

Aus der Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe
Klinikum der Ludwig-Maximilians-Universität München



**Luteale Serumprogesteronspiegel in
IVF/ICSI-Frischzyklen**

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin

an der Medizinischen Fakultät der

Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von

Clara Elisabeth Winter

aus Heide

2024

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

Erstes Gutachten:	Prof. Dr. Nina Rogenhofer
Zweites Gutachten:	Prof. Dr. Orsolya Genzel-Boroviczény
Drittes Gutachten:	Prof. Dr. Tobias Weissenbacher
Dekan:	Prof. Dr. med. Thomas Gudermann
Tag der mündlichen Prüfung:	31.10.2024

Meinen Eltern in großer Dankbarkeit gewidmet

Inhaltsverzeichnis

INHALTSVERZEICHNIS	I
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	II
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	III
1 EINLEITUNG	1
1.1 ASSISTIERTE REPRODUKTIONSMEDIZINISCHE TECHNIK (ART)	1
1.2 DIE LUTEALPHASE UND DAS SCHLÜSSELHORMON PROGESTERON	4
1.3 LUTEALPHASEN-INSUFFIZIENZ IN ART-ZYKLEN	5
1.4 LUTEALPHASEN-UNTERSTÜTZUNG IN ART-ZYKLEN	6
1.5 DER LUTEALE P4 SERUMSPIEGEL	7
2 ZIELSETZUNG	9
3 MATERIAL UND METHODIK	10
3.1 STUDIENDESIGN	10
3.2 PATIENTENKOLLEKTIV	10
3.3 THERAPIEABLAUF DER ART-FRISCHZYKLEN	10
3.3.1 <i>Kontrollierte ovarielle Stimulation (COS)</i>	11
3.3.2 <i>Ovulationsinduktion</i>	12
3.3.3 <i>Lutalphasensubstitution (LPS)</i>	13
3.3.4 <i>Embryonen Klassifikation und Embryonentransfer</i>	13
3.3.5 <i>Schwangerschaftstest</i>	13
3.4 BASIS-CHARAKTERISTIKA DER FRISCHZYKLEN	13
3.5 METHODIK DER SERUMANALYSE	15
3.6 METHODIK DER ULTRASCHALLDIAGNOSTIK	16
3.7 DATENERHEBUNG	17
3.8 ETHIK UND DATENSCHUTZ	17
3.9 ENDPUNKTE	17
3.10 STATISTISCHE AUSWERTUNG	17
4 ERGEBNISSE	19
4.1.1 <i>Statistische Analyse der P4 Serumspiegel</i>	19
4.1.2 <i>P4-Quartile Bestimmung und Schwangerschaftsraten</i>	20
4.1.3 <i>P4 Subgruppenbestimmung und Schwangerschaftsraten</i>	22
4.1.4 <i>P4 Werte: 47,2 vs. 30 ng/ml</i>	24
4.1.5 <i>ROC-Kurve und multiple logistische Regressionsanalyse</i>	24
4.1.6 <i>Korrelationen der Zyklusparameter</i>	25
4.1.7 <i>Parametervergleich</i>	25
5 DISKUSSION	30
5.1 VERGLEICH DES P4 SERUMSPIEGELS AM TAG DES ET	31
5.2 P4-FRISCHZYKLUS-GRENZWERTVERGLEICH	31
5.3 ABLEHNUNG EINES OBEREN P4-GRENZWERTES	34
5.4 ERHÖHTES MATERNALES ALTER UND SET ANTEILE IN ZYKLEN <30 NG/ML P4	35
5.5 VORHERSAGEKRAFT VON P4 AUF DIE SSR	37
5.6 BEDEUTUNG FÜR DEN KLINISCHEN ALLTAG	37
5.7 STÄRKEN UND SCHWÄCHEN DER STUDIE	39
5.8 SCHLUSSFOLGERUNG UND AUSBLICKE	40
6 ZUSAMMENFASSUNG	41
LITERATURVERZEICHNIS	43
ANHANG: DANKSAGUNG UND EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG	

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: IVF vs. ICSI	2
Abb. 2: Frischzyklus vs. Kryozyklus nach IVF/ICSI	2
Abb. 3: Anteil der Geburtenrate pro Transfer Die Inhalte dieser Abbildung stammen aus dem Jahrbuch 2020/2021 des deutschen IVF-Register (10).	3
Abb. 4: Lutealphase im Menstruationszyklus	4
Abb. 5: Lutealphasen Insuffizienz nach GnRH und hCG-Trigger modifiziert nach Inhalten von Damewood MD et al., 1987: Gonen Y et al, 1990: Itskovilz Jet al.1991	5
Abb. 6: Luteale P4 Serumspiegel in natürlichen Zyklen vs. nach hCG Trigger nach Inhalten von Jones-1996 by Fauser and Devroev-2003	6
Abb. 7: GnRH-Agonisten Protokoll	11
Abb. 8: GnRH-Antagonisten Protokoll	12
Abb. 9: Überblick der Basis-Charakteristika in Frischzyklen	15
Abb. 10: Visualisierung der Aufteilung von P4 in Quartile (Nach Inhalten von (70))	18
Abb. 11: Alter und des BMI der Patientinnen in Frischzyklen	19
Abb. 12: Verteilung der P4 Serumspiegel am Tag des ET in Frischzyklen	20
Tabelle 13: SSR in den P4- Gruppen	21
Abb. 14: P4-Serumspiegel der P4-Gruppen (Q1 (n=69), Q2 (n=69), Q3 (n=69), Q4 (n=68); (Signifikanztest mittels Mann Whitney Test)).	21
Abb. 15: SSR der vier P4-Gruppen	22
Tabelle 16: SSR der P4 Subgruppen.	23
Abb. 17: SSR der P4-Subgruppen (n: I;40, II;39, III;39, IV;42, V;42, VI;39, VII;32)	23
Abb. 18: Vergleich der Grenzwerte 47,2 und 30 ng/ml Progesteron	24
Abb. 19: Multiplen logistischen Regressionanalyse (links), ROC-Kurve von P4 Serumspiegel, (rechts).	25
Abb. 20: Parametervergleich der P4 Subgruppen in Frischzyklen	26
Abbildung 21: Zyklusparametervergleich der P4-Subgruppen.	26
Abb. 22: Alter der Frauen in den P4-Subgruppen	27
Abb. 23: P4 Serumspiegel in D2/3 und D5 Zyklen	28
Abb. 24: P4 Serumspiegel in SET (n=147) und DET (n=128) Frischzyklen.	29
Abbildung 25: Vergleich der Ergebnisse zu anderen Studien	34
Abbildung 26: Mögliche Auswirkung der Zyklusparameter auf die reduzierte SSR der ersten Subgruppe	36

Abkürzungsverzeichnis

Kürzel Bedeutung

ART	Artifizielle reproduktive Technik
IVF	In-vitro-Fertilisation
ICSI	Intrazytoplasmatische Spermieninjektion
COS	Kontrollierte ovarielle Stimulation
POR	Schlechte (=poor) ovarielle Antwort
OI	Ovulationsinduktion
ET	Embryonentransfer
FP	Follikelpunktion
D2/3	ET zwei oder drei Tage nach FP
D5	ET fünf Tage nach FP
SET	Single ET
DET	Double ET
SSR	Schwangerschaftsrate
CL	Corpus Luteum
P4	Progesteron
E2	Östrogen
GnRH	Gonadotropin-Releasing-Hormon
LH	Luteinisierendes Hormon
FSH	Follikel stimulierendes Hormon
SHH	Schleimhaut- (Endometriums-) Höhe
LPS	Lutealphasen-Substitution
hCG	Humanes Choriongonadotropin

1 Einleitung

In den industrialisierten Ländern der Welt bleiben 17-28% der Paare ungewollt kinderlos (1). Als unfruchtbar werden Paare definiert, die nach ungeschützten Geschlechtsverkehr keine Kinder zeugen konnten (2). Es gibt viele Ursachen für ungewollte Kinderlosigkeit. Ein Faktor ist das zunehmend steigende maternale Alter (3) (4) (5). Vielen Frauen sind sich nicht bewusst, dass sich bereits zwischen 25 und 30 Jahren die weibliche Fertilität zunehmend reduziert (5) (6). Mit 25 Jahren liegt die Infertilitätsrate bei 4,5%, mit 30 Jahren steigt sie auf 12% und mit 38 Jahren auf 20% (7). Die Ursachen für die im Alter zunehmende Infertilität ist vielfach erforscht. Sie ist zum einen auf die Reduktion der ovariellen Reserve zurückzuführen. Zum anderen nimmt die Eizellqualität mit steigendem Alter ab. Dies ist unter anderem durch vermehrt auftretende Chromosomenaberrationen mit steigendem Alter zu erklären (4), (5) (8).

Ein weitere Grund für ungewollte Kinderlosigkeit sind mit Infertilität assoziierte Krankheiten (5). So können beispielsweise die Erkrankung an Endometriose, eine stattgefunden Adnexitis oder eine Eileiterschwangerschaften zum Verschluss oder dem Verlust der Eileiter führen (5). In diesen Fällen bietet sich eine Behandlung im Rahmen der assistierten reproduktionsmedizinische Technik an.

1.1 Assistierte Reproduktionsmedizinische Technik (ART)

ART sind nach der Definition des amerikanischen Center for Disease Control (CDC) alle fruchtbarkeitsbezogenen Behandlungen, bei denen Eizellen oder Embryonen behandelt werden (9). In Deutschland wurden inzwischen 363.940 Kinder nach In-vitro-Fertilisation geboren (Stand 2021) (10).

Ein ART-Zyklus beginnt mit der hormonell induzierten, kontrollierten, ovariellen Stimulation (COS). Sie hat zum Ziel, mehrere Eizellen gleichzeitig reifen zu lassen, um diese anschließend zu gewinnen (11). Nach der COS folgt die artifizielle Ovulationsinduktion (OI). Die resultierenden Eizellen werden mittels vaginaler Follikel-Punktion (FP) entnommen. Die anschließende Befruchtung wird entweder per In-vitro-Fertilisation (IVF) oder mittels der intrazytoplasmatischen Spermieninjektion (ICSI) durchgeführt. Während bei der klassischen IVF die Eizellen und die Spermien in einer

Petrischale zusammengeführt werden, wird bei der ICSI ein Spermium mittels Kanüle direkt in die Eizelle injiziert (12). Die folgende Abbildung (Abb.4) zeigt die unterschiedlichen Methoden zur artifiziellen Insemination.

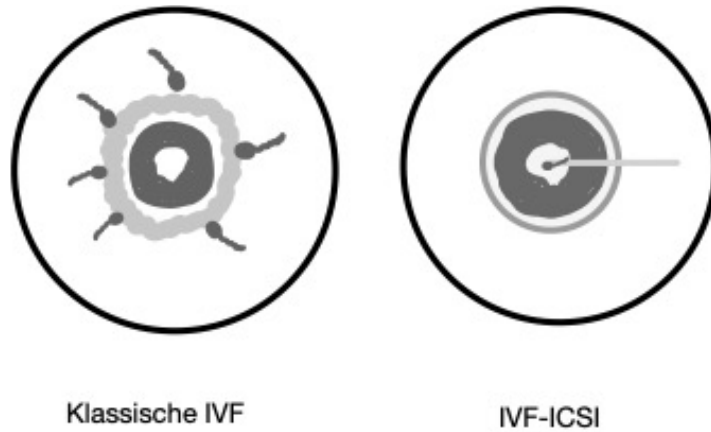


Abb. 1: IVF vs. ICSI

Bei den *Frischzyklen* werden die befruchteten Eizellen „frisch“ in den Uterus überführt. Dies geschieht zwei bzw. drei Tage (D2/3) oder fünf Tage (D5) nach der FP. Das bedeutet Stimulation, OI, Oozyten Entnahme, Befruchtung und Embryonen Transfer (ET) finden direkt nacheinander statt. Bei *Kryozyklen* werden hingegen zuvor eingefrorene (kryokonservierte) Embryonen transferiert.



Abb. 2: Frischzyklus vs. Kryozyklus nach IVF/ICSI

Laut dem deutschen IVF-Register unterzogen sich im Jahr 2020 66.447 Patientinnen einer Behandlung mittels der ART. Von den vollzogenen IVF/ICSI-Transfers konnten bei 17.386 eine klinische Schwangerschaft festgestellt werden (10). Insgesamt führten diese zu 12.503 Geburten. Damit lag die allgemeine Geburtenrate pro Embryonentransfer bei 23,5%.

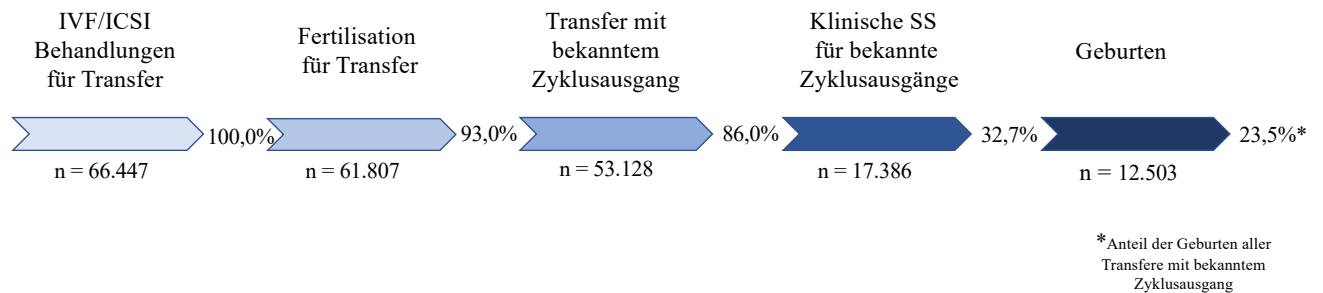


Abb. 3: Anteil der Geburtenrate pro Transfer Die Inhalte dieser Abbildung stammen aus dem Jahrbuch 2020/2021 des deutschen IVF-Register (10).

83,4% der Geburten, die vom deutschen IVF-Register erfasst wurden, waren Einlinge, 16,3% Zwillinge und 0,3% Drillinge. Der Anteil von Einlingsgeburten stieg im Vergleich zum Vorjahr (81,7%) um 1,7 Prozentpunkte an. Grund dafür ist, dass immer häufiger nur ein Embryo in Zyklen transferiert wurde. Diese Zyklen werden als „Single Embryo Transfer“ bezeichnet und im Verlauf als SET beschrieben (10). Analog dazu ist die Anzahl von Transfers mit zwei Embryonen rückläufig, diese Zyklen werden als DET „Double Embryo Transfer“ bezeichnet. Laut dem deutschen IVF Register von 2020/21 lag die Schwangerschaftsrate (SSR) in SET Zyklen bei 35,4% und in DET Zyklen bei 41,8%. In DET Zyklen steigt das Risiko für Mehrlingsschwangerschaften (13). Heutzutage werden Mehrlingsschwangerschaften als schwerwiegende Komplikationen in ART-Zyklen angesehen. Sie erhöhen im Vergleich zu Einlingsschwangerschaften das Risiko von Frühgeburten, Schwangerschaftsdiabetes, schwangerschaftsinduziertem Bluthochdruck, mütterlicher Anämie und postpartalen Blutungen (14-17). Deshalb sind SET Zyklen empfohlen (18) (19). Mit dem Ziel die Sicherheit der ART-Zyklen zu verbessern und die geburtshilflichen Risiken zu verringern, gibt es in einigen Ländern

Beschränkungen für die Anzahl der transferierten Embryos und aktive Förderung des SET (20).

1.2 Die Lutealphase und das Schlüsselhormon Progesteron

Für die SSR in ART-Zyklen spielt die Überwachung und die artifizielle Unterstützung der Lutealphase eine Schlüsselrolle (21). In physiologischen Zyklen beginnt sie in der zweiten Zyklushälfte unmittelbar postovulatorisch nach der Proliferationsphase. Durch den Anstieg des luteinisierenden Hormons (LH) und des Follikel stimulierenden Hormons (FSH) wird der Eisprung ausgelöst. Die Eizelle wird aus dem dominanten Follikel herausgelöst. Dieser wandelt sich anschließend in den Corpus Luteum (CL) um. Der CL produziert das Schlüsselhormon der Lutealphase, das Progesteron (P4). P4 beeinflusst die Transformation des unter Östrogen (E2) proliferiertem Endometriums und schafft optimale Einnistungsbedingungen (22). Es ist für die Entstehung und den Erhalt einer Schwangerschaft essenziell (21). In einem natürlichen Zyklus ohne hormonelle Stimulation liegt der luteale P4 Serumspiegel zwischen 1,7 und 27,0 ng/mL (23). Dabei steigt der P4 Serumspiegel nach der Ovulation allmählich an und schwankt am Tag der Einnistung je nach Frau und Schwangerschaft (24).

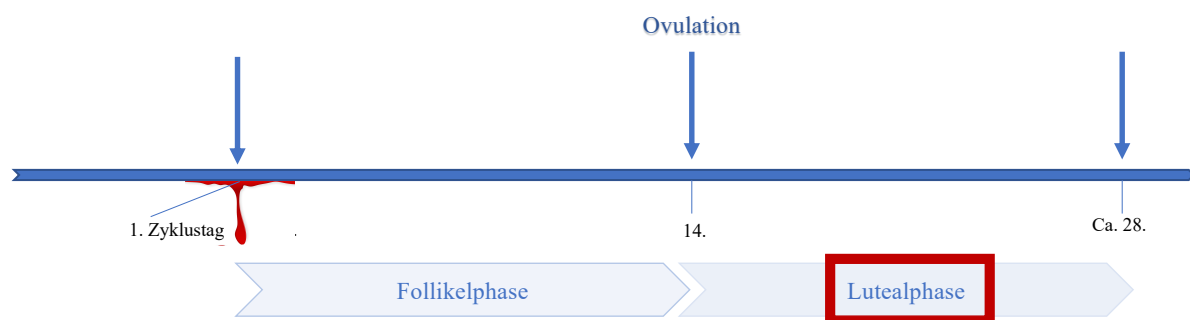


Abb. 4: Lutealphase im Menstruationszyklus

1.3 Lutealphasen-Insuffizienz in ART-Zyklen

In stimulierten IVF/ICSI-Frischzyklen unterscheiden sich die P4-Hormserumspiegel in der Lutealphase deutlich von dem eines natürlichen Zyklus (25) (26). Nahezu jede Patientin ist von einer Insuffizienz der Lutealphase betroffen (27). Ursache hierfür ist unter anderem die hormonelle Behandlung in ART-Zyklen. Zum einen führt die COS zu einem multifollikulärem Wachstum. Dieser führt zu supraphysiologischen Hormonspiegeln, die über eine negative Feedback-Regulation zur Suppression der LH-Sekretion führen (28) (29-32). Zum anderen spielt auch die artifizielle OI mittels GnRH-Agonisten oder hCG bei der Entstehung der Lutealphaseninsuffizienz eine entscheidende Rolle.

Dabei führt die Applikation von *GnRH-Agonisten* zum LH und FSH Anstieg und aktiviert über die Vollendung der Meiose die Ovulation. Im Vergleich zu natürlichen Zyklen kommt es durch einen verkürzten LH-Anstieg auf 48h verfrüht zur Luteolyse (33). Die Progesteronproduktion des CL ist eingeschränkt und ohne zusätzliche P4 Substitution kommt es zur Lutealphaseninsuffizienz (28).

Auch die Applikation von *Choriogonadotropin alpha* (hCG) führt zur OI, da es denselben Rezeptor wie LH aktiviert. Dabei hat hCG mit über 24h eine längere Halbwertszeit als LH. Damit löst die hCG Gabe nicht nur die OI aus, es unterstützt zudem die Funktion des CL bis zu fünf Tage nach der Applikation (28). Danach wird der CL durch den Mangel an hCG/LH nicht mehr optimal stimuliert (34), der P4 Serumspiegel fällt ohne zusätzliche P4 Substitution rapide ab (28) (35).

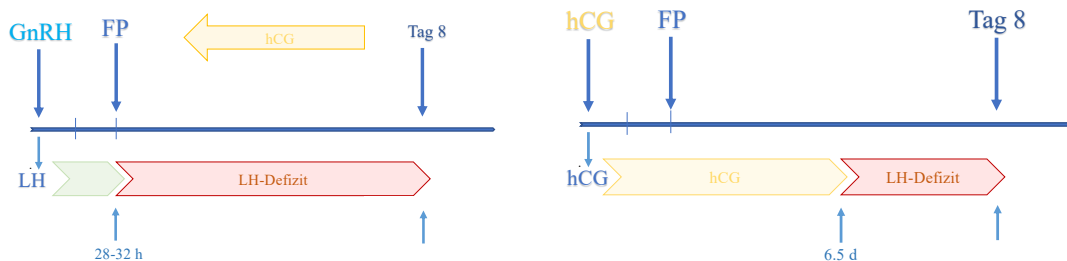


Abb. 5: Lutealphasen Insuffizienz nach GnRH und hCG-Trigger modifiziert nach Inhalten von Damewood MD et al., 1987; Gonen Y et al, 1990; Itskovilz Jet al.1991

Die unterschiedlichen OI Wirkstoffe haben einen Einfluss auf die P4 Serumspiegel. Während die durchschnittlichen P4 Serumspiegel in Zyklen nach hCG Gabe sieben Tage nach Follikelpunktion bei 88,99 ng/ml lagen, erreichten sie in Zyklen nach GnRH-Agonist Applikation im Durchschnitt 12,2 ng/ml (28, 36).

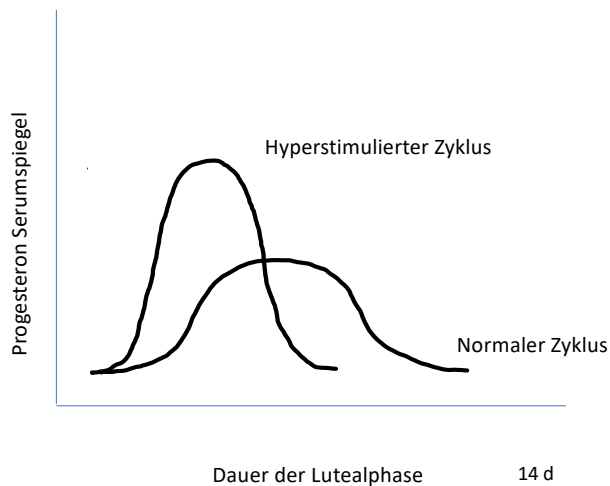


Abb. 6: Luteale P4 Serumspiegel in natürlichen Zyklen vs. nach hCG Trigger nach Inhalten von Jones-1996 by Fauser and Devroev-2003

Auch in den artifiziell substituierten Kryozyklen kommt es durch die künstliche Unterdrückung des natürlichen Zyklus zu einer Lutealphaseninsuffizienz: Um das Zeitfenster einer optimalen endometrialen Rezeptivität zu steuern, werden hier die Ovulation und die Bildung eines CL unterdrückt. Die Induktion der Transformation des Endometriums und die Frühschwangerschaft sind vollkommen von der exogenen Substitution (P4 und E2) abhängig (37, 38).

1.4 Lutealphasen-Unterstützung in ART-Zyklen

Im Rahmen der ART-Behandlung bezeichnet die Lutealphasenunterstützung bzw. Support (LPS) die Substitution von Medikamenten, die den Einnistungsprozess des Embryos unterstützen sollen (27). Die exogene P4 Substitution spielt dabei eine entscheidende Rolle (39). P4 induziert die sekretorische Umwandlung der endometrialen Drüsen und des Stomas und ahmt so die physiologische Empfänglichkeit in Menstruationszyklen nach (40).

Noch umstritten ist die **Verabreichungsform**, die **Dosis**, der **Startzeitpunkt** und die **Dauer** der P4 Substitution (39) (41) (42) (43) (44).

P4 kann vaginal, oral, intramuskulär, subkutan und auch rektal substituiert werden (39) (24). Die vaginale P4-Substitution wird als Goldstandard angesehen und wurde neben der intramuskulären Verabreichungsform am häufigsten verwendet (39) (45). Studien zufolge haben alle Verabreichungsformen mit der Ausnahme der oralen P4 Applikation die gleiche Wirksamkeit (39) (43) ((46-51)). Für die P4 Dosierung der LPS wurde noch kein Standard definiert. Für vaginal, rektal und oral verabreichtes P4 liegt die tägliche Dosis in stimulierten Zyklen zwischen 400-800 mg (24). Bei subkutaner P4 Anwendung liegt die tägliche Dosis bei 25 mg (52) und bei intramuskulärer Anwendung bei 50 mg (53). Bei der oralen Gabe wurden 30 mg pro Tag empfohlen (54). Der Startzeitpunkt der P4 Substitution für die LPS ist entscheidend. Ein zu früher Beginn führt häufig zu einer vorzeitigen Luteinisierung (24). Die vorzeitige Luteinisierung wird als Anstieg des Progesterons über einen bestimmten Grenzwert am Tag der hCG-Gabe definiert. Sie betrifft 12,3 bis 46,7 % der frischen In-vitro-Fertilisationszyklen. Es gibt immer mehr Belege dafür, dass sie sich negativ auf die Erfolgsrate auswirkt (55). Bei verspäteter Applikation wird die Inhibition von Uteruskontraktionen behindert. Eine erhöhte Uteruskontraktilität führt zu einer geringeren Implantationsrate (56) (57). Laut Mohammed et al. liegt der optimale Zeitpunkt für den Beginn der P4 Substitution am Tag nach der Eizellentnahme (45) (24).

1.5 Der luteale P4 Serumspiegel

Für die Beurteilung der Lutealphaseninsuffizienz und der Abschätzung der Wirkung der Lutealphasensubstitution spielt die Überwachung des P4 Serumspiegel In ART-Zyklen eine wichtige Rolle (58). Das gemessene Serumprogesteron setzt sich hier aus 50% endogener Produktion vom CL und zu 50 % aus der exogenen P4 Substitution zusammen (34).

Der P4 Serumspiegel ist dabei von den bereits erwähnten unterschiedlichen Verabreichungsform abhängig (24). Während in Studien bei der oralen, subkutanen und intramuskulären Substitution dosisabhängige Schwankungen beobachtet wurden (59)

(60), zeigten sich sechs Stunden nach der vaginalen P4 Substitution konstante P4 Serumspiegel (61).

Der vaginale P4 Spiegel wird in der Regel nicht gemessen, da er den uterinen P4 Serumspiegel nicht wieder spiegelt. Eine mögliche Erklärung dafür liefert der sogenannte „First uterine pass effect“ (40). Demnach gibt es einen lokalen, direkten Transport von der Vagina in den Uterus, der für das uterine Ansprechen von vaginalem Progesteron verantwortlich zu sein scheint. Nach vaginaler P4 Substitution wurden in Studien 10-mal höhere P4 Konzentrationen im Uterus gemessen, als nach systemischer P4 Substitution, obwohl der P4 Serumspiegel im letzteren Fall mehr als siebenmal höher war (40).

Die Kontrolle des P4 Serumspiegels wird zudem durch tageszeitabhängige Schwankungen erschwert (28) (62). Der gemessene P4 Spiegel ist von dem Abnahmezeitpunkt und dem verwendeten Assay (28, 63, 64) abhängig. Zudem wurden in Vorarbeiten starke Schwankungen in oberen P4 Serumspiegelbereichen (>78,62 ng/ml) und geringere Schwankungen in unteren P4 Serumspiegelbereichen (<18,87 ng/ml) beschrieben (25).

Allgemein scheinen niedrige P4 Serumspiegel mit reduzierten SSR in Verbindung zu stehen. Insofern ist für die Beurteilung der SSR vor allem die niedrigeren P4 Serumspiegel von Bedeutung. So liegt in natürlichen Zyklen die P4 Mindestgrenze, von der man annimmt, dass sie notwendig ist, um eine Schwangerschaft herbeizuführen, bei 9,4 ng/ml P4 (24, 65). Vorarbeiten zu Kryozyklen zeigten, dass die SSR ab P4 Werten zwischen 8,8 und 15,7 ng/ml reduziert waren (66).

Aus früheren Studien ging hervor, dass sich auch in Frischzyklen ein niedriger lutealer P4 Serumspiegel nachteilig auf die SSR auswirkt (25, 35). Insgesamt ist aber über die Verteilung des P4 Serumspiegels in Frischzyklen wenig bekannt. Obwohl in diesen Zyklen die sekretorische Umwandlung des Endometriums von der exogenen P4 Substitution abhängt, gibt es nur wenige Studien, die den optimalen lutealen P4-Spiegel in Frischzyklen untersuchen. Daher wurden auch keine P4-Grenzwerte, die in der klinischen Praxis verwendet werden können, definiert und die Überwachung des lutealen P4-Spiegels nach einem frischen Embryotransfer nicht in die Standard-IVF-Protokolle aufgenommen (25).

2 Zielsetzung

Daten aus aktuellen Studien verweisen auf einen wichtigen prognostischen Wert des P4-Serumspiegels am Tag des ET zur Verbesserung der SSR in Kryozyklen. Für Frischzyklen P4 Serumspiegel am Tag des ET sind derartige Zusammenhänge noch weitgehend unklar. Ziel dieser Arbeit war es zu überprüfen, ob es ebenfalls möglich ist für die Frischzyklen einen Grenzwert zu definieren. Folgende Fragen standen dabei insbesondere im Vordergrund:

- Wie verhält sich der P4 Serumspiegel am Tag des ET in IVF/ICSI-Frischzyklen?
- Ist es möglich, einen P4-Grenzwert für IVF/ICSI-Frischzyklen zu definieren, unterhalb dessen die SSR reduziert ist?
- Gibt es einen oberen Grenzwert?
- Welche Vorhersagekraft hat P4 auf die SSR?
- Zeigen sich Auffälligkeiten bei anderen Zyklusparametern in Frischzyklen mit geringen P4 Serumspiegel und niedrigen SSR?

3 Material und Methodik

3.1 Studiendesign

Die retrospektive Kohorten Studie wurde im Hormon- und Kinderwunschzentrum der Ludwig-Maximilian-Universität München durchgeführt. Sie basiert auf Daten des Zyklus Monitoring aus Frischzyklen.

3.2 Patientenkollektiv

Die endgültige Studienpopulation umfasste 275 Frischzyklen. Diese wurden zwischen dem 01.07.2018 und dem 31.12.2020 durchgeführt. Unabhängig von ihrer Diagnose für die Kinderwunschbehandlung wurden Patientinnen zur Teilnahme an der Studie zugelassen. Der Transfer fand am zweiten bzw. dritten (D2/3) oder am fünften (D5) Tag nach der FP statt. Es wurde ein (SET) oder zwei (DET) Embryonen transferiert.

Ausschlusskriterien der Frischzyklen

42 Frischzyklen wurden zuvor von der Studie ausgeschlossen. Folgende Gründe führten zum Ausschluss eines Zyklus aus der Studie: Trotz adäquater Stimulation entwickelte sich in dem Zyklus keine befruchtungsfähige Eizelle. Aufgrund eines drohenden oder stattgefundenen Überstimulationssyndrom wurde ein „Freeze all“ durchgeführt und der Zyklus abgebrochen. Patientinnen erschienen nicht zur Zykluskontrolle. Aufgrund mangelnder Datenlage konnte der Zyklus nicht angemessen ausgewertet werden.

3.3 Therapieablauf der ART-Frischzyklen

Der Therapieablauf in den Frischzyklen setzt sich aus der kontrollierten ovariellen Stimulation (COS), der Ovulationsinduktion, der sonographisch gesteuerten ovariellen Punktion mit Eizellentnahme, der Lutealphase mit medikamentöser Lutealphasensubstitution, dem Embryonentransfer und der hCG-Bestimmung zusammen und wurde in den Kapiteln 1.1 bis 1.4 der Einleitung beschrieben.

3.3.1 Kontrollierte ovarielle Stimulation (COS)

Bei der kontrollierten ovariellen Stimulation (COS) in den ART-Frischzyklen wurden in der vorliegenden Arbeit zwei verschiedene Stimulationsprotokolle angewendet

A: GnRH-Agonistenprotokoll:

Bei dem langen GnRH-Agonistenprotokoll erfolgte die hypophysäre Downregulation ab der Mitte der Lutealphase des vorherigen Zyklus (durchschnittlich ab dem 21. Zyklustag) mittels GnRH (Gonadotropin-Releasing-Hormon)-Agonist (Nafarelin 0,8mg/d nasal). Nach sonographischer und laborchemischer Kontrolle der Hypogonadotropie erfolgte ab dem 3.-5. Zyklustag des neuen Zyklus der Stimulationstart mit einer täglicher Gonadotropinapplikation.

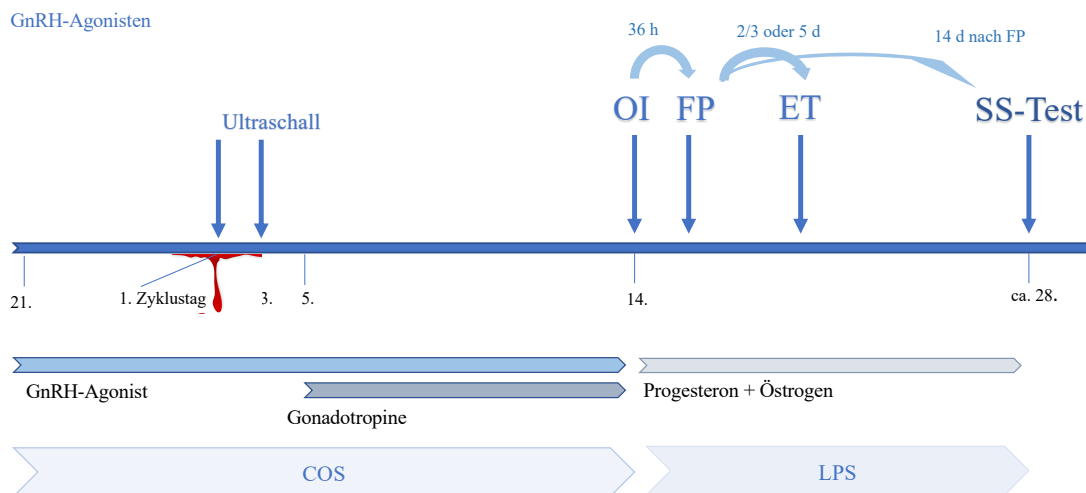


Abb. 7: GnRH-Agonisten Protokoll

B: GnRH-Antagonisten-Protokoll

Bei dem GnRH-Antagonisten-Protokoll erfolgte nach sonographischer und laborchemischer Kontrolle die tägliche Gonadotropinen Gabe ab dem zweiten oder dritten Zyklustag. Die Applikation des GnRH-Antagonisten erfolgte regelhaft ab dem 5. Stimulationstag.

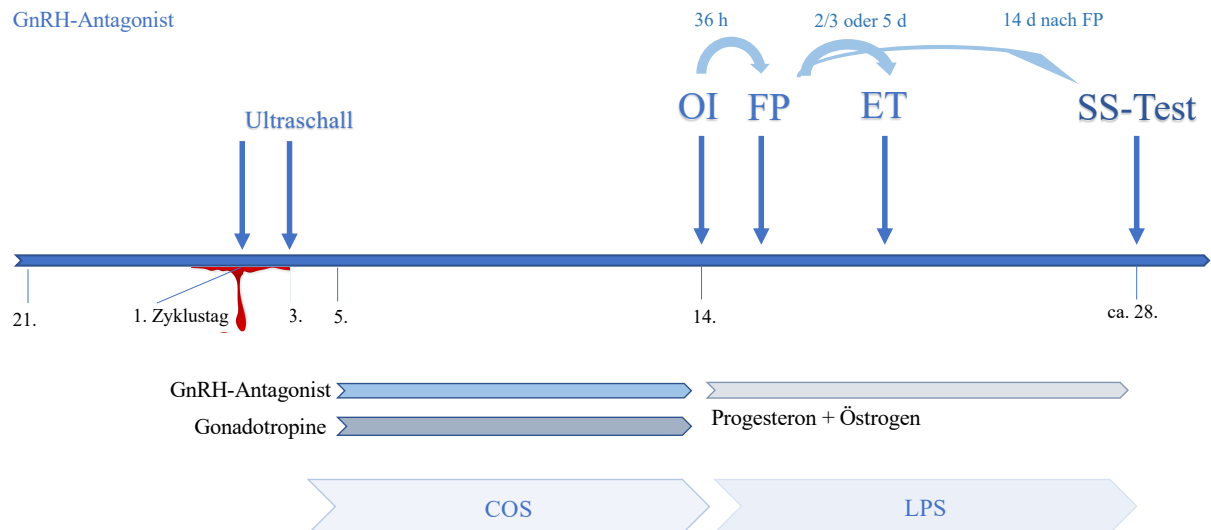


Abb. 8: GnRH-Antagonisten Protokoll

Gonadotropine:

Die Stimulation der Eierstöcke erfolgte entweder mit rekombinantem FSH (rFSH) (Follitropin alpha, Follitropin beta oder Follitropin-delta) oder hMG (humanes menopausales Gonadotropin). Die Gonadotropine wurden einzeln oder in Kombination verabreicht. Die Dosisanpassungen erfolgten gemäß der klinischen Routinepraxis anhand des AMH (Anti-Müller-Hormon) - Wertes, des antralen Follikelcounts (AFC) und des Alters. Die minimale Stimulationsdosis lag bei 100 I.E., die maximale Stimulationsdosis lag bei 375 I.E. (Follitropin alpha, Follitropin beta und hMG). Bei Follitropin delta lag die minimale Dosis bei 5,66 Mikrogramm und die maximale Dosis bei 12 Mikrogramm täglich.

3.3.2 Ovulationsinduktion

Die **Ovulationsinduktion** (OI) wurde mit einer Injektion von 250 Mikrogramm rekombinantem humanem Choriongonadotropin (rHCG), 10.000 I.E. humanem HCG 36 Stunden vor der Oozytenentnahme ausgelöst, oder wenn mindestens drei Follikel ≥ 17 mm gemessen wurden. Die Zeitspanne der Stimulationsdauer wurde als der Zeitpunkt des Beginns der Gonadotropinstimulation bis zum Tag der OI bestimmt.

3.3.3 Lutealphasensubstitution (LPS)

Die Substitution der **Lutealphase** wurde unmittelbar nach der Eizellentnahme mit natürlichem mikronisiertem Vaginalprogesteron (MVP) in einer Dosis von 400 mg zweimal täglich oder in einer Dosis von 200 mg dreimal täglich begonnen. Ebenfalls erfolgt die transdermale Applikation von Östradiol mittels Plaster alle 72h (100Mikrogramm in 24h). Die Verabreichung von Estradiol und MVP wurde bis zum Tag des Schwangerschaftstests fortgesetzt. Wenn eine Schwangerschaft eintrat, wurde die Hormonbehandlung bis zur zehnten bzw. bis zur zwölften Schwangerschaftswoche fortgesetzt.

3.3.4 Embryonen Klassifikation und Embryonentransfer

Die Befruchtung der Oozyten wurde je nach der Hauptursache der Sterilität mit IVF oder ICSI durchgeführt. Die Anzahl der fertilisierten Oozyten wurde am Tag eins nach der Eizellentnahme bewertet. Die Qualität der Embryonen wurde nach Becas ASEBIR eingestuft und es wurden nur Embryonen der Klassen A bis C übertragen. Der ET wurde am zweiten, dritten oder fünften Tag nach der Entnahme der Oozyten durchgeführt. Alle ETs wurden von einem erfahrenen Gynäkologen unter transabdominaler Ultraschallkontrolle durchgeführt.

3.3.5 Schwangerschaftstest

Der Schwangerschaftstest erfolgte frühestens 14 Tage nach der FP mittels Serum-HCG-Bestimmung.

3.4 Basis-Charakteristika der Frischzyklen

Folgende Zyklusparameter des Monitorings wurden für die Zyklusanalyse aufgenommen und ausgewertet:

3.4.1.1 Alter

Bei dem Parameter „Alter“ handelt es sich um das Alter in Jahren der Patientin am ersten Zyklustag.

3.4.1.2 BMI

Bei dem Parameter „BMI“ handelt es sich um die Body-Mass-Index in Körpergewicht geteilt durch die (Körpergröße)² der Patientin am ersten Zyklustag.

3.4.1.3 Progesteron (P4)

Bei dem Parameter „Progesteron“ handelt es sich um den Serumspiegel des Progesterons der Patientin bei der Blutentnahme am Tag des Embryonentransfer (ET) in ng/ml.

3.4.1.4 Östrogen (E2)

Bei dem Parameter „Östrogen“ handelt es sich um den Hormonserumspiegel des Östrogens der Patientin bei der Blutentnahme am Tag des ET in ng/ml.

3.4.1.5 HCG (positiver/negativer Schwangerschaftstest)

Das humane Choriongonadotropin (hCG) wurde 14 Tage nach der Follikelpunktion im Serum der Patientin bestimmt. Ein Wert über 2 mIU/ml wurde als ein positiver Schwangerschaftstest gewertet, ein Wert gleich oder kleiner als 2 mIU/ml als negativer Schwangerschaftstest.

3.4.1.6 Schleimhauthöhe (SHH)

Bei dem Parameter „Schleimhauthöhe (SHH)“ handelt es sich um die im vaginalen Ultraschall gemessene Höhe des Endometriums in mm in der letzten Untersuchung vor dem ET.

3.4.1.7 Oozyten

Bei dem Parameter „Oozyten“ (COC- Cumulus Oophoros Complex) handelt es sich um die Anzahl der Eizellen, die initial bei der FP entnommen wurden.

3.4.1.8 Single Embryo Transfer (SET) vs. Double Embryo Transfer (DET)

Die Parameter „SET vs. DET“ stehen für Single Embryotransfer und Double Embryotransfer. Sie geben Auskunft, ob in einem Zyklus ein oder zwei Embryonen transferiert wurden.

3.4.1.9 D2/3 vs. D5 ET

Der Parameter beschreibt, ob der ET in einem Zyklus am zweiten bzw. dritten (D2/3) oder am fünften Tag (D5) nach der FP stattfand.

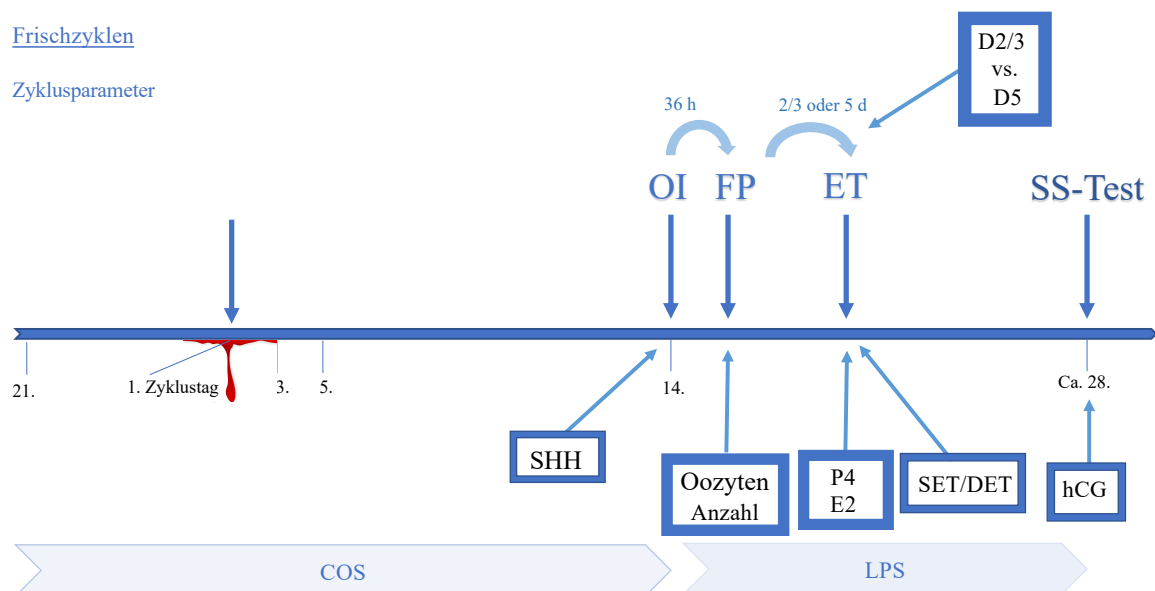


Abb. 9: Überblick der Basis-Charakteristika in Frischzyklen

3.5 Methodik der Serumanalyse

P4, E2 und hCG wurden im Institut der klinischen Chemie des Klinikums der Ludwig-Maximilian-Universität bestimmt. Wie in der Einleitung beschrieben, unterliegt der P4 Serumspiegel Tags zeitlichen Schwankungen und ist zudem von dem zeitlichen Abstand der zuletzt erfolgten P4 Substitution abhängig. Deshalb erfolgte die P4 Serumspiegelbestimmung im Hormon- und Kinderwunschzentrum der LMU

ausschließlich zwischen 9:00 und 12:00 Uhr, in derselben Räumlichkeit und mit derselben Labormethode.

Die zirkulierenden Peptid-/Proteinkonzentrationen werden durch eine Vielzahl pathophysiologischer Ereignisse beeinflusst (67). In dieser Studie wurde zur quantitativen Bestimmung von Humanserum und -plasma das ElektroChemilumineszenz ImmunoAssay "ECLIA" verwendet. Dabei handelt es sich um ein Sandwich-Immunoassay, eine Technik zum Konzentrieren, Nachweisen und Quantifizieren von Zielantigenen (68). Die Methode basiert auf dem Wettbewerbsprinzip und dauert laut Hersteller insgesamt 18 Minuten. Es wurde als hochempfindliches Verfahren entwickelt und hat viele Vorteile gegenüber anderen Nachweissystemen: zum Beispiel sind die Nachweisgrenzen extrem niedrig (200 fmol/L), die Markierungen sind im Vergleich zu anderen Chemilumineszenzen extrem stabil und zudem können extrem kleine und auch große Moleküle markiert werden (69).

Der ECLIA ist zur Durchführung an cobas® e Immunoassay-Systemen vorgesehen. Dabei handelt es sich um ein Hochdurchsatzmodul für immunologische Tests. Laut Hersteller können mit diesem Modul bis zu 300 Tests pro Stunde und über 100 immunologische Parameter ermittelt werden. Zur Qualitätskontrolle von Immunoassays auf den cobas® e Immunoassay-Analysegeräten wurde PreciControl Universal (PCU) eingesetzt. PCU enthält Kontrollmaterial für zahlreiche Elecsys-Assays. Es ist eine lyophilisierte Lösung, die aus einer Humanserum-Matrix und Antigenen besteht. Die In-vitro-Diagnostik wurde von medizinischem Fachpersonal durchgeführt. Um eine einwandfreie Funktion des Tests sicherzustellen, wurden die gerätespezifischen Anweisungen befolgt.

3.6 Methodik der Ultraschalldiagnostik

Die Ultraschalldiagnostik zur Messung der SHH wurde ausschließlich von erfahrenen Gynäkologen durchgeführt. Das Gerät Voluson P6 der Firma Voluson Core Architecture wurde dafür verwendet.

3.7 Datenerhebung

Ein Großteil der Daten dieser Studie wurden in dem Computerprogramm SAP (Systemanalyse Programmentwicklung) gespeichert. Zudem wurde mit der Software Meditex gearbeitet. Dabei handelt es sich um eine ART-Management Software, in der die Daten Zyklus Monitoring automatisch übertragen und gespeichert werden (zum Beispiel aus Blutentnahmen) oder manuell vom medizinischen Personal eingegeben werden. Aus den verschiedenen Daten Speicher wurden die Zyklusinformationen des Monitorings strukturiert zusammengeführt.

3.8 Ethik und Datenschutz

Die vorliegende Studie entsprach den ethischen Richtlinien der Institution. Die Ethikkommission der Ludwig-Maximilian-Universität München genehmigte die Studie (IRB Nr. 21-0228).

3.9 Endpunkte

Der primäre Endpunkt der Studie war das Ergebnis des Schwangerschaftstest. Er wurde ca. 14 Tage nach dem ET durchgeführt. Dieser wurde mittels hcG-Serumspiegel Bestimmung durchgeführt. Lag der Spiegel über 2 mIU/ml, wurde der Test als positiv gewertet.

3.10 Statistische Auswertung

Der P4 Serumspiegel am Tag des ET wurde in den Frischzyklen auf unterschiedlichste Weisen analysiert. Unterschiede bei kontinuierlichen Parametern (z.b. P4-Serumspiegel) wurden mittels dem Mann Whitney U Test bewertet. Der Chi-Square Test wurde verwendet, um kategoriale Parameter (z.b. Schwangerschaftswahrscheinlichkeit in Form von Schwanger: ja oder nein) zu vergleichen. Die statistischen Auswertungen wurden mit GraphPad Prism (9.1.0 for Mac) durchgeführt.

Der Zyklusparameter P4 am Tag des ET wurde initial mit dem Anderson-Darling Test auf Normalverteilung geprüft. Eine deskriptive statistische Analyse wurde durchgeführt, der kleinste P4 Wert, die erste Quartil, der Median, die zweite Quartil und das Maximum wurden bestimmt. Mit diesen Werten wurden vier P4-Gruppen gebildet und deren Schwangerschaftswahrscheinlichkeiten berechnet.

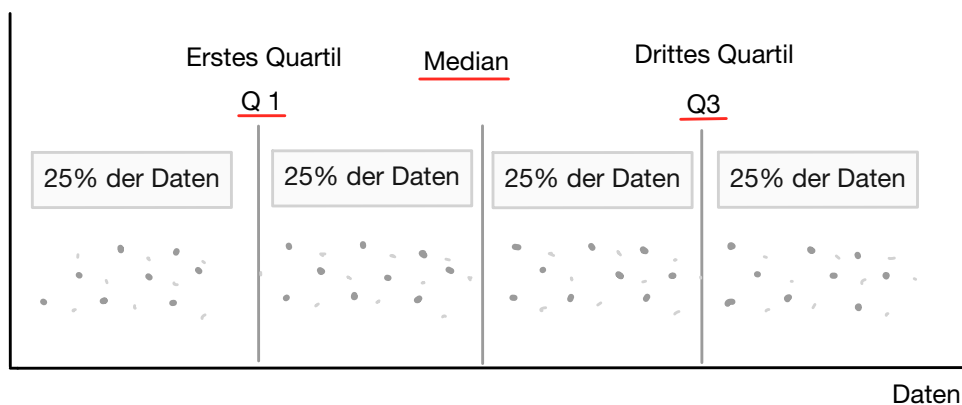


Abb. 10: Visualisierung der Aufteilung von P4 in Quartile (Nach Inhalten von (70))

Die P4 Serumspiegel wurden weiter in Subgruppen mit kleinerer Spannweite unterteilt, die Schwangerschaftswahrscheinlichkeiten wurden berechnet. Die Zyklus Charakteristika Alter, BMI, SET vs DET, D2/3 vs. D5, E2-Serumspiegel, SHH und Oozyten Anzahl der P4 Subgruppen wurden verglichen und einzelne Parameter weiter analysiert.

Um die Aussagekraft von P4 als prädiktiver Parameter auf den Endpunkt positiver oder negativer Schwangerschaftstest beurteilen zu können, wurde die Fläche unter der ROC Kurve errechnet. Zusätzlich wurde eine multiple logistische Regressionsanalyse durchgeführt. Folgende unabhängige Variablen wurden dabei auf den binären Endpunkt Schwangerschaftstest positiv oder negativ untersucht: P4, E2, Schleimhauthöhe Endometrium (SHH), Anzahl Oozyten, SET vs. DET, D2/3 vs. D5. Die Korrelationen zwischen den Zyklusparameter wurden mit Pearsons r berechnet.

4 Ergebnisse

In der Studie wurden insgesamt 275 Frischzyklen ausgewertet. Das Durchschnittsalter der Patientinnen lag bei 36,83 (Spannweite 23-48, SD+/- 4,725) Jahren, der BMI bei 23,45 (Spannweite 17-40, SD +/- 3,721) kg/m².

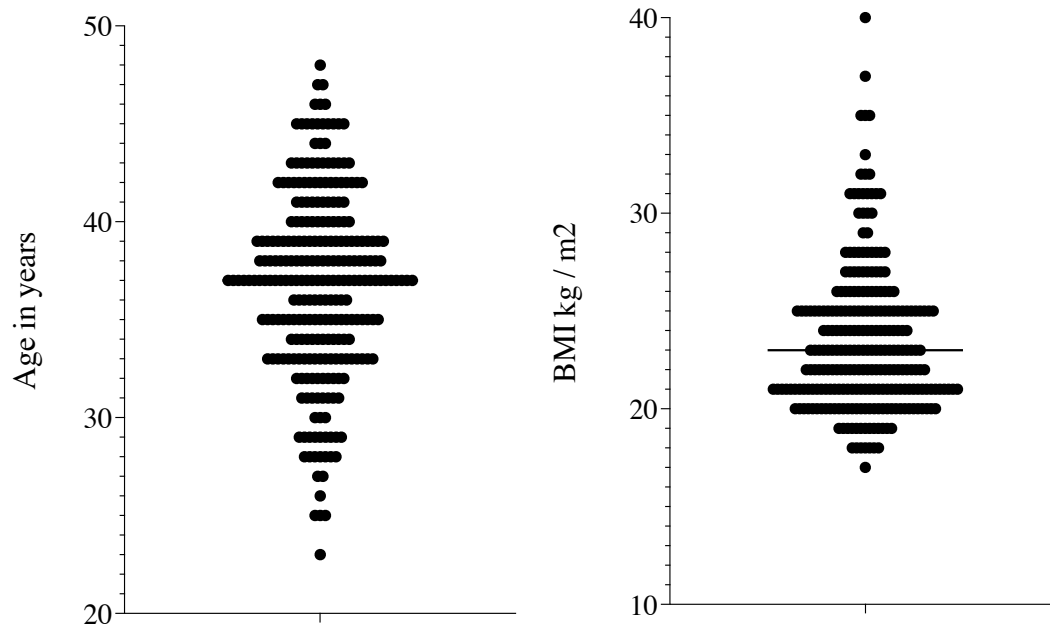


Abb. 11: Alter und des BMI der Patientinnen in Frischzyklen

4.1.1 Statistische Analyse der P4 Serumspiegel

Die Prüfung der P4-Serumspiegel der 275 Frischzyklen auf Normalverteilung wurde abgelehnt ($p < 0,0001$). Der P4 Mittelwert lag bei 110,35 (SD +/-87,94) ng/ml mit einem P4 Minimum von 7,66 ng/ml und dem Maximum von 853,3 ng/ml.

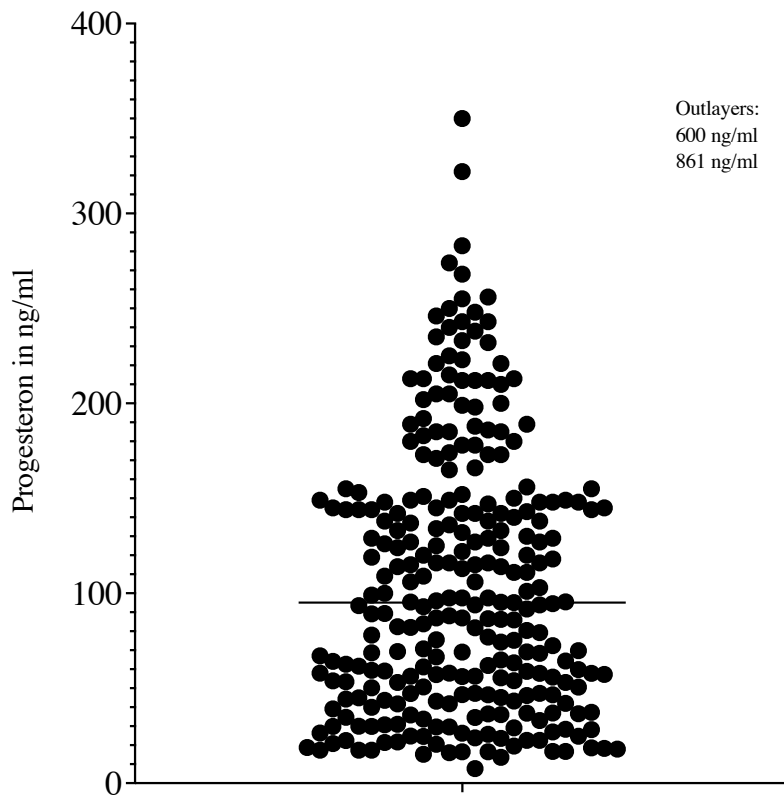


Abb. 12: Verteilung der P4 Serumspiegel am Tag des ET in Frischzyklen

4.1.2 P4-Quartile Bestimmung und Schwangerschaftsraten

Die P4 Serumspiegel am Tag des ET wurden anhand des kleinsten P4-Wert (7,66 ng/ml) des ersten Quartil (25% Perzentile (47,20 ng/ml)) den Median (95,10 ng/ml), dem dritten Quartil (75% Perzentile (148,0 ng/ml)) und dem Maximum (853,30 ng/ml) in vier Gruppen unterteilt (n=Q1:69, Q2:69, Q3:69, Q4:68). Die P4 Serumspiegel der unterschieden sich signifikant ($p < 0,0001$ (Q1 vs. Q2, Q1 vs. Q3, Q1 vs. Q4, Q2 vs. Q3, Q3 vs. Q4)).

Die SSR der Gruppen wurden berechnet und in der folgenden Tabelle vermerkt. Zwischen der SSR von Q1 und Q2 konnte ein signifikanter Unterschied ermittelt werden ($p: 0,0140$). Zwischen der SSR von Q1 und Q3 ($p: 0,1624$) und Q1 und Q4 ($0,0698$) lag kein signifikanter Unterschied vor. Die SSR der dritten Gruppe mit 28,99% war im Vergleich zu der zweiten mit 37,68% deutlich niedriger, obwohl der P4 Serumspiegel höher war. Die SSR von Q1 mit 18,84 % unterschied sich zu der SSR von Q2+3+4 mit 33,01% signifikant ($p: 0,0254$).

Quartile	Progesteronserumspiegel Gruppengrenzwerte In ng/ml	Zyklusanzahl	Zyklen mit positivem SS-Test	Schwangerschafts- rate	p*
1	7,66 – 47,2	69	13	18,84%	<0,0001
2	47,3 – 95,10	69	26	37,68%	<0,0001
3	95,2 - 148,00	69	20	28,99%	<0,0001
4	148,10 – 853,30	68	22	32,35%	<0,0001

Mann Whitney Test*

	Q1 vs. Q2	Q1 vs. Q3	Q1 vs. Q4	Q2 vs. Q3	Q3 vs. Q4
p value	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Exact or approximate P value?	Exact	Exact	Exact	Exact	Exact
P value summary	****	****	****	****	****
Significantly different (P < 0.05)?	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
One- or two-tailed P value?	Two-tailed	Two-tailed	Two-tailed	Two-tailed	Two-tailed

Tabelle 13: SSR in den P4- Gruppen

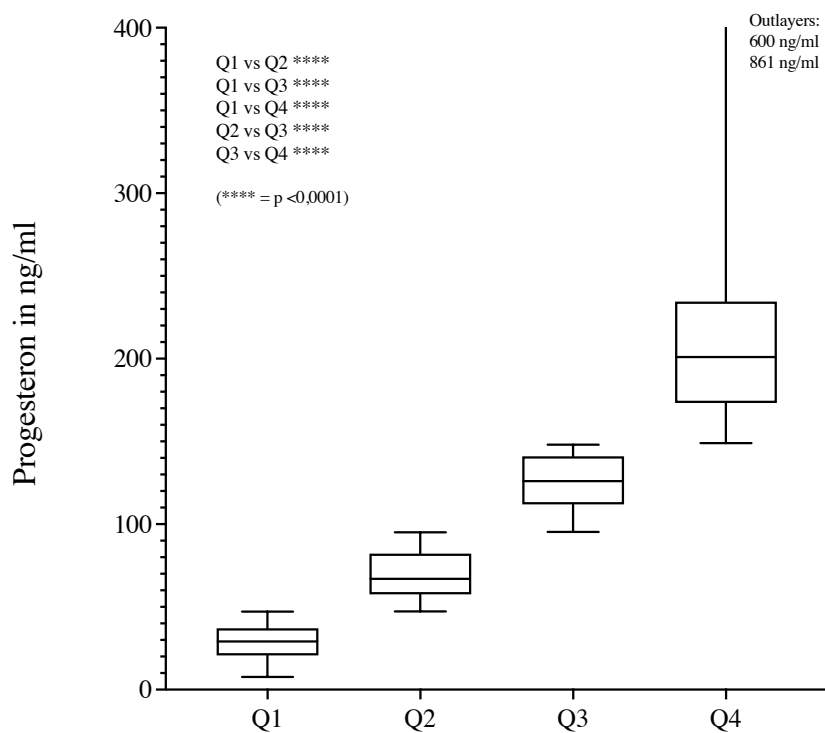


Abb. 14: P4-Serumspiegel der P4-Gruppen (Q1 (n=69), Q2 (n=69), Q3 (n=69), Q4 (n=68); (Signifikanztest mittels Mann Whitney Test)).

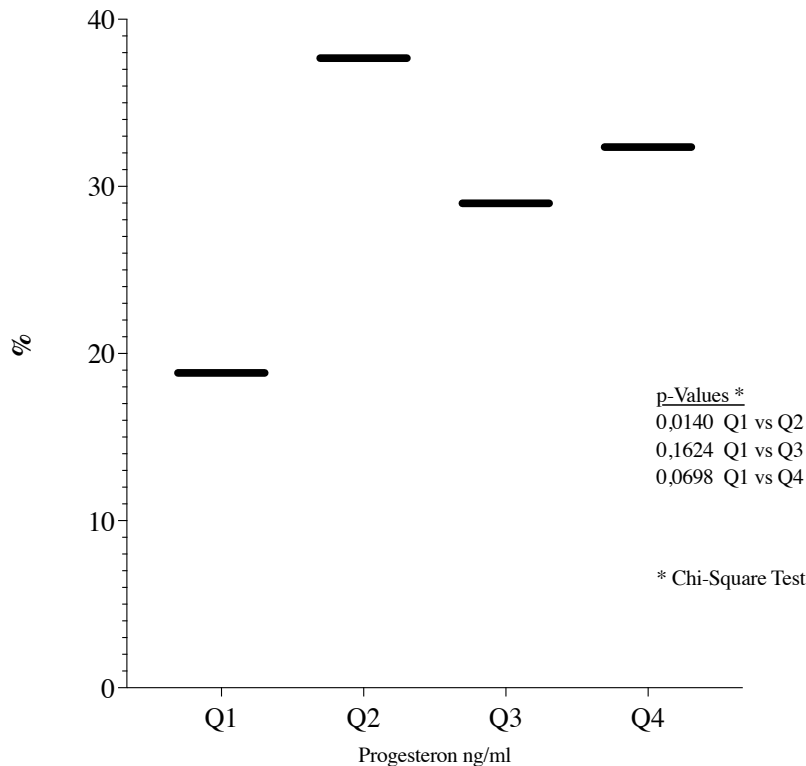


Abb. 15: SSR der vier P4-Gruppen

4.1.3 P4 Subgruppenbestimmung und Schwangerschaftsraten

Wie im Material und Methodik Teil beschrieben, wurden die P4 Serumspiegel in sieben Subgruppen mit annähernd gleicher Zykluszahl aufgeteilt (n= 40, 39, 39, 42, 42, 39,32). Die SSR der Subgruppen wurden berechnet und in der folgenden Tabelle vermerkt. Die SSR der ersten Subgruppe unterschied sich signifikant von der zweiten, dritten, fünften, sechsten und siebten Subgruppe. Zwischen Subgruppe eins und vier konnte kein signifikanter Unterschied zwischen der SSR ermittelt werden.

Die SSR in Zyklen mit P4 Serumspiegel ≤ 30 ng/ml betrug 12,50%. In Zyklen mit Serumspiegel oberhalb von 30ng/ml lag sie bei 32,34%. Die SSR unterschieden sich signifikant ($p: 0,0109$) voneinander. Auffällig war die reduzierte SSR der vierten Subgruppe mit 26,19% mit einem P4 Serumspiegel zwischen 80,1 und 115 ng/ml Progesteron.

Sub-Gruppe	P4 Gruppen-Grenzwerte In ng/ml	Zyklusanzahl	Zyklen mit positivem SS-Test	Schwangerschafts-Rate	P value*
1	0 - 30	40	5	12,50%	****
2	30,1 - 55	39	12	30,77%	****
3	56 - 80	39	14	35,90%	****
4	80,1 - 115	42	11	26,19%	****
5	115,1 - 145	42	15	35,71%	****
6	145,1 - 200	39	13	33,33%	****
7	200,1 -350	32	11	34,38%	****
8	> 351	2	0	0,00%	****

Mann-Whitney Test *

	I vs II	I vs III	I vs IV	I vs V	I vs VI	I vs VII
P value	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Exact or approximate P value?	Exact	Exact	Exact	Exact	Exact	Exact
P value summary	****	****	****	****	****	****
Significantly different (P < 0.05)?	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
One- or two-tailed P value?	Two-tailed	Two-tailed	Two-tailed	Two-tailed	Two-tailed	Two-tailed

Tabelle 16: SSR der P4 Subgruppen.

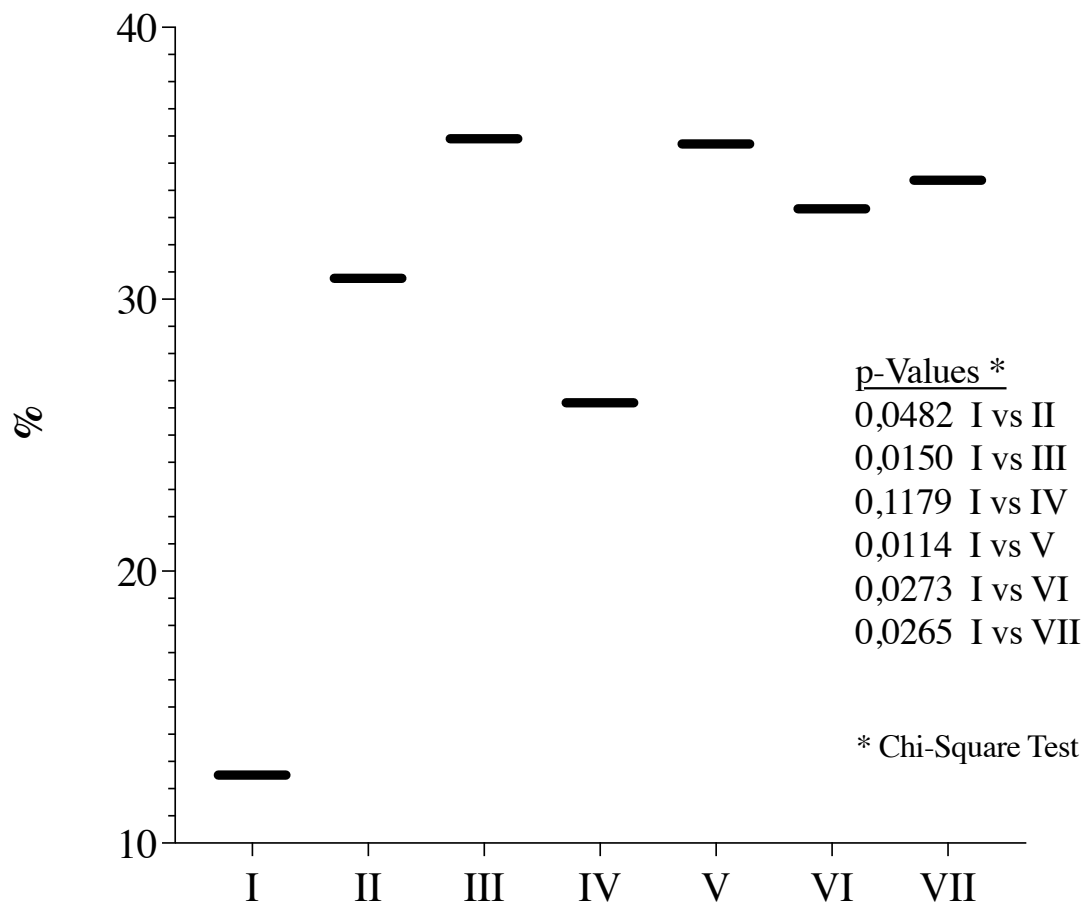


Abb. 17: SSR der P4-Subgruppen (n: I;40, II;39, III;39, IV;42, V;42, VI;39, VII;32)

4.1.4 P4 Werte: 47,2 vs. 30 ng/ml

Da bei der Suche nach einem P4 Grenzwert die Quartil- und die Subgruppen-Methode angewendet wurden, ergaben sich zwei Grenzwerte: 47,2 und 30,0 ng/ml Progesteron. Die folgende Abbildung vergleicht die unterschiedliche SSR ober- und unterhalb dieser Grenzwerte. Zudem zeigt sie das Ergebnisse der Chi-Square Tests, welche die Signifikanz der Unterschiede der SSR berechnete.

	neg. SS-Test	pos. SS-Test	
P4 <47,2 ng/ml (1. Quartile)	56	13 (18,84%)	} p=0,025 (Chi-square)
P4 >47,2 ng/ml (2.-4. Quartile)	138	68 (33,01%)	

	neg. SS-Test	pos. SS-Test	
P4 <30 ng/ml	35	5 (12,5%)	} p=0,011 (Chi-square)
P4 >30,1 ng/ml	159	76 (32,34%)	

Abb. 18: Vergleich der Grenzwerte 47,2 und 30 ng/ml Progesteron

4.1.5 ROC-Kurve und multiple logistische Regressionsanalyse

Die multiple logistische Regressionsanalyse wurde zur Bewertung von sechs Zyklusparametern verwendet, die möglicherweise mit der SSR in Zusammenhang stehen. Die im Modell getesteten Faktoren waren der P4- und E2- Serumspiegel, die Anzahl der Oozyten, SET vs. DET, D2/3 vs. D5 und die Schleimhautdicke des Endometriums. Die Fläche unter der ROC (Receiver Operating Characteristic) - Kurve betrug 0,69 (95% Intervall 0,62 – 0,76).

Zur Entwicklung des endgültigen Modells wurde die Aussagekraft des P4 Serumspiegels auf die SSR analysiert. Die Fläche unter der ROC Kurve betrug 0,588 (95% Intervall 0,49 – 0,63).

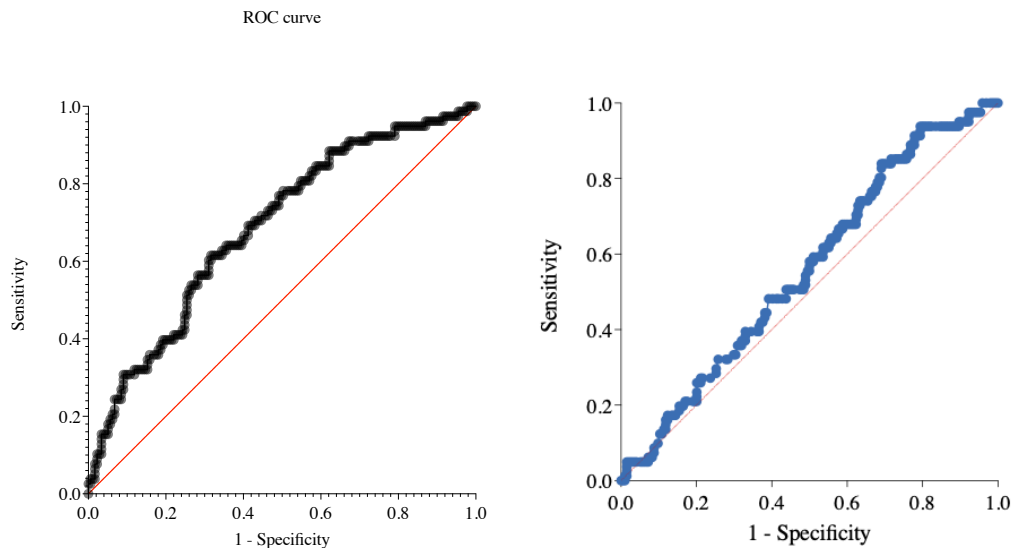


Abb. 19: Multiplen logistischen Regressionsanalyse (links), ROC-Kurve von P4 Serumspiegel, (rechts).

4.1.6 Korrelationen der Zyklusparameter

Für die Interpretation der Ergebnisse der logistischen Regressionsanalyse, mussten die Korrelationen zwischen den Zyklusparameter bekannt sein. Sie wurden anhand des Persons r berechnet. Folgende Ergebnisse konnten in abnehmender Korrelationsstärke bestimmt werden:

- Östrogen (Estradiol) und Oozytenanzahl: Pearsons $r = 0,70$
- Progesteron und Östrogen (Estradiol): Pearsons $r = 0,59$
- Progesteron und Oozytenanzahl: Pearsons $r = 0,51$
- Progesteron und SHH: Pearsons $r = 0,08$
- Östrogen (Estradiol) und SHH: Pearsons $r = 0,07$
- Oozyten und SHH: $0,01$

4.1.7 Parametervergleich

Neben der SSR und der P4 und E2 Serumspiegel am Tag des ET wurde der Unterschied des Alter der Patientinnen, der Anteil an SET/DET, der Transfertag nach der Follikelpunktion, die Oozytenanzahl und die SHH zwischen den Subgruppen analysiert

und in der folgenden Tabelle dargestellt. Die Parametervergleich vom maternalen Alter, D2/3 vs. D5 und SET vs. DET zwischen den Subgruppen wurden im Folgenden isoliert analysiert.

Progesteron (ng/ml) Intervalle	7,66 bis 30	30,1 bis 55	55,1 bis 80	80,1 bis 115	115,1 bis 145	145,1 bis 200	200,1 bis 350
n	40	39	39	42	42	39	32
OPR	12,50%	30,77%	35,90%	26,19%	35,71%	33,33%	34,38%
Alter MW	39,61	38,06	37,88	35,82	33,99	35,31	35,32
SD	4,58	4,54	4,23	4,54	4,58	4,25	4,64
P4	21,94	42,79	64,54	96,81	131,93	169,15	238,06
SD	5,41	6,82	7,08	10,29	9,78	17,61	33,37
E2	369,86	709,95	1069,34	1400,71	1778,00	2097,08	2273,81
SD	225,31	418,94	507,34	478,20	672,52	780,40	838,51
Oozyten Anzahl	5,08	5,38	7,77	10,14	13,34	13,21	17,59
SD	6,04	3,40	3,65	3,64	4,32	5,24	5,46
SHH	10,04	10,56	10,98	10,18	10,73	10,52	10,96
SD	2,01	3,17	2,41	1,83	1,72	1,89	2,16
SET	34 85,00%	16 41,03%	23 58,97%	20 47,62%	20 47,62%	17 43,59%	16 50,00%
DET	6 15,00%	23 58,97%	16 41,03%	22 52,38%	22 52,38%	22 56,41%	16 50,00%
Quotient SET/DET	5,67	0,70	1,43	0,91	0,91	0,77	1,00
Transfer Tag							
2	15	17	14	10	7	3	1
3	20	14	17	10	7	8	3
5	5	8	8	22	28	28	28

Abb. 20: Parametervergleich der P4 Subgruppen in Frischzyklen

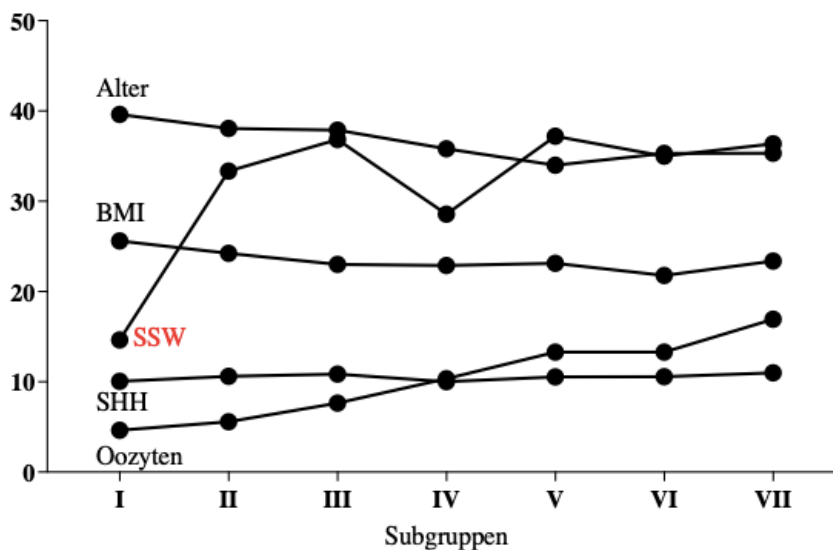


Abb. 21: Zyklusparametervergleich der P4-Subgruppen.

4.1.7.1 Maternales Alter

Der Zyklusparameter Alter der Patientin wurde auf signifikante Unterschiede zwischen den Subgruppen getestet. In der ersten Subgruppe mit der geringsten SSR (12,50%) zeigte sich der höchste Mittelwert mit 39,61 (SD +/- 4,58) Jahren. Auffällig war, dass in der Subgruppe V mit dem geringsten Alter von 33,99 (+/- SD 4,58), die SSR die zwei größte (35,71%) war. Subgruppe IV hatte im Vergleich zu den anderen Subgruppen oberhalb des Grenzwertes von 30 ng/ml Progesteron eine reduzierte SSR (26,19%). Das Durchschnittsalter lag in dieser Gruppe bei 35,82 (SD +/-4,54) und damit unterhalb des Mittelwert des Alters aller Frischzyklen (36,83 (SD+/- 4,725)).

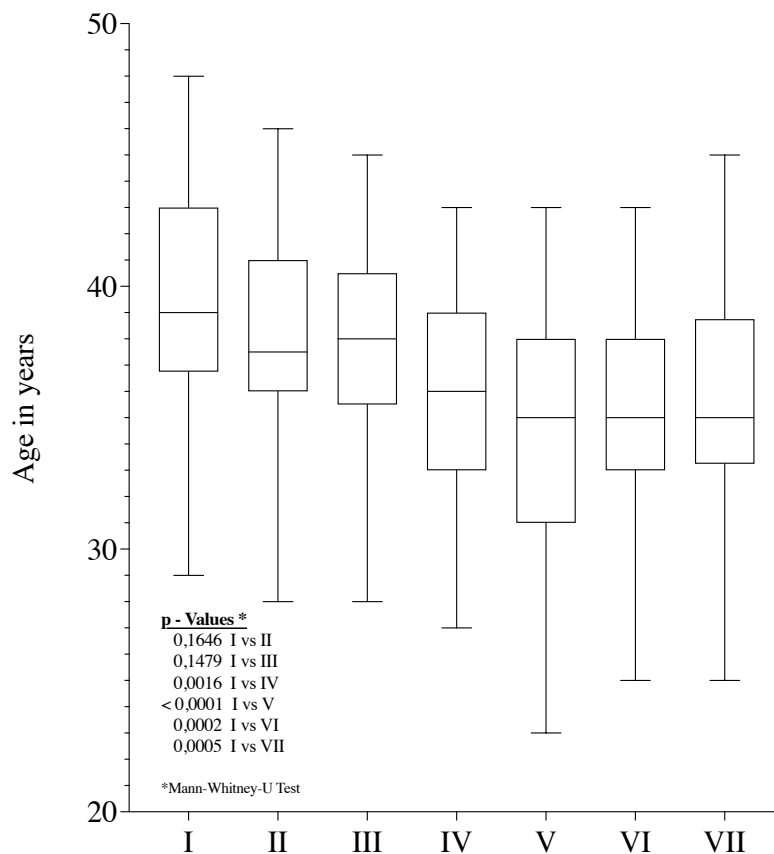


Abb. 22: Alter der Frauen in den P4-Subgruppen

4.1.7.2 P4 Serumspiegel an D2/3 vs. D5

In 53,01 % (n= 146) der 275 Frischzyklen fand der ET zwei bzw. drei Tage (D2/3) nach der FP statt. Der P4 Serumspiegel Mittelwert lag bei 71,53 (SD +/- 50,59) ng/ml, die SSR

bei 19,86%. In 46,91% (n= 129) der Frischzyklen waren D5 Transfere mit einem durchschnittlichen Progesteronserumspiegel von 154.3 (SD +/- 99,96) ng/ml. Die SSR lag bei 40,31%.

Die P4 Serumspiegel (($p < 0,001$) als auch die SSR ($p = 0,0002$) der D2/3 und D5 Zyklen unterschieden sich signifikant. In den ersten drei Subgruppen bis zu dem P4 Serumspiegel von 80 ng/ml wurden deutlich weniger Embryonen an Tag fünf nach FP transferiert (n=5,8,8) als in den Subgruppen vier bis sieben oberhalb von 80 ng/ml (n=22,28,28,28).

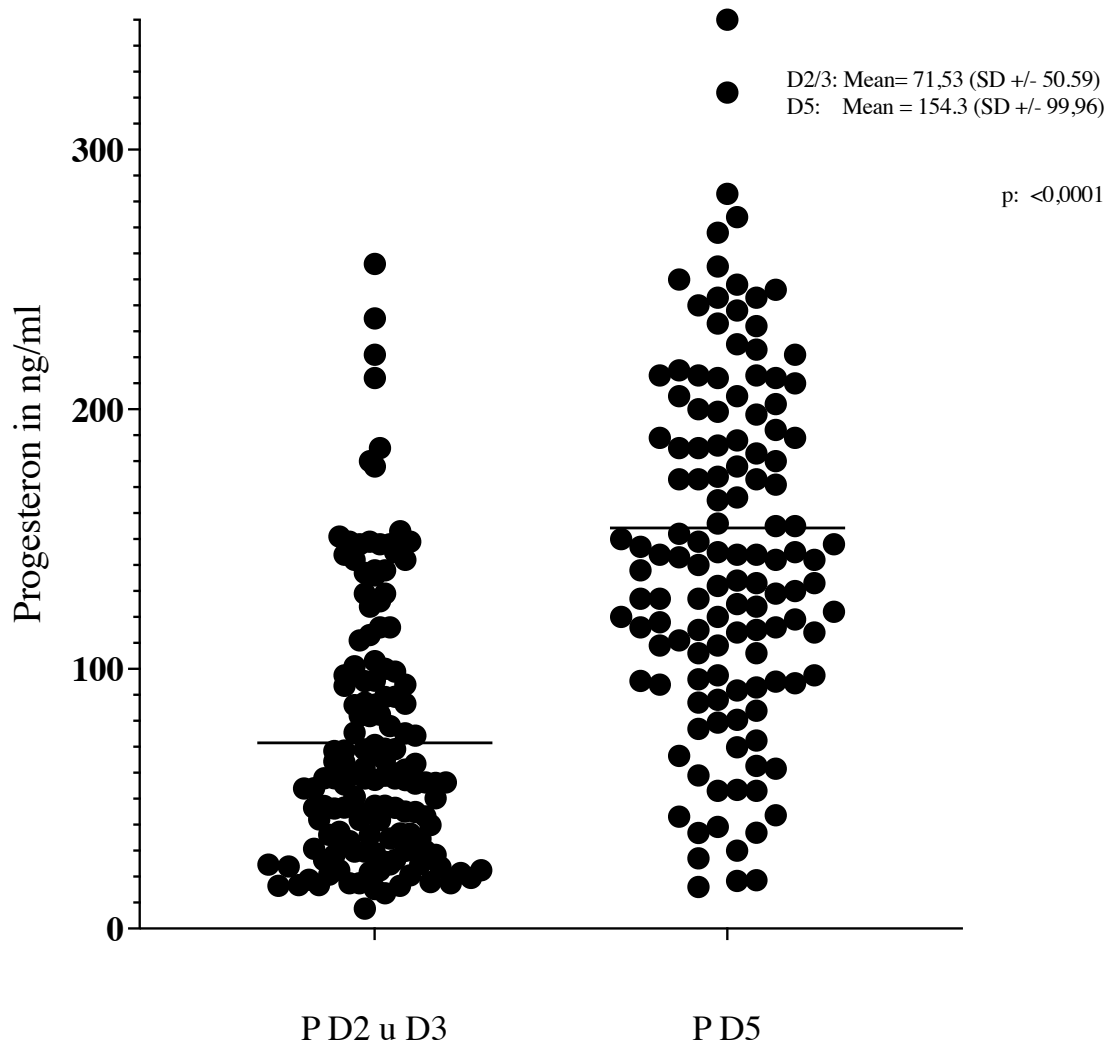


Abb. 23: P4 Serumspiegel in D2/3 und D5 Zyklen

4.1.7.3 P4 Serumspiegel SET und DET Zyklen

In 53,45 % (n=147) der 275 Zyklen wurde ein Embryonen transferiert (SET). Der P4-Mittelwert lag bei 99,86 (SD +/- 80,19) ng/ml. Die SSR betrug 23,81%. In 46,55% (n=128) der Zyklen wurden zwei Embryonen transferiert (DET). Der P4-Mittelwert lag bei 122,4 (SD +/-94,98) ng/ml. Die Schwangerschaftsrate betrug 35,94%. Die P4 Serumspiegel der SET und DET Zyklen unterschieden sich signifikant (p: 0,0058), gleiches galt für die SSR (p=0,0278).

Es zeigte sich ein erhöhter SET Anteil in Zyklen mit niedrigen P4 Serumspiegeln; In Zyklen unterhalb des P4 Quartilen Grenzwertes von 47,2 ng/ml wurde 47-mal ein Embryo transferiert (SET) und 22-mal zwei Embryonen (DET). In Zyklen mit einem P4 Serumspiegel größer als 47,2 ng/ml wurden 100-mal ein (SET) und 106-mal zwei Embryonen transferiert.

Der erhöhte SET Anteil in Zyklen mit kleinen P4 Serumspiegeln zeigte sich in den Ergebnissen der P4 Subgruppen noch deutlicher; In 85,00% der Zyklen mit einem P4 Serumspiegel am Tag des ET zwischen 7,66 und 30 (Subgruppe I) bekamen einen Embryo transferiert (SET). In dieser Subgruppe wurde 34-mal ein Embryo (SET) und 6-mal zwei Embryonen (DET) transferiert. Oberhalb des Grenzwertes 113-mal ein (SET) und 112-mal zwei Embryonen (DET).

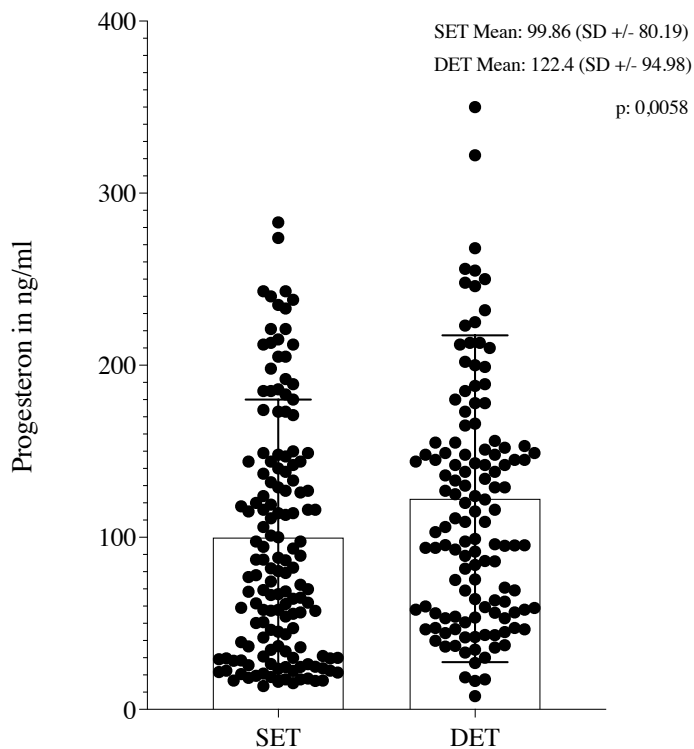


Abb. 24: P4 Serumspiegel in SET (n=147) und DET (n=128) Frischzyklen.

5 Diskussion

Die Zielsetzung der vorliegenden Arbeit bestand darin, den Zusammenhang zwischen dem P4 Serumspiegel am Tag des ET und der SSR in IVF/ICSI-Frischzyklen zu untersuchen. Dabei sollte ermittelt werden, ob ein P4-Frischzyklus-Grenzwert existierte, unterhalb dessen die SSR reduziert war. Die wesentlichen Ergebnisse dieser Arbeit lassen sich wie folgt zusammenfassen:

- Der Mittelwert des P4 Serumspiegels am Tag des ET lag bei 110,35 (SD +/- 87, 94) ng/ml.
- Bei der Analyse der Frischzyklen zeigte sich, dass niedrige P4 Serumspiegel am Tag des ET zu einer reduzierten SSR führten: Unterhalb von 47,20ng/ml lag die SSR bei 18,84%, unterhalb von 30 ng/ml nur noch bei 12,50%.
- Obwohl die Ergebnisse der multiplen logistischen Regressionsanalyse signifikant waren, zeigte sich eine geringe Vorhersagekraft der P4 Serumspiegel auf die SSR in Frischzyklen.
- Um die P4-Gruppenunterschiede genauer zu analysieren, wurden weitere Zyklusparameter wie das Alter der Patientinnen, der Anteil an SET/DET Zyklen, der Transfertag nach FP (D2/3 vs. D5), die Anzahl der Oozyten, der E2 Serumspiegel und schließlich die SHH in die Untersuchung einbezogen. Dabei zeigten sich folgende Aspekte:
 - Zum einen bestand zwischen P4 und E2 und P4 und der Oozyten Anzahl eine Korrelation. Zum andern korrelierten E2 und die Anzahl der Oozyten.
 - Patientinnen mit P4 Serumspiegel unterhalb von 30 ng/ml waren im Mittel älter (MW: 39.61 (+/-SD 4,58) Jahre), als Patientinnen mit P4 Serumspiegel oberhalb des Grenzwertes (MW: 36,26 (+/- SD 4,65) Jahre).
 - In Zyklen mit ET an D2/3 wurden signifikant geringere SSR und P4 Serumspiegel als in D5 Zyklen gemessen.
 - In SET Zyklen zeigten sich signifikant geringerer P4 Serumspiegel als in DET Zyklen. Die SSR in SET Zyklen war im Vergleich zu DET Zyklen signifikant reduziert.

5.1 Vergleich des P4 Serumspiegels am Tag des ET

In der vorliegenden Arbeit konnte ein lutealer P4 Serumspiegel-Mittelwert in *Frischzyklen* am Tag des ET von 110,35 ng/mL bestimmt werden.

Im Vergleich dazu liegt der P4 Serumspiegel in *natürlichen Zyklen* laut vorherigen Studien zwischen 1,7 und 27,0 ng/ml Progesteron und damit deutlich unterhalb der P4 Serumspiegel der *Frischzyklen* in dieser Studie (23). Der P4 *Frischzyklus* Mittelwert dieser Studie lag zudem erwartungsgemäß über den lutealen P4 Serumspiegeln in *Kryozyklen*. Vorarbeiten postulierten hier luteale P4-Kryozyklus-Mittelwerte am Tag des ET um 12,4 ng/ml P4 (66, 71). Studien, die sich bis dato mit lutealen P4 Serumspiegel in *Frischzyklen* befassten, postulierten keine Mittelwerte. Dass P4 Serumspiegel in *Frischzyklen* aber generell höher sind als in natürlichen- oder *Kryozyklen*, wurde auch von Vorarbeiten bestätigt (25, 72, 73).

Die Diskrepanz zwischen den lutealen P4 Serumspiegeln in *Frischzyklen* einerseits und natürlichen- und *Kryozyklen* andererseits, betont die Relevanz die lutealen P4 in IVF/ICSI-Zyklen isoliert zu betrachten und eigene Grenzwerte zu definieren.

5.2 P4-Frischzyklus-Grenzwertvergleich

Die Ergebnisse dieser Studie zeigten, dass niedrige P4 Serumspiegel am Tag des ET zu reduzierten SSR führten. Unterhalb von 30 ng/ml Progesteron war die SSR signifikant reduziert.

In der Studie von [Thomsen et al](#) (25) wurden 602 *Frischzyklen* ausgewertet. Es wurden zwei optimale Progesteronserumspiegelbereiche definiert. Bei ET in der frühen Lutealphase, am zweiten oder dritten Tag (D2/3) nach FP, ermittelten sie optimale P4 Serumspiegel von 18,86 – 31,45 ng/ml. ETs in der mittleren Lutealphase am Tag fünf (D5) nach FP führten zu gesteigerten SSR bei einem P4 Serumspiegel von 41,17-78,61 ng/ml. Analog zu dem Vorgehen in der vorliegenden Arbeit, erfolgte die COS in der Studie von Thomsen et al. mit GnRH Agonisten und Antagonisten. Die Ovulation wurde hingegen mit hCG oder mit GnRH-Agonisten ausgelöst. Es wurden SETs oder DETs durchgeführt. Einen Tag nach der FP erfolgte die vaginale P4 Substitution von 300 mg pro Tag.

Im Gegensatz zu der Studie von Thomsen et al. wurde in der vorliegenden Arbeit auf die Definition von zwei P4-Frischzyklus-Grenzwerten verzichtet. Um einen in praxi allgemein gültigen P4-Frischzyklus-Grenzwert zu definieren, wurden in der Berechnung des Grenzwertes von 30 ng/ml sowohl frühluteale (D2/3) als auch mitt-luteale (D5) P4-Serumspiegeln aufgenommen. Da Thomsen et al. je einen unteren Grenzwert für die früh- lutealen und für die mitt-lutealen P4-Intervalle definiert hatten, wurden die Werte für beide Intervalle zusammengefasst und gemittelt. Die Berechnung dieses Mittelwerts (18.86 ng/ml frühluteal und 41.17 ng/ml mitt-luteal) ergab 30 ng/ml P4 $((18.86+41.17):2)$. Der so errechnete Grenzwert von 30 ng/ml stimmte mit dem Grenzwert der vorliegenden Arbeit von 30 ng/ml überein. Obwohl in eine unterschiedliche OI erfolgt ist, stützt die Studie von Thomsen et al. somit die Existenz eines in der vorliegenden Arbeit postulierten, in praxi allgemein gültigen P4 Frischzyklus-Grenzwertes von 30ng/ml.

[Benmachiche et al.](#) (72) analysierte in 328 Frischzyklen den P4 Serumspiegel in der mittleren Lutealphase. In dieser Studie wurden im Gegensatz zur vorliegenden Arbeit nur D2/3 Transferer durchgeführt, die P4 Serumspiegelbestimmung erfolgte vier oder fünf Tage nach dem ET (sieben Tage nach FP). Zur Stimulation wurden ausschließlich GnRH-Antagonisten Protokolle angewendet. Der OI Trigger erfolgte mit einem GnRH-Agonisten. Im Unterschied zur vorliegenden Arbeit wurden neben SET und DET auch Tripple Transfere durchgeführt. Die LPS erfolgte mittels 600 mg/d vaginaler P4 Substitution ab dem Tag der FP.

Die Analyse von Benmachiche et al. ergab, dass der P4 Serumspiegel in der mittleren Lutealphase ein bedeutender Prognosefaktor für die Lebendgeburttrate war. Eine Optimale LBR wurde mit einer P4 Konzentration im Serum von 41-60 ng/ml (103-150 nmol/l ([OR] 2,73; 95% Konfidenzintervall [CI] 1,29-5,78) $p < 0.008$) erreicht.

Zwischen dem unteren Grenzwert von Benmachiche et al. (41,0 ng/ml) und dem Grenzwert dieser Arbeit (30 ng/ml), bestand eine Differenz von 11 ng/ml. Dies könnte darauf zurückzuführen sein, dass bei der Berechnung des Grenzwertes in der vorliegenden Arbeit P4 Serumspiegel am zweiten und dritten (D2/3) sowie am fünften Tag (D5) nach FP berücksichtigt wurden. In der Studie von Benmachiche et al. hingegen, wurden ausschließlich P4-Serumspiegel sieben Tage nach FP berücksichtigt.

Die Ergebnisse dieser Studie zeigten, dass der P4 Serumspiegel früh-luteal (D2/3) niedriger war. Der durchschnittliche Progesteronserumspiegel von den D2/3 Zyklen lag bei 71,53 (SD +/- 50,59) ng/ml, in den D5 Zyklen mitt-luteal bei 154.3 (SD +/- 99,96) ng/ml. Deshalb ist es schlüssig, dass der Grenzwert von Benmachiche et al höher ist, da bei diesem Grenzwert nur P4 Serumspiegel mitt-luteal, sieben Tage nach der FP berücksichtigt wurden. Vor diesem Hintergrund kann der in der vorliegenden Arbeit ermittelte niedrigere Grenzwert erklärt werden.

Eine Studie von [Tu et al](#) (73) untersuchte in 1401 Frischzyklen den Zusammenhang zwischen dem mitt-lutealen P4-Serumspiegel am Tag des ET drei Tage nach der FP (D3) und der SSR. Ausgewertet wurden ausschließlich DET Zyklen mit GnRH-Agonisten Protokoll und OI mittels hCG. Einen Tag nach der FP erfolgte die vaginale P4 Substitution von 60 mg pro Tag in Form eines Geles. Im Ergebnis war die SSR in Zyklen mit P4 Serumspiegel zwischen 11-30 ng/ml reduziert. Oberhalb von 30 ng/ml war die SSR signifikant höher, unterhalb von 11 ng/ml war die SSR wieder erhöht. Diese Patientinnen, mit P4 Serumspiegel <11 ng/ml, wurden mit zusätzlichem P4 substituiert (10 mg Dydrogesteron oral zweimal täglich ab dem sechsten Tag nach FP bis zum Schwangerschaftstest). Die Autoren begründeten damit die gestiegene SSR trotz niedriger P4 Serumspiegel.

Analog zu den Ergebnissen dieser Arbeit zeigten sich bei [Tu et al](#). eine signifikante Reduktion der SSR bei einem P4 Serumspiegel zwischen 11 und 30 ng/ml. Demnach stützt auch diese Studie den in der vorliegenden Arbeit bestimmten Grenzwert von 30 ng/mL P4.

In der Arbeit von [Rozen et al](#). (74) aus dem Jahre 2022 wurden 825 Zyklen ausgewertet. Alle Transfers fanden am fünften Tag statt (D5). Die Stimulation erfolgte mit GnRH-Antagonisten und die Ovulation wurde mit hCG ausgelöst. Es wurde immer nur ein Embryo transferiert (SET). Die LPS erfolgte mittels 200 mg vaginaler P4 Substitution ab dem zweiten Tag nach der FP. In dieser Studie konnte [Rozen et al](#). im Gegensatz zur vorliegenden Arbeit keine signifikanten Korrelationen zwischen dem P4 Serumspiegel am Tag des ET (D5) und der Lebendgeburt-Rate feststellen. Dieses Ergebnis steht im Widerspruch zu den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit. Hier wurden bei den in Zyklen mit niedrigen P4 Serumspiegeln niedrige SSR gemessen.

Ursache für diese Diskrepanz könnten die Zyklusprotokolle sein, die in einigen Punkten von denen in der vorliegenden Arbeit abweichen. Dies war aber auch bei anderen Arbeiten, deren Ergebnisse mit den vorliegenden übereinstimmen, der Fall.

Publikation	n	COS	OI	LPS (vaginal)	Embryonen	Grenzwert (ng/mL)	Zeitpunkt
Thomsen et al. 2018	602	GnRH Agonist GnRH Antagonist	hCG GnRH Agonist	300 mg/d ab FP +1	SET DET	18,86 41,17	FP + 2/3d FP + 5d
Benmachiche et al. 2021	328	GnRH Agonist	GnRH Agonist	600 mg/d ab FP	SET DET tripple ET	41	FP +7d
Tu et al. 2021	1401	GnRH Antagonist	hCG	60 mg/d (Gel) FP + 0	DET	30	FP +3d
Rozen et al. 2022	825	GnRH Antagonist	hCG	200 mg/d FP + 2	SET	-	FP + 5d
Studiendaten 2023	275	GnRH Agonist GnRH Antagonist	hcG	600-800 mg/d FP + 0	SET DET	30	FP + 2/3d FP + 5d

Abb. 25: Vergleich der Ergebnisse zu anderen Studien

5.3 Ablehnung eines oberen P4-Grenzwertes

In dieser Studie konnte ein unterer P4-Frischzyklus-Grenzwert (30 ng/ml) definiert werden, unterhalb dessen die SSR reduziert war. Ein oberer Grenzwert, ab dem die SSR wieder abnimmt, konnte nicht definiert werden.

Komparable Vorarbeiten zu Frischzyklen postulieren optimale Intervalle mit oberen und unteren Grenzwerten. Thomsen et al. (25) definierten sowohl ein früh- als auch ein mitt-luteales optimales P4 Intervall. Auch Benmachiche et al. (72) definierten ein P4 Intervall mit oberen und unteren Grenzwerten, ab denen sich die SSR reduzierte.

Zusammenfassend konnte die vorliegende Arbeit frühere Studien, die einen unteren Grenzwert für die SSR definierten, bestätigen. Ein optimales Intervall mit einem oberen Grenzwert konnte nicht gefunden werden.

5.4 Erhöhtes maternales Alter und SET Anteile in Zyklen <30 ng/ml P4

Die Ergebnisse der Zyklusparameteranalyse zeigten, dass in Zyklen mit P4 Serumspiegel <30 ng/ml sowohl das maternale Alter als auch der Anteil an SET erhöht war. Die SSR in diesen Zyklen war signifikant reduziert.

Maternales Alter

In den Zyklen mit P4 Serumspiegeln <30 ng/ml war das maternale Alter erhöht.

In vorangegangenen Arbeiten wurde kein Zusammenhang zwischen niedrigen P4 Serumspiegeln und erhöhtem maternalem Alter festgestellt. So war in der Studie von Benmachiche et al. das maternale Alter in der Subgruppe mit den niedrigsten P4 Serumspiegeln nicht erhöht (**32.5** vs. 32.23, 31.68, 31.17 Jahre) (72). Gleiches galt für die Studie von Rozen et al. (**37.8** vs. 37.2, 36.5, 36.6 Jahre) (74). Auch in der Studie von Thomsen et al. wurde in der P4 Subgruppe mit den kleinsten mittlutealen P4 Werten kein erhöhtes maternales Alter gemessen (**32.4** vs. 32.0, 32.0, 32.3, 32.6 Jahren) (25).

Warum hingegen in der vorliegenden Arbeit Zyklen mit geringen P4 Serumspiegeln ein erhöhtes maternales Alter aufwiesen, blieb unklar. Allerdings wird ein hohes maternales Alter mit einer niedrigeren SSR in Verbindung gebracht (8).

In den Subgruppen eins bis drei (bis 80 ng/ml P4) war das maternale Alter erhöht. Parallel wurden hier auch vermehrt D2/3 Transfers durchgeführt. Dieser Zusammenhang könnte sich daraus erklären, dass in praxi Embryonen mit geringerer Qualität häufiger an D2/3 transferiert werden. Mit steigendem Alter sinkt erfahrungsgemäß die Embryonenqualität.

SET (Single Embryo Transfer)

Der SET Anteil in Zyklen mit P4 Serumspiegel <30 ng/ml war im Vergleich zu den Zyklen mit Werten oberhalb des Grenzwertes deutlich erhöht (Abbildung 20). Aus den Ergebnissen zu den Korrelationen der Zyklusparameter P4 und E2 sowie E2 und der Anzahl an Oozyten, kann eine mögliche Erklärung für den Zusammenhang zwischen niedrigen P4 Serumspiegeln und erhöhten SET Anteilen abgeleitet werden.

Demnach gehen niedrige P4 Serumspiegel mit niedrigen E2 Spiegel einher. Niedrige E2 Spiegel korrelieren mit einer niedrigen Oozyten Anzahl. Wenn in einem Zyklus nur eine niedrige Anzahl an Oozyten gewonnen werden konnte, standen tendenziell auch

weniger befruchtungsfähige Eizellen zur Verfügung. Daraus könnte abgeleitet werden, dass die Chance für den Transfer von zwei Embryonen (DET) sinkt und entsprechend vermehrt nur ein Embryo (SET) transfeiert werden konnte. Anhand der Korrelationsergebnisse könnte so der Zusammenhang zwischen niedrigen P4 Serumspiegeln und erhöhten SET Anteilen erklärt werden.

Analog dazu stellen sich die Ergebnisse von Thomsen et al. da. In dieser Studie wurde die Anzahl der Oozyten in den Subgruppen untersucht. Von der Subgruppe mit den niedrigsten P4 Werten (mitt-luteal) zu der mit den höchsten, nahm auch der Mittelwert der Anzahl der Oozyten zu (2, 5, 8, 11) (75). Gleiches galt für die Arbeit von Rozen et al. (74). Die Anzahl der Oozyten nahm mit steigendem P4 Serumspiegel in den Subgruppen zu (5.6, 8.1, 9.9, 14.5).

Zusammenfassend hatten Zyklen mit P4 Serumspiegel <30 ng/ml neben einer reduzierten SSR, auch erhöhte SET Anteile und ein erhöhtes maternales Alter. Niedrige P4 Serumspiegel könnten ein Epiphänomen für die aufgeführten Faktoren sein. Es konnte zwar gezeigt werden, dass kleine P4 Serumspiegel mit geringen SSR in Verbindung stehen, jedoch hatten sowohl ein hohes maternales Alter als auch ein SET im Vergleich zu DET ebenfalls eine negative Auswirkung auf die SSR.

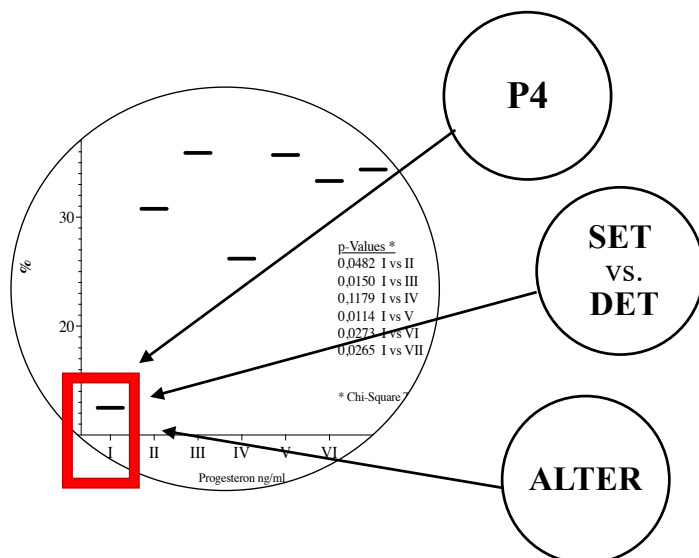


Abb. 26: Mögliche Auswirkung der Zyklusparameter auf die reduzierte SSR der ersten Subgruppe

5.5 Vorhersagekraft von P4 auf die SSR

Die Ergebnisse der ROC-Kurve und der logistischen Regressionsanalyse waren zwar signifikant, ermöglichten aber keine genaue Vorhersage auf die SSR.

Die Methodik der ROC-Kurven Berechnung und die Multiple logistische Regressionsanalyse werden regelmäßig in Studien zu Frisch- und Kryozyklus-Grenzwerten angewendet (66, 72, 74). Während Benmachiche et al. (72) eine signifikante Auswirkung des mitt-lutealen P4 Serumspiegel auf die SSR mittels ROC-Kurven-Berechnungen postuliert, bewerten andere Studien die statistischen Ergebnisse als gering aussagekräftigt (66, 74). Die Limitation des statistischen Modells bleibt die Korrelationen der Zyklusparameter, die sich auch in anderen Arbeiten wiederfindet. Der P4 Serumspiegel am Tag des ET war kein zuverlässiger Prädiktor für die SSR.

5.6 Bedeutung für den klinischen Alltag

Die vorliegende Studie konnte zeigen, dass der P4 Serumspiegel mit der SSR in IVF/-ICSI-Frischzyklen in Verbindung steht. Frischzyklen mit P4 Serumspiegel unterhalb von 30 ng/ml hatten eine signifikant reduzierte SSR. Dieses Ergebnis könnte die Protokolle zur Lutealphase- und Substitution an mehreren Stellen beeinflussen.

5.6.1.1 *P4 Serumspiegel Abnahmezeitpunkt*

Aus den Ergebnissen dieser Arbeit geht hervor, dass eine P4 Serumspiegel Bestimmung am Tag vor dem ET optimal zu sein scheint. Dies postulierten auch frühere Studien zu der P4 Serumbestimmung in Kryozyklen (76). Wichtig bei der Umsetzung wäre, dass der P4 Serumspiegel bei allen Patientinnen zum gleichen Tageszeitpunkt abgenommen würde, um die Schwankungen des P4 Spiegels (siehe Einleitung) im Serum zu berücksichtigen. Der P4 Serumspiegel wäre so bereits vor dem ET bekannt. Damit stiege aber auch die Mehrbelastung der Patientinnen, da sie dafür ein zusätzliches Mal in die Klinik kommen müssten.

5.6.1.2 Mögliche Rescue-Therapieansätze

Wenn der P4 Serumspiegel bereits vor dem ET bekannt ist, können Patientinnen mit <30 ng/ml P4 früher identifiziert und entsprechend früher kann zusätzliches Progesteron substituiert werden. Mohammed et al. (45) postulierte einen optimalen Startzeitpunkt der P4 Substitution am Tag nach der FP.

Vorarbeiten befassten sich bereits mit dem Nutzen der zusätzlichen P4 Substitution auf die SSR. Wie bereits beschrieben, konnte Tu et al (73) eine gesteigerte SSR in Zyklen mit kleinen P4 Serumspiegeln (<10 ng/ml) und zusätzliche P4 Substitution feststellen.

Auch die prospektive, kontrolliert randomisierte Studie von Aslih et al (77) analysierte den Nutzen der P4 Dosis Erhöhung in Frischzyklen: Patientinnen mit einem P4 Serumspiegel < 15 ng/ml wurden randomisiert in zwei Gruppen aufgeteilt. Eine Gruppe erhielt die Standarddosis von 200 mg/d P, die andere eine gesteigerte Dosis mit 300 mg/d. Diese Studie konnte hingegen keinen positiven Effekt der zusätzlichen P4 Substitution feststellen (77). Dieses Ergebnis könnte dadurch erklärt werden, dass die Intervention erst sieben Tage nach dem ET erfolgte. Wie bereits beschrieben, ist der optimale Startzeitpunkt zur P4 Substitution bereits der Tag nach der FP (45). Zudem war der gewählte Substitutionsgrenzwert mit 15 ng/ml für stimulierte Zyklen gering. Der P4-Grenzwert von 30 ng/ml aus der vorliegenden Arbeit, könnte in zukünftigen Studien als Substitutions-Grenzwert angenommen werden.

5.6.1.3 Zyklusabbruch

Wenn der P4 Serumspiegel bereits vor dem ET bekannt ist, stellt sich die Frage, ob Patientinnen mit niedrigen P4 Serumspiegel auch von einem Zyklusabbruch profitieren könnten. Die befruchteten Eizellen könnten eingefroren und in einem späteren Kryozyklus transferiert werden.

Bei Zyklusabbrüchen muss das Kosten-Nutzen Verhältnis berücksichtigt werden (78). Die hormonelle, psychische, zeitliche, aber auch finanzielle Belastung für Patientinnen in jedem Zyklus, darf nicht unterschätzt werden. Zyklen sollten daher nicht voreilig abgebrochen werden. Ob zu niedrige P4-Serumspiegel eine ausreichende Kontraindikation für den ET darstellen, sollten zukünftige Studien analysieren. Nach aktuellem Stand wurde bis dato noch keine randomisierte Kohorten Studie

durchgeführt, die sich mit der Frage befasst, ob die „Freeze-all“-Strategie in Frischzyklen mit niedrigen P4 Serumspiegel die SSR verbessert (78).

5.7 Stärken und Schwächen der Studie

Neben dem P4 Serumspiegel am Tag des ET und der SSR, wurden in dieser Studie weitere Zyklusparameter erfasst und ausgewertet (Abbildung 20). Diese klare Definition des Patientenkollektivs stellt eine wesentliche Stärke dieser Arbeit dar.

Eine weitere Stärke liegt darin, dass das Patientenkollektiv nicht aufgrund spezifischer Zyklusparameter ausgewählt wurde. Im Gegensatz zu anderen Studien, in denen beispielsweise Frauen mit höherem Alter von der Untersuchung ausgeschlossen wurden (73), spiegelt die Herangehensweise dieser Studie die realistische Vielfalt der Patientinnen wieder, die üblicherweise in einem Hormon- und Kinderwunschzentrum behandelt werden. Diese breite Auswahl der Studienteilnehmerinnen könnte die externe Validität der Ergebnisse stärken.

Eine Schwäche dieser Studie liegt in der Verwendung der SSR als Endpunkt. Andere Studien haben die Vorhersagekraft des P4-Serumspiegels in Bezug auf die Rate der Lebendgeburten untersucht (74). Es wäre daher sinnvoll, zukünftige Untersuchungen durchzuführen, um den in dieser Studie ermittelten Grenzwert in Bezug auf die Lebendgeburtenrate weiter zu analysieren.

Eine weitere Schwäche dieser Studie betrifft die im Vergleich zu Vorarbeiten geringe Anzahl der analysierten Zyklen (Abbildung 25). Die Ergebnisse dieser Arbeit sollten daher in zukünftigen Studien mit einer größeren Patientenstichprobe überprüft werden. Insbesondere in Bezug auf die begrenzte Anzahl von Zyklen, bei denen der P4-Serumspiegel unterhalb des Grenzwerts von 30 ng/ml lag.

In dieser Studie wurden Daten von IVF-/ICSI-Frischzyklen unabhängig von der Patientinnenidentität analysiert und ausgewertet. Daher besteht die Möglichkeit, dass vereinzelte Zyklen von derselben Patientin stammen, wenn diese im Zeitraum der Datenerhebung mehrere Frischzyklen durchgeführt hat. Dies könnte zu einer Verzerrung der Ergebnisse geführt haben und stellt somit eine Schwäche dieser Arbeit dar.

5.8 Schlussfolgerung und Ausblicke

In der vorliegenden Arbeit konnte ein Progesteron IVF/ICSI-Frischzyklusgrenzwert von 30 ng/ml definiert werden. Zyklen mit Progesteron Serumspiegel unterhalb dieses Grenzwertes hatten eine reduzierte Schwangerschaftsrate. In der Ergebnisdiskussion wurden Strategieansätze erarbeitet, die die Schwangerschaftsrate in diesen Zyklen möglicherweise steigern könnten.

Der postulierte Grenzwert von 30 ng/ml muss in folgenden Studien überprüft werden. Zudem sollte der Nutzen der zusätzlichen Progesteron Substitution in Zyklen mit Progesteron Serumspiegel <30 ng/ml in randomisierten Kohorten Studien überprüft werden. Die Diskussion des Zusammenhangs zwischen erhöhtem maternalen Alter und niedrigem Progesteron Serumspiegel führte zu der Frage, ob ältere Patientinnen generell von einer zusätzlichen Progesteron Substitution profitieren könnten. Es scheint sinnvoll, auch diese Fragestellung in weiterführenden Studien zu untersuchen.

Die vorliegende Studie erarbeitete einen IVF/ICSI-Frischzyklusgrenzwert der Progesteron Serumkonzentration. In der Literatur aber finden sich gehäuft Bedenken zu einem „one-size-fits-all“ Progesteron Serumspiegel Grenzwert (28),(24). Neben der offensichtlich notwendigen Abgrenzung zwischen Frisch- und Kryozyklus Grenzwerten, scheinen auch verschiedene Konstellationen innerhalb der Frischzyklen relevant zu sein. Dazu zählen unter anderem der angewendet Wirkstoff zur Ovulationsinduktion, die Anzahl der transferierten Embryonen und an welchem Tag nach der Follikelpunktion der Embryonentransfer stattfand.

Ziel der Studie war es, die Rolle des Progesteron Serumspiegels in Frischzyklen besser zu verstehen und seine Vorhersagekraft auf die Schwangerschaftsrate einzuschätzen. Unumstritten führen niedrige Progesteron Serumspiegel zu niedrigeren Schwangerschaftsraten. Faktoren wie das maternale Alter, Krankheiten und die Anzahl der transferierten Embryonen sollten bei der Interpretation des Progesteron Serumspiegels stets berücksichtigt werden. Schlussendlich betont die vorliegende Arbeit die Bedeutung der Überwachung des Progesteron Serumspiegels in der Lutealphase von Frischzyklen.

6 Zusammenfassung

Hintergrund: Rund ein Viertel aller Paare aus den industrialisierten Ländern der Welt ist von ungewollter Kinderlosigkeit betroffen. Einem Teil dieser Paare kann durch assistierte Reproduktionstechniken (ART) geholfen werden.

Ein wichtiger Parameter dabei ist die damit einhergehende, notwendige Lutealphasenunterstützung mittels Progesteron. Die Zielsetzung dieser Arbeit war es, den Einfluss der Progesteronserumspiegel Konzentration am Tag des Embryonen Transfers in Frischzyklen zu evaluieren und einen möglichen Grenzwert zu definieren, unterhalb dessen die Schwangerschaftsrate reduziert ist.

Methodik: In dem Hormon- und Kinderwunschzentrum der Ludwig-Maximilian-Universität München wurde eine retrospektive Kohorten-Studie durchgeführt. Sie basierte auf Daten des Zyklus Monitoring von 275 IVF/ICSI-Frischzyklen, die zwischen dem 01.07.2018 und dem 31.12.2020 durchgeführt wurden. Neben dem Progesteron Serumspiegel am Tag des Embryonentransfers wurden die Zyklusparameter maternales Alter und BMI, der Transfer eines Embryos vs. zwei Embryonen, der Transfer am zweiten oder dritten vs. fünften Tag nach Follikelpunktion, Östrogen Serumspiegel, Endometriumshöhe und Oozyten Anzahl der Zyklen erhoben und anschließend analysiert.

Ergebnisse: Bei der Analyse der IVF/ICSI-Frischzyklen zeigte sich, dass niedrige Progesteron Serumspiegel am Tag des Embryonentransfer zu einer reduzierten Schwangerschaftsrate führten. Unterhalb von 30 ng/ml Progesteron lag die Schwangerschaftsrate nur noch bei 12,50%. Die statistische Vorhersagekraft des Progesteron Serumspiegel war, trotz signifikanter Ergebnisse in der ROC-Kurven Berechnung, als gering einzuschätzen. Zwischen den Zyklusparametern Progesteron und Östrogen, Progesteron und der Oozyten Anzahl und Östrogen und der Anzahl der Oozyten konnten Korrelationen errechnet werden. Zudem zeigte sich, dass in Zyklen mit Progesteron Serumspiegeln <30 ng/ml neben dem maternalen Alter auch der Anteil an Embryonentransfer mit nur einem Embryo erhöht war. In Zyklen mit Embryonentransfer am zweiten bzw. dritten Tag nach Follikelpunktion wurden signifikant geringere

Schwangerschaftsraten und Progesteron Serumspiegel im Vergleich zu Zyklen mit Embryonen Transfer am fünften Tag nach Follikelpunktion gemessen. In Zyklen, in denen ein Embryo transferiert wurde, zeigten sich signifikant geringere Progesteron Serumspiegel und Schwangerschaftsraten als in Zyklen, in denen zwei Embryonen transferiert wurden.

Schlussfolgerung: Die vorliegende Arbeit bestätigt die in der Literatur postulierte Bedeutung des Progesteron Serumspiegels in der Lutealphase in IVF/ICSI-Frischzyklen. Es konnte ein Progesteron-Frischzyklusgrenzwert von 30 ng/ml ermittelt werden, unterhalb dessen die Schwangerschaftsrate signifikant reduziert war. Um die Schwangerschaftsrate in Zyklen mit Progesteron Serumspiegeln <30 ng/ml in Zukunft möglicherweise steigern zu können, wurden Strategieansätze diskutiert. Ob eine zusätzliche Progesteron Substitution als „Rescue“-Strategie sinnvoll und vorteilhaft ist, muss in zukünftigen Studien überprüft werden. Zusätzlich sollte die Frage weiterführend analysiert werden, ob ältere Patientinnen generell von einer zusätzlichen Progesteron Substitution profitieren könnten.

Literaturverzeichnis

1. Schmidt L. Social and psychological consequences of infertility and assisted reproduction - what are the research priorities? *Hum Fertil (Camb)*. 2009;12(1):14-20.
2. Schmidt L. Infertility and assisted reproduction in Denmark. Epidemiology and psychosocial consequences. *Dan Med Bull*. 2006;53(4):390-417.
3. Van De Kaa DJ. Europe's second demographic transition. *Popul Bull*. 1987;42(1):1-59.
4. Hart RJ. Physiological Aspects of Female Fertility: Role of the Environment, Modern Lifestyle, and Genetics. *Physiol Rev*. 2016;96(3):873-909.
5. Vander Borgh M, Wyns C. Fertility and infertility: Definition and epidemiology. *Clin Biochem*. 2018;62:2-10.
6. Wood JW. Fecundity and natural fertility in humans. *Oxf Rev Reprod Biol*. 1989;11:61-109.
7. Eijkemans MJ, van Poppel F, Habbema DF, Smith KR, Leridon H, te Velde ER. Too old to have children? Lessons from natural fertility populations. *Hum Reprod*. 2014;29(6):1304-12.
8. Cimadomo D, Fabozzi G, Vaiarelli A, Ubaldi N, Ubaldi FM, Rienzi L. Impact of Maternal Age on Oocyte and Embryo Competence. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018;9:327.
9. Jain M, Singh M. Assisted Reproductive Technology (ART) Techniques. StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing Copyright © 2023, StatPearls Publishing LLC.; 2023.
10. Bartnitzky DmS, Blumenauer D-BV, Fehr DmD, Kupka PDmMS, Tauchert DmS, Grewe DmC. Auszug aus dem DIR Jahrbuch 2021. 2021.
11. Drakopoulos P, Blockeel C, Stoop D, Camus M, de Vos M, Tournaye H, et al. Conventional ovarian stimulation and single embryo transfer for IVF/ICSI. How many oocytes do we need to maximize cumulative live birth rates after utilization of all fresh and frozen embryos? *Hum Reprod*. 2016;31(2):370-6.
12. O'Neill CL, Chow S, Rosenwaks Z, Palermo GD. Development of ICSI. *Reproduction*. 2018;156(1):F51-f8.
13. Glujovsky D, Farquhar C. Cleavage-stage or blastocyst transfer: what are the benefits and harms? *Fertil Steril*. 2016;106(2):244-50.
14. Long X, Wang Y, Wu F, Li R, Chen L, Qian W, et al. Pregnancy Outcomes of Single/Double Blastocysts and Cleavage Embryo Transfers: a Retrospective Cohort Study of 24,422 Frozen-Thawed Cycles. *Reprod Sci*. 2020;27(12):2271-8.
15. Busnelli A, Dallagiovanna C, Reschini M, Paffoni A, Fedele L, Somigliana E. Risk factors for monozygotic twinning after in vitro fertilization: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril*. 2019;111(2):302-17.
16. Murray SR, Norman JE. Multiple pregnancies following assisted reproductive technologies--a happy consequence or double trouble? *Semin Fetal Neonatal Med*. 2014;19(4):222-7.
17. Luke B, Gopal D, Cabral H, Stern JE, Diop H. Adverse pregnancy, birth, and infant outcomes in twins: effects of maternal fertility status and infant gender combinations; the Massachusetts Outcomes Study of Assisted Reproductive Technology. *Am J Obstet Gynecol*. 2017;217(3):330.e1-.e15.

18. Zhu Q, Lin J, Gao H, Wang N, Wang B, Wang Y. The Association Between Embryo Quality, Number of Transferred Embryos and Live Birth Rate After Vitrified Cleavage-Stage Embryos and Blastocyst Transfer. *Front Physiol.* 2020;11:930.
19. Cutting R. Single embryo transfer for all. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2018;53:30-7.
20. Rodriguez-Wallberg KA, Palomares AR, Nilsson HP, Oberg AS, Lundberg F. Obstetric and Perinatal Outcomes of Singleton Births Following Single- vs Double-Embryo Transfer in Sweden. *JAMA Pediatr.* 2023;177(2):149-59.
21. Sonntag B. Lutealphaseninsuffizienz bei Kinderwunsch. *Gynäkologische Endokrinologie.* 2021;19(2):99-104.
22. Kuhl H, Wiegratz I. Pharmakokinetik und Pharmakodynamik der in der assistierten Reproduktion verwendeten Gestagene. *Gynäkologische Endokrinologie.* 2021;19(2):105-17.
23. Andrea Rathmann-Schmitz MA. Wie verläuft der Progesteronspiegel? <https://www.progesteron.de/progesteron/progesteronspiegel/2019> [cited 2023 23.03.23]. Available from: <https://www.progesteron.de/progesteron/progesteronspiegel/>.
24. Labarta E, Rodriguez C. Progesterone use in assisted reproductive technology. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2020;69:74-84.
25. Thomsen LH, Kesmodel US, Erb K, Bungum L, Pedersen D, Hauge B, et al. The impact of luteal serum progesterone levels on live birth rates-a prospective study of 602 IVF/ICSI cycles. *Hum Reprod.* 2018;33(8):1506-16.
26. Fauser BC, de Jong D, Olivennes F, Wramsby H, Tay C, Itskovitz-Eldor J, et al. Endocrine profiles after triggering of final oocyte maturation with GnRH agonist after cotreatment with the GnRH antagonist ganirelix during ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87(2):709-15.
27. Fatemi HM, Popovic-Todorovic B, Papanikolaou E, Donoso P, Devroey P. An update of luteal phase support in stimulated IVF cycles. *Hum Reprod Update.* 2007;13(6):581-90.
28. Lawrenz B, Fatemi HM. Gibt es optimale Serumprogesteronwerte in In-vitro-Fertilisations- und Kryozyklen? *Gynäkologische Endokrinologie.* 2021;19(2):118-23.
29. Beckers NG, Macklon NS, Eijkemans MJ, Ludwig M, Felberbaum RE, Diedrich K, et al. Nonsupplemented luteal phase characteristics after the administration of recombinant human chorionic gonadotropin, recombinant luteinizing hormone, or gonadotropin-releasing hormone (GnRH) agonist to induce final oocyte maturation in in vitro fertilization patients after ovarian stimulation with recombinant follicle-stimulating hormone and GnRH antagonist cotreatment. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(9):4186-92.
30. Fatemi HM. The luteal phase after 3 decades of IVF: what do we know? *Reprod Biomed Online.* 2009;19 Suppl 4:4331.
31. Fauser BC, Devroey P. Reproductive biology and IVF: ovarian stimulation and luteal phase consequences. *Trends Endocrinol Metab.* 2003;14(5):236-42.
32. Kol S, Breyzman T. GnRH agonist trigger does not always cause luteolysis: a case report. *Reprod Biomed Online.* 2016;32(1):132-4.
33. Kol S. Luteolysis induced by a gonadotropin-releasing hormone agonist is the key to prevention of ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril.* 2004;81(1):1-5.
34. Yding Andersen C, Vilbour Andersen K. Improving the luteal phase after ovarian stimulation: reviewing new options. *Reprod Biomed Online.* 2014;28(5):552-9.

35. Humaidan P, Bredkjaer HE, Bungum L, Bungum M, Grøndahl ML, Westergaard L, et al. GnRH agonist (buserelin) or hCG for ovulation induction in GnRH antagonist IVF/ICSI cycles: a prospective randomized study. *Hum Reprod.* 2005;20(5):1213-20.
36. Stricker R, Eberhart R, Chevailler MC, Quinn FA, Bischof P, Stricker R. Establishment of detailed reference values for luteinizing hormone, follicle stimulating hormone, estradiol, and progesterone during different phases of the menstrual cycle on the Abbott ARCHITECT analyzer. *Clin Chem Lab Med.* 2006;44(7):883-7.
37. Griesinger G, Verweij PJ, Gates D, Devroey P, Gordon K, Stegmann BJ, et al. Prediction of Ovarian Hyperstimulation Syndrome in Patients Treated with Corifollitropin alfa or rFSH in a GnRH Antagonist Protocol. *PLoS One.* 2016;11(3):e0149615.
38. von Versen-Höynck F, Narasimhan P, Selamet Tierney ES, Martinez N, Conrad KP, Baker VL, et al. Absent or Excessive Corpus Luteum Number Is Associated With Altered Maternal Vascular Health in Early Pregnancy. *Hypertension.* 2019;73(3):680-90.
39. Simon V, Robin G, Keller L, Ternynck C, Jonard S, Robin C, et al. Systematic use of long-acting intramuscular progesterone in addition to oral dydrogesterone as luteal phase support for single fresh blastocyst transfer: A pilot study. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2022;13:1039579.
40. De Ziegler D, Bulletti C, De Monstier B, Jääskeläinen AS. The first uterine pass effect. *Ann N Y Acad Sci.* 1997;828:291-9.
41. Dashti S, Eftekhar M. Luteal-phase support in assisted reproductive technology: An ongoing challenge. *Int J Reprod Biomed.* 2021;19(9):761-72.
42. Tomic V, Kasum M, Vucic K. The role of luteal support during IVF: a qualitative systematic review. *Gynecol Endocrinol.* 2019;35(10):829-34.
43. van der Linden M, Buckingham K, Farquhar C, Kremer JA, Metwally M. Luteal phase support for assisted reproduction cycles. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015(7):CD009154.
44. Wang NF, Bungum L, Skouby SO. What is the optimal luteal support in assisted reproductive technology? *Horm Mol Biol Clin Investig.* 2021;43(2):225-33.
45. Mohammed A, Woad KJ, Mann GE, Craigon J, Raine-Fenning N, Robinson RS. Evaluation of progestogen supplementation for luteal phase support in fresh in vitro fertilization cycles. *Fertil Steril.* 2019;112(3):491-502.e3.
46. Chi H, Li R, Qiao J, Chen X, Wang X, Hao G, et al. Vaginal progesterone gel is non-inferior to intramuscular progesterone in efficacy with acceptable tolerability for luteal phase support: A prospective, randomized, multicenter study in China. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2019;237:100-5.
47. Dal Prato L, Bianchi L, Cattoli M, Tarozzi N, Flamigni C, Borini A. Vaginal gel versus intramuscular progesterone for luteal phase supplementation: a prospective randomized trial. *Reprod Biomed Online.* 2008;16(3):361-7.
48. Baker VL, Jones CA, Doody K, Foulk R, Yee B, Adamson GD, et al. A randomized, controlled trial comparing the efficacy and safety of aqueous subcutaneous progesterone with vaginal progesterone for luteal phase support of in vitro fertilization. *Hum Reprod.* 2014;29(10):2212-20.
49. Lockwood G, Griesinger G, Cometti B. Subcutaneous progesterone versus vaginal progesterone gel for luteal phase support in in vitro fertilization: a noninferiority randomized controlled study. *Fertil Steril.* 2014;101(1):112-9.e3.
50. Schütt M, Nguyen TD, Kalff-Suske M, Wagner U, Macharey G, Ziller V. Subcutaneous progesterone versus vaginal progesterone for luteal phase support in in

vitro fertilization: A retrospective analysis from daily clinical practice. *Clin Exp Reprod Med.* 2021;48(3):262-7.

51. Saunders H, Khan C, D'Hooghe T, Magnúsdóttir TB, Klingmann I, Hrafnisdóttir S. Efficacy, safety and tolerability of progesterone vaginal pessaries versus progesterone vaginal gel for luteal phase support after in vitro fertilisation: a randomised controlled trial. *Hum Reprod.* 2020;35(2):355-63.

52. Doblinger J, Cometti B, Trevisan S, Griesinger G. Subcutaneous Progesterone Is Effective and Safe for Luteal Phase Support in IVF: An Individual Patient Data Meta-Analysis of the Phase III Trials. *PLoS One.* 2016;11(3):e0151388.

53. Beltsos AN, Sanchez MD, Doody KJ, Bush MR, Domar AD, Collins MG. Patients' administration preferences: progesterone vaginal insert (Endometrin®) compared to intramuscular progesterone for Luteal phase support. *Reprod Health.* 2014;11:78.

54. Griesinger G, Neumann K. Klinische Ergebnisse zur Lutealphasenunterstützung im Rahmen einer In-vitro-Fertilisations-Behandlung – sind alle Optionen gleichwertig? *Gynäkologische Endokrinologie.* 2021;19(2):124-32.

55. Kaponis A, Chronopoulou E, Decavalas G. The curious case of premature luteinization. *J Assist Reprod Genet.* 2018;35(10):1723-40.

56. Mui Lam P, Chun Cheung M, Ping Cheung L, Ingrid Lok H, John Haines C. Effects of early luteal-phase vaginal progesterone supplementation on the outcome of in vitro fertilization and embryo transfer. *Gynecol Endocrinol.* 2008;24(12):674-80.

57. de Ziegler D, Fanchin R. Progesterone and progestins: applications in gynecology. *Steroids.* 2000;65(10-11):671-9.

58. Cavaliere A, Ermito S, Dinatale A, Pedata R. Management of molar pregnancy. *J Prenat Med.* 2009;3(1):15-7.

59. Nahoul K, Dehennin L, Jondet M, Roger M. Profiles of plasma estrogens, progesterone and their metabolites after oral or vaginal administration of estradiol or progesterone. *Maturitas.* 1993;16(3):185-202.

60. Cometti B. Pharmaceutical and clinical development of a novel progesterone formulation. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2015;94 Suppl 161:28-37.

61. Duijkers IJM, Klingmann I, Prinz R, Wargenau M, Hrafnisdóttir S, Magnúsdóttir TB, et al. Effect on endometrial histology and pharmacokinetics of different dose regimens of progesterone vaginal pessaries, in comparison with progesterone vaginal gel and placebo. *Hum Reprod.* 2018;33(11):2131-40.

62. Filicori M, Butler JP, Crowley WF, Jr. Neuroendocrine regulation of the corpus luteum in the human. Evidence for pulsatile progesterone secretion. *J Clin Invest.* 1984;73(6):1638-47.

63. Lawrenz B, Sibal J, Garrido N, Abu E, Jean A, Melado L, et al. Inter-assay variation and reproducibility of progesterone measurements during ovarian stimulation for IVF. *PLoS One.* 2018;13(11):e0206098.

64. Patton PE, Lim JY, Hickok LR, Kettel LM, Larson JM, Pau KY. Precision of progesterone measurements with the use of automated immunoassay analyzers and the impact on clinical decisions for in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 2014;101(6):1629-36.

65. Hull MG, Savage PE, Bromham DR, Ismail AA, Morris AF. The value of a single serum progesterone measurement in the midluteal phase as a criterion of a potentially fertile cycle ("ovulation") derived from treated and untreated conception cycles. *Fertil Steril.* 1982;37(3):355-60.

66. Labarta E, Mariani G, Holtmann N, Celada P, Remohi J, Bosch E. Low serum progesterone on the day of embryo transfer is associated with a diminished ongoing

pregnancy rate in oocyte donation cycles after artificial endometrial preparation: a prospective study. *Hum Reprod.* 2017;32(12):2437-42.

67. Aydin S. A short history, principles, and types of ELISA, and our laboratory experience with peptide/protein analyses using ELISA. *Peptides.* 2015;72:4-15.

68. Stanker LH, Hnasko RM. A Double-Sandwich ELISA for Identification of Monoclonal Antibodies Suitable for Sandwich Immunoassays. *Methods Mol Biol.* 2015;1318:69-78.

69. Blackburn GF, Shah HP, Kenten JH, Leland J, Kamin RA, Link J, et al. Electrochemiluminescence detection for development of immunoassays and DNA probe assays for clinical diagnostics. *Clin Chem.* 1991;37(9):1534-9.

70. Unknown. What are quartiles and where do we use them? [Available from: <https://www.sigmamagic.com/blogs/what-are-quartiles/>].

71. Labarta E, Mariani G, Paoletti S, Rodriguez-Varela C, Vidal C, Giles J, et al. Impact of low serum progesterone levels on the day of embryo transfer on pregnancy outcome: a prospective cohort study in artificial cycles with vaginal progesterone. *Hum Reprod.* 2021;36(3):683-92.

72. Benmachiche A, Benbouhedja S, Zoghmar A, Al Humaidan PSH. The impact of preovulatory versus midluteal serum progesterone level on live birth rates during fresh embryo transfer. *PLoS One.* 2021;16(2):e0246440.

73. Tu J, Lin G, Gong F. Additional luteal support might improve IVF outcomes in patients with low progesterone level in middle luteal phase following a GnRH agonist protocol. *Gynecol Endocrinol.* 2021;37(2):132-6.

74. Rozen G, Rogers P, Mizrahi Y, Teh WT, Parmar C, Polyakov A. Serum progesterone concentration on the day of embryo transfer in stimulated cycles does not correlate with reproductive outcomes. *Reprod Biomed Online.* 2022;45(6):1160-6.

75. Alsbjerg B, Polyzos NP, Elbaek HO, Povlsen BB, Andersen CY, Humaidan P. Increasing vaginal progesterone gel supplementation after frozen-thawed embryo transfer significantly increases the delivery rate. *Reprod Biomed Online.* 2013;26(2):133-7.

76. Gaggiotti-Marre S, Martinez F, Coll L, Garcia S, Alvarez M, Parriego M, et al. Low serum progesterone the day prior to frozen embryo transfer of euploid embryos is associated with significant reduction in live birth rates. *Gynecol Endocrinol.* 2019;35(5):439-42.

77. Aslih N, Ellenbogen A, Shavit T, Michaeli M, Yakobi D, Shalom-Paz E. Can we alter pregnancy outcome by adjusting progesterone treatment at mid-luteal phase: a randomized controlled trial. *Gynecol Endocrinol.* 2017;33(8):602-6.

78. Bourdon M, Maignien C, Pocate-Cheriet K, Plu Bureau G, Marcellin L, Patrat C, et al. The freeze-all strategy after IVF: which indications? *Reprod Biomed Online.* 2021;42(3):529-45.

Danksagung

Herrn Prof. Dr. Thaler danke ich, dass ich die Studie im Rahmen meiner Promotion in dem von ihm geleiteten Hormon- und Kinderwunschzentrum durchführen durfte.

Mein großer Dank gilt meiner Doktormutter **Frau Prof. Dr. med. Rogenhofer** für die Überlassung des inspirierenden Themas und die kontinuierliche Unterstützung.

Ganz besonders danke ich **Frau Dr. Becker** für die Heranführung an die Thematik dieser Arbeit sowie ihr außergewöhnliches Engagement als meine Betreuerin.

Auch den **Patientinnen** des Kinderwunschzentrums, ohne die diese Studie nicht möglich gewesen wäre, danke ich für den geleisteten Beitrag zur Wissenschaft.

Nicht zuletzt danke ich **meinen Eltern und meinen Schwestern** für ihren geduldigen und emotionalen Beistand beim Erstellen dieser Dissertation.



Eidesstattliche Versicherung

Winter, Clara Elisabeth

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

Luteale Serumprogesteronspiegel in IVF/CSI-Frischzyklen

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Berlin, 03.11.2023

Ort, Datum

Clara Winter

Unterschrift Doktorandin/Doktorand