of the metabolic syndrome. In: *Metabolism* 52 (6), S. 724–730. DOI: 10.1016/S0026-0495(03)00066-0.

Hammond GL (2011): Diverse roles for sex hormone-binding globulin in reproduction. In: *Biology of reproduction* 85 (3), S. 431–441. DOI: 10.1095/biolreprod.111.092593.

Handelsman DJ, Sikaris K, Ly LP (2016): Estimating age-specific trends in circulating testosterone and sex hormone-binding globulin in males and females across the lifespan. In: *Annals of clinical biochemistry* 53 (Pt 3), S. 377–384. DOI: 10.1177/0004563215610589.

Hanrieder J, Nyakas A, Naessén T, Bergquist J (2008): Proteomic analysis of human follicular fluid using an alternative bottom-up approach. In: *Journal of proteome research* 7 (1), S. 443–449. DOI: 10.1021/pr070277z.

Hasson J, Tulandi T, Shavit T, Shaulov T, Seccareccia E, Takefman J (2017): Quality of life of immigrant and non-immigrant infertile patients in a publicly funded in vitro fertilisation program: a cross-sectional study. In: *BJOG : an international journal of obstetrics and gynaecology* 124 (12), S. 1841–1847. DOI: 10.1111/1471-0528.14709.

Hatzi E, Bouba I, Galidi A, Lazaros L, Xita N, Sakaloglou P et al. (2011): Association of serum and follicular fluid SHBG levels and SHBG (TAAAA)n polymorphism with follicle size in women undergoing ovarian stimulation. In: *Gynecological endocrinology : the official journal of the International Society of Gynecological Endocrinology* 27 (1), S. 27–32. DOI: 10.3109/09513590.2010.493961.

Hauer H, Ditschuneit HH, Pal SB, Moncayo R, Pfeiffer EF (1988): Fat distribution, endocrine and metabolic profile in obese women with and without hirsutism. In: *Metabolism* 37 (3), S. 281–286. DOI: 10.1016/0026-0495(88)90109-6.

Hennet ML, Combelles CMH (2012): The antral follicle: a microenvironment for oocyte differentiation. In: *The International journal of developmental biology* 56 (10-12), S. 819–831. DOI: 10.1387/ijdb.120133cc.

Henríquez S, Kohen P, Xu X, Villarroel C, Muñoz A, Godoy A et al. (2020): Significance of pro-angiogenic estrogen metabolites in normal follicular development and follicular growth arrest in polycystic ovary syndrome. In: *Human reproduction (Oxford, England)* 35 (7), S. 1655–1665. DOI: 10.1093/humrep/deaa098.

Herold G (2021): Stoffwechselkrankheiten. In: Herold G (Hg.): *Innere Medizin 2021*. Berlin: De Gruyter, S. 701–721.

Hess KA, Chen L, Larsen WJ (1998): The ovarian blood follicle barrier is both charge- and size-selective in mice. In: *Biology of reproduction* 58 (3), S. 705–711. DOI: 10.1095/biolreprod58.3.705.

- Hillier SG, Reichert LE, van Hall EV (1981): Control of preovulatory follicular estrogen biosynthesis in the human ovary. In: *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 52 (5), S. 847–856. DOI: 10.1210/jcem-52-5-847.
- Huang X, Li L, Hong L, Zhou W, Shi H, Zhang H et al. (2015): The Ser680Asn polymorphism in the follicle-stimulating hormone receptor gene is associated with the ovarian response in controlled ovarian hyperstimulation. In: *Clinical endocrinology* 82 (4), S. 577–583. DOI: 10.1111/cen.12573.
- Ittner E, Himmel W, Kochen MM (2000): Ungewollte Kinderlosigkeit in der Hausarztpraxis: Beratungs- und Betreuungsbedarf. In: Brähler E, Felder H, Strauß B (Hg.): *Fruchtbarkeitsstörungen*. Göttingen, Bern, Toronto: Hogrefe Verlag für Psychologie (Jahrbuch der medizinischen Psychologie, 17), S. 229–244.
- Jin M, Wener MH, Bankson DD (2006): Evaluation of automated sex hormone binding globulin immunoassays. In: *Clinical biochemistry* 39 (1), S. 91–94. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2005.10.012.
- Jones ASK, Shikanov A (2019): Follicle development as an orchestrated signaling network in a 3D organoid. In: *Journal of biological engineering* 13. DOI: 10.1186/s13036-018-0134-3.
- Joseph DR (1994): Structure, Function, and Regulation of Androgen-Binding Protein/Sex Hormone-Binding Globulin. In: *Vitamins and hormones* 49, S. 197–280. DOI: 10.1016/s0083-6729(08)61148-6.
- Kahn SM, Hryb DJ, Nakhla AM, Romas NA, Rosner W (2002): Sex hormone-binding globulin is synthesized in target cells. In: *The Journal of endocrinology* 175 (1), S. 113–120. DOI: 10.1677/joe.0.1750113.
- Kamberi IA, Skaf RA, Ances IG (1988): Neurotransmitters and sex-hormone profiles in the human serum and ovarian follicular fluid of in vitro fertilization participants. In: *Annals of the New York Academy of Sciences* 541, S. 190–196. DOI: 10.1111/j.1749-6632.1988.tb22255.x.
- Kapoor P, Luttrell BM, Williams D (1993): The Free Androgen Index is not valid for adult males. In: *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology* 45 (4), S. 325–326. DOI: 10.1016/0960-0760(93)90350-6.
- Keevil BG, Adaway J (2019): Assessment of free testosterone concentration. In: *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology* 190, S. 207–211. DOI: 10.1016/j.jsbmb.2019.04.008.
- Khetarpal A, Singh S (2012): Infertility: Why can't we classify this inability as disability? In: *The Australasian medical journal* 5 (6), S. 334–339. DOI: 10.4066/AMJ.2012.1290.

Kleinstein J, Brössner AB (2008): Lutealphase nach ovarieller Stimulation und Lutealphasensubstitution. In: *Gynäkologische Endokrinologie* 6 (3), S. 160–164. DOI: 10.1007/s10304-008-0275-4.

Koskova I, Petrasek R, Vondra K, Duskova M, Starka L (2009): Metabolic profile and sex hormone binding globulin (SHBG) in different reproductive phases of Czech women and their relations to weight, body composition and fat distribution. In: *Physiological research* 58 (3), S. 393–402. DOI: 10.33549/physiolres.931364.

Kosteria I, Anagnostopoulos AK, Kanaka-Gantenbein C, Chrousos GP, Tsangaris GT (2017): The Use of Proteomics in Assisted Reproduction. In: *IVF* 31 (3), S. 267–283. DOI: 10.21873/invivo.11056.

Lazaros LA, Hatzi EG, Pamporaki CE, Sakaloglou PI, Xita NV, Markoula SI et al. (2012): The ovarian response to standard gonadotrophin stimulation depends on FSHR, SHBG and CYP19 gene synergism. In: *Journal of assisted reproduction and genetics* 29 (11), S. 1185–1191. DOI: 10.1007/s10815-012-9849-0.

Le TN, Nestler JE, Strauss JF, Wickham EP (2012): Sex hormone-binding globulin and type 2 diabetes mellitus. In: *Trends in endocrinology and metabolism: TEM* 23 (1), S. 32–40. DOI: 10.1016/j.tem.2011.09.005.

Li C-J, Lin L-T, Tsai H-W, Chern C-U, Wen Z-H, Wang P-H, Tsui K-H (2021): The Molecular Regulation in the Pathophysiology in Ovarian Aging. In: *Aging and disease* 12 (3), S. 934–949. DOI: 10.14336/AD.2020.1113.

Li J, Cooke S, Tyler JP, Bentley MJ, Kime L, Driscoll GL (2000): Oocyte morphology and early zygote cleavage does not appear to be related to intrafollicular concentrations of inhibin-A or -B. In: *Journal of assisted reproduction and genetics* 17 (8), S. 425–430. DOI: 10.1023/a:1009461117779.

Lin K-C, Sun M-J (2005): Relationship between sex hormone-binding globulin and pregnancy outcome in women undergoing controlled ovarian hyperstimulation for assisted reproduction. In: *Endocrine journal* 52 (4), S. 407–412. DOI: 10.1507/endocrj.52.407.

Lin PC, Abdallah MA, Eblen AC, Nakajima ST (2002): Serum and follicular fluid hormonal levels during ovulation induction. In: *Fertility and Sterility* 77 (3), S. 635–637. DOI: 10.1016/S0015-0282(01)03200-9.

Lindstedt G, Lundberg PA, Lapidus L, Lundgren H, Bengtsson C, Björntorp P (1991): Low sex-hormone-binding globulin concentration as independent risk factor for development of NIDDM. 12-yr follow-up of population study of women in Gothenburg, Sweden. In: *Diabetes* 40 (1), S. 123–128. DOI: 10.2337/diab.40.1.123.

Liu G, Liu S, Xing G, Wang F (2020a): lncRNA PVT1/MicroRNA-17-5p/PTEN Axis Regulates Secretion of E2 and P4, Proliferation, and Apoptosis of Ovarian Granulosa Cells in PCOS. In: *Molecular therapy. Nucleic acids* 20, S. 205–216. DOI: 10.1016/j.omtn.2020.02.007.

Liu X, Wang Y, Zhu P, Wang J, Liu J, Li N et al. (2020b): Human follicular fluid proteome reveals association between overweight status and oocyte maturation abnormality. In: *Clinical proteomics* 17 (1), S. 22. DOI: 10.1186/s12014-020-09286-7.

Liu Y, Zhao X-X, Hu X-J, Yang F, Lin P, Cui S-C et al. (2019): Effect of sex hormone-binding globulin polymorphisms on the outcome of in vitro fertilization-embryo transfer for polycystic ovary syndrome patients: A case-control study. In: *Journal of cellular biochemistry* 120 (3), S. 4675–4686. DOI: 10.1002/jcb.27756.

Ludwig M (2020): Follikelpunktion und Eizellgewinnung. In: Diedrich K, Ludwig M, Griesinger G (Hg.): *Reproduktionsmedizin*. Berlin, Heidelberg: Springer (Springer Reference Medizin), S. 213–216.

Ludwig M, Diedrich K, Nawroth F (2020a): Was ist „Sterilität“ – eine Begriffsbestimmung. In: Diedrich K, Ludwig M, Griesinger G (Hg.): *Reproduktionsmedizin*. Berlin, Heidelberg: Springer (Springer Reference Medizin), S. 3–9.

Ludwig M, Nawroth F, Dorn C, Sonntag B (2020b): Die Patientin über 40 mit Kinderwunsch. In: Diedrich K, Ludwig M, Griesinger G (Hg.): *Reproduktionsmedizin*. Berlin, Heidelberg: Springer (Springer Reference Medizin), S. 391–399.

Lüllmann-Rauch R, Asan E (2019): Weibliche Geschlechtsorgane. In: Lüllmann-Rauch R, Asan E (Hg.): *Taschenlehrbuch Histologie*. 6., vollständig überarbeitete Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, S. 590–633.

Luo X, Yang X-M, Cai W-Y, Chang H, Ma H-L, Peng Y, Wu X-K (2020): Decreased Sex Hormone-Binding Globulin Indicated Worse Biometric, Lipid, Liver, and Renal Function Parameters in Women with Polycystic Ovary Syndrome. In: *International journal of endocrinology* 2020, S. 7580218. DOI: 10.1155/2020/7580218.

Ly LP, Handelsman DJ (2005): Empirical estimation of free testosterone from testosterone and sex hormone-binding globulin immunoassays. In: *European journal of endocrinology* 152 (3), S. 471–478. DOI: 10.1530/eje.1.01844.

Maggio M, Lauretani F, Basaria S, Ceda GP, Bandinelli S, Metter EJ et al. (2008): Sex hormone binding globulin levels across the adult lifespan in women--the role of body mass index and fasting insulin. In: *Journal of endocrinological investigation* 31 (7), S. 597–601. DOI: 10.1007/BF03345608.



- Martin B, Rotten D, Jolivet A, Gautray JP (1981): Binding of steroids by proteins in follicular fluid of the human ovary. In: *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 53 (2), S. 443–447. DOI: 10.1210/jcem-53-2-443.
- Mascarenhas MN, Flaxman SR, Boerma T, Vanderpoel S, Stevens GA (2012): National, regional, and global trends in infertility prevalence since 1990: a systematic analysis of 277 health surveys. In: *PLoS medicine* 9 (12), e1001356. DOI: 10.1371/journal.pmed.1001356.
- McRae C, Sharma V, Fisher J (2013): Metabolite Profiling in the Pursuit of Biomarkers for IVF Outcome: The Case for Metabolomics Studies. In: *International Journal of Reproductive Medicine* 2013, S. 603167. DOI: 10.1155/2013/603167.
- Meniru GI, Craft IL (1997): Evidence from a salvaged treatment cycle supports an aetiology for the empty follicle syndrome that is related to terminal follicular developmental events. In: *Human reproduction (Oxford, England)* 12 (11), S. 2385–2387. DOI: 10.1093/humrep/12.11.2385.
- Meriem G, Nesrine C, Mounir A, Zouhair T, Monia ZA (2016): Sex Hormone Binding Globulin as a Predictor of in Vitro Fertilization Outcomes in Polycystic Ovary Syndrome: Our Results. In: *Open Journal of Obstetrics and Gynecology* 06 (07), S. 404–410. DOI: 10.4236/ojog.2016.67053.
- Mesiano S, Jones EE (2017a): Fertilization, Pregnancy, and Lactation. In: Boron WF, Boulpaep EL (Hg.): *Medical Physiology*. 3. edition. Philadelphia, PA: Elsevier, S. 1129–1151.
- Mesiano S, Jones EE (2017b): The female reproductive system. In: Boron WF, Boulpaep EL (Hg.): *Medical Physiology*. 3. edition. Philadelphia, PA: Elsevier, S. 1108–1128.
- Mesiano S, Jones EE (2017c): The Male Reproductive System. In: Boron WF, Boulpaep EL (Hg.): *Medical Physiology*. 3. edition. Philadelphia, PA: Elsevier, S. 1092–1108.
- Misao R, Nakanishi Y, Fujimoto J, Hori M, Ichigo S, Tamaya T (1995): Expression of sex hormone-binding globulin mRNA in human ovarian cancers. In: *European journal of endocrinology* 133 (3), S. 327–334. DOI: 10.1530/eje.0.1330327.
- Misao R, Nakanishi Y, Fujimoto J, Ichigo S, Tamaya T (1997): Expression of sex hormone-binding globulin and corticosteroid-binding globulin mRNAs in corpus luteum of human subjects. In: *Hormone research* 48 (4), S. 191–195. DOI: 10.1159/000185512.
- Monget P, McNatty K, Monniaux D (2021): The Crazy Ovary. In: *Genes* 12 (6), S. 928. DOI: 10.3390/genes12060928.

- Montag M, Köster K, van der Ven K, van der Ven H (2009): Qualität der Eizelle. In: *Journal für Reproduktionsmedizin und Endokrinologie* (6 (Sonderheft 1)), S. 26–28.
- Moradi-Kor N, Mohammadi Khanghah K, Veisi A (2013): Follicular Fluid Concentrations of Biochemical Metabolites and Trace Minerals in Relation to Ovarian Follicle Size in Dairy Cows. In: *Annual research & review in biology* 3, S. 397–404.
- Mossman HW, Duke KL (1973): Comparative morphology of the mammalian ovary. Madison: Univ. of Wisconsin P.
- Neulen J, Neise M (2011): Infertilität und Sterilität - Reproduktionsmedizin. In: Kiechle M (Hg.): *Gynäkologie und Geburtshilfe*. 2., überarb. Aufl. München: Elsevier Urban & Fischer, S. 145–162.
- Niu Z, Lin N, Gu R, Sun Y, Feng Y (2014): Associations between insulin resistance, free fatty acids, and oocyte quality in polycystic ovary syndrome during in vitro fertilization. In: *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 99 (11), E2269-76. DOI: 10.1210/jc.2013-3942.
- Odlind V, Elamsson K, Englund DE, Victor A, Johansson ED (1982): Effects of oestradiol on sex hormone binding globulin. In: *Acta endocrinologica* 101 (2), S. 248–253. DOI: 10.1530/acta.0.1010248.
- Ola SI, Sun Q-Y (2012): Factors influencing the biochemical markers for predicting mammalian oocyte quality. In: *Journal of Reproduction and Development* 58 (4), S. 385–392. DOI: 10.1262/jrd.11-084h.
- ORIGIO a/s (2017): Safety Data Sheet Flushing Medium 1084. Document no: SDS-21. Version 7., 12.10.2017.
- Otsuka F, McTavish KJ, Shimasaki S (2011): Integral role of GDF-9 and BMP-15 in ovarian function. In: *Mol. Reprod. Dev.* 78 (1), S. 9–21. DOI: 10.1002/mrd.21265.
- Pan J, Zhou C, Zhou Z, Yang Z, Dai T, Huang H, Jin L (2021): Elevated ovarian pentraxin 3 in polycystic ovary syndrome. In: *Journal of assisted reproduction and genetics* 38 (5), S. 1231–1237. DOI: 10.1007/s10815-021-02105-4.
- Paschke R (2018): Allgemeine Endokrinologie: Was sind Hormone, wozu dienen sie und wo werden sie gebildet? In: Pape H-C, Kurtz A, Silbernagl S (Hg.): *Physiologie*. 8., unveränderte Auflag. Stuttgart: Thieme, 586-600.
- Pasquali R, Casimirri F (1993): The impact of obesity on hyperandrogenism and polycystic ovary syndrome in premenopausal women. In: *Clinical endocrinology* 39 (1), S. 1–16. DOI: 10.1111/j.1365-2265.1993.tb01744.x.
- Pasquali R, Casimirri F, Platè L, Capelli M (1990): Characterization of obese women with reduced sex hormone-binding globulin concentrations. In:

*Hormone and metabolic research* 22 (5), S. 303–306. DOI: 10.1055/s-2007-1004907.

Pasquali R, Pelusi C, Genghini S, Cacciari M, Gambineri A (2003): Obesity and reproductive disorders in women. In: *Human reproduction update* 9 (4), S. 359–372. DOI: 10.1093/humupd/dmg024.

Pasquali R, Vicennati V, Bertazzo D, Casimirri F, Pascal G, Tortelli O, Labate AMM (1997): Determinants of sex hormone—binding globulin blood concentrations in premenopausal and postmenopausal women with different estrogen status. In: *Metabolism* 46 (1), S. 5–9. DOI: 10.1016/S0026-0495(97)90159-1.

Pearlman WH, Crépy O, Murphy M (1967): Testosterone-binding levels in the serum of women during the normal menstrual cycle, pregnancy, and the post-partum period. In: *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 27 (7), S. 1012–1018. DOI: 10.1210/jcem-27-7-1012.

Pedersen SB, Børglum JD, Brixen K, Richelsen B (1995): Relationship between sex hormones, body composition and metabolic risk parameters in premenopausal women. In: *European journal of endocrinology* 133 (2), S. 200–206. DOI: 10.1530/eje.0.1330200.

Penrose LL, Mosman B, Prien SD (2013): The relationship between sex hormone binding globulin and controlled ovarian hormonal stimulation in assisted reproductive technology patients. In: *Fertility and Sterility* 100 (3), S331. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2013.07.907.

Pfisterer J (2011): Anatomie der weiblichen Geschlechtsorgane. In: Kiechle M (Hg.): *Gynäkologie und Geburtshilfe*. 2., überarb. Aufl. München: Elsevier Urban & Fischer, S. 3–12.

Phocas I, Mantzavinos T, Sarandakou A, Dimitriadou F, Zourlas PA (1995): Serum and follicular fluid sex hormone-binding globulin in stimulated and unstimulated cycles. In: *Journal of assisted reproduction and genetics* 12 (6), S. 348–353. DOI: 10.1007/BF02215725.

Pierre A, Taieb J, Giton F, Grynberg M, Touleimat S, El Hachem H et al. (2017): Dysregulation of the Anti-Müllerian Hormone System by Steroids in Women With Polycystic Ovary Syndrome. In: *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 102 (11), S. 3970–3978. DOI: 10.1210/jc.2017-00308.

Pugeat M, Nader N, Hogeveen K, Raverot G, Déchaud H, Grenot C (2010): Sex hormone-binding globulin gene expression in the liver: drugs and the metabolic syndrome. In: *Molecular and Cellular Endocrinology* 316 (1), S. 53–59. DOI: 10.1016/j.mce.2009.09.020.

Qu F, Wang F-F, Lu X-E, Dong M-Y, Sheng J-Z, Lv P-P et al. (2010): Altered aquaporin expression in women with polycystic ovary syndrome:

hyperandrogenism in follicular fluid inhibits aquaporin-9 in granulosa cells through the phosphatidylinositol 3-kinase pathway. In: *Human reproduction (Oxford, England)* 25 (6), S. 1441–1450. DOI: 10.1093/humrep/deq078.

Re C, Mignini Renzini M, Rodriguez A, Dal Canto M, Buccheri M, Sacchi S et al. (2019): From a circle to a sphere: the ultrasound imaging of ovarian follicle with 2D and 3D technology. In: *Gynecological endocrinology : the official journal of the International Society of Gynecological Endocrinology* 35 (3), S. 184–189. DOI: 10.1080/09513590.2018.1522297.

Renz H (Hg.) (2018): *Praktische Labordiagnostik*. Berlin: De Gruyter.

Revelli A, Piane LD, Casano S, Molinari E, Massobrio M, Rinaudo P (2009): Follicular fluid content and oocyte quality: from single biochemical markers to metabolomics. In: *Reproductive Biology and Endocrinology* 7, S. 40. DOI: 10.1186/1477-7827-7-40.

Rieger L, Kämmerer U, Singer D (2018): Sexualfunktionen, Schwangerschaft und Geburt. In: Pape H-C, Kurtz A, Silbernagl S (Hg.): *Physiologie*. 8., unveränderte Auflag. Stuttgart: Thieme, S. 636–670.

Rienzi L, Vajta G, Ubaldi F (2011): Predictive value of oocyte morphology in human IVF: a systematic review of the literature. In: *Human reproduction update* 17 (1), S. 34–45. DOI: 10.1093/humupd/dmq029.

Rivera-Woll LM, Papalia M, Davis SR, Burger HG (2004): Androgen insufficiency in women: diagnostic and therapeutic implications. In: *Human reproduction update* 10 (5), S. 421–432. DOI: 10.1093/humupd/dmh037.

Robker RL, Akison LK, Bennett BD, Thrupp PN, Chura LR, Russell DL et al. (2009): Obese women exhibit differences in ovarian metabolites, hormones, and gene expression compared with moderate-weight women. In: *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 94 (5), S. 1533–1540. DOI: 10.1210/jc.2008-2648.

Roche Diagnostics (2018): *Methodenblatt Elecsys SHBG*. V 12.0 Deutsch.

Rodgers HF, Lavranos TC, Vella CA, Rodgers RJ (1995): Basal lamina and other extracellular matrix produced by bovine granulosa cells in anchorage-independent culture. In: *Cell and tissue research* 282 (3), S. 463–471. DOI: 10.1007/bf00318878.

Rodgers RJ, Irving-Rodgers HF (2010): Formation of the ovarian follicular antrum and follicular fluid. In: *Biology of reproduction* 82 (6), S. 1021–1029. DOI: 10.1095/biolreprod.109.082941.

Rodgers RJ, Irving-Rodgers HF, Russell DL (2003): Extracellular matrix of the developing ovarian follicle. In: *Reproduction (Cambridge, England)* 126 (4), S. 415–424.

Rodgers RJ, Irving-Rodgers HF, van Wezel IL, Krupa M, Lavranos TC (2001): Dynamics of the membrana granulosa during expansion of the ovarian

follicular antrum. In: *Molecular and Cellular Endocrinology* 171 (1-2), S. 41–48. DOI: 10.1016/S0303-7207(00)00430-5.

Ron-El R, Nachum H, Golan A, Herman A, Yigal S, Caspi E (1990): Binovular human ovarian follicles associated with in vitro fertilization: incidence and outcome. In: *Fertility and Sterility* 54 (5), S. 869–872. DOI: 10.1016/S0015-0282(16)53948-X.

Rosen MP, Zamah AM, Shen S, Dobson AT, McCulloch CE, Rinaudo PF et al. (2009): The effect of follicular fluid hormones on oocyte recovery after ovarian stimulation: FSH level predicts oocyte recovery. In: *Reproductive Biology and Endocrinology* 7 (1), S. 35. DOI: 10.1186/1477-7827-7-35.

Rosner W (1990): The functions of corticosteroid-binding globulin and sex hormone-binding globulin: recent advances. In: *Endocrine reviews* 11 (1), S. 80–91. DOI: 10.1210/edrv-11-1-80.

Rosner W (2006): Sex steroids and the free hormone hypothesis. In: *Cell* 124 (3), 455-6; author reply 456-7. DOI: 10.1016/j.cell.2006.01.026.

Rosner W, Hryb DJ, Kahn SM, Nakhla AM, Romas NA (2010): Interactions of sex hormone-binding globulin with target cells. In: *Molecular and Cellular Endocrinology* 316 (1), S. 79–85. DOI: 10.1016/j.mce.2009.08.009.

Rosner W, Hryb DJ, Khan MS, Nakhla AM, Romas NA (1992): Sex hormone-binding globulin. Binding to cell membranes and generation of a second messenger. In: *Journal of andrology* 13 (2), S. 101–106.

Rosner W, Hryb DJ, Khan MS, Nakhla AM, Romas NA (1999): Sex hormone-binding globulin mediates steroid hormone signal transduction at the plasma membrane. In: *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology* 69 (1-6), S. 481–485. DOI: 10.1016/S0960-0760(99)00070-9.

Rosner W, Smith RN (1975): Isolation and characterization of the testosterone-estradiol-binding globulin from human plasma. Use of a novel affinity column. In: *Biochemistry* 14 (22), S. 4813–4820. DOI: 10.1021/bi00693a006.

Ross MH, Pawlina W (2011): Female reproductive system. In: Ross MH, Pawlina W (Hg.): *Histology. A text and atlas; with correlated cell and molecular biology*. 6. ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, S. 830–895.

Sánchez F, Smitz J (2012): Molecular control of oogenesis. In: *Biochimica et biophysica acta* 1822 (12), S. 1896–1912. DOI: 10.1016/j.bbadis.2012.05.013.

Sartorius G, Ly LP, Sikaris K, McLachlan R, Handelsman DJ (2009): Predictive accuracy and sources of variability in calculated free testosterone estimates. In: *Annals of clinical biochemistry* 46 (Pt 2), S. 137–143. DOI: 10.1258/acb.2008.008171.

Sato Y, Tajima A, Katsurayama M, Nozawa S, Yoshiike M, Koh E et al. (2017): An independent validation study of three single nucleotide polymorphisms at the sex hormone-binding globulin locus for testosterone levels identified by

genome-wide association studies. In: *Human reproduction open* 2017 (1), hox002. DOI: 10.1093/hropen/hox002.

Schenk M, Kröpfl JM, Obermayer-Pietsch B, Feldmeier E, Weiss G (2017): Anti-Mullerian hormone concentrations in individual follicular fluids within one stimulated IVF cycle resemble blood serum values. In: *Journal of assisted reproduction and genetics* 34 (9), S. 1115–1120. DOI: 10.1007/s10815-017-0908-4.

Schmid J, Kirchengast S, Vytiska-Binstorfer E, Huber J (2004): Psychosocial and sociocultural aspects of infertility - A comparison between Austrian women and immigrant women. In: *Anthropologischer Anzeiger; Bericht über die biologisch-anthropologische Literatur* 62 (3), S. 301–309.

Schuijt MP, Sweep CGJ, van der Steen R, Olthaar AJ, Stikkelbroeck NMML, Ross HA, van Herwaarden AE (2019): Validity of free testosterone calculation in pregnant women. In: *Endocrine connections* 8 (6), S. 672–679. DOI: 10.1530/EC-19-0110.

Schulte HM, Jacobeit J (2013a): Androgene. In: Gressner AM, Arndt T (Hg.): *Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik*. 2nd ed. Dordrecht: Springer, S. 78.

Schulte HM, Jacobeit J (2013b): Androgenindex, freier. In: Gressner AM, Arndt T (Hg.): *Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik*. 2nd ed. Dordrecht: Springer, S. 78.

Schulte HM, Jacobeit J (2013c): Estradiol. In: Gressner AM, Arndt T (Hg.): *Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik*. 2nd ed. Dordrecht: Springer, S. 462–463.

Selva DM, Hogeveen KN, Innis SM, Hammond GL (2007): Monosaccharide-induced lipogenesis regulates the human hepatic sex hormone-binding globulin gene. In: *The Journal of clinical investigation* 117 (12), S. 3979–3987. DOI: 10.1172/JCI32249.

Shabihkhani M, Lucey GM, Wei B, Mareninov S, Lou JJ, Vinters HV et al. (2014): The procurement, storage, and quality assurance of frozen blood and tissue biospecimens in pathology, biorepository, and biobank settings. In: *Clinical biochemistry* 47 (4-5), S. 258–266. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2014.01.002.

Shalgi R, Kraicer P, Rimon A, Pinto M, Soferman N (1973): Proteins of human follicular fluid: The blood-follicle barrier. In: *Fertility and Sterility* 24 (6), S. 429–434. DOI: 10.1016/S0015-0282(16)39730-8.

Siemens Healthcare (2007): *IMMULITE 2000 Immunoassay-Analyseautomat Bedienerhandbuch*. Ausgabe G.

Simó R, Sáez-López C, Barbosa-Desongles A, Hernández C, Selva DM (2015): Novel insights in SHBG regulation and clinical implications. In: *Trends*

- in endocrinology and metabolism: TEM* 26 (7), S. 376–383. DOI: 10.1016/j.tem.2015.05.001.
- Singh R, Sinclair KD (2007): Metabolomics: approaches to assessing oocyte and embryo quality. In: *Theriogenology* 68 Suppl 1, S56-62. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2007.04.007.
- Siristatidis CS, Maheshwari A, Vaidakis D, Bhattacharya S (2018): In vitro maturation in subfertile women with polycystic ovarian syndrome undergoing assisted reproduction. In: *The Cochrane database of systematic reviews* 11, CD006606. DOI: 10.1002/14651858.CD006606.pub4.
- Siu MKY, Cheng CY (2012): The blood-follicle barrier (BFB) in disease and in ovarian function. In: *Advances in experimental medicine and biology* 763, S. 186–192.
- Smitz J, Andersen AN, Devroey P, Arce J-C (2007): Endocrine profile in serum and follicular fluid differs after ovarian stimulation with HP-hMG or recombinant FSH in IVF patients. In: *Human reproduction (Oxford, England)* 22 (3), S. 676–687. DOI: 10.1093/humrep/del445.
- Sonntag B (2020a): Beurteilung und Therapie der Lutealphase. In: Diedrich K, Ludwig M, Griesinger G (Hg.): *Reproduktionsmedizin*. Berlin, Heidelberg: Springer (Springer Reference Medizin), S. 71–78.
- Sonntag B (2020b): Physiologie der Befruchtung. In: Diedrich K, Ludwig M, Griesinger G (Hg.): *Reproduktionsmedizin*. Berlin, Heidelberg: Springer (Springer Reference Medizin), S. 79–85.
- Statistisches Bundesamt (2020): Geburtenverhalten im Wandel. Online verfügbar unter <https://www.destatis.de/DE/Themen/Querschnitt/Demografischer-Wandel/Aspekte/demografie-geburten.html>, zuletzt aktualisiert am 23.01.2020, zuletzt geprüft am 31.07.2021.
- Stefan N, Schick F, Häring H-U (2009): Sex hormone-binding globulin and risk of type 2 diabetes. In: *The New England journal of medicine* 361 (27), 2675-6; author reply 2677-8. DOI: 10.1056/NEJMc0910143.
- Stevenson TL, Lashen H (2008): Empty follicle syndrome: the reality of a controversial syndrome, a systematic review. In: *Fertility and Sterility* 90 (3), S. 691–698. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2007.07.1312.
- Stöbel-Richter Y, Sender A, Brähler E, Strauß B (2013): Psychologische Beratung und Psychotherapie bei ungewollter Kinderlosigkeit. In: *Psychotherapie, Psychosomatik, medizinische Psychologie* 63 (9-10), S. 400–414. DOI: 10.1055/s-0033-1349459.
- Sunkara SK, Rittenberg V, Raine-Fenning N, Bhattacharya S, Zamora J, Coomarasamy A (2011): Association between the number of eggs and live birth in IVF treatment: an analysis of 400 135 treatment cycles. In: *Human*

*reproduction (Oxford, England)* 26 (7), S. 1768–1774. DOI: 10.1093/humrep/der106.

Tachtsoglou S, König J (2017): Stichprobe und Grundgesamtheit. In: Tachtsoglou S, König J (Hg.): Statistik für Erziehungswissenschaftlerinnen und Erziehungswissenschaftler. Wiesbaden: Springer Fachmedien Wiesbaden, S. 257–276.

Tapanainen J, Martikainen H, Voutilainen R, Orava M, Ruukonen A, Rönnerberg L (1992): Effect of growth hormone administration on human ovarian function and steroidogenic gene expression in granulosa-luteal cells. In: *Fertility and Sterility* 58 (4), S. 726–732. DOI: 10.1016/S0015-0282(16)55319-9.

Tchernof A, Toth MJ, Poehlman ET (1999): Sex hormone-binding globulin levels in middle-aged premenopausal women. Associations with visceral obesity and metabolic profile. In: *Diabetes care* 22 (11), S. 1875–1881. DOI: 10.2337/diacare.22.11.1875.

Thaler MA, Seifert-Klauss V, Luppä PB (2015): The biomarker sex hormone-binding globulin - from established applications to emerging trends in clinical medicine. In: *Best practice & research. Clinical endocrinology & metabolism* 29 (5), S. 749–760. DOI: 10.1016/j.beem.2015.06.005.

Thiering P, Beaurepaire J, Jones M, Saunders D, Tennant C (1993): Mood state as a predictor of treatment outcome after in vitro fertilization/embryo transfer technology (IVF/ET). In: *Journal of Psychosomatic Research* 37 (5), S. 481–491. DOI: 10.1016/0022-3999(93)90004-Y.

Thuesen LL, Andersen AN, Loft A, Smitz J (2014): Intrafollicular endocrine milieu after addition of hCG to recombinant FSH during controlled ovarian stimulation for in vitro fertilization. In: *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 99 (2), S. 517–526. DOI: 10.1210/jc.2013-1528.

Thuesen LL, Smitz J, Loft A, Nyboe Andersen A (2013): Endocrine effects of hCG supplementation to recombinant FSH throughout controlled ovarian stimulation for IVF: a dose-response study. In: *Clinical endocrinology* 79 (5), S. 708–715. DOI: 10.1111/cen.12186.

Tong S, Kaur A, Walker SP, Bryant V, Onwude JL, Permezel M (2008): Miscarriage risk for asymptomatic women after a normal first-trimester prenatal visit. In: *Obstetrics and gynecology* 111 (3), S. 710–714. DOI: 10.1097/AOG.0b013e318163747c.

Töpfer G (2019): Elektrochemilumineszenz-Immunoassay. In: Gressner AM, Arndt T (Hg.): Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg (Springer Reference Medizin), S. 761–762.

Toth B, Baston-Büst DM, Behre HM, Bielfeld A, Bohlmann M, Bühling K et al. (2019): Diagnosis and treatment before assisted reproductive treatments.



- Guideline of the DGGG, OEGGG and SGGG (S2k Level, AWMF Register Number 015-085, February 2019) - Part 2, Hemostaseology, Andrology, Genetics and History of Malignant Disease. In: *Geburtshilfe und Frauenheilkunde* 79 (12), S. 1293–1308. DOI: 10.1055/a-1017-3478.
- Ulmer H-V (2005): Ist Adipositas eine Krankheit? BMI zu ungenau. In: *Deutsches Ärzteblatt* (17). Online verfügbar unter <https://www.aerzteblatt.de/archiv/46562/Ist-Adipositas-eine-Krankheit-BMI-zu-ungenau>, zuletzt geprüft am 22.11.2021.
- van Rooij FB, van Balen F, Hermanns JMA (2007): Emotional distress and infertility: Turkish migrant couples compared to Dutch couples and couples in Western Turkey. In: *Journal of psychosomatic obstetrics and gynaecology* 28 (2), S. 87–95. DOI: 10.1080/01674820701410015.
- Vandekerckhove F, Bracke V, Sutter P de (2014): The Value of Automated Follicle Volume Measurements in IVF/ICSI. In: *Frontiers in Surgery* 1, S. 18. DOI: 10.3389/fsurg.2014.00018.
- Vanderlinden LK (2009): German genes and Turkish traits: ethnicity, infertility, and reproductive politics in Germany. In: *Social science & medicine* 69 (2), S. 266–273. DOI: 10.1016/j.socscimed.2009.03.027.
- Veldhuis JD, Bondar OP, Dyer RB, Trushin SA, Klee EW, Singh RJ, Klee GG (2014): Immunological and mass spectrometric assays of SHBG: consistent and inconsistent metabolic associations in healthy men. In: *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 99 (1), S. 184–193. DOI: 10.1210/jc.2013-2642.
- Verhaak CM, Smeenk JMJ, Evers AWM, Kremer JAM, Kraaijmaat FW, Braat DDM (2007): Women's emotional adjustment to IVF: a systematic review of 25 years of research. In: *Human reproduction update* 13 (1), S. 27–36. DOI: 10.1093/humupd/dml040.
- Vermeulen A, Verdonck L, Kaufman JM (1999): A critical evaluation of simple methods for the estimation of free testosterone in serum. In: *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 84 (10), S. 3666–3672. DOI: 10.1210/jcem.84.10.6079.
- Volgsten H, Ekselius L, Poromaa IS, Svanberg AS (2010): Personality traits associated with depressive and anxiety disorders in infertile women and men undergoing in vitro fertilization treatment. In: *Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica* 89 (1), S. 27–34. DOI: 10.3109/00016340903447396.
- Wagner-Golbs A, Neuber S, Kamlage B, Christiansen N, Bethan B, Rennefahrt U et al. (2019): Effects of Long-Term Storage at -80 °C on the Human Plasma Metabolome. In: *Metabolites* 9 (5). DOI: 10.3390/metabo9050099.

- Walsh KA, Titani K, Takio K, Kumar S, Hayes R, Petra PH (1986): Amino acid sequence of the sex steroid binding protein of human blood plasma. In: *Biochemistry* 25 (23), S. 7584–7590. DOI: 10.1021/bi00371a048.
- Wang Q, Sun Q-Y (2007): Evaluation of oocyte quality: morphological, cellular and molecular predictors. In: *Reprod. Fertil. Dev.* 19 (1), S. 1–12. DOI: 10.1071/RD06103.
- Wang X, Chen C, Wang L, Chen D, Guang W, French J (2003): Conception, early pregnancy loss, and time to clinical pregnancy: a population-based prospective study. In: *Fertility and Sterility* 79 (3), S. 577–584. DOI: 10.1016/S0015-0282(02)04694-0.
- Weblus AJ, David M, Kentenich H (2019): Paare mit Migrationshintergrund in der Reproduktionsmedizin. In: DGPF e.V. (Hg.): Psychosomatisch orientierte Diagnostik und Therapie bei Fertilitätsstörungen. S2k-Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Psychosomatische Frauenheilkunde und Geburtshilfe e.V. Registernummer 016 - 003, S. 84–89. Online verfügbar unter <https://www.awmf.org/leitlinien/detail/II/016-003.html>, zuletzt geprüft am 01.08.21.
- Weichert J, Schröer A (2020): Ultraschall in der Reproduktionsmedizin. In: Diedrich K, Ludwig M, Griesinger G (Hg.): Reproduktionsmedizin. Berlin, Heidelberg: Springer (Springer Reference Medizin), S. 157–178.
- Weil PA (2018): The diversity of the endocrine system. In: Rodwell VW, Bender DA, Botham KM, Kennelly PJ, Weil PA (Hg.): Harper's Illustrated Biochemistry, 31e (Review Questions). 31st ed. New York, N.Y.: McGraw-Hill Education LLC (A Lange medical book), S. 480–499.
- Welsch U (2010a): Geschlechtsorgane. In: Welsch U (Hg.): Lehrbuch Histologie. Unter Mitarbeit von Sobotta J. 3. Aufl. München: Urban & Fischer, Elsevier, S. 403–442.
- Welsch U (2010b): Zelle. In: Welsch U (Hg.): Lehrbuch Histologie. Unter Mitarbeit von Sobotta J. 3. Aufl. München: Urban & Fischer, Elsevier, S. 13–70.
- Wen X, Perrett D, Patel P, Li N, Docherty SM, Tozer AJ, Iles RK (2009): Capillary electrophoresis of human follicular fluid. In: *Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences* 877 (31), S. 3946–3952. DOI: 10.1016/j.jchromb.2009.09.046.
- Whiteford LM, Gonzalez L (1995): Stigma: the hidden burden of infertility. In: *Social science & medicine* 40 (1), S. 27–36. DOI: 10.1016/0277-9536(94)00124-c.
- Winters SJ, Gogineni J, Karegar M, Scoggins C, Wunderlich CA, Baumgartner R, Ghooray DT (2014): Sex hormone-binding globulin gene expression and

insulin resistance. In: *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 99 (12), E2780-8. DOI: 10.1210/jc.2014-2640.

Wolff M von, Kollmann Z, Flück CE, Stute P, Marti U, Weiss B, Bersinger NA (2014): Gonadotrophin stimulation for in vitro fertilization significantly alters the hormone milieu in follicular fluid: a comparative study between natural cycle IVF and conventional IVF. In: *Human reproduction (Oxford, England)* 29 (5), S. 1049–1057. DOI: 10.1093/humrep/deu044.

Wolff M von, Stute P, Bersinger NA (2018): Response: Impact of androgen supplementation on the follicular endocrine milieu in women with hypoandrogenism. In: *Reproductive biomedicine online* 36 (6), S. 721–722. DOI: 10.1016/j.rbmo.2018.03.001.

Wolff M von, Stute P, Eisenhut M, Marti U, Bitterlich N, Bersinger NA (2017): Serum and follicular fluid testosterone concentrations do not correlate, questioning the impact of androgen supplementation on the follicular endocrine milieu. In: *Reproductive biomedicine online* 35 (5), S. 616–623. DOI: 10.1016/j.rbmo.2017.07.012.

World Health Organization (2021): Obesity and overweight. Online verfügbar unter <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>, zuletzt aktualisiert am 09.06.2021, zuletzt geprüft am 22.11.2021.

Wu G, Bersinger NA, Mueller MD, Wolff M von (2017): Intrafollicular inflammatory cytokines but not steroid hormone concentrations are increased in naturally matured follicles of women with proven endometriosis. In: *Journal of assisted reproduction and genetics* 34 (3), S. 357–364. DOI: 10.1007/s10815-016-0865-3.

Xargay-Torrent S, Carreras-Badosa G, Borrat-Padrosa S, Prats-Puig A, Soriano P, Álvarez-Castaño E et al. (2018): Circulating sex hormone binding globulin: An integrating biomarker for an adverse cardio-metabolic profile in obese pregnant women. In: *PloS one* 13 (10), e0205592. DOI: 10.1371/journal.pone.0205592.

Yding Andersen C (1990): Levels of steroid-binding proteins and steroids in human preovulatory follicle fluid and serum as predictors of success in in vitro fertilization-embryo transfer treatment. In: *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 71 (5), S. 1375–1381. DOI: 10.1210/jcem-71-5-1375.

Yding Andersen C (1991): Concentrations of free oestradiol and progesterone in human preovulatory follicular fluid. In: *Human reproduction (Oxford, England)* 6 (3), S. 359–364. DOI: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a137339.

Yding Andersen C (1993): Characteristics of human follicular fluid associated with successful conception after in vitro fertilization. In: *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 77 (5), S. 1227–1234. DOI: 10.1210/jcem.77.5.7521343.

Yding Andersen C, Westergaard LG, Sinosich MJ, Byskov AG (1992a): Human preovulatory follicular fluid: inhibin and free steroids related to optimal follicular maturation in ovarian stimulation regimes and possible function in ovulation. In: *Human reproduction (Oxford, England)* 7 (6), S. 765–769. DOI: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a137734.

Yding Andersen C, Westergaard LG, Teisner B, Byskov AG, Ziebe S, Helledie L et al. (1992b): Changes induced in serum protein profiles by ovarian stimulation during in-vitro fertilization - embryo transfer treatment: a comparison between conception and non-conception cycles. In: *Human reproduction (Oxford, England)* 7 (5), S. 585–591. DOI: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a137700.

Zamah AM, Hassis ME, Albertolle ME, Williams KE (2015): Proteomic analysis of human follicular fluid from fertile women. In: *Clinical proteomics* 12 (1), S. 5. DOI: 10.1186/s12014-015-9077-6.

Zegers-Hochschild F, Adamson GD, Mouzon J de, Ishihara O, Mansour R, Nygren K et al. (2009): International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and the World Health Organization (WHO) revised glossary of ART terminology, 2009. In: *Fertility and Sterility* 92 (5), S. 1520–1524. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2009.09.009.

Zhai J, Li S, Zhu Y, Sun Y, Chen Z-J, Du Y (2021): Serum Sex Hormone Binding Globulin Concentration as a Predictor of Ovarian Response During Controlled Ovarian Hyperstimulation. In: *Frontiers in medicine* 8, S. 719818. DOI: 10.3389/fmed.2021.719818.

Zhou H, Ohno N, Terada N, Saitoh S, Fujii Y, Ohno S (2007): Involvement of follicular basement membrane and vascular endothelium in blood follicle barrier formation of mice revealed by 'in vivo cryotechnique'. In: *Reproduction (Cambridge, England)* 134 (2), S. 307–317. DOI: 10.1530/REP-07-0062.

Zumoff B (1988): Hormonal abnormalities in obesity. In: *Acta medica Scandinavica. Supplementum* 723, S. 153–160. DOI: 10.1111/j.0954-6820.1987.tb05939.x.

## 7 Anhang

### 7.1 Tabellen

*Tabelle A: Zusammenhang zwischen der SHBG-Konzentration in der FF sowie BMI und Parametern der punktierten Follikel und gewonnenen Eizellen*

|  |        | SHBG-Konzentration<br>in der FF / nmol/l | BMI / kg/m <sup>2</sup> |
|--|--------|--|-------------------------|
| Anzahl punktierter Follikel <sup>a</sup> | $\rho$ | 0,320*                                   | 0,210                   |
|  | $p$    | 0,020                                    | 0,131                   |
| Anzahl gewonnener Eizellen               | $\rho$ | 0,339*                                   | 0,115                   |
|  | $p$    | 0,012                                    | 0,409                   |
| Rate gewonnener Eizellen <sup>a</sup>    | $\rho$ | 0,193                                    | -0,052                  |
|  | $p$    | 0,167                                    | 0,711                   |
| Anzahl reifer Eizellen                   | $\rho$ | 0,401*                                   | 0,081                   |
|  | $p$    | 0,003                                    | 0,559                   |
| Anteil reifer Eizellen <sup>a</sup>      | $\rho$ | 0,192                                    | -0,079                  |
|  | $p$    | 0,169                                    | 0,576                   |
| Rate reifer Eizellen <sup>a</sup>        | $\rho$ | 0,298*                                   | -0,143                  |
|  | $p$    | 0,030                                    | 0,309                   |

*Anmerkungen:*

$\rho$  = Spearmans Rangkorrelationskoeffizient (Spearmans Rho)

\*  $p < 0,05$

<sup>a</sup>  $n = 53$

*Tabelle B: Zusammenhang zwischen SHBG-Konzentration in der FF sowie BMI und Parametern der behandelten Eizellen*

|  | SHBG-Konzentration<br>in der FF / nmol/l | BMI / kg/m <sup>2</sup> |
|--|--|-------------------------|
| Anzahl korrekt<br>befruchteter Eizellen  | $\rho$ 0,415*                            | 0,028                   |
|  | $p$ 0,002                                | 0,840                   |
| Gesamt-<br>Befruchtungsrate <sup>a</sup> | $\rho$ 0,291*                            | -0,151                  |
|  | $p$ 0,038                                | 0,290                   |
| ICSI-Befruchtungsrate <sup>b</sup>       | $\rho$ 0,326*                            | -0,191                  |
|  | $p$ 0,027                                | 0,203                   |
| IVF-Befruchtungsrate <sup>c</sup>        | $\rho$ 0,463                             | 0,217                   |
|  | $p$ 0,130                                | 0,499                   |

*Anmerkungen:*

$\rho$  = Spearmans Rangkorrelationskoeffizient (Spearmans Rho)

\*  $p < 0,05$

<sup>a</sup>  $n = 51$

<sup>b</sup>  $n = 46$

<sup>c</sup>  $n = 12$

## 7.2 Dokumentationsbogen

### Dokumentation Follikelpunktion:

Fallnr.:  
Datum:

|         |
|---------|
| Etikett |
|---------|

Indikation:  
Frau  
Mann

| Seite | Probe                             | Röhrchen | Follikel: MP | FM | EZ | Aussehen |      |        | nicht verwertbar | DM [mm] | Menge [ml] |
|-------|-----------------------------------|----------|--------------|----|----|----------|------|--------|------------------|---------|------------|
|       |                                   |          |              |    |    | klar     | trüb | blutig |                  |         |            |
|       | 001(Pat)001(Follikel)001(Aliquot) |          |              |    |    |          |      |        |                  |         |            |
|       |                                   | 1        |              |    |    |          |      |        |                  |         |            |
|       |                                   | 2        |              |    |    |          |      |        |                  |         |            |
|       |                                   | 3        |              |    |    |          |      |        |                  |         |            |
|       |                                   | 4        |              |    |    |          |      |        |                  |         |            |
|       |                                   | 5        |              |    |    |          |      |        |                  |         |            |
|       |                                   | 6        |              |    |    |          |      |        |                  |         |            |
|       |                                   | 7        |              |    |    |          |      |        |                  |         |            |
|       |                                   | 8        |              |    |    |          |      |        |                  |         |            |
|       |                                   | 9        |              |    |    |          |      |        |                  |         |            |
|       |                                   | 10       |              |    |    |          |      |        |                  |         |            |
|       |                                   | 11       |              |    |    |          |      |        |                  |         |            |
|       |                                   | 12       |              |    |    |          |      |        |                  |         |            |
|       |                                   | 13       |              |    |    |          |      |        |                  |         |            |
|       |                                   | 14       |              |    |    |          |      |        |                  |         |            |
|       |                                   | 15       |              |    |    |          |      |        |                  |         |            |
|       |                                   | 16       |              |    |    |          |      |        |                  |         |            |
|       |                                   | 17       |              |    |    |          |      |        |                  |         |            |
|       |                                   | 18       |              |    |    |          |      |        |                  |         |            |
|       |                                   | 19       |              |    |    |          |      |        |                  |         |            |

|                   |
|-------------------|
| Follikelzahl:     |
| Punktionsdauer:   |
| Anzahl der EZ:    |
| Gesamtmenge (ml): |
| Besonderheiten:   |

EZ: Eizelle/ MP: Mischpunktat/ FM: Flushing Medium/ DM: Durchmesser

### **7.3 Lebenslauf**

[Der Lebenslauf ist nicht Bestandteil der Veröffentlichung.]

### **7.4 Verzeichnis der akademischen Lehrer/-innen**

Meine akademischen Lehrenden waren:

In Marburg:

Adamkiewicz, Adarkwah, Albers, Ampazas, Appel, Arenz, Aust, Bartsch, Bauer, Baum, Baumann, Bäumlein, Becker A., Becker B., Becker K., Becker S., Bender, Berger, Bergmann, Bertoune, Berwanger, Besgen, Best, Bette, Beutel, Bien, Bliemel, Blüml, Bock, Boekhoff, Bolte, Bonaterra, Bösner, Brandt, Bräutigam, Brehm, Brehm, Brown, Bücking, Bujan, Cabanel, Carl, Cetin, Chae, Czubayko, Damm, Decher, del Rey, Denkert, Depboylu, Dettmeyer, Dietz, Divchev, Dolnik, Donner-Banzhoff, Duckheim, Duda, Eberhardt, Eberle, Eggers, Ehlenz, Eickmann, Eienbröker, Engenhardt-Cabillic, Enzensberger, Ermisch, Eubel, Feuser, Figiel, Freund, Friebertshäuser, Fritz, Fröbius, Fuchs-Winkelmann, Gallmeier, Gebhardt, Gehling, Geks, Geldner, Geraedts, Gerlach,



Göke, Goldmann, Görg, Graf, Gress, Grgic, Grikscheit, Grond, Grundmann, Günther, Haas, Haasenritter, Haberhausen, Häußermann, Hegele, Heil, Heller, Helmig, Hemmeter, Hertl, Heverhagen, Hildebrandt, Höbenreich, Hoch, Hofer, Hofmann, Holzer, Homberg, Hoyer, Hundt, Irsusi, Jablonski-Momeni, Jackisch, Jacob, Jansen, Jaques, Jerrentrup, Josephs, Just, Kalder, Kalinowski, Kalmus, Kamp-Becker, Kann, Kanngießer, Karatolios, Keber, Keller, Kenn, Kern, Kerwat, Kill, Kinscherf, Kircher, Kirschbaum, Klaus, Klemmer, Klose, Kluge, Knake, Knecht, Koehler, Kohl, Köhler, Kolb-Niemann, Kollmann, Kömhoff, König, Kortus-Götze, Kruse, Kühnert, Kundermann, Kussin, Leonhardt, Leube, Librizzi, Lill, Lohoff, Lüsebrink, Luster, Mahnken, Maier, Maier, Maisch, Maisner, Mandic, Markus, Maurer, Mayer, Mehl, Meissner, Menzler, Metzelder, Moll, Morin, Mühlenbein, Mutters, Nenadić, Neubauer, Neubert, Neumüller, Nikolaizik, Nimphius, Nimsky, Nockher, Nölker, Obermayr, Oberwinkler, Oehler, Ohlow, Oliver, Opitz, Pagenstecher, Pankatz, Pankuweit, Patrascan, Paul, Pauli-Pott, Pedrosa, Pehl, Pelzer, Peterlein, Pfeiffer, Pfestroff, Pfützner, Plant, Pott, Preisig-Müller, Pressel, Quaschner, Ramaswamy, Rastan, Rechberger, Reese, Reiß, Renke, Renz, Rexin, Richter, Riera-Knorrenschild, Rinke, Ritter, Rodepeter, Roeßler, Rogosch, Rose, Röskam, Rost, Roth, Röttgers, Ruchholtz, Rüsç, Rust, Sahmland, Schachtner, Schäfer H., Schäfer J., Schäfer M., Schales, Scheckenbach, Schieffer, Schiff, Schlößler, Schmeck, Schmidt, Schmitt, Schneider, Schoner, Schoppet, Schröder, Schu, Schulze A. S., Schulze S., Schüttler, Schütz, Schwab, Schwarz A., Schwarz P., Schween, Seifart, Seitz, Sekundo, Sevinc, Shams-Eldin, Sommer F., Sommer J., Stahl, Steidl, Steinfeldt, Steiniger, Stief, Strauer, Strecker, Streubel, Strik, Strutz, Stuck, Swaid, Tackenberg, Teepker, Theisen, Thieme, Thiemer, Timmermann, Timmesfeld, Trebels, Vahdad, Verburg, Vogelmeier, Vojnar, Völlger, Vorwerk, Wächter, Wagner, Wahl, Waldmann, Wallot, Walter, Weber N. V., Weber S., Weihe, Westermann, Westhoff, Wiese, Wiesmann, Wilhelm, Wissniowski, Wittig, Wollmer, Worzfeld, Wrocklage, Wulf, Zavorotnyy, Zezschwitz, Ziller, Zoremba, Zugmaier, Zwiorek

In Fulda:

Dörge, Hellinger, Hessmann, Isselstein, Kälble, Kellersmann, Repp, Sasaki, Weber

In Friedberg:

Borger, Gerriets, Havkic, Kirchner, Sternkopf, Voswinckel

In Gießen:

Elewa, Göppner, Hrgovic, Jakob, Jung

In Bad Nauheim:

Abu Tayeh, Görlich, Hohmann, Hölzinger, Lie, Pröbstel, Schäfer, Schumacher

## **7.5 Danksagung**

Zuerst bedanke ich mich bei meinem Doktorvater Dr. Volker Ziller, der es mir ermöglichte, unter seiner freundlichen Betreuung Teil des Projekts der Pilotstudie zu sein. Lisa Witzke und Marcel Schütt möchte ich für die Einarbeitung danken. Bei Dorothea Huschka bedanke ich mich für die gute Zusammenarbeit während der Probengewinnung, im Labor und bei der Datenerhebung. Ein besonderer Dank gilt Thomas Bauer für die Mühe und Zeit mit den Laborbestimmungen, und Dr. Martha Kalff-Suske für die Erklärungen rund ums Thema IVF-Technik. Vielen Dank an Dipl. Psych. Werner Cassel für seine Hilfe bei der statistischen Auswertung der Daten. Außerdem danke ich Dr. Martha Kalff-Suske und Dr. Moira Behn für die Zeit im IVF-Labor, dem restlichen Team des REPKO in Marburg, insbesondere Alexandra Naumann, Martina Struck, Christl Pfeiffer und Celine Küblbeck für die organisatorische Unterstützung, und dem Team der CBBMR, insbesondere Beate Kleb, Elvira Willscher, Tamara Wüst, Elisabeth Kinder und Doris Finholdt, für die Zusammenarbeit bei der Dokumentation und Lagerung der Proben. Durch sie alle habe ich mich während der Arbeit gut aufgehoben gefühlt.

Selbstverständlich gilt mein Dank auch den Studienteilnehmerinnen, durch die das Projekt realisiert werden konnte.

Meinen Eltern gilt ein herzlicher Dank, da sie mir das Studium einschließlich der Dissertation ermöglicht haben und mich stets unterstützen. Außerdem bedanke ich mich bei meiner Schwester, Brian, Oskar und meinen Freundinnen und Freunden für ihre Unterstützung während dieser arbeitsintensiven Zeit.

## **7.6 Ehrenwörtliche Erklärung**

[Die ehrenwörtliche Erklärung ist nicht Bestandteil der Veröffentlichung.]