

Aus der Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe  
(Direktor: Prof. Dr. med. Maass)  
im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel  
an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

# Bedeutung von AMH in Follikelflüssigkeit und Serum bei Behandlung von Patientinnen im Rahmen eines ART- Programmes (Assisted Reproductive Technology)

Inauguraldissertation  
zu Erlangung der Doktorwürde  
der Medizinischen Fakultät  
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von

**Juliane Katharina Kirsch**

aus Warendorf

Kiel 2017

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Liselotte Mettler, Klinik für  
Gynäkologie und Geburtshilfe
2. Berichterstatter: Prof. Dr. Paul-Martin Holterhus, Klinik  
für Kinder- und Jugendmedizin II
- Tag der mündlichen Prüfung: 08.06.2018
- Zum Druck genehmigt, Kiel, den: 23.02.2018

gez.: Prof. Dr. Johann Roider  
(Ausschussvorsitzender)

# INHALTSVERZEICHNIS

Abkürzungsverzeichnis .....	III
Abbildungsverzeichnis .....	IV
Tabellenverzeichnis .....	V
<b>1 EINLEITUNG</b>	<b>1</b>
1.1 Assisted Reproductive Technology.....	1
1.2 In-vitro-Fertilisation und intracytoplasmatische Spermieninjektion (ICSI) ..	1
1.3 Anwendung von FSH und hMG .....	3
1.4 Oogenese .....	4
1.5 Zytokine .....	4
1.5.1 Der Einfluss von Zytokinen im Ovar .....	5
1.6 Transforming Growth Faktor $\beta$ .....	6
1.6.1 Der Einfluss von TGF- $\beta$ im Ovar .....	6
1.7 Das Anti-Müller-Hormon .....	7
1.7.1 Die Struktur vom AMH .....	9
1.7.2 Der AMH-Rezeptor.....	9
1.7.3 AMH in den Reproduktionsorganen .....	10
1.7.4 Klinische Anwendung von AMH .....	11
1.8 Studienziele .....	14
<b>2 MATERIAL UND METHODEN</b>	<b>15</b>
2.1 Materialgewinnung und Patientenkollektiv .....	15
2.2 Aufarbeitung des Materials .....	16
2.3 Bestimmung von AMH .....	16
2.3.1 Prinzip der Elisa-Methode .....	16
2.3.2 Durchführung des Elisa-Assays .....	17
2.4 Statistische Auswertung .....	18
<b>3 ERGEBNISSE</b>	<b>19</b>
3.1 Zyklusverlauf.....	19
3.2 AMH in Serum und Follikelflüssigkeit am Tag der Follikelpunktion.....	21
3.2.1 ROC-Analyse .....	22
3.3 Korrelation von AMH mit der Eizellzahl.....	24

3.4	AMH-Konzentration bei Patientinnen mit OHSS/PCO .....	26
3.5	Korrelation von AMH mit der Behandlungsart (IVF/ICSI).....	28
3.6	Korrelation von AMH mit der Hormongabe .....	30
3.7	Korrelation von AMH mit dem Vorliegen einer Schwangerschaft.....	32
<b>4</b>	<b>DISKUSSION</b>	<b>35</b>
4.1	AMH im Zyklusverlauf.....	35
4.2	AMH in Follikelflüssigkeit und Serum.....	36
4.3	Vergleich der AMH-Konzentrationen .....	37
4.3.1	Eizellzahl.....	37
4.3.2	Grad des OHSS/PCO .....	38
4.3.3	Sterilitätsbehandlung.....	39
4.3.4	Hormongabe .....	39
4.3.5	Vorliegen einer Schwangerschaft .....	40
<b>5</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>43</b>
<b>6</b>	<b>LITERATUR</b>	<b>46</b>
<b>7</b>	<b>DANKSAGUNG</b>	<b>59</b>
<b>8</b>	<b>LEBENS LAUF</b>	<b>60</b>



## ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

AMH	Anti-Müller-Hormon
ART	assisted reproductive technology
EPO	Erythropoetin
ET	Embryonentransfer
FF	Follikelflüssigkeit
FP	Follikelpunktion
FSH	Follikelstimulierendes Hormon
G-CSF	Granulozyte-colony stimulating factor
GnRH	Gonadotropin releasing hormone
hCG	humanes Choriongonadotropin
hMG	humanes Menopausen Gonadotropin
ICSI	Intrazytoplasmatische Spermieninjektion
IVF	In-vitro-Fertilisation
LH	lutinisierendes Hormon
MRKHS	Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser-Syndrom
OHSS	Ovarielles Hyperstimulations Syndrom
PCO	Polycystisches Ovar
ST	Stimulationstag
TGF	transforming growth factor
TNF	Tumornecrosisfactor
VEGF	Vascular endothelial cell growth factor

## ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1: Altersverteilung der Patientinnen.....	16
Abbildung 2: AMH Konzentration aller untersuchten Patientinnen im Zyklusverlauf.	19
Abbildung 3: AMH-Verteilung bei Schwangeren.....	20
Abbildung 4: AMH-Konzentration bei Nicht-Schwangeren .....	21
Abbildung 5: Zusammenhang zwischen den AMH-Konzentrationen im Serum und in der Follikelflüssigkeit .....	22
Abbildung 6: Wahrscheinlichkeit der zu erwartenden Schwangerschaft.....	23
Abbildung 7: Korrelation zwischen der AMH-Konzentration im Serum und der Anzahl der gewonnenen Eizellen .....	25
Abbildung 8: Korrelation zwischen der AMH-Konzentration in der Follikelflüssigkeit und der Anzahl der gewonnenen Eizellen .....	26
Abbildung 9: Korrelation zwischen der AMH-Konzentration im Serum und des OHSS-Grades:.....	27
Abbildung 10: Korrelation zwischen der AMH-Konzentration in der Follikelflüssigkeit und des OHSS-Grades.....	28
Abbildung 11: Korrelation zwischen der AMH-Konzentration im Serum und der Art der Behandlung .....	29
Abbildung 12: Korrelation zwischen der AMH-Konzentration in der Follikelflüssigkeit und der Art der Behandlung.....	30
Abbildung 13: Korrelation zwischen der AMH-Konzentration im Serum und der Hormongabe.....	31
Abbildung 14: Korrelation zwischen der AMH-Konzentration in der Follikelflüssigkeit und der Hormongabe.....	32
Abbildung 15: Korrelation zwischen der AMH-Konzentration im Serum und dem Vorliegen einer Schwangerschaft.....	33
Abbildung 16: Korrelation zwischen der AMH-Konzentration in der Follikelflüssigkeit und dem Vorliegen einer Schwangerschaft.....	34

## **TABELLENVERZEICHNIS**

Tabelle 1: Statistik zur Altersverteilung der Patientinnen.....	15
Tabelle 2: Risikoschätzer für den Eintritt einer Schwangerschaft.....	24

# 1 EINLEITUNG

## 1.1 Assisted Reproductive Technology

Die assistierte Reproduktionstechnologie (ART) ist ein übergeordneter Begriff für das artifizielle oder teilweise artifizielle Erreichen einer Schwangerschaft. Sie wird in erster Linie bei Infertilitäten von Mann oder Frau (wie z.B. eine ovarielle Dysfunktion, Tubenunwegsamkeit oder verminderte Spermienanzahl) angewendet, aber auch bei genetischer Problematik, sowie zunehmend auch bei Paaren mit Infektionen, wie z.B. HIV, zur Vorbeugung einer Übertragung dieser Infektion.

Man unterscheidet grob die Verfahren „In vitro Fertilisation“ (IVF) von der „Intracytoplasmatischen Spermieninjektion“ (ICSI) und der „Intrauterinen Insemination“ (IUI). Weitere Verfahren sind die Kryokonservierung von Keimzellen, imprägnierten Eizellen und Embryonen und deren Verwendung in der assistierten Reproduktion (Revermann, 2011).

In Deutschland unterliegen alle Anwendungen dem Embryonenschutzgesetz aus dem Jahr 1991, nachdem ausschließlich die Übertragung von Eizellen möglich ist, die von der Patientin selbst stammen. Eizellspenden und Leihmutterschaft sind ausgeschlossen, Samenspenden hingegen nicht (Revermann, 2011).

Zur Stimulation der Ovarien und somit zur Bildung von multiplen Follikeln, in denen zeugungsfähige Eizellen heranwachsen, werden Gonadotropine (FSH und hMG) verwendet.

Humanes Menopausengonadotropin (hMG) wie auch das follikelstimulierende Hormon (FSH) werden aus dem Urin postmenopausaler Frauen extrahiert. Das follikelstimulierende Hormon (FSH) kann auch gentechnisch hergestellt werden.

## 1.2 In-vitro-Fertilisation und intracytoplasmatische Spermieninjektion (ICSI)

Bei der künstlichen Befruchtung werden Eizellen außerhalb des Mutterleibs mit Spermien befruchtet. Die grundsätzlichen Voraussetzungen einer erfolgreichen Behandlung sind ein gesundes Ovar, befruchtungsfähige Spermien und ein Uterus, der eine Schwangerschaft austragen kann.

Aufgrund der Kosten des Verfahrens werden zurzeit nur verheirateten Paaren Teile von drei Versuchen von der Krankenkasse bezahlt.

Zunächst wird der ovulatorische Vorgang mit dem Ziel einer kontrollierten ovariellen Überstimulation hormonell gesteuert. Mit einem Behandlungszyklus wird in der Regel am 2.- 3.Tag der Menstruation begonnen. Dieser Zyklus besteht aus mehreren Medikamentengaben, welche die Entwicklung multipler Follikel in den Ovarien stimulieren. Je nach Ursache der Sterilität werden hierzu GnRH-Analoga, GnRH-Antagonisten, FSH, LH, Antiöstrogene oder Mischpräparate verwendet. Bei den meisten Patienten werden unter strenger Überwachung injizierbare Gonadotropine (FSH-Analoga) eingesetzt.

Das Monitoring besteht aus häufiger Überprüfung der Östradiol- und Gestagenwerte im Serum und aus Sonographiekontrollen des Follikelwachstums im Ovar. Die Stimulation über die Injektionen der Hormone dauert ungefähr zehn Tage. Der spontane Eisprung wird durch den Einsatz von GnRH-Agonisten oder durch GnRH-Antagonisten unterdrückt. Beide Therapieansätze hemmen in unterschiedlicher Weise die Ausschüttung von LH und FSH der Hypophyse. Der Eisprung kann nun künstlich mit der Gabe von hCG herbeigeführt werden, wodurch die endgültige Reifung bis zur Ovulation der Follikel innerhalb von etwa 48 Stunden ausgelöst wird. Vor spontaner Ovulation (etwa 36 Stunden nach hCG-Gabe) werden transvaginal sonographiegesteuert die reifen Follikel mit Follikelflüssigkeit und den darin enthaltenen Oozyten abgesaugt.

Extrakorporal werden nun die Oozyten von den übrigen Zellen separiert und mit den aufbereiteten Spermien zusammengebracht (Müller, 2010).

Die Spermien und eine Eizelle (im Verhältnis von etwa 75.000:1) werden in einem Kulturmedium für etwa 4 Stunden (Zhang, 2013) bebrütet. In dieser Zeit kommt es zur Befruchtung der Oocyte. Nach ungefähr 40-48 Stunden wird das „4-8-Zellstadium“ erreicht.

In bestimmten Fällen, wie zum Beispiel zu niedriger Spermienanzahl oder fehlender Spermienmotilität, kann ein einzelnes Spermium direkt in die Eizelle (ICSI) injiziert werden.

Das Kulturmedium, auf dem die befruchteten Oozyten bebrütet werden, ist künstlich hergestellt oder eine Endometrium-Kokultur (auf einer Schicht von Zellen der mütterlichen Uterusschleimhaut). In bestimmten Fällen von wiederholten erfolglosen

Embryonenübertragungen scheint die Endometrium-Kokultur einen Vorteil zu bieten (Eyheremendy, 2010).

Es gibt verschiedene Einstufungsverfahren der Eizellen zur Beurteilung der Embryonenqualität, wie z.B. die Präimplantationsdiagnostik.

Das Grading der Embryonen basiert derzeit international auf der Teilungsgeschwindigkeit (van Montfoort, 2004) und der Fragmentation (Hardarson, 2002). Ein computergestütztes morphologisches Scoringsystem soll hierbei bessere Ergebnisse erzielen (Conaghan, 2013).

In Deutschland wird die Morphologie der Oozyten und Vorkerne als Anhalt genommen, um die Zellen mit dem höchsten Entwicklungspotential auszuwählen (Greuner, 2008). Entscheidend für die Qualität der Eizelle ist nicht die Art, sondern die Anzahl der Auffälligkeiten (Greuner, 2012).

Die ausgewählten Embryonen werden im „8-Zellenstadium“ mit Hilfe eines dünnen Kunststoffkatheters transvaginal und transzervikal in den Uterus übertragen. In Deutschland werden gemäß dem Embryonenschutzgesetz entsprechend dem Alter der Frau zwei bis drei Embryonen eingebracht.

Zuletzt unterstützt eine intravaginale Applikation von Progesteron in der Lutealphase nach erfolgreichem Embryotransfer die Endometriumentwicklung (Müller, 2010).

### **1.3 Anwendung von FSH und hMG**

Die Hormone, die zur Stimulation der Follikelproduktion verabreicht werden, sind das Follikelstimulierende Hormon (FSH) oder das humane Menopausengonadotropin (hMG). Beides lässt sich, wie bereits in 1.1 erwähnt, aus dem Urin postmenopausaler Frauen extrahieren. FSH kann aber auch gentechnisch hergestellt werden. Es wird seit längerer Zeit darüber diskutiert, welches der Hormone effizienter ist. Rekombinant hergestellte Präparate haben zwar den scheinbaren Vorteil, virussicher zu sein, bergen aber aufgrund der zur Herstellung notwendigen Zellkulturmedien, welche Kälberserum enthalten, das Risiko von Prionen (Balen, 2002). Andererseits kann es bei urinärem hMG zu Schwankungen im Gonadotropingehalt kommen (Baltzer, 2004).

## 1.4 Oogenese

Die vorhandenen Follikel in einem menschlichen Ovar können in einen ruhenden (Primordialfollikel), einen heranwachsenden (Primär-, Sekundär-, und Tertiärfollikel) und einen „reifen“ Follikelpool (also zur Ovulation fähige Graaf-Follikel) unterteilt werden (Schuffenhauer, 1987).

Schon bei der Entwicklung zum Sekundärfollikel ist eine Antrumbildung erkennbar, weshalb man auch von einem Antralfollikel spricht. Dieser erste Reifungsprozess ist gonadotropinunabhängig und dauert etwa drei Monate. Beim Antrum handelt es sich um eine flüssigkeitsgefüllte, zystenähnliche Struktur, die im Laufe der weiteren Entwicklung bis hin zum Graaf-Follikel einen Durchmesser von 1,5-2,5 cm erreichen kann (Keck, 2002). Der Sekundärfollikel ist mit seinem mehrschichtigen Follikelepithel (stratum granulosum) und der beginnenden Trennung zwischen Eizelle und Follikelepithel durch eine Zona pellucida gekennzeichnet. Im Tertiärfollikel liegt die eigentliche Eizelle schon am Rand im Cumulus oophorus. Um den Tertiärfollikel ist das Bindegewebe (Theca externa und interna) gut kapillarisiert und bildet in der Theca interna unter der Wirkung von FSH und LH Progesteron und Östradiol. Letzteres ist für die Selbststimulation des führenden Follikels über zusätzlich gebildete Östradiolrezeptoren verantwortlich (Drews, 2006; Welsch, 2006).

## 1.5 Zytokine

Als Zytokine werden regulatorische Glykoproteine bezeichnet, die im menschlichen Körper von unterschiedlichsten Blut- und Gewebszellen zur Steuerung von einer Vielzahl von Vorgehen gebildet werden. Unter anderem sind dies die Ontogenese, die Gewebereparatur, die Immunabwehr, die Kontraktilität in Herz und Gefäßen, die Hämatopoese, das Gerinnungssystem, das Zellsterben und auch die Entzündungsreaktion (Loppnow, 2001). Letztere wird in dieser Arbeit noch näher beleuchtet.

Ihre autokrine, parakrine und endokrine Wirkung entfalten sie über ein komplexes homöostatisches Netzwerk, was in Proliferation, Differenzierung, Induktion oder Inhibition metabolischer Effekte von Zielzellen mündet. Die genaue Funktion des Zytokins ist auch von der biochemischen Umgebung und der Art der Zielzelle abhängig. Aufgrund ihrer Komplexität sind Zytokinreaktionen sensibel gegenüber

genetischen Abweichungen und somit auch an einer Vielzahl von Autoimmunkrankheiten beteiligt (Imura, 1991).

Es werden im Wesentlichen folgende Hauptgruppen von Zytokinen unterschieden: Interferone, Interleukine, hämatopoetische Wachstumsfaktoren wie Erythropoetin (EPO) oder Granulozyte-colony stimulating factor (G-CSF) und andere Wachstumsfaktoren wie Vascular endothelial cell growth factor (VEGF), Tumor necrosis factor (TNF) oder der Transforming growth factor (TGF- $\beta$ ), zu dem auch das Anti-Müller-Hormon zählt (Schwarzmeier, 1991).

### **1.5.1 Der Einfluss von Zytokinen im Ovar**

Bestimmte Aspekte des ovulatorischen Prozesses gleichen einer Entzündungsreaktion, bei der auch Zytokine involviert sind. Der Zytokingradient von der Oberfläche bis zur Medulla lässt einen Einfluss der Zytokine auf die verschiedenen Stufen des ovariellen Zyklus vermuten. Das Epithel der Ovaroberfläche besitzt die Möglichkeit, Zytokine zu sezernieren, welche die endokrine Funktion der in der Nähe liegenden Follikel regulieren und insbesondere die entzündliche Reaktion verbunden mit der Ovulation beeinflussen. Die Ruptur des Follikels ist abhängig vom Gewebe-Remodeling, das charakteristisch ist für entzündliche Reaktionen. Es umfasst die Mobilisierung thekaler Fibroblasten sowie die Lockerung der bindegewebigen Elemente der Follikelwand (Espey, 1994). Schließlich können auch Proteolyse und Resynthese tieferliegender Strukturen Zytokine absondern und eine intensive Migration und Proliferation von Endothelzellen bewirken, die letztendlich zur Abheilung der Entzündungsreaktion führt (Ziltener, 1993). Bei Dysregulationen der Dienzephalon-Hypophyse-Ovar-Hormonachse im Rahmen von Stress mit einer erhöhten Ausschüttung von Endorphinen und Zytokinen kann es zur PCO-Erkrankung kommen. So stellt diese eine multisystemische Endokrinopathie dar und ist die häufigste Ursache für erhöhte Androgenspiegel, Zyklusstörungen und Unfruchtbarkeit bei der Frau im gebärfähigen Alter. PCO ist zusätzlich mit Adipositas korreliert (Insler, 1991). Auf diese Erkrankung wird im weiteren Verlauf dieser Arbeit noch einmal eingegangen (Seite 16).



## **1.6 Transforming Growth Faktor $\beta$**

Die „Transforming Growth Faktoren“ (TGF) gehören zu den Zytokinen und spielen über den TGF-Signalweg eine wichtige Rolle in der Embryonalphase, der Differenzierung von Zellen und Geweben, bei der Interaktion mit extrazellulärer Matrix, der Funktion und Differenzierung des Immunsystems und bei der Wundheilung. Zu der Gruppe der TGF gehören die Familien von TGF- $\alpha$  und TGF- $\beta$ , letztere mit ihrer Untergruppe AMH.

TGF- $\beta$  ist evolutionär stark konserviert und das Vorkommen ubiquitär (das menschliche TGF- $\beta$  entspricht dem von Rind und Schwein). Jedoch scheint seine Funktion speziesspezifisch zu sein (Kosmann, 1998). Es hat eine wachstumshemmende und immunsuppressive Wirkung.

Das TGF- $\beta$ -Homodimer besteht aus 112 Aminosäureketten (Masague, 1990; 1998) und ist ein von allen Immunzellen produzierbares und sezernierbares Zytokin.

TGF- $\beta$  wird in biologisch inaktiver Form gebildet. Seine Vorstufe besteht aus 390 Aminosäuren mit einer sekretorischen Signalfrequenz, einem langen Precursor-Segment und einer C-terminalen Sequenz, die einem TGF- $\beta$ -Monomer entspricht (Kosmann, 1998). In eine aktive Form kann das TGF- $\beta$  entweder durch Abspaltung der C-terminalen Sequenz mit Hilfe von Proteasen (Laiho und Keski-Oja, 1989), durch Zell-Zell-Interaktion (Anatolli-Orlidge, 1989) oder durch eine vorübergehende Ansäuerung (Lyons, 1988) überführt werden.

Der TGF-Rezeptor ist ein Heterodimer aus zwei transmembranen Serin/Threonin Rezeptorkinasen, der wiederum die jeweilige Signalübertragung über SMAD, einem Tumorsuppressor und Transkriptionsfaktor, gewährleistet.

TGF- $\beta$  kann sich an drei spezifische Zelloberflächenrezeptoren (Typ I, II und III) binden. Der Typ I-Rezeptor wird nach Andocken von TGF- $\beta$  an den Typ II- Rezeptor phosphoryliert (Ebner, 1993). Der Typ III-Rezeptor ist ein transmembranäres Proteoglykan, das eine Funktion als Modulator aufweist und die Bindungswahrscheinlichkeit von TGF- $\beta$  erhöhen kann (Lopez, 1993).

### **1.6.1 Der Einfluss von TGF- $\beta$ im Ovar**

Das Epithel des Ovars exprimiert viele Rezeptoren für Hormone und Wachstumsfaktoren, die es gleichzeitig selbst herstellt. Die Antwort auf TGF- $\beta$ , was von den Thekazellen produziert wird, ist die Hemmung der Androgenproduktion. Dies

geschieht, indem TGF- $\beta$  die Wirkung von FSH an Granulosazellen verstärkt und somit mehr LH-Rezeptoren produziert werden. Im weiblichen Zyklus führt dann das vermehrte Ansprechen auf LH zur Ovulation und zur Umwandlung des Follikels in ein Corpus luteum (Siegenthaler, 2006).

TGF- $\beta$  spielt auch eine Rolle bei Ovarialkarzinomen. In Studien konnte gezeigt werden, dass Tumorzellen zum Großteil weiter TGF-Rezeptoren produzieren und durch Gabe von TGF- $\beta$  das Wachstum dieser Zellen gehemmt werden kann (Dunfield, 2002).

### **1.7 Das Anti-Müller-Hormon**

Viele Tierarten produzieren AMH, wie z.B. Fische, Reptilien, Vögel, Beuteltiere und Säugetiere. Die Existenz des Anti-Müller-Hormons wurde erstmals 1916 durch Lillie in „Theory of the Freemartin“ nachgewiesen (Lillie, 1916).

In der Embryonalentwicklung ist AMH ein wesentliches Hormon zur Geschlechtsdifferenzierung. Im Bereich der Urogenitalleiste entstehen zwei Genitalanlagen, die in der Kloake münden: der Urnierengang, auch Wolff-Gang genannt, und der Müller-Gang. Ersterer veranlasst die Ausbildung des männlichen Genitaltraktes mit Nebenhoden, Samenleiter und Samenbläschen, Zweiter ist Vorläufer des weiblichen Genitaltraktes mit Eileiter, Uterus und Vagina. Die Sertoli-Zellen in den Hoden der männlichen Embryonen produzieren AMH zur Rückbildung des Müller-Ganges. Übrig bleibt noch der Utriculus prostaticus.

Da weibliche Embryonen dieses Hormon nicht produzieren, kommt es bei ihnen zur weiteren Ausdifferenzierung des Müller-Gangs, wobei Östrogene verschiedener Herkunft eine Rolle spielen.

Nach der Geburt eines weiblichen Kindes beginnt die Produktion von AMH zunächst in kleinen Mengen, mit einem kleinen Anstieg innerhalb der ersten zwei bis fünf Jahre. Bis zur Pubertät steigt die Ausschüttung des Hormons an, was mit dem graduellen Anwachsen der Ovarien und der Follikel zusammenhängt. Nach dem Auswachsen vom 18. bis zum 29. Lebensjahr bleibt die Menge an produziertem AMH relativ konstant. In dieser Zeit ist der AMH-Spiegel sogar vergleichbar mit dem der Männer (Hudson, 1990).

Bisher weiß man wenig über die Rolle von AMH im menschlichen Ovar. In Studien bezieht man sich auf das Ovar von Mäusen oder Ratten, welches hypothetisch eine ähnliche Physiologie bietet.

Die höchste AMH-Produktion wurde in den Granulosazellen von Sekundärfollikeln, präantralen und kleinen Antrafollikeln unter vier Millimeter im Durchmesser gemessen. In größeren Antrafollikeln von vier bis acht Millimetern verschwand die AMH-Produktion (Weenen, 2004). Diese Beobachtung unterstützt auch eine Studie über mRNA in besagten Zellen. Bei erwachsenen, weiblichen Ratten werden AMH und AMH-Rezeptor II mRNAs hauptsächlich in den Granulosazellen von Präantrafollikeln und kleineren Antrafollikeln exprimiert (Baarends, 1995). Wesentlich weniger konnte AMH-R-II mRNA-Expression in den Thekazellen der Präantral- und kleineren Antrafollikeln beobachtet werden.

Die Zahl der wachsenden Follikel korreliert ebenso wie der Serum-AMH-Spiegel mit der Anzahl der Primordialfollikel. AMH gibt also die Größe des Primordialfollikelpools (die Follikel, die noch entwicklungsfähig sind) wider (Kevenaar, 2006).

AMH wird in der Praxis heutzutage als bester hormoneller Marker für die ovarielle Funktionsreserve gesehen, wobei hiermit weder die Embryonenqualität, noch die Regelmäßigkeit der Schwangerschaft beurteilt werden kann (Smeenk, 2007). Der menschliche Eierstock enthält eine bestimmte Anzahl von Primordialfollikeln, die exponentiell bis zur Menopause mit etwa 50 Jahren mit dem Alter abnehmen. Sie schwanken interindividuell erheblich. Der Verlust an Oozyten in den Ovarien bedingt dann mit der Zeit zum großen Teil die zunehmende Infertilität.

Die Bestimmung des Hormons kann relativ zyklusunabhängig geschehen. Die altersspezifischen AMH-Werte zeigen mit dem Alter einen deutlichen Abfall (Seifer, 2011; Rosen, 2012). Es besteht zusätzlich eine breite Variation der altersspezifischen AMH-Werte (Shebl, 2011).

Es gibt verschiedene Studien über die Auswirkungen von Kontrazeptiva auf den AMH-Spiegel. So wurde auf der einen Seite bei normoovulatorischen Frauen keine Korrelation (Streuli, 2008) gefunden. Andere Studien aber zeigten, dass unter Einnahme von Kontrazeptiva der AMH-Wert deutlich erniedrigt ist und mit der Dauer der Einnahme zusammenhängt (Bentzen, 2012). Außerdem steigt der AMH-Wert bei Frauen nach Absetzen von Kontrazeptiva innerhalb von sieben Tagen wieder an (Van den Berg, 2010).

AMH gilt als wichtigster Marker für eine „poor“ oder „non-response Stimulation“. Bei einem AMH-Wert unter 0,3 ng/ml werden 75% der ovariellen Stimulationen abgebrochen (Al-Azemi, 2011). Die Wahrscheinlichkeit einer Schwangerschaft ist bei stark erniedrigtem AMH-Wert von 0,2ng/ml +/- 0,1ng/ml zwar sehr gemindert, aber dennoch möglich und liegt nach einer Studie bei 15,6% (Weghofer, 2011). So sollte auch bei extrem niedrigen AMH-Werten dieses nicht als Kriterium gewertet werden, um Frauen von einer IVF-Behandlung auszuschließen (Kedem, 2013).

Es ist sogar eine neue Therapiestrategie, Patientinnen mit extrem niedriger ovarieller Reserve und nicht feststellbarem AMH mit einer Hoch-Dosis-Therapie Östrogen zu behandeln (Honma, 2014).

Bei Frauen, die über 34 Jahre alt sind, kann ein vor einer IVF-Behandlung gemessener erhöhter AMH-Wert im Serum auf eine erhöhte Wahrscheinlichkeit einer Zwillingsschwangerschaft hinweisen (Tal, 2013).

### **1.7.1 Die Struktur vom AMH**

AMH gehört zur Familie der TGF- $\beta$ . Es ist ein Glucoprotein-Dimer, was über Sulfidbrücken verbunden ist, mit einem Gewicht von 140kDa (Josso, 1981). Es besteht aus 560 Aminosäuren, enthält eine kurze C-Terminaldomäne, die biologisch aktiv werden kann, und eine lange N-Terminaldomäne ohne biologische Aktivität.

Der Gencode für AMH wurde erstmals 1986 isoliert (Cate, 1986). Das menschliche Gen für AMH hat 5 Exons und hat eine Länge von 2,75 kbp. Es befindet sich an der Spitze des kurzen Arms des Chromosoms 19, Band p13.2-3 (Cohen-Haguenauer, 1987). Die meisten Protein-codierenden Gene beinhalten eine TATA-Box, welche die genaue Transkription initiiert. Während Mäuse und Ratten eine annähernd perfekte TATA-Box in ihrem Genom beinhalten, fehlt dem menschlichen hingegen genau dieses Element (Cate, 1986).

### **1.7.2 Der AMH-Rezeptor**

AMH als Mitglied der TGF- $\beta$  Familie entfaltet seine biologische Wirkung durch zwei Arten des transmembranen Serin/Threonin-Kinase-Rezeptors (AMHI und AMHRII), und zwei Arten von SMAD-Proteinen (Rezeptor-regulierten SMAD und gemeinsamen SMAD). SMADs sind intrazelluläre Signalfaktoren, die nach Aktivierung über den TGF- $\beta$ -Rezeptor dann zum Zellkern wandern und dort die Transkription verschiedenster Zellgene induzieren (Ganten, 2006). Komponenten des AMH-

Signalweges sind in den Gonaden und den gonadalen Zelllinien festgestellt worden. Hier interagiert AMH mit dem sehr spezifischen Typ II-Rezeptor und aktiviert den BMP-spezifischen SMAD 1-Signalweg (Di Clemente, 2003). Der AMH-Rezeptor-Typ II wird von dem Chromosom 12q13 kodiert. Das Gen für den AMH-Rezeptor hat 11 Exons. Die Exons 1 bis 3 kodieren die Signalsequenz und die extrazelluläre Domäne, Exon 4 die transmembranäre und 5-11 die intrazelluläre Serine/Threonine-Kinase-Domäne (Imbeaud, 1995). Man geht davon aus, dass es nur einen Typ-II Rezeptor für AMH gibt, da Mäuse mit AMH-Rezeptor II-Mangel sich phänotypisch wie Mäuse mit AMH-Mangel zeigen (Mishina, 1996).

Neben AMH-R-II wurden bisher drei verschiedene AMH-Typ-I-Rezeptoren identifiziert, die an der AMH-induzierten Regression des Müller-Gangs beteiligt sind (Visser, 2003). Doch der relative Beitrag dieser drei Typ-I-Rezeptoren ist noch nicht geklärt.

### **1.7.3 AMH in den Reproduktionsorganen**

AMH wird bei Frauen allein in den Ovarien gebildet, da AMH 3-5 Tage nach einer bilateralen Ovariectomie (siehe oben) nicht mehr nachweisbar ist (La Marca, 2005). Die wichtigste physiologische Funktion von AMH im Ovar scheint sich auf die Hemmung der frühen Stadien der Follikelreifung zu beschränken (Themmen, 2005), indem es unter anderem die Sensitivität dieser Follikel auf FSH-abhängiger Selektion zum dominanten Follikel reduziert (Durlinger, 2001). So ist bekannt, dass sich in Abwesenheit von AMH sowohl in vivo, als auch in vitro mehr Primordialfollikel zu heranreifenden Follikel entwickeln und dies folglich zu einer vorzeitigen Ausschöpfung des Primordialfollikelpools führt (Visser und Themmen, 2005). In-vitro-Kulturen von menschlichem Oberflächenepithel vom Ovar (Carlsson, 2006) bestätigen die hemmende Rolle von AMH auf die Primordialfollikel-Rekrutierung. AMH scheint auch Einfluss auf die Expression mehrerer Gene zu haben. Im Ganzen sind die Auswirkungen einer AMH-Exposition die Unterdrückung stimulierender Faktoren, die Förderung der Expression von hemmenden Faktoren und die Regulierung zellulärer Prozesse, woraus eine Hemmung der Entwicklung von Primordialfollikeln resultiert (Nilsson, 2007).

Auch eine Rolle für AMH als Co-Regulator der Steroidgenese in Granulosazellen ist möglich, da der AMH-Spiegel eine negative Korrelation mit dem Östrogenspiegel in der Follikelflüssigkeit kleinerer Antralfollikel zeigt (Andersen und Byskow, 2006). In

dieser Studie wurde, bestätigend zu den schon genannten Hypothesen, ebenso gezeigt, dass gerade in den Antralfollikeln mit einem Durchmesser von drei bis acht Millimetern zwei- bis dreimal erhöhte AMH-Werte gefunden wurden. Dieses unterstreicht die Relevanz von AMH als Parameter des ovariellen Primordialfollikelpools.

Ein direkter inverser Bezug von dem Polymorphismus des AMH-Genes oder des AMH-Rezeptor-Genes in der frühen Follikelphase mit dem Östrogenspiegel wurde nachgewiesen (Kevenaar, 2007). Die Autoren suggerierten, dass AMH über den Weg der FSH-Sensitivität einen Einfluss auf die Steroidgenese nimmt.

Die Entwicklung der Follikel bis zur Ovulationsreife dauert mehrere Monate, bzw. mehrere Zyklen. So braucht die Entwicklung eines Preantralfollikels zu einem frühen Antralfollikel etwa 25 Tage. Die letzte Gonadotropin-abhängige Phase vom Tertiärfollikel zum reifen Tertiär- oder Graaf-Follikel ist mit 10 Tagen die kürzeste (Fauser, 1997).

Zur Oogenese sind verschiedenste Wachstumsfaktoren notwendig (diverse Zytokine, FSH/LH oder auch Stickstoffmonoxid). Zur Ausbildung eines letztendlich reifen Graaf-Follikels müssen viele andere Follikel hormongestützt mit heranreifen (McGee, Hsueh, 2000). In dieser Arbeit soll auf die in der Reproduktionsmedizin verwandten Hormone FSH und LH eingegangen werden. Während der frühen Follikelphase sind primäre und sekundäre Follikel kaum für FSH empfindlich, weil sie sich sowohl in Abwesenheit von FSH als auch mit defekten FSH-Rezeptoren weiter entwickeln können. Die Follikel sind in dem Zeitraum auf Apoptose programmiert, solange nicht eine bestimmte Grenze für FSH überschritten wird (Fauser, 1997). Hier genau könnte AMH einen Einfluss nehmen.

#### **1.7.4 Klinische Anwendung von AMH**

Es gibt verschiedene Aussagen über die zyklischen Schwankungen von AMH, die zum Teil als nicht-signifikant (La Marca, 2006), zum Teil aber auch als signifikant mit einer raschen Abnahme in der frühen Lutealphase (Wunder, 2008a) beschrieben werden. Die letzte Studie hat mit 36 Frauen dreimal mehr Probanden als die erste. Einig ist man sich jedoch darüber, dass die Variabilität niedrig genug ist, um zu jedem Zeitpunkt des weiblichen Zyklus eine AMH-Messung vornehmen zu können.

Mit dem Rückgang der Zahl an Antralfollikeln ab dem 30. Lebensjahr bis zur Menopause nimmt auch die Produktion von AMH ab.

Der Serum-Spiegel von AMH sinkt bereits bei jüngeren normo-ovulatorischen Frauen, während andere Marker, die mit dem Altern des Ovars (FSH, Inhibin B oder die Anzahl der Antralfollikel) verbunden sind, sich nicht im gleichen Intervall ändern. AMH korreliert so mit der Anzahl der Antralfollikel und dem Alter, jedoch weniger mit FSH (De Vet, 2002). Die Serum-AMH-Konzentration allein oder in Kombination mit Inhibin B ist prädiktiv für das Auftreten der Menopause in den anschließenden drei bis fünf Jahren. Sie scheinen ein besserer Marker für den reproduktiven Status zu sein, als FSH (Van Rooij, 2004).

Die starke Korrelation zwischen vorhandenen AMH-Werten und dem ruhenden Follikelpool lässt darauf schließen, dass mit der Messung von AMH der Beginn der Menopause vorhersagbar ist (Sowers, 2008). Nach der Menopause oder der bilateralen Ovarektomie ist AMH nicht mehr nachweisbar (La Marca, 2005).

Vor einer künstlichen Befruchtung erlauben die AMH-Werte aus dem Blutserum eine Prognose über die Eizellenreaktion und die Erfolgsaussicht für eine Schwangerschaft nur bedingt, da nicht allein die ovarielle Reserve an Follikeln den Ausgang einer IVF-Behandlung oder die Reproduktionsfähigkeit der Frau bestimmen (Broekmans, 2006). Bei Frauen, die sich einer IVF/ICSI-Behandlung unterzogen, konnte jedoch der AMH-Spiegel aus der Follikelflüssigkeit eine enge und positive Korrelation mit der Implantation eines Embryos nach IVF aufweisen (Fanchin, 2007; Wunder, 2008b).

Auch im Rahmen der Diagnostik eines polyzystischen Ovars (oder veraltet Stein-Leventhal-Syndrom) lässt sich AMH als Marker anwenden. Fünf bis zehn Prozent aller Frauen im fertilen Alter leiden an dieser Erkrankung. Es ist die häufigste hormonelle Ursache für Unfruchtbarkeit. Bei diesem Syndrom lassen sich sonographisch vermehrte Follikel in den Ovarien, An- oder Oligoovulation und Hyperandrogenämie mit Virilisierung nachweisen. Insgesamt müssen zwei der drei Symptome vorliegen, um die Diagnose zu stellen. Klinisch manifestiert sich das PCO-Syndrom in Zyklusstörungen, Hirsutismus und Haarverlust, wie Alopezia. Zusätzlich ist es mit Adipositas und Diabetes mellitus Typ II vergesellschaftet (Ehrmann, 1999; Legro, 1999).

Ovarien von Frauen mit PCO-Syndrom zeigen eine normale Anzahl von Primordialfollikeln, wohingegen die Anzahl an sich entwickelnden Follikeln wesentlich vergrößert ist.

Die Ursache dieser Erkrankung ist noch nicht gänzlich geklärt. Man fand eine erhöhte Dichte an präantralen Follikeln, die eine erhöhte Ansammlung von Keimzellen des fetalen Ovars oder eine verringerte Verlustrate von Oozyten im späten Gestationsalter, der Kindheit oder der Pubertät sein könnten (Webber, 2003). Aber nicht nur die erhöhte Anzahl von Antralfollikeln, sondern auch eine erhöhte Sekretion von AMH aus den Granulosazellen kann für das PCO-Syndrom mit fehlerhafter überschießender Entwicklung der Follikel verantwortlich sein (Pellatt, 2007). Der AMH-Spiegel bei diesen Frauen ist zwei- bis dreimal höher, als bei der gesunden Kontrollgruppe. Diese Differenz bleibt bis in die späte reproduktive Phase erhalten (Piltonen, 2005). Übergewichtige Frauen im fortgeschrittenen Alter haben im Gegensatz zu Normalgewichtigen einen erniedrigten AMH-Level (Freeman, 2007). Bei ihnen scheint die ovarielle Reserve frühzeitiger ausgeschöpft.

Die Schwere der Erkrankung bei übergewichtigen Frauen mit PCO-Syndrom spiegelt sich auch im AMH-Level wider. In einer Studie zeigte sich, dass sich bei dem Teil der Frauen, die bereits vor Gewichtsverlust einen niedrigeren AMH-Spiegel hatten, die Insulinresistenz und die Zyklusbeschwerden deutlich verbesserten (Moran, 2007).

In Reviews fasst man zusammen, dass das Messen von AMH auch unter der Stimulation einer IVF-Behandlung der beste Marker für die Prognose eines PCOS ist (La Marca, 2010; Al-Qahtani, 2006).

Eine Theorie über Tumore des Ovariepithels nach histopathologischen Untersuchungen besagt, dass die Oberfläche embryologische Komponenten des Müller-Ganges sein könnten (Dubeau, 2008). Mit der Idee, dass AMH den Rückgang des Müller-Ganges bewirkt, kann es tatsächlich ebenso wie TGF- $\beta$  die Proliferation verschiedener menschlicher Tumorzellen, insbesondere von Ovarialtumoren, aber auch von Tumoren des Neuralrohres in vivo und vitro unterdrücken (Donahoe, 1979; Fuller, 1982; Chin, 1991; Parry, 1992).

Die Tatsache, dass Granulosazellen AMH produzieren, ließe sich ausnutzen um AMH als diagnostischen Marker für Granulosazelltumore anzuwenden (Rey, 2000; Rey, 1996).

Nach einer Chemotherapie erlaubt die Bestimmung von AMH und Inhibin B eine weit bessere Beurteilung der Ovarialreserve als die Amenorrhoeerate oder die FSH-Bestimmung. Die Funktionsparameter sind auch bei Chemotherapien, die als wenig ovarotoxisch gelten, erniedrigt (Raddatz, 2009).



## **1.8 Studienziele**

Das Ziel dieser Arbeit ist zum einen die Untersuchung, ob der AMH-Wert in den unterschiedlichen Phasen des Zyklus unter Hormongabe schwankt. Zum anderen soll ermittelt werden, ob es einen Unterschied zwischen den AMH-Werten von Schwangeren und nicht-schwangeren Patientinnen während des Zyklus unter Hormongabe gibt. Zuletzt soll überprüft werden, ob AMH als klinisches Prognosekriterium für das Eintreten einer Schwangerschaft gelten kann.

Zur Beantwortung dieser Fragen werden zwei unterschiedliche Materialien (Serum und Follikelflüssigkeit) untersucht. Follikelflüssigkeit enthält unter anderem das aus den umgebenden Granulosazellen sezernierte AMH und ist daher geeignetes Medium zur Untersuchung der intraovariellen Regulation. Zwischen Serum und Follikelflüssigkeit gibt es ein Konzentrationsgefälle, weshalb auch der Nachweis der eventuell vorhandenen Schwankungen im Serum von Bedeutung ist.

## 2 MATERIAL UND METHODEN

### 2.1 Materialgewinnung und Patientenkollektiv

Die Blutentnahmen zur AMH-Bestimmung erfolgen begleitend zu der routinemäßigen Östradiol-, FSH- und Progesteronüberwachungen bei 26 Patientinnen während der gesamten Stimulationsphase. Diese Abnahmen erfolgen zunächst alle drei Tage, dann zum Tag der hCG-Injektion, zum Tag der Follikelpunktion und zum Embryotransfer und weiter in wöchentlichen Abständen bis vier Wochen nach dem Embryotransfer. Zudem werden bei 124 Patientinnen, die sich in IVF- oder ICSI-Behandlung befinden, am Tage der Follikelpunktion Blut und Follikelflüssigkeit entnommen. Bei der Follikelflüssigkeit wird auf die Kontaminationsfreiheit durch Blut geachtet, die durch die ausschließliche Verwendung des ersten Punktates gegeben ist. Das Alter der Patientinnen beträgt zwischen 26 und 45 Jahren (im Durchschnitt 35,28 Jahre), siehe Tabelle 1 und Abbildung 1. Die Ermittlung des AMH-Wertes ist als Standard in der klinischen Routine neben basalem FSH und dem antralen Follikelcount zur Bestimmung der ovariellen Reserve und folgend zur Festsetzung der Dosierung der Hormone für die Stimulation eingeführt worden. Nach den Regeln der Ethikkommission der Universität Kiel zum Zeitpunkt der Untersuchungen war deshalb bei dieser Beobachtungsstudie eine Beantragung nicht vorgesehen.

Tabelle 1: Statistik zur Altersverteilung der Patientinnen

Deskriptive Statistiken								
	N	Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum	Perzentile		
						25.	50. (Median)	75.
Alter	125	35,28	4,514	26	45	32,00	36,00	39,00

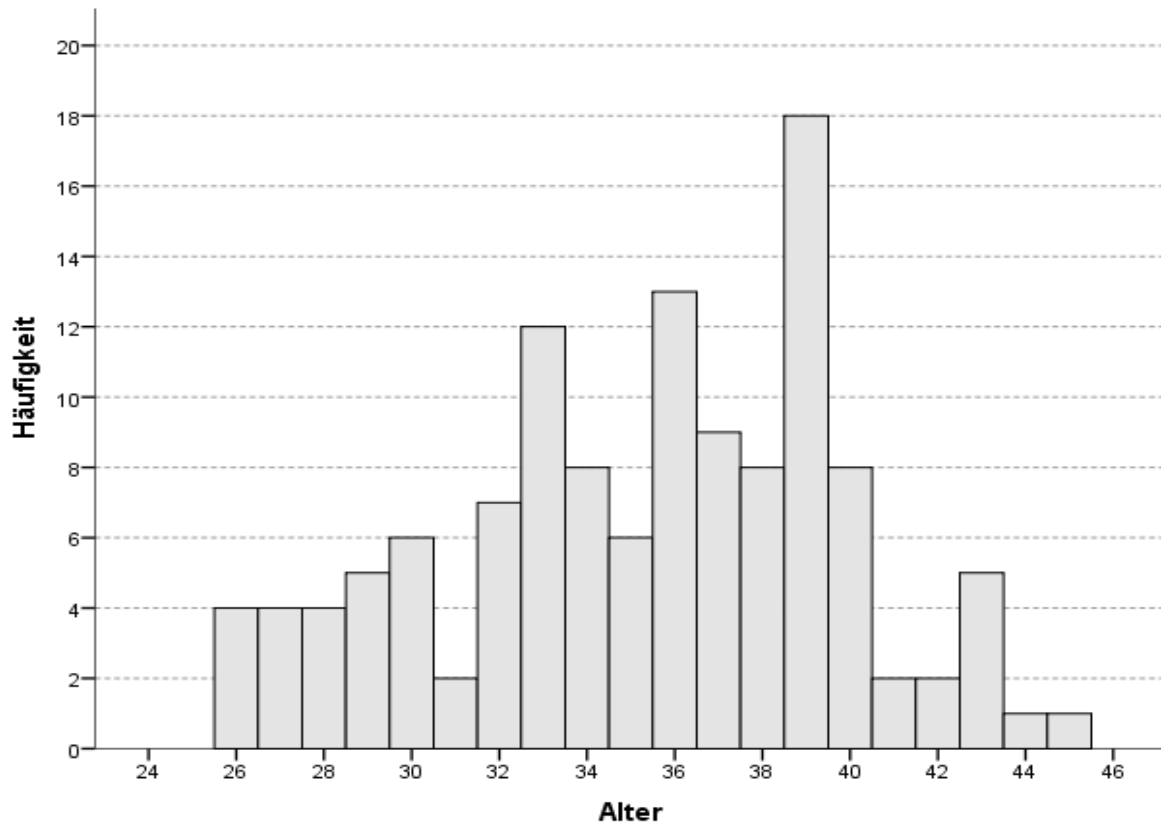


Abbildung 1: Altersverteilung der Patientinnen

## 2.2 Aufarbeitung des Materials

Blut und Follikelflüssigkeit werden sofort nach Entnahme 10min mit 350g zentrifugiert. Das Serum, bzw. die flüssige Phase der Follikelflüssigkeit, wird danach abpipettiert und in kleinen Eppendorfgefäßen mit Hilfe von flüssigem Stickstoff schockgefroren. Bis zur weiteren Verwendung wird das Material bei  $-80^{\circ}\text{C}$  gelagert.

## 2.3 Bestimmung von AMH

### 2.3.1 Prinzip der Elisa-Methode

Der Serum- und Follikelflüssigkeitsspiegel von AMH wird mit dem Elisa-Verfahren in Sandwich-Technik ermittelt.

Das Elisa (Enzyme linked immunoabsorbent Assay) -Verfahren basiert auf einer enzymatischen Farbreaktion, die proportional die Menge an AMH widerspiegelt.

Auf den an die Kavitäten einer Mikrotiterplatte gebundenen monoklonalen Antikörpern wird AMH als Antigen gebunden. Nach Ablauf einer Inkubationsphase wird das überschüssige AMH ausgewaschen. An den Antikörper-Antigenkomplex kann nun ein weiterer Antikörper binden und es entsteht ein Antikörper-Antigen-Antikörper-Komplex. Mitsamt einem wiederum daran bindendem Enzym wird nun ein chromogenes Substrat umgesetzt. Im Chromatographen kann daraufhin der Farbumschlag ausgewertet und die Menge an AMH angegeben werden.

### **2.3.2 Durchführung des Elisa-Assays**

Der Immunoenzymometrische Assay für AMH (Immunotech SAS) wird nach den Herstellerempfehlungen durchgeführt:

Im ersten Schritt werden 25µl Kalibrator, Serum oder Follikelflüssigkeit und 100µl des Reaktionspuffers in die Kavitäten einer Mikrotiterplatte pipettiert. Die Standardreihe besteht aus sechs mal zwei Kalibratoren mit Konzentrationen von 0pM bis 150pM.

Der Boden der Mikrotiterplatte ist mit einem spezifischen monoklonalen Antikörper beschickt. Nun bindet AMH während einer zweistündigen Inkubationszeit an diesen Antikörper. Überschüssige Flüssigkeit mit AMH wird in dreimaligem Waschzyklus mit 400µl Waschlösung entfernt.

Im zweiten Schritt werden 50µl biotinylierter Antikörper und 50µl Streptavidin-HRP zugesetzt. Der Antikörper bindet in Sandwichtechnik spezifisch an das AMH und ermöglicht dem Enzym HRP, das gebundene AMH zu quantifizieren. Nach einer halbstündigen Inkubationszeit wird der Überstand in dreimaligem Waschzyklus entfernt. Um die Menge an AMH bestimmen zu können, muss nun 100µl Substrat hinzugegeben werden, welches durch das an den Sekundärantikörper gebundene Enzym in halbstündiger Inkubationszeit umgesetzt wird. Danach wird die Reaktion mittels 50µl Schwefelsäurelösung gestoppt und die Chemolumineszenz der Probe kann bei 450nm im Platerader gemessen werden. Die Ergebnisse werden aus der Kalibratorkurve durch Interpolation gewonnen.

Technische Daten zum Kit:

Messbereich: von 1pM bis 150pM bei einer Sensitivität von 1pM. Die Präzision liegt innerhalb eines Versuches bei 12,3%, zwischen zwei Versuchen bei 14,2%.

## **2.4 Statistische Auswertung**

Die AMH-Konzentrationen der Patientinnen werden mittels Häufigkeitsverteilungen ausgewählter Variablen und deskriptiven Maßzahlen charakterisiert. Dazu gehören Mittelwerte, Standardabweichungen, Minimum, Maximum und Quartile. Deskriptive Statistiken und Boxplots geben Hinweis auf die Verteilung der AMH-Konzentrationen. Mit dem Mann-Whitney-U-Test wird geprüft, ob sich die AMH-Konzentration in zwei unabhängigen Stichproben unterscheiden. Der Einfluss mehrdimensionaler Variablen auf die AMH-Konzentration wird mittels Kruskal-Wallis-Test nachgewiesen.

Schließlich wird noch mittels Chi-Quadrat-Test und Risikoschätzung die Möglichkeit einer Schwangerschaft in Abhängigkeit von vorhandenem AMH geprüft.

### 3 ERGEBNISSE

#### 3.1 Zyklusverlauf

Während der Stimulationsphase im Rahmen einer artifiziiellen Reproduktionstechnik wurde bei 26 Patientinnen neben den regelmäßigen und routinemäßigen Abnahmen von Östrogen und Progesteron zur Zykluskontrolle auch die AMH-Konzentration im Serum gemessen. Dies geschah an den Stimulationstagen (AMH ST 1-3, 4-6, 7-9 und 10-13), an dem Tag der hCG-Gabe zur Ovulation (AMH hCG), an dem Tag der Follikelpunktion (AMH FP), an dem Tag des Embryonentransfers (AMH ET) und den folgenden Tagen (AMH FP+ 1 Woche, AMH ET+ 2 Wochen usw.). In dieser ausschließlich deskriptiven statistischen Auswertung sieht man im Verlauf des Zyklus Schwankungen des AMH-Spiegels. In Abbildung 2 sind die AMH Werte aller untersuchten Patientinnen dargestellt.

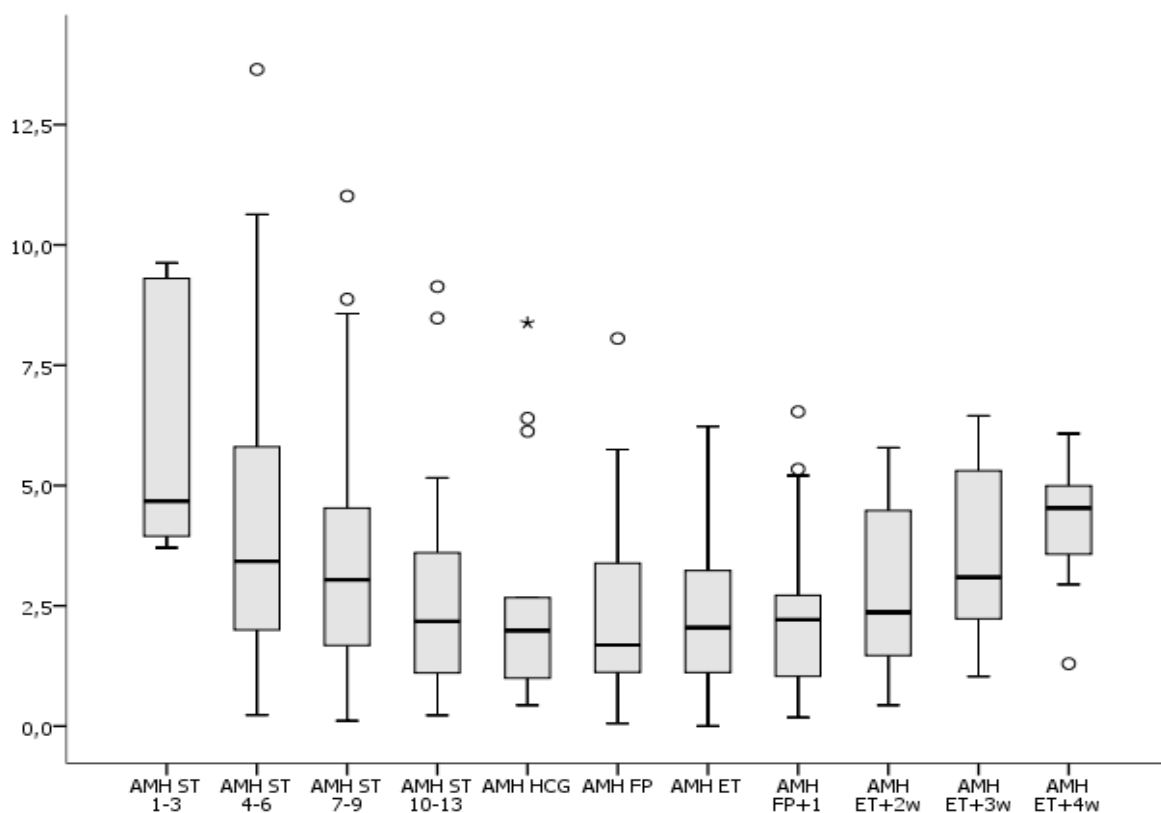


Abbildung 2: AMH Konzentration aller untersuchten Patientinnen im Zyklusverlauf

Die AMH-Konzentration zeigt einen parabelförmigen Verlauf der Medianwerte und ist zu Beginn der Stimulationszeit (AMH ST 1-3) mit einem Medianwert von 4,67pg/ml am höchsten. Bis zum Tag der Follikelpunktion (AMH FP) nimmt sie auf 1,68pg/ml ab, um dann etwa 4 Wochen nach dem Embryotransfer (AMH ET+4w) wieder auf den ursprünglichen Wert von etwa 4,53pg/ml anzusteigen.

Diese Verlaufsbeobachtung wird nun in die Gruppen „schwanger“ und „nicht-schwanger“ unterteilt.

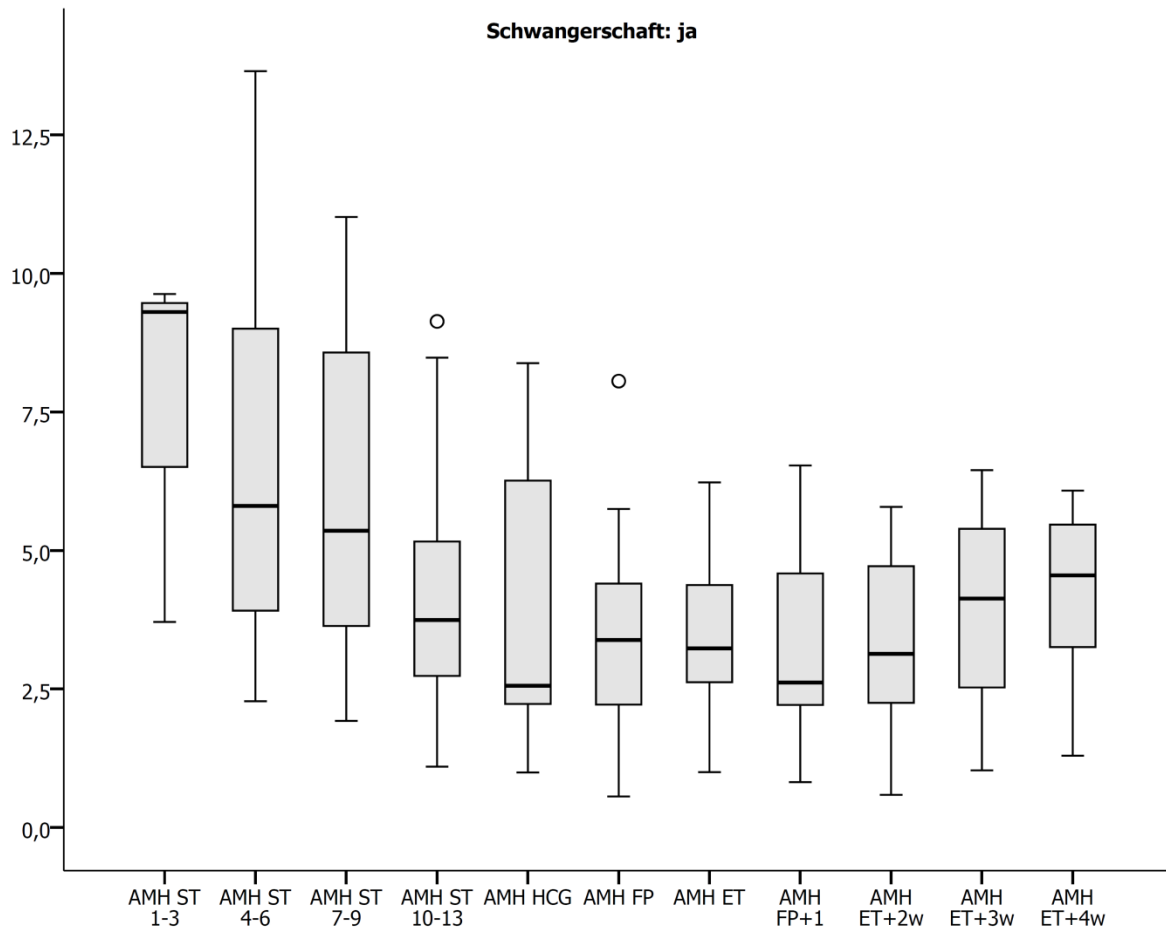


Abbildung 3: AMH-Verteilung bei Schwangeren

Abbildung 3 zeigt die Entwicklung der AMH Konzentration im zeitlichen Verlauf bei Schwangeren. Dieser Verlauf ähnelt ebenfalls einer Parabel. Die AMH Konzentration liegt zu Beginn der Stimulation bei einem Wert von 9,30pg/ml. Der tiefste Medianwert von 2,55pg/ml wird eine Untersuchung früher, am Tag der hCG-Injektion, erreicht. Danach erhöht sich der AMH-Wert stetig, bis sich vier Wochen nach dem Embryotransfer ein Wert von 4,55pg/ml einstellt.

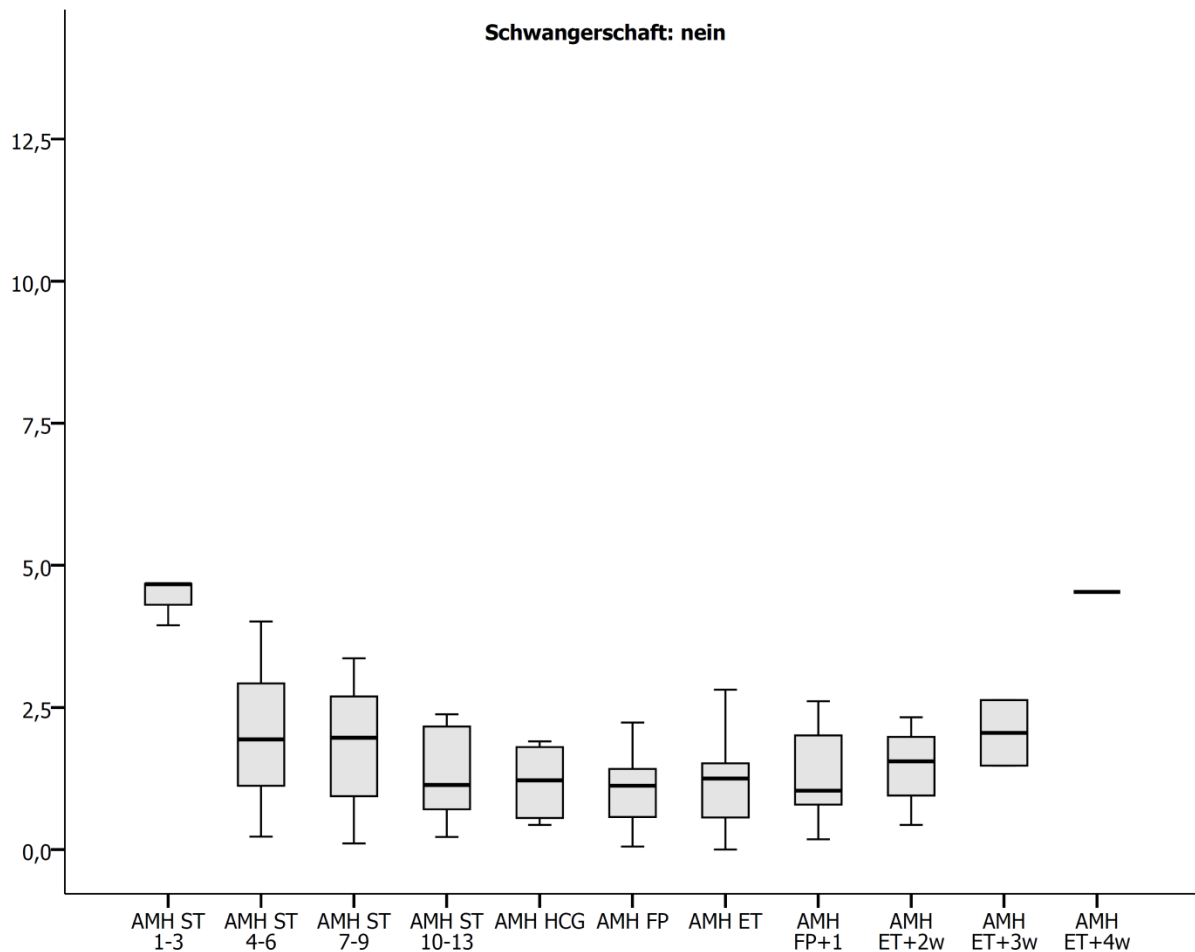


Abbildung 4: AMH-Konzentration bei Nicht-Schwangeren

Die AMH-Werte der Frauen, die nicht schwanger geworden sind, liegen deskriptiv unter den Werten der Schwangeren und weisen eine geringe Schwankung auf (siehe Abbildung 4). Auch dieser Verlauf lässt sich als Parabel interpretieren, bei dem die AMH-Konzentration ein Maximum am ersten bis dritten Stimulationstag von 4,67pg/ml erreicht. Im Weiteren verringert sich die Konzentration bis zum Tag der Follikelpunktion auf einen Wert von 1,12pg/ml und steigt nachfolgend auf 2,05pg/ml ca. drei Wochen nach dem Embryotransfer an.

### 3.2 AMH in Serum und Follikelflüssigkeit am Tag der Follikelpunktion

Bei 124 Patientinnen wurden am Tag der Follikelpunktion die AMH-Werte aus dem Serum und der Follikelflüssigkeit bestimmt. Die AMH-Werte im Serum wurden den entsprechenden AMH-Werten in der Follikelflüssigkeit zugeordnet, woraus sich die Punktwolke in Abbildung 5 ergibt.



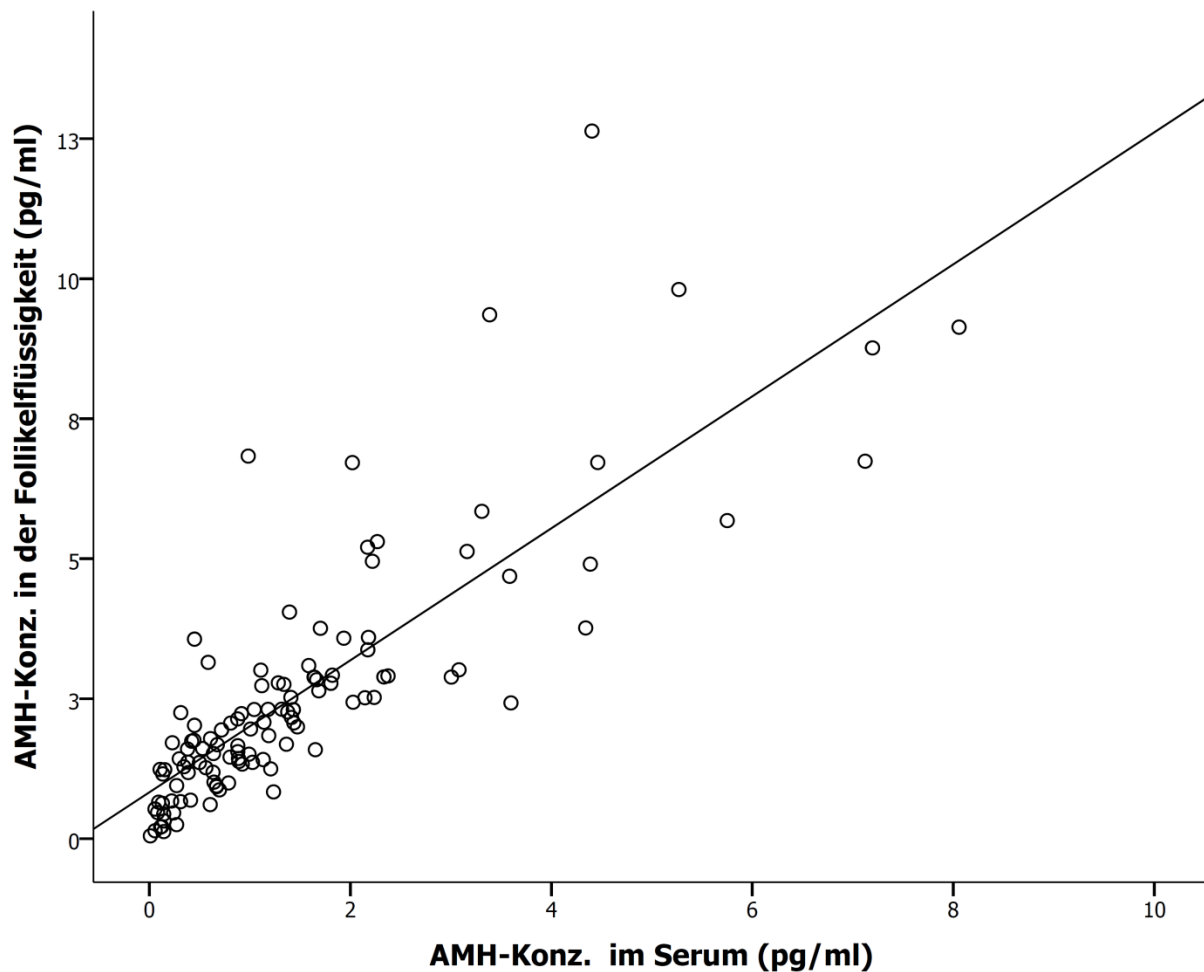


Abbildung 5: Zusammenhang zwischen den AMH-Konzentrationen im Serum und in der Follikelflüssigkeit

Die Korrelation zwischen den AMH-Konzentrationen von Serum und FF ist mit einem p-Wert von  $<0,1$  deutlich signifikant. Hohe Werte von AMH-Konzentrationen im Serum entsprechen hohen Werten der Konzentration in der Follikelflüssigkeit.

### 3.2.1 ROC-Analyse

Um die Wahrscheinlichkeit einer zu erwartenden Schwangerschaft zu errechnen, wird eine ROC-Kurve verwendet. Dabei wird die Sensitivität (Richtig-positive-Rate) der 1-Spezifität (Falsch-positiv-Rate) gegenübergestellt, wie in Abbildung 6 dargestellt.

Der Cut-off-Wert für Schwangerschaft zum Zeitpunkt der Follikelpunktion ist mit 1,8pg/ml AMH im Serum (Sensitivität von 82,1% und Spezifität von 50%) und 2,3pg/ml in der FF (deutlich niedrigere Sensitivität von 63,41% und Spezifität von 39,47%) beschrieben.

### Fläche unter der Kurve

Variable(n) für Testergebnis	Fläche	Standardfehler <sup>a</sup>	Asymptotische Signifikanz <sup>b</sup>
AMH-Konz. im Serum (pg/ml)	,690	,050	,001
AMH-Konz. in der Follikelflüssigkeit (pg/ml)	,694	,049	,001

a. Unter der nichtparametrischen Annahme

b. Nullhypothese: Wahrheitsfläche = 0.5

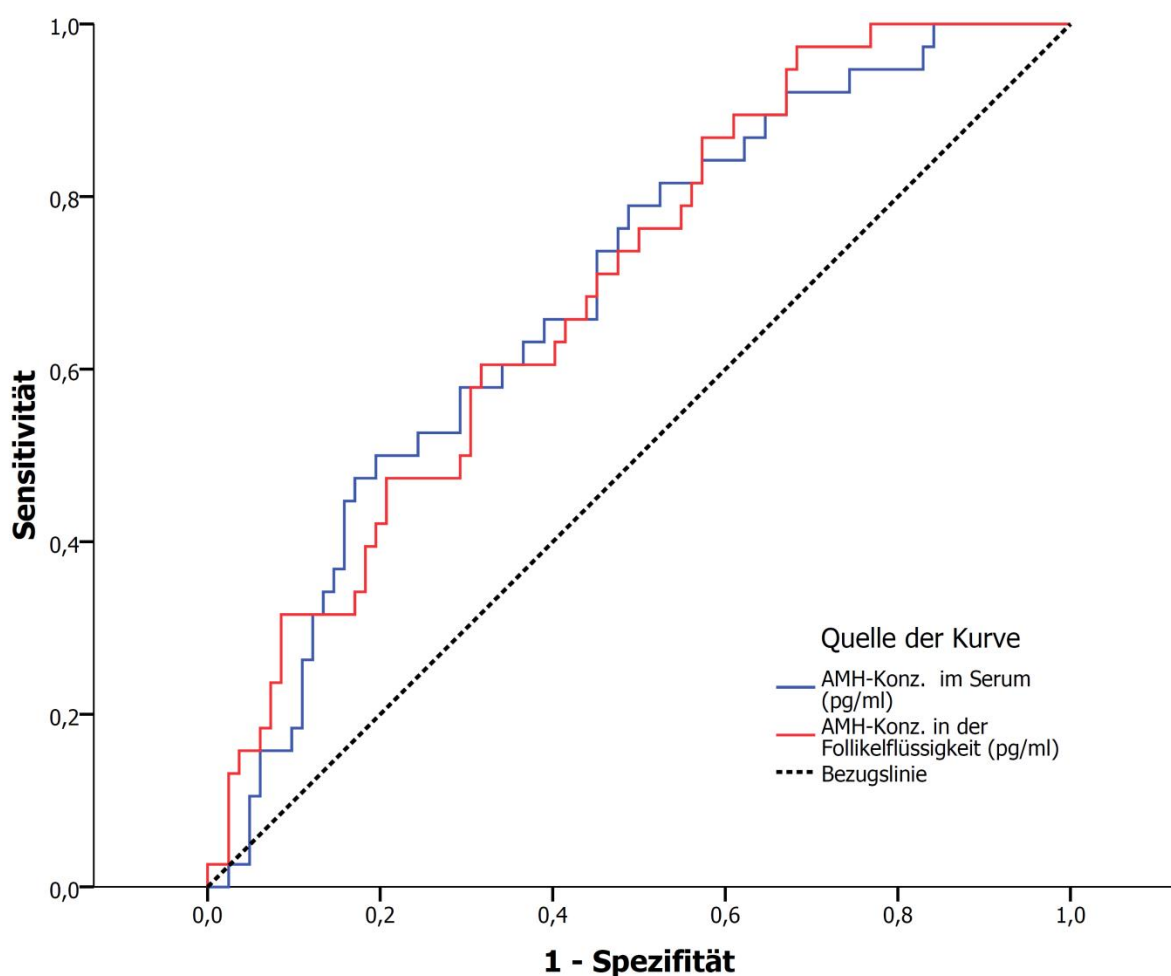


Abbildung 6: Wahrscheinlichkeit der zu erwartenden Schwangerschaft

Das Chancenverhältnis für den Eintritt einer Schwangerschaft bei einem Cut-off-Wert von 1,8pg/ml (p-Wert 0,0) im Serum ist um den Faktor 4,6 und bei dem Wert von 2,3pg/ml (p-Wert 0,014) in der Follikelflüssigkeit um den Faktor 2,66 höher bei hohem AMH, vergleiche Tabelle 2.

Tabelle 2: Risikoschätzer für den Eintritt einer Schwangerschaft

<b>Risikoschätzer</b>			
	Wert	95%-Konfidenzintervall	
		Untere	Obere
Quotenverhältnis für amh_se_c (<=1.8 / >1.8)	4,600	1,997	10,594
Quotenverhältnis für amh_ff_c (<=2.3 / >2.3)	2,658	1,206	5,860

### 3.3 Korrelation von AMH mit der Eizellzahl

In Abbildung 7 wird die AMH-Konzentration im Serum mit der Anzahl der gewonnenen Eizellen graphisch dargestellt. Es zeigt sich, dass eine erhöhte Anzahl von Eizellen mit einer erhöhten AMH-Konzentration im Serum einhergeht. So liegt der Medianwert der AMH-Konzentration bei unter 6 gewonnenen Eizellen bei 0,42pg/ml, steigert sich stetig und liegt bei über 15 gewonnenen Eizellen bei 1,64pg/ml. Der p-Wert mit 0,003 ist deutlich signifikant.

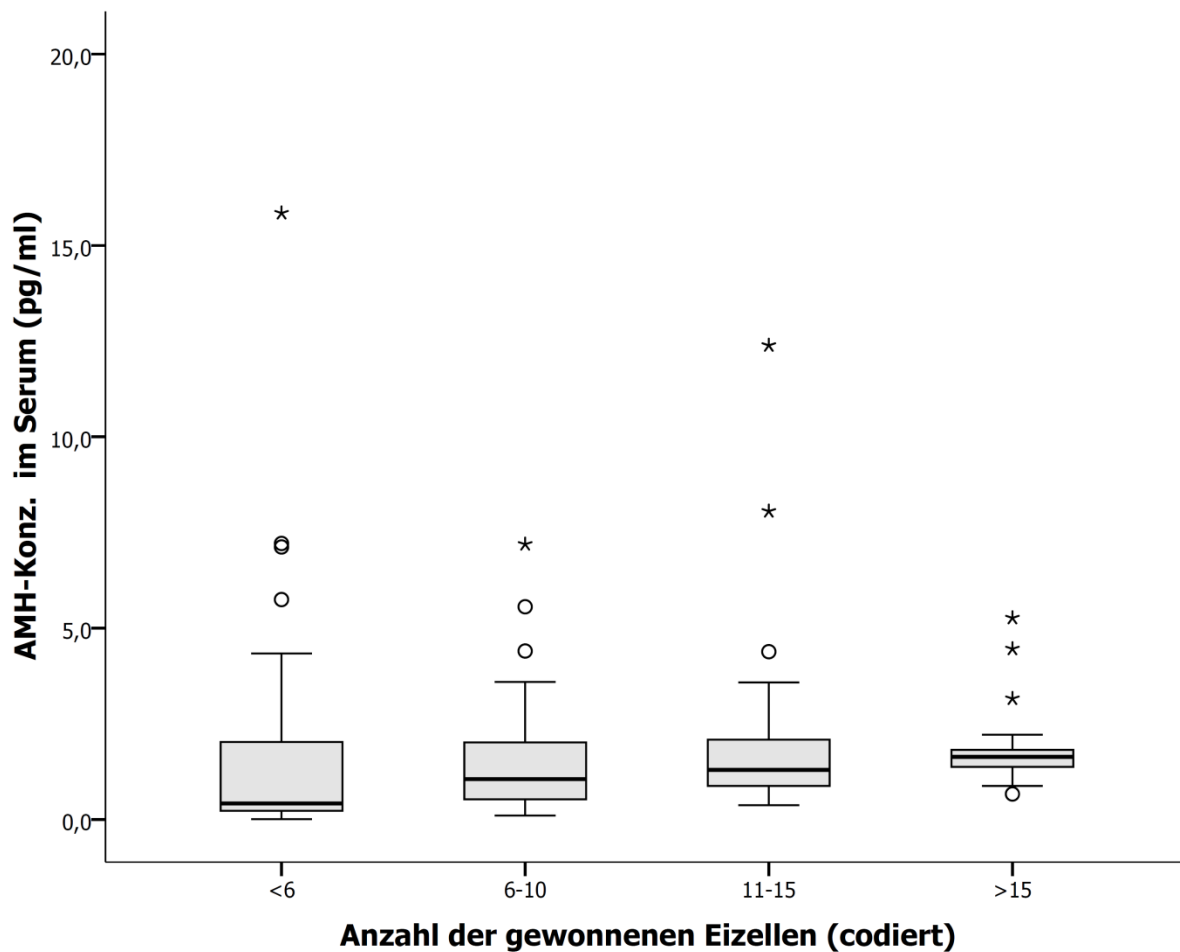


Abbildung 7: Korrelation zwischen der AMH-Konzentration im Serum und der Anzahl der gewonnenen Eizellen: <6 Eizellen (0,42pg/ml), 6-10 Eizellen (1,05pg/ml), 11-15 Eizellen (1,29pg/ml), >15 Eizellen (1,64pg/ml), p-Wert 0,003 (Ergebnisse sind untereinander unterschiedlich signifikant)

Auch in der Abbildung 8, in der die Anzahl der gewonnenen Eizellen mit der AMH-Konzentration in der Follikelflüssigkeit korreliert werden, ist dies zu erkennen. Hier sind die AMH-Werte insgesamt höher. Bei weniger als sechs gewonnenen Eizellen liegt die mediane Konzentration von AMH bei 1,42pg/ml, die bei über 15 gewonnenen Eizellen ist mit 2,54pg/ml deutlich höher. Der p-Wert mit 0,031 ist signifikant.

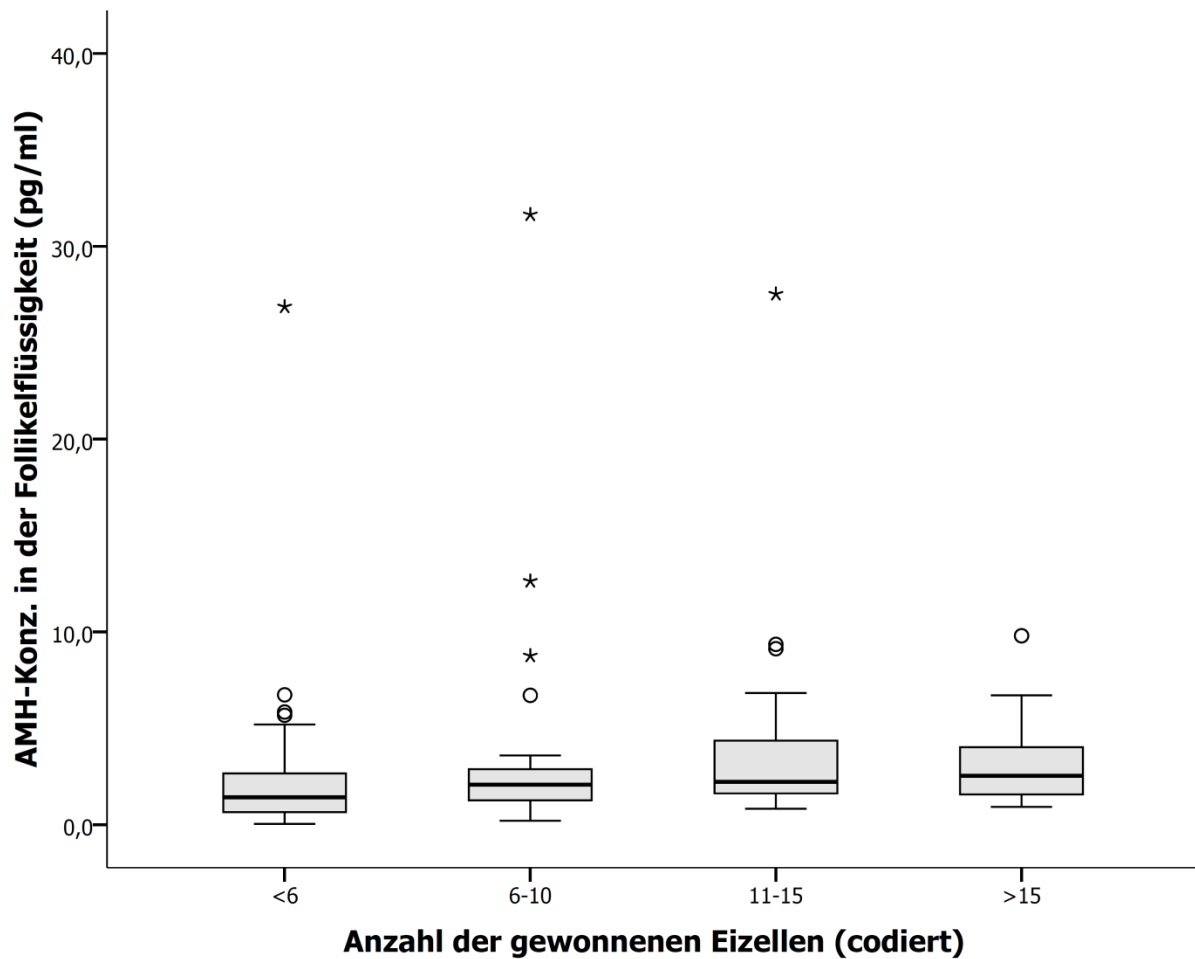


Abbildung 8: Korrelation zwischen der AMH-Konzentration in der Follikelflüssigkeit und der Anzahl der gewonnenen Eizellen: <6 Eizellen (1,42pg/ml), 6-10 Eizellen (2,08pg/ml), 11-15 Eizellen (2,22pg/ml), >15 Eizellen (2,54pg/ml), p-Wert 0,031

### 3.4 AMH-Konzentration bei Patientinnen mit OHSS/PCO

Der Schweregrad einer OHSS- oder PCO-Erkrankung und die jeweiligen AMH-Konzentrationen wird in Abbildung 9 beziehungsweise Abbildung 10 dargestellt.

Abbildung 9 zeigt, dass Frauen ohne PCO oder OHSS eine niedrigere AMH-Konzentration im Serum (Medianwert von 0,90pg/ml) haben als Frauen mit dieser Erkrankung im Grad 1 (1,65pg/ml) oder OHSS Grad 2 (1,51pg/ml). Ein signifikanter Unterschied wurde jedoch nicht gefunden.

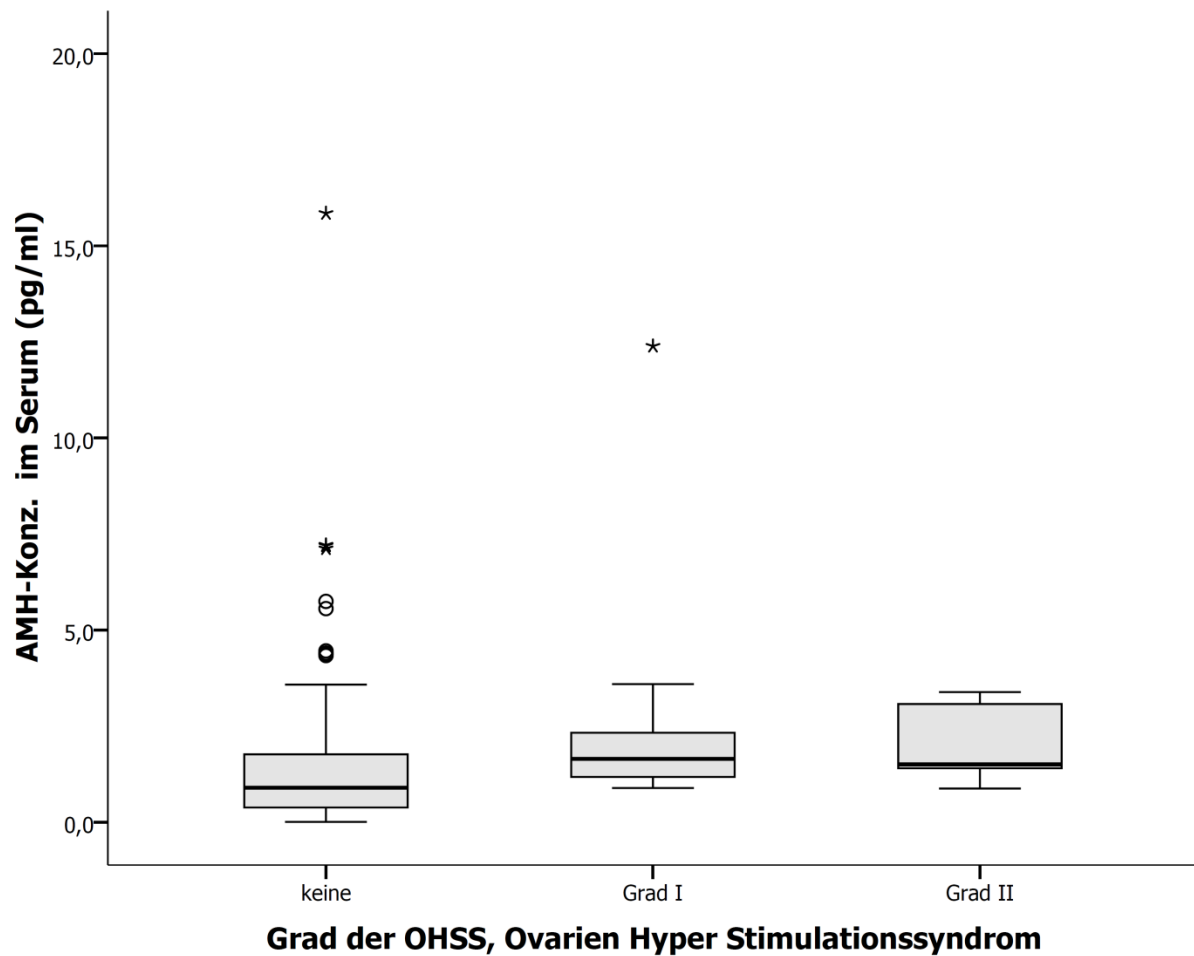


Abbildung 9: Korrelation zwischen der AMH-Konzentration im Serum und des OHSS-Grades:kein OHSS (0,90pg/ml), Grad 1 (1,65pg/ml), Grad 2 (1,51pg/ml), p-Wert 0,744

Der Grad der OHSS/PCO wird auch mit der AMH-Konzentration in der Follikelflüssigkeit verglichen (Abbildung 10). Die Werte der AMH-Konzentration sind höher als im Blutserum und zeigen ebenso einen Anstieg über den Grad der Erkrankungsschwere.

Ohne OHSS liegt der mediane AMH-Konzentrationswert bei 1,77pg/ml, bei Grad 1 ist der Wert auf 2,42pg/ml angestiegen. Der höchste Wert ist bei Grad 2 mit 2,72pg/ml AMH erreicht. Auch hier wurde kein signifikanter Unterschied gefunden.

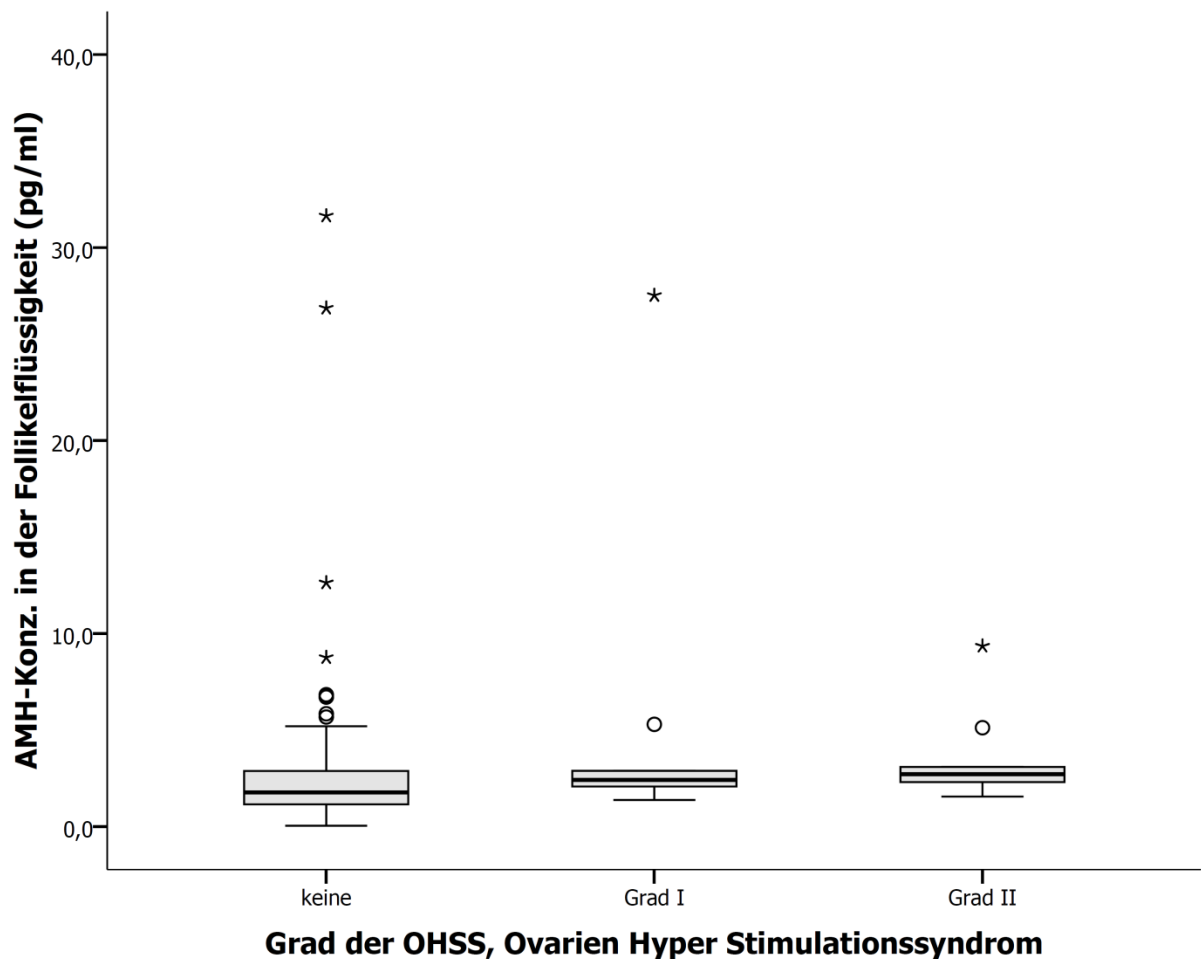


Abbildung 10: Korrelation zwischen der AMH-Konzentration in der Follikelflüssigkeit und des OHSS-Grades; kein OHSS (1,77pg/ml), Grad 1 (2,42pg/ml), Grad 2 (2,72pg/ml), p-Wert 0,624

### 3.5 Korrelation von AMH mit der Behandlungsart (IVF/ICSI)

Sowohl im Serum wie auch in der Follikelflüssigkeit wirkt sich die Behandlungsart (IVF bzw. ICSI) nicht auf den AMH-Spiegel aus (siehe Abbildung 11 und Abbildung 12). Der Medianwert der AMH-Konzentration im Serum liegt nicht signifikant bei der IVF-Behandlung bei 1,33pg/ml gegenüber 1,1pg/ml bei der ICSI-Behandlung. In der Follikelflüssigkeit liegen ebenso nicht signifikant die AMH-Konzentrationen bei 2,04pg/ml bei IVF zu 2,01pg/ml bei ICSI.

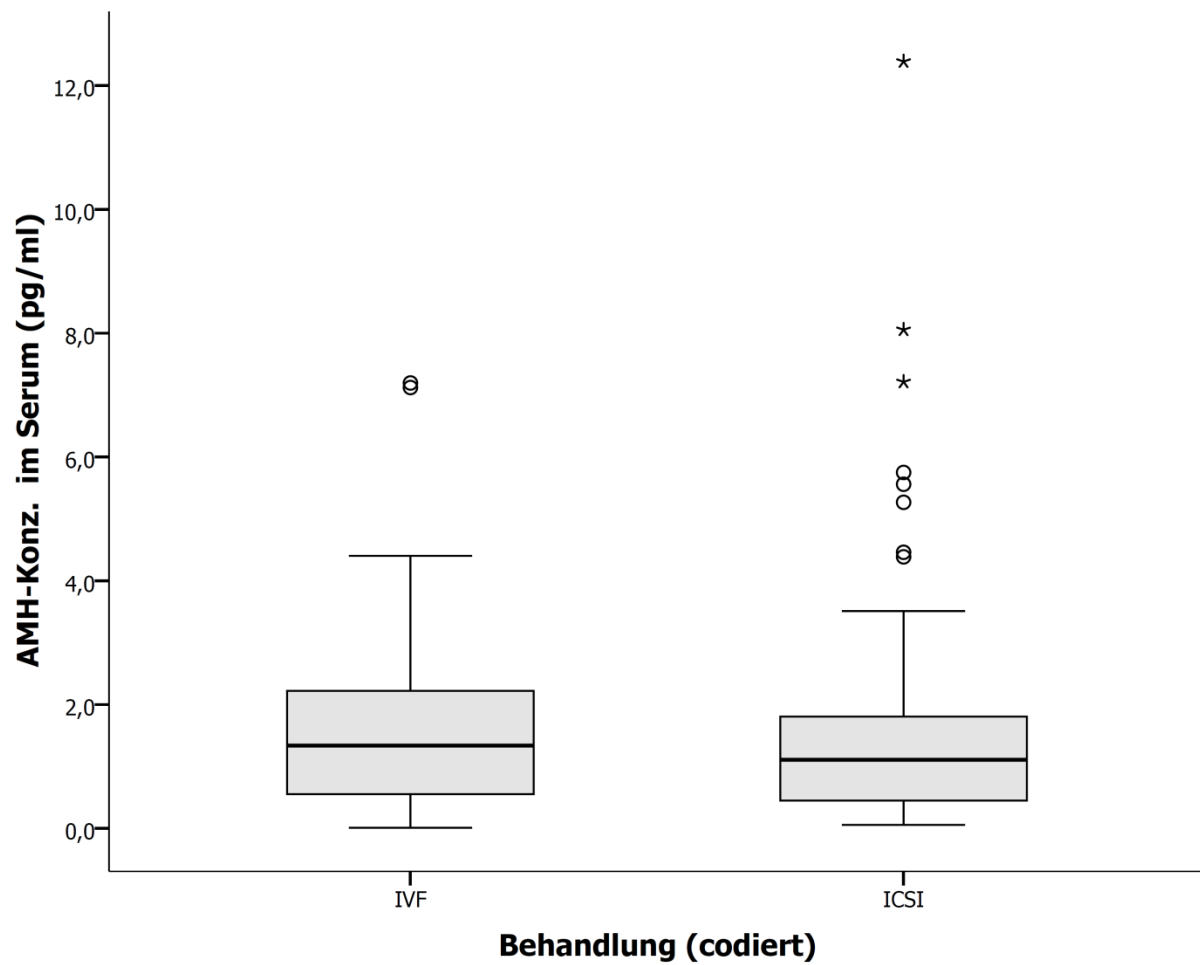


Abbildung 11: Korrelation zwischen der AMH-Konzentration im Serum und der Art der Behandlung; IVF (1,33pg/ml), ICSI (1,1pg/ml), p-Wert 0,56



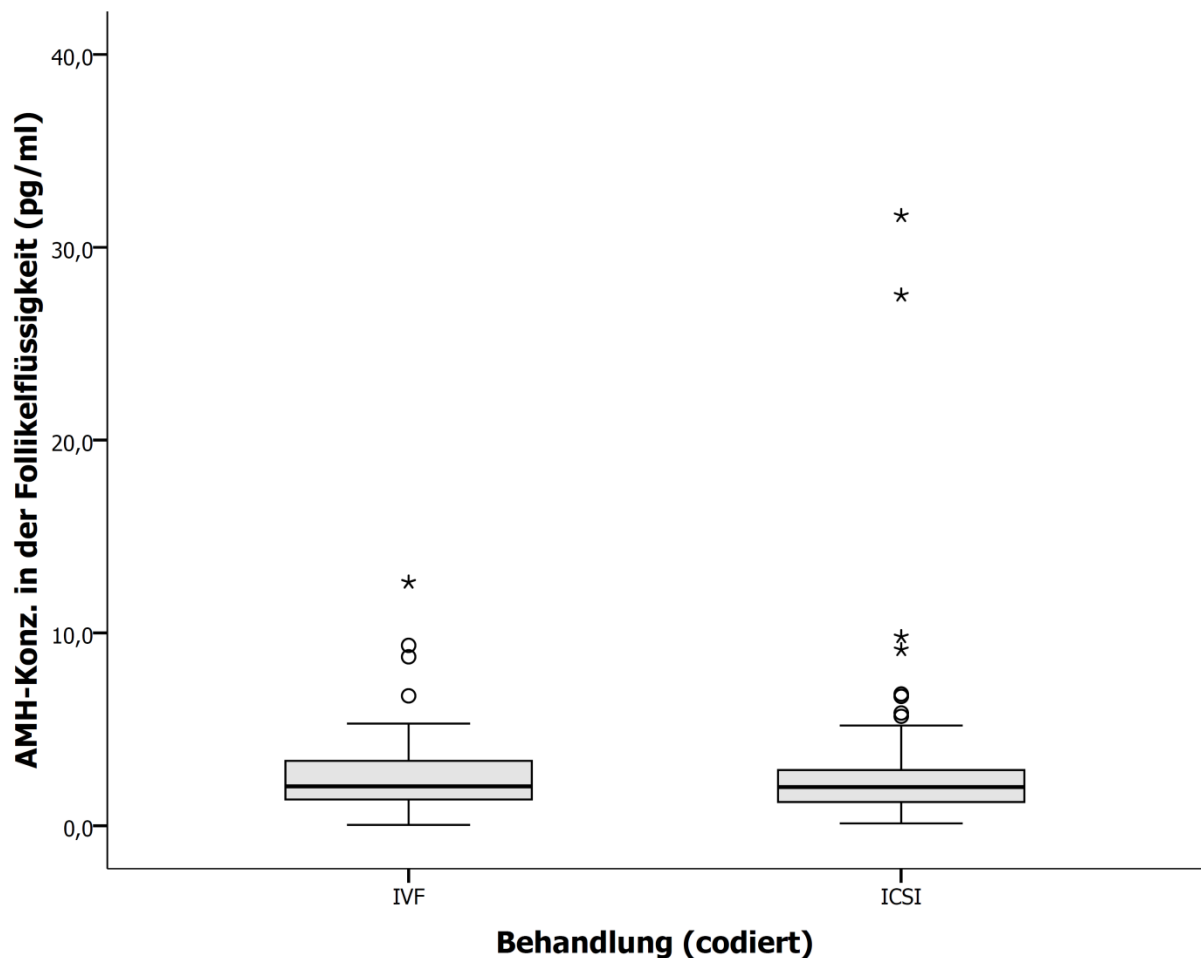


Abbildung 12: Korrelation zwischen der AMH-Konzentration in der Follikelflüssigkeit und der Art der Behandlung; IVF (2,04pg/ml), ICSI (2,01pg/ml), p-Wert 0,767

### 3.6 Korrelation von AMH mit der Hormongabe

Zur Stimulation der Follikelproduktion wird den Frauen ein (bzw. zwei) Hormon verabreicht. Abbildung 13 zeigt den Einfluss der unterschiedlichen Hormonsubstitutionen auf die AMH-Konzentration im Serum.

Die AMH-Konzentration im Serum ist bei den Frauen, die ausschließlich FSH verabreicht bekommen, mit 1,24pg/ml im Median am höchsten. Bei hMG ist die AMH-Konzentration etwas niedriger mit 0,99pg/ml im Median. Der Medianwert von beiden gemeinsam verabreichten Hormonen liegt bei 0,54pg/ml. Der p-Wert ist mit 0,049 signifikant.

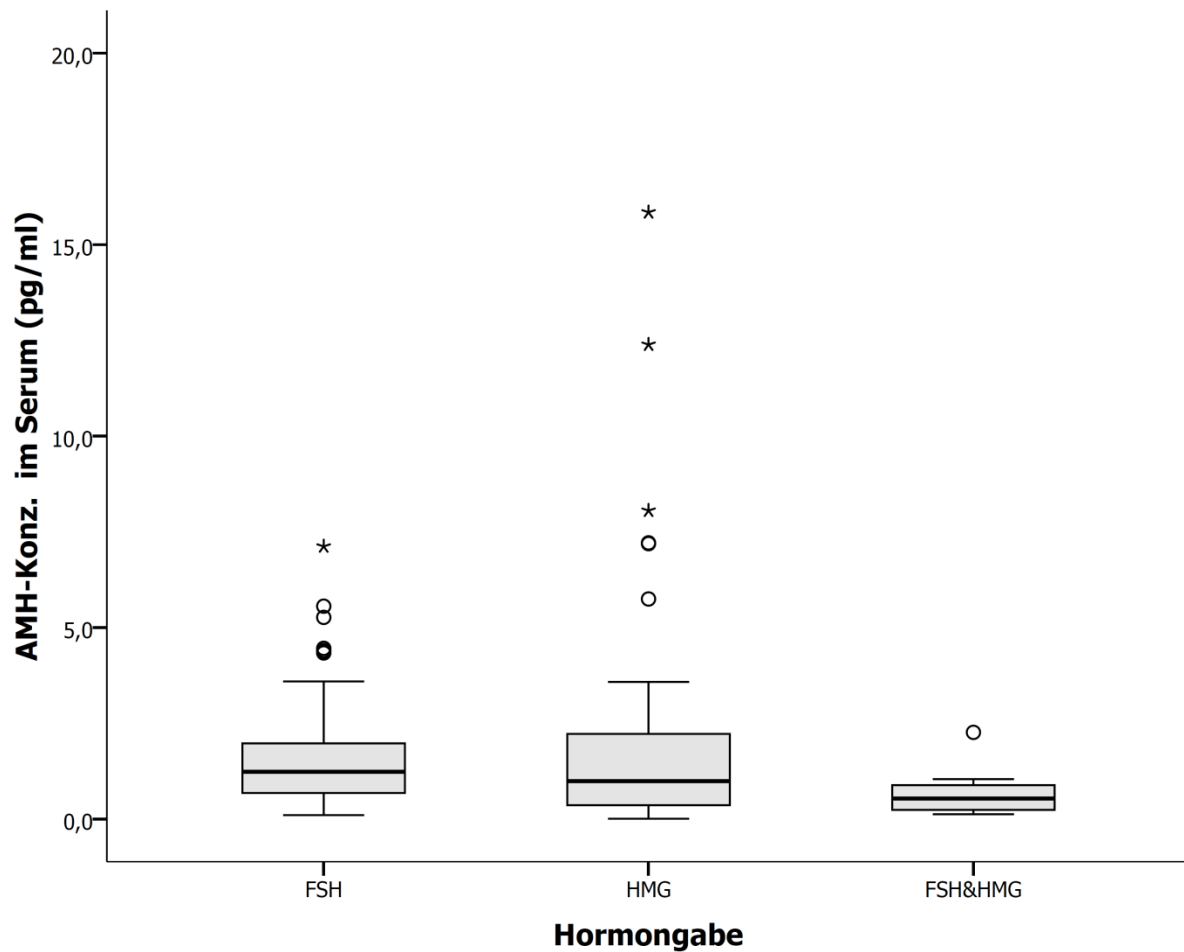


Abbildung 13: Korrelation zwischen der AMH-Konzentration im Serum und der Hormongabe; FSH (1,24pg/ml), hMG (0,99pg/ml), FSH&hMG (0,54pg/ml), p-Wert 0,049 (Ergebnisse sind untereinander unterschiedlich signifikant)

In Abbildung 14 wird die Hormongabe mit der AMH-Konzentration der Follikelflüssigkeit dargestellt. Wiederum ist die Konzentration von AMH in der Follikelflüssigkeit höher als im Serum.

Bei FSH liegt die AMH-Konzentration im Median mit 2,28pg/ml am höchsten, bei hMG ist dieser Wert mit 1,74pg/ml etwas niedriger. Beide Hormone (zusammen verabreicht) zeigen einen Medianwert der AMH-Konzentration von 1,43pg/ml und somit den niedrigsten Wert. Der p-Wert ist mit 0,042 signifikant.

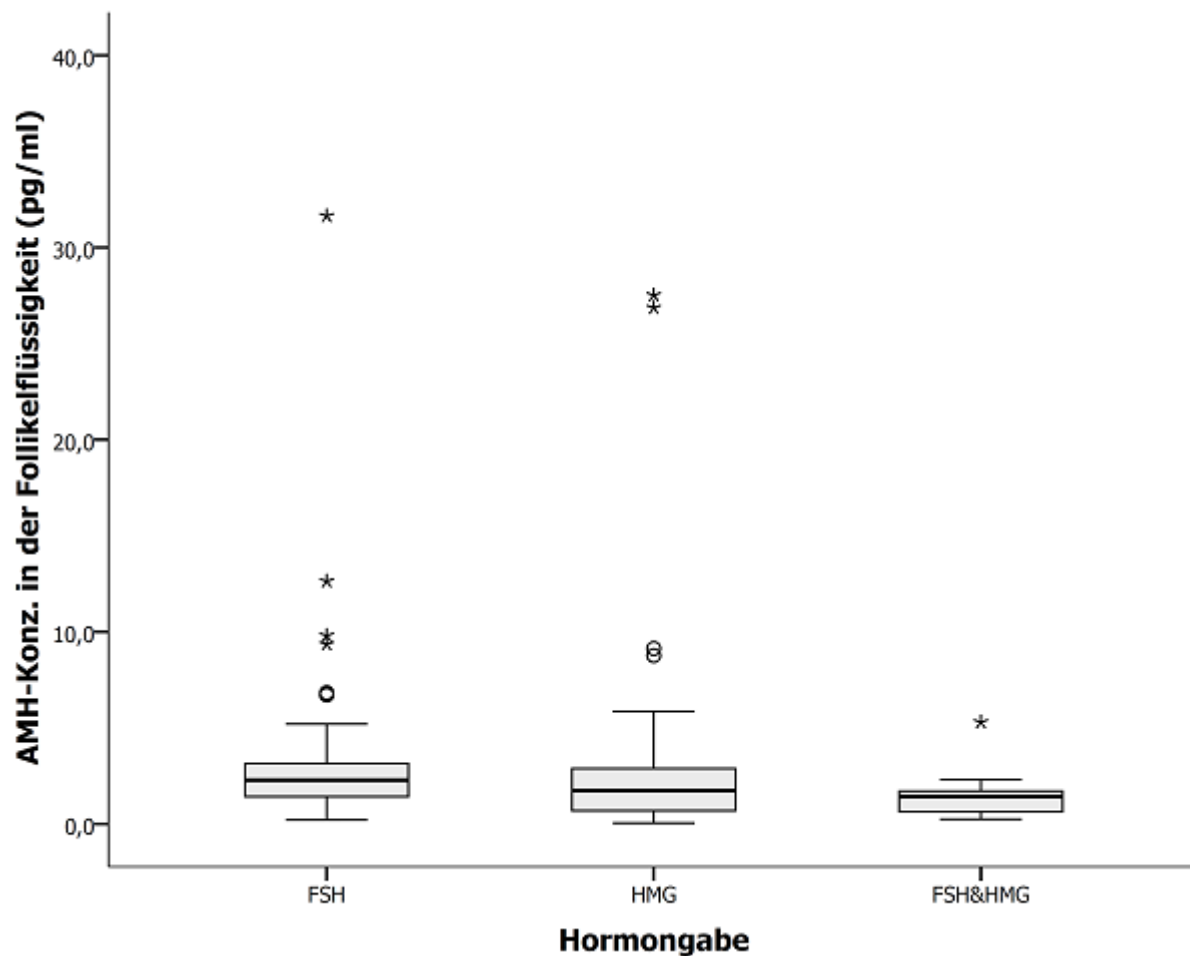


Abbildung 14: Korrelation zwischen der AMH-Konzentration in der Follikelflüssigkeit und der Hormongabe; FSH (2,28pg/ml), hMG (1,74pg/ml), FSH&hMG (1,43pg/ml), p-Wert 0,042 (Ergebnisse sind untereinander unterschiedlich signifikant)

### 3.7 Korrelation von AMH mit dem Vorliegen einer Schwangerschaft

Abbildung 15 und Abbildung 16 zeigen die Korrelation der AMH-Konzentrationen in Serum und in der Follikelflüssigkeit mit dem Ergebnis einer Schwangerschaft.

Mit einem Medianwert von 0,88pg/ml im Serum ist der Wert bei den nicht-schwangeren Patientinnen deutlich niedriger als bei den Patientinnen, die schwanger geworden sind. Hier liegt der Wert mit 1,75pg/ml doppelt so hoch. Der p-Wert ist mit <0,001 signifikant.

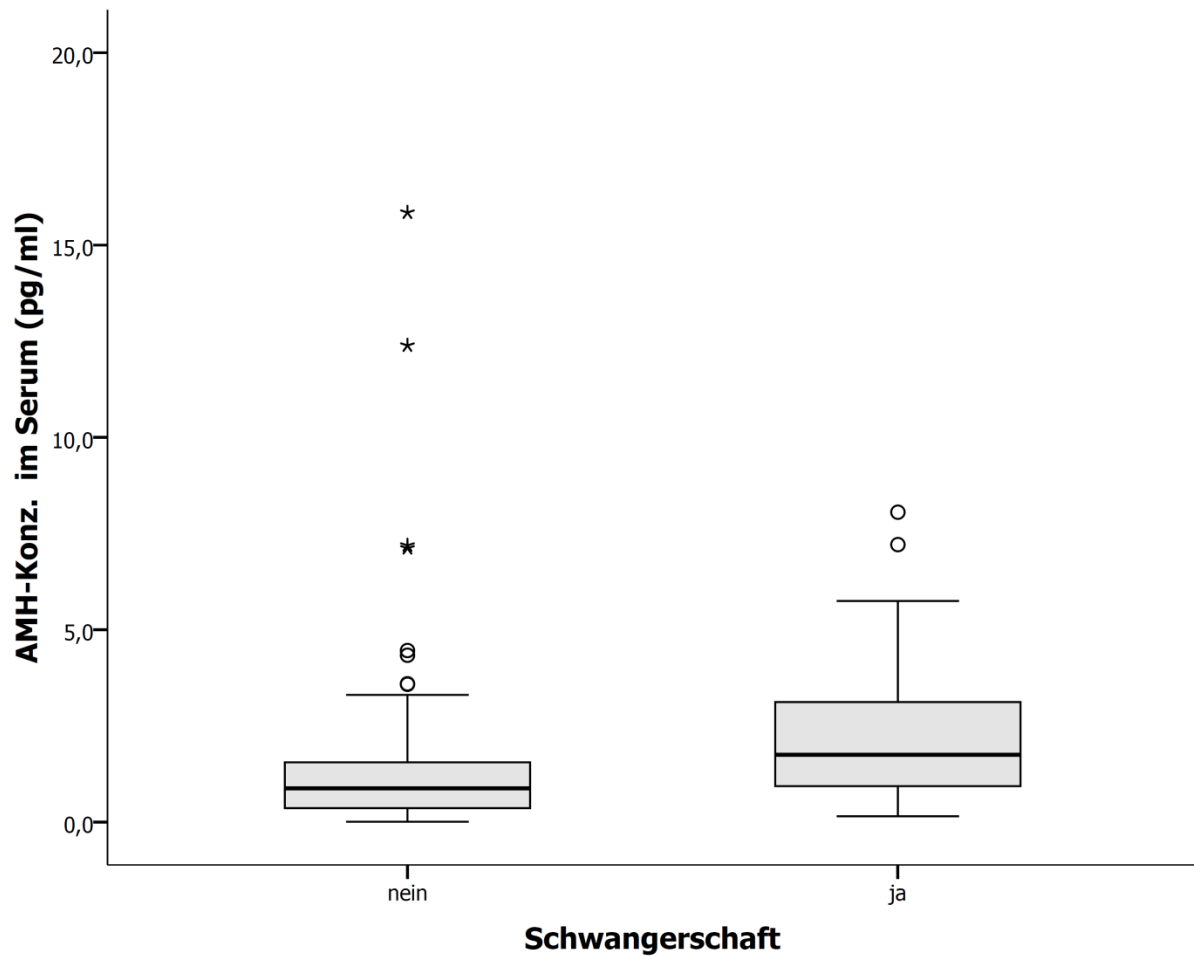


Abbildung 15: Korrelation zwischen der AMH-Konzentration im Serum und dem Vorliegen einer Schwangerschaft; nein (nicht schwanger) (0,88pg/ml), ja (schwanger) (1,75pg/ml), p-Wert <0,001

Dies bestätigt sich auch in der Follikelflüssigkeit (Abbildung 16). Bei den Patientinnen, bei denen keine Schwangerschaft resultiert, liegt die AMH-Konzentration im Median bei 1,71pg/ml. Die Schwangeren zeigen einen wesentlich höheren medianen Wert der AMH-Konzentration von 2,58pg/ml. Der p-Wert liegt hier signifikant bei 0,001.

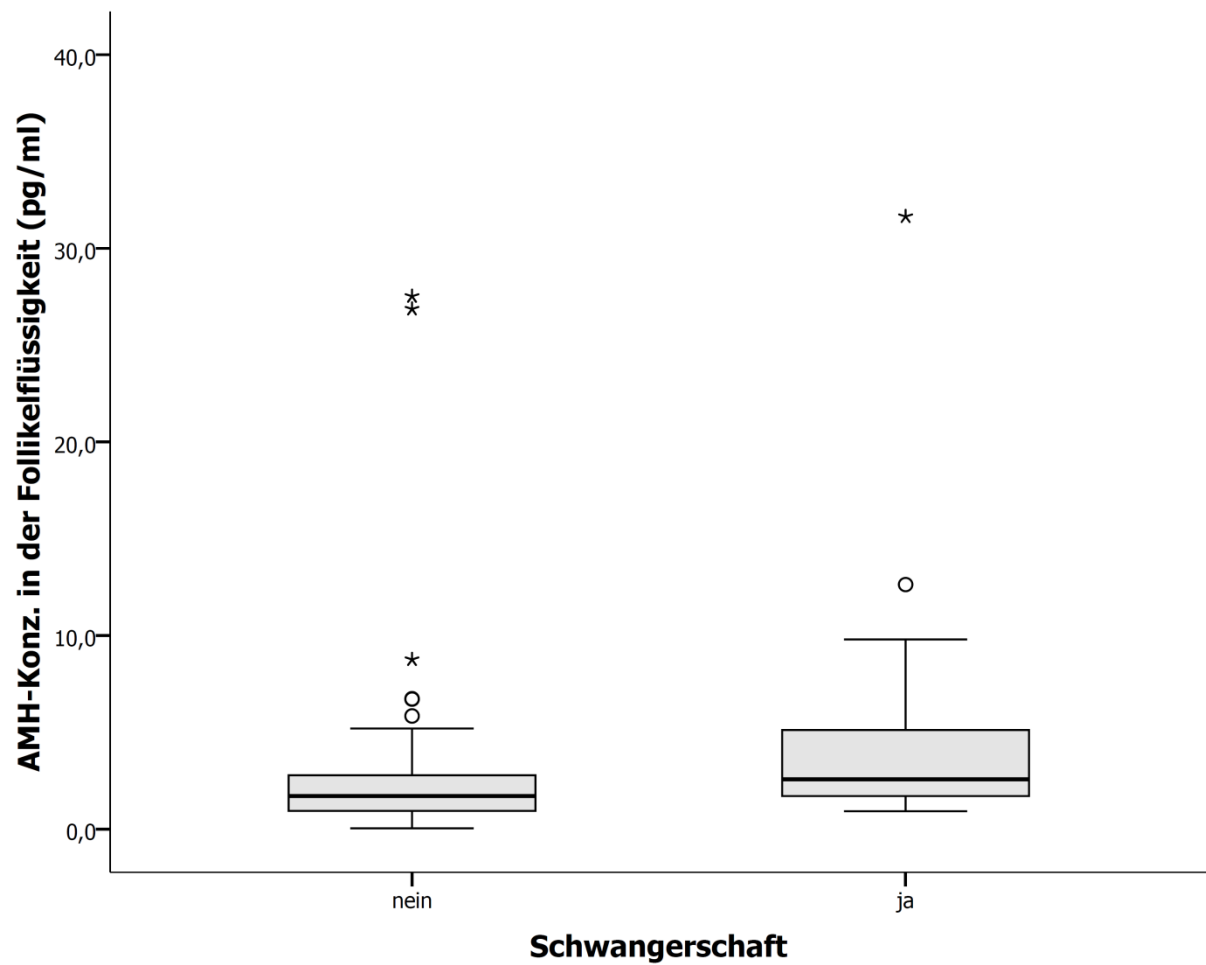


Abbildung 16: Korrelation zwischen der AMH-Konzentration in der Follikelflüssigkeit und dem Vorliegen einer Schwangerschaft; nein (nicht schwanger) (1,71pg/ml), ja (schwanger) (2,58pg/ml), p-Wert 0,001

## 4 DISKUSSION

### 4.1 AMH im Zyklusverlauf

Bei 26 Patientinnen haben wir während der Hormonsubstitution im Rahmen der IVF-Behandlung begleitend zu den Kontrollabnahmen von Östradiol und Progesteron auch den AMH-Wert im Serum bestimmt.

In anderen Studien wurde bereits die Dynamik der Serum-AMH-Konzentration unter der Hormonsubstitution dargestellt. Sie bestätigten das Konzept, dass AMH von Präantral- und Antralfollikeln in der frühen Phase der Stimulation gebildet wird und die Menge an AMH sinkt, wenn diese Follikel zu dominanten Follikeln rekrutiert werden (Fanchin, 2003; Böttcher, 2014).

Die AMH-Konzentration im Serum verändert sich auch bei unserem Patientenkollektiv im Rahmen der IVF- oder ICSI-Behandlung unter den verabreichten Hormonen. In der rein deskriptiven Statistik sinkt die AMH-Konzentration ab einem Wert von 4,67pg/ml bis zum Zeitpunkt der Follikelpunktion auf einen Wert von 1,68pg/ml und steigt nach Absetzen der Hormone in einem Zeitraum von vier Wochen wieder auf einen Wert von 4,53pg/ml an.

Diese Schwankungen lassen sich auch in den jeweiligen Kurven erkennen, in denen zwischen Patientinnen unterschieden wird, bei denen sich eine Schwangerschaft ergab oder nicht. Diese beiden Kurven unterscheiden sich deutlich ablesbar in der Höhe der AMH-Konzentration voneinander. Die parabelförmige Kurvendynamik als solche aber bleibt bestehen.

Die Patientinnen, die schwanger wurden, zeigen einen hohen medianen AMH-Ausgangswert von 9,30pg/ml im Serum und zudem einen raschen Abfall dieses Wertes auf 2,55pg/ml bis zum Tag der hCG-Injektion. Vier Wochen nach Embryotransfer ist der AMH-Wert auf die Hälfte des Ausgangswertes (4,55pg/ml) angestiegen. Im Gegensatz zu den Frauen, die schwanger wurden, liegt der Ausgangswert vom Serum-AMH-Wert bei den Frauen, bei denen es zu keiner Schwangerschaft kam, deskriptiv niedriger (4,67pg/ml) und ist bereits am Stimulationstag 4-6 auf einem niedrigen Wert von 1,94pg/ml. Der tiefste Medianwert der AMH-Konzentration liegt am Tag der Follikelpunktion bei 1,12pg/ml und steigt

dann drei Wochen nach dem Embryotransfer wieder auf einen Wert von 2,05pg/ml an.

Die Ergebnisse unserer Studie weisen darauf hin, dass während des Stimulationszeitraums bei beiden Patientengruppen parallel zur Verringerung der Antralfollikel und dem Ansteigen der Anzahl an großen Follikel eine wesentliche Abnahme des peripheren AMH-Wertes auftritt. Dieses zeigt, dass AMH während der Stimulation von Antralfollikel gebildet wird.

Es sind verschiedene Faktoren der physiologischen Mechanismen für die Abnahme des AMH-Wertes beschrieben. Die verfügbaren Literaturdaten in Bezug auf den Einfluss von FSH auf die AMH-Synthese sind widersprüchlich. Nur die letzten zwei Wochen vor Ovulation sind direkt von Gonadotropinen abhängig. Solange nicht eine bestimmte Grenze für FSH überschritten wird, sind die Follikel in dem Zeitraum auf Apoptose programmiert. (Fauser, 1997). So wurde vermutet, dass FSH die AMH mRNA-Expression hemmt (Kuroda, 1990). Andere hingegen vermuteten, AMH wiederum könne die FSH-induzierte Follikelreifung beeinträchtigen (Durlinger, 2001) oder aber auch unterstützen (McGee 2001).

Es ist bekannt, dass der AMH-Wert eine Aussagekraft bezüglich der ovariellen Fähigkeit der Reaktion auf eine hormonelle Stimulation hat. Die unterschiedliche Höhe und Abnahme der AMH-Werte bei Frauen, die schwanger wurden und Frauen, die nicht schwanger wurden lassen aber weiter die Vermutung zu, dass das exogen zugeführte FSH direkt auf die AMH-Synthese wirkt. Die Frauen, die schwanger wurden, scheinen besser auf das verabreichte FSH reagiert zu haben als die Frauen, die nicht schwanger wurden. Diese Differenzierung wird in der derzeitigen Literatur bisher nicht geschildert. Unsere Beobachtung die AMH-Werte unter Stimulation zu messen und deutliche Unterschiede zwischen den Patientengruppen herauszustellen öffnen neue Perspektiven in der Einschätzung der ovariellen Funktion von Frauen, die sich einer hormonellen Stimulation unterziehen.

#### **4.2 AMH in Follikelflüssigkeit und Serum**

Wir haben in dieser Arbeit bei 124 Patientinnen die AMH-Konzentrationen in Follikelflüssigkeit und Serum am Tag der Follikelpunktion im Rahmen einer IVF oder ICSI-Behandlung bestimmt.

Eine ähnliche Studie mit 37 Patientinnen zeigte für AMH im Serum einen Cut-off Wert von 1,64ng/ml und für AMH in der Follikelflüssigkeit 3,8ng/ml (Capkin, 2012). Wir haben einen Cut-off-Wert von 1,8pg/ml AMH im Serum und 2,3pg/ml in der Follikelflüssigkeit feststellen können. Das Quotenverhältnis zeigt bei einem AMH-Wert von über 1,8pg/ml im Serum eine 4,6fach, und bei einem AMH-Wert von über 2,3pg/ml in der Follikelflüssigkeit eine 2,67fach höhere Schwangerschaftswahrscheinlichkeit.

Die AMH-Konzentrationen von Follikelflüssigkeit und Serum sind, wie schon in genannter Studie beschrieben, auch in unseren Untersuchungen positiv mit der Schwangerschaftsrate korreliert.

### **4.3 Vergleich der AMH-Konzentrationen**

Bei 124 Patientinnen wurden die AMH-Konzentration in Follikelflüssigkeit und Serum am Tag der Follikelpunktion gemessen und mit der Eizellzahl, dem Grad des OHS-Syndroms, der Sterilitätsbehandlung, der Hormongabe und dem Vorliegen einer Schwangerschaft verglichen.

#### **4.3.1 Eizellzahl**

Die Anzahl der Eizellen korreliert positiv mit der AMH-Konzentration, sowohl im Serum, als auch in der Follikelflüssigkeit. Je höher die AMH-Konzentration ist, umso mehr Eizellen wurden gewonnen. Im Serum liegt der AMH-Wert bei 0,42pg/ml bei unter 6 gewonnenen Eizellen und ist bei über 15 gewonnenen Eizellen auf circa das Dreifache (1,64pg/ml) angestiegen. In der Follikelflüssigkeit liegen diese Werte bei 1,42pg/ml, bzw. 2,54pg/ml. Eine andere Studie maß die AMH-Werte vor und nach laparoskopischer Ovarrektomie. Hier ließ sich ein signifikanter Abfall der AMH-Werte nachweisen (Jang, 2014).

Wir haben in unserer Arbeit bei der Fragestellung nach der Korrelation von Eizellzahl mit AMH nicht zwischen PCO-erkrankten und gesunden Frauen unterschieden. So ist davon auszugehen, dass der erhöhte AMH-Wert mit der erhöhten Oozytenzahl bei der PCO-Erkrankung einhergeht.

Auch haben wir die Fragestellung nicht hinsichtlich der Qualität der gewonnenen Eizellen ausgewertet. So soll ein AMH-Wert zwischen 1,66ng/ml und 4,52ng/ml mit



qualitativ hochwertigen Oozyten (Ebner, 2006) und morphologisch guten Embryos (Silberstein, 2006) assoziiert sein. Dabei korreliert der AMH-Wert der Follikelflüssigkeit invers mit der Entwicklungsfähigkeit der Oozyten. In einer Studie wurde dies mit dem Verhältnis Oozytenanzahl/AMH-Wert und Metaphase-II-Oozytenanzahl/AMH-Wert nachgewiesen. Je höher der Wert lag, umso besser war die Chance auf eine Schwangerschaft (Cupisti, 2007).

Zudem haben wir nachgewiesen, dass AMH im Zyklusverlauf der Stimulation abnimmt. Frauen, die schwanger wurden, haben dabei grundsätzlich einen höheren AMH-Wert, auch am Tag der Follikelpunktion, als Frauen, die nicht schwanger wurden.

#### **4.3.2 Grad des OHSS/PCO**

Die AMH-Konzentrationen im Serum sowie in der Follikelflüssigkeit konnten mit p-Werten von 0,744 und 0,62 leider keinen Zusammenhang mit der Erkrankungsschwere des OHSS beweisen. Die Datenqualität scheint aufgrund der erheblichen physiologischen Schwankungen in diesem Patientenkollektiv beeinträchtigt.

Frauen ohne PCO oder OHSS haben eine niedrigere AMH-Konzentration im Serum (Medianwert 0,90pg/ml) und in der Follikelflüssigkeit (Medianwert 1,77pg/ml), als Frauen mit OHSS des Grades 1 oder 2. Hier liegen die Werte im Serum bei 1,65pg/ml bzw. 1,51pg/ml und in der Follikelflüssigkeit bei 2,42pg/ml bzw. 2,72pg/ml. In anderen Studien wird ein signifikanter Zusammenhang von AMH mit PCO beschrieben. Der AMH-Wert zur Diagnose und Beurteilung eines PCOs sei sowohl sensitiver, als auch spezifischer als die bisher übliche alleinige Messung der Anzahl von Follikeln im Ovar. Bei der PCO-Erkrankung sind antrale Follikel von 1-6mm Größe vermehrt und das Volumen des Ovars vergrößert. Die größere Anzahl an antralen Follikeln korreliert positiv mit einem höheren Serum-AMH-Wert (Leonhardt, 2014). Der Schwellenwert soll hier bei 5ng/ml für die AMH-Konzentration im Serum liegen (Dewailly, 2011). Bei Frauen mit PCO-Syndrom hat die Gabe von 35mg Ethynylestradiol und 2mg Cyproterone acetate die Spiegel von Gonadotropinen und Testosteronen, die Anzahl von kleinen Follikeln und somit auch die Höhe des AMH-Spiegels signifikant reduziert (Panidis, 2011). AMH scheint eine große Rolle zur Anovulation bei PCO beizutragen (Pellatt, 2010). Auch korreliert AMH mit der

Insulinresistenz und der Hyperandrogenämie und könnte auch als kardiovaskulärer Risikofaktor gesehen werden (Skalba, 2011).

AMH gilt somit in der Literatur als ein hochspezifischer und sensitiver Surrogat-Marker für die Schwere eines PCOs. Die Ergebnisse dieser Arbeit können dies jedoch nicht unterstützen.

#### **4.3.3 Sterilitätsbehandlung**

Wir untersuchten, ob die Art der Sterilitätsbehandlung (ICSI oder IVF) einen Einfluss auf die AMH-Konzentration hat. Den Frauen werden bei beiden Verfahren FSH und bzw. oder hMG verabreicht, woraufhin es zu einem Recruitment von Primärfollikeln zu dominanten Follikeln kommt. Die Entscheidung, ob eine Behandlung mit ICSI oder IVF durchgeführt wird, fällt mit der Spermienqualität des Mannes. Es ist also möglich, dass Patientinnen, bei denen eine ICSI-Behandlung indiziert ist, durchaus fertiler sind, als diejenigen, die eine IVF-Behandlung bekommen. Deshalb vermuteten wir, dass die AMH-Konzentration im Serum der Frauen unter der ICSI-Behandlung höher wäre, als die Konzentration von AMH der Frauen unter IVF-Behandlung.

In unserer Studie gibt es keine signifikante Korrelation zwischen der Sterilitätsbehandlung (ICSI/IVF) und der AMH Konzentration im Serum. Der Medianwert der AMH-Konzentration im Serum liegt bei der IVF-Behandlung bei 1,33pg/ml gegenüber 1,1pg/ml bei der ICSI-Behandlung. Gleiches gilt für die Follikelflüssigkeit mit 2,04pg/ml bei IVF und 2,01pg/ml bei ICSI.

#### **4.3.4 Hormongabe**

Wir haben die AMH-Werte von Serum und Follikelflüssigkeit mit den unterschiedlichen Hormonsubstitutionen während eines IVF-, bzw. ICSI-Zyklus miteinander korreliert. Die Frauen, die FSH verabreicht bekamen, haben in beiden Flüssigkeiten einen höheren AMH-Wert (1,24pg/ml im Serum, bzw. 2,28pg/ml in der Follikelflüssigkeit), als Frauen, die hMG bekamen (0,99pg/ml bzw. 1,74pg/ml) oder FSH und hMG (0,54pg/ml im Serum und 1,43pg/ml in der Follikelflüssigkeit).

Vermutlich liegen diese Unterschiede am ehesten in der Therapie der Sterilitätsursache begründet. So ist der derzeitige Stand, dass Frauen mit niedrigem bis normalem FSH-Wert (Hypogonadotropinämie, Normogonadotropinämie) mit hMG behandelt, Frauen aber mit Normogonadotropinämie und/oder PCO-Syndrom mit rekombinatem FSH therapiert werden (von Wolff, 2013).

Wir haben in dieser Studie nicht PCO-erkrankte Frauen von gesunden Frauen unterschieden. Es ist also davon auszugehen, dass die Frauen, die vornehmlich mit FSH behandelt werden, eine PCO-Erkrankung haben und dass dementsprechend auch die AMH-Werte erhöht sind. Dieses bedarf einer weiteren Studie.

Eine neue Studie von Arce (2014) untersuchte den Einfluss der verabreichten Gonadotropine auf Patientinnen, die mit einem AMH-Wert über der 75. Perzentile als High-Responder gelten. Hier zeigte sich, dass eine Stimulation mit hMG ein signifikant geringeres Auftreten an tatsächlichem High-Responding (über 15 gewonnenen Eizellen) verursachte, als die Gabe von FSH. Der tatsächliche Einfluss auf die AMH-Konzentration wurde hier nicht untersucht. Dennoch müsste nach dieser Studie (Arce, 2014) die derzeitige Therapiemethode überdacht werden.

#### **4.3.5 Vorliegen einer Schwangerschaft**

Deutlich ist zu erkennen, dass Patientinnen, die schwanger wurden, sowohl im Serum, als auch in der Follikelflüssigkeit einen erhöhten AMH-Wert aufweisen. Mit 1,75pg/ml im Serum, bzw. 2,58pg/ml in der Follikelflüssigkeit bei den Patientinnen, die schwanger wurden, liegen diese Werte etwa doppelt so hoch, wie bei den nicht-schwangeren Patientinnen (0,88pg/ml im Serum, bzw. 1,71pg/ml in der Follikelflüssigkeit).

In einer anderen Studie lagen die Werte von AMH in der Follikelflüssigkeit mehr als dreimal so hoch. So vermutete man, dass Oozyten leichter befruchtet werden können, wenn die entsprechenden Follikel in der Lage sind, mehr AMH zu produzieren (Takahashi, 2008). Auch in weiteren Studien konnte ein Zusammenhang von einem besseren Ergebnis (im Sinne einer Befruchtung im Rahmen eines IVF-Vorganges) mit höherem AMH-Wert in der Follikelflüssigkeit dargestellt werden (Wunder, 2008b). Demgegenüber steht eine Studie von (Mehta, 2013). Hier stellte sich heraus, dass die Höhe an AMH in der Follikelflüssigkeit invers mit dem Östrogengehalt und einer klinischen Schwangerschaft korreliert. Die Autoren verwiesen hier auf die Follikelreifung, in der die Follikel zunächst steroidunabhängig heranwachsen, aber im frühen Antralfollikelstadium unter FSH-Einfluss beginnen, Östrogen zu produzieren. So bestätigen auch einige Studien, dass eine größere Menge an Östrogen in der Follikelflüssigkeit mit einer höheren Schwangerschaftsrate assoziiert ist. (Kreiner, 1987; Subramanian, 1988; Tarlatzis, 1993; Artini, 1994; Teissier, 2000). AMH hat einen inhibitorischen Effekt auf die Aromataseaktivität und

Östrogenproduktion (Vigier, 1989). Dementsprechend ist es logischer, dass ein geringerer AMH-Wert in der Follikelflüssigkeit von qualitativ besseren Oozyten mit einem erhöhten Östrogenwert und mit einer besseren Schwangerschaftsrate korreliert.

Das lässt vermuten, dass FSH über die Stimulation von Östrogenen auch den inhibitorischen Effekt von AMH beeinflusst, indem es die AMH-Synthese unterdrückt oder die Möglichkeit verringert, dass AMH wirken kann.

FSH als Inhibitor für AMH kann aber nicht nur während der Stimulationsphase bei einer ART wichtig sein. So ist in den letzten Jahren ein mit 30-40% erhöhtes Risiko für Fehlbildungen bei den Kindern, die unter ART entstanden, aufgefallen (Hansen, 2005).

Zu diesen kongenitalen Fehlbildungen gehören unter anderem anorektale Fehlbildungen und Hypospadien (Reefhuis, 2008; Ericson, 2008; Källén, 2005; Midrio, 2006; Zwink, 2012). Die kongenitalen Fehlbildungen sind Entwicklungsstörungen der männlichen oder weiblichen Feten während der Geschlechtsdifferenzierung. Die Ursache dieser Erkrankungen ist noch weitestgehend ungeklärt.

Bei anorektalen Fehlbildungen ist der Mastdarm oder der After nur unzureichend ausgebildet und es besteht häufig eine Fistel zu den Sexualorganen oder Harnwegen.

Die Hypospadie ist eine Entwicklungsstörung der Urethra gegen Ende des dritten Schwangerschaftsmonats. Die Entwicklung der Sexualorgane steht in enger Verbindung mit der Entwicklung der Harnorgane. Bei den Kindern mit einer Hypospadie ist ein erniedrigtes AMH zum Zeitpunkt der Geburt auch verantwortlich für eine Hoden-Fehlfunktion (Guibourdenche, 2003).

Eine weitere Erkrankung im Zusammenhang mit AMH ist das Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser-Syndrom (MRKHS). Bei dieser, die weiblichen Lebendgeborenen betreffenden, Erkrankung fehlen Uterus, Zervix und Vagina, welche aus dem Müller-Gang entstehen. Auch hier ist die Ursache der Erkrankung noch nicht geklärt. Man vermutete zunächst eine Überexpression des AMH-Genes, was direkt mit einem Abbau der Müller-Gänge einherginge. Dies aber konnte ausgeschlossen werden (Oppelt, 2005).

Ein kausaler Zusammenhang zwischen den AMH-Werten der Mutter und einer Maldeformation während der Geschlechtsentwicklung des Kindes im Zusammenhang mit ART konnte noch nicht festgestellt werden. Ob eine Frau mit niedrigem AMH-Wert ein höheres Risiko dafür trägt, dass ihr Kind mit einer solchen Fehlbildung zur Welt kommt, scheint aber in diesem Hinblick eine interessante These zu sein und bedarf weiterer Untersuchungen.

## 5 ZUSAMMENFASSUNG

Einleitung: AMH ist ein Zytokin und gehört zu den TGF- $\beta$ . So ist AMH in der Embryonalphase verantwortlich für die Geschlechtsentwicklung und -differenzierung zunächst nur zum männlichen Geschlecht. Bei einem weiblichen Kind steigt die Produktion von AMH in der Pubertät an. Es wird im Ovar von Granulosazellen von Sekundärfollikeln, präantralen und kleinen Antralfollikeln unter vier Millimeter im Durchmesser produziert. Neben basalem FSH und dem antralen Follikelcount wird AMH deshalb als Marker für die „ovarielle Funktionsreserve“, also als Anhalt zur Abschätzung der Größe des vorhandenen Follikelpools, genommen. Über Reduzierung der Sensitivität auf FSH und folgend auf die Primordialfollikel-Rekrutierung nimmt AMH eine hemmende Rolle in der Oogenese ein. AMH gilt in der Reproduktionsmedizin weiterhin als wichtigster Marker für eine „poor“ oder „non-response Stimulation“. Zur Prognose für die Reaktion des Eierstocks auf die Stimulation und die Erfolgsaussicht für eine Schwangerschaft ist AMH aber nur bedingt aussagekräftig, da nicht allein die ovarielle Reserve an Follikeln den Ausgang einer IVF-Behandlung oder die Reproduktionsfähigkeit der Frau bestimmen. Die AMH-Werte aus bisherigen Studien beziehen sich jedoch auf einmalige Abnahmen oder auf einen Monatszyklus ohne Hormongabe. In dieser Arbeit werden nun Frauen unter Hormongabe im Rahmen einer IVF oder ICSI-Behandlung untersucht. Das Ziel dieser Arbeit ist zum einen die Untersuchung, ob der AMH-Wert in den unterschiedlichen Phasen des Zyklus unter Hormongabe schwankt. Zum anderen soll ermittelt werden, ob es einen Unterschied zwischen den AMH-Werten von Schwangeren und nicht-schwangeren Patientinnen während des Zyklus unter Hormongabe gibt. Zuletzt soll überprüft werden, ob AMH als Prognosekriterium bezüglich einer Schwangerschaft gelten kann.

Material und Methoden: AMH wurde bei 26 Patientinnen während der Stimulationsphase in einem Zyklus neben den Östradiol-, FSH- und Progesteronwerten bestimmt. Diese Abnahmen erfolgten zunächst alle drei Tage, dann zum Tag der hCG-Injektion, zum Tag der Follikelpunktion, zum Tag des Embryotransfers und weiter in wöchentlichen Abständen bis vier Wochen nach dem Embryotransfer. Weiterhin wurde der AMH-Wert in Blut und Follikelflüssigkeit bei 124

Patientinnen am Tage der Follikelpunktion gemessen. Das Alter der Patientinnen betrug zwischen 26 und 45 Jahren (im Durchschnitt 35,28 Jahre). Die AMH-Messung erfolgte mittels Elisa-Methode in Sandwich-Technik. Die AMH-Konzentrationen der Patientinnen wurden mittels Häufigkeitsverteilungen ausgewählter Variablen und deskriptiven Maßzahlen charakterisiert.

Ergebnisse: Während des Zyklusverlaufes unter Hormongabe lag die AMH-Konzentration zu Beginn der Stimulationsphase durchschnittlich bei 4,67pg/ml, sank auf 1,68pg/ml zum Zeitpunkt der FP und stieg nach Absetzen der Hormone auf 4,53pg/ml. Bei den Patientinnen, die schwanger wurden, lag der AMH-Wert zu Beginn im Mittel bei 9,30pg/ml, sank auf 2,55pg/ml am Tag der hCG-Injektion und stieg auf 4,55pg/ml vier Wochen später. Bei den Patientinnen, die nicht schwanger wurden, lag der AMH-Wert zu Beginn durchschnittlich bei 4,67pg/ml, sank auf 1,12 pg/ml und stieg nach Absetzen der Hormone auf 2,05pg/ml. Der Cut-off-Wert für Schwangerschaft zum Zeitpunkt der FP mit 1,8pg/ml AMH im Serum und 2,3pg/ml in der FF war signifikant. Die Korrelation von Eizellzahlen und AMH war signifikant. Zum Beispiel wurden bei mehr als 15 Eizellen 1,64pg/ml im Serum und 2,54pg/ml in der FF gemessen. Der Zusammenhang von PCO oder OHSS mit dem AMH-Wert im Serum und in der FF war ohne Signifikanz. Ebenso gab es keine Signifikanz in der Korrelation von AMH-Werten mit den unterschiedlichen Behandlungen (IVF oder ICSI). Die Korrelation von der Art der Hormongabe und AMH war signifikant im Serum (p-Wert 0,049) und in der FF (p-Wert 0,042): bei FSH-Gabe lag der AMH-Wert im Serum durchschnittlich bei 1,24pg/ml und in der FF bei 2,28pg/ml. Bei hMG-Gabe waren die Werte bei 0,99pg/ml im Serum und 1,74pg/ml in der FF. Bei der kombinierten Gabe von FSH und hMG ist 0,53pg/ml im Serum und 1,43pg/ml in der FF gemessen worden. Eine Schwangerschaft korreliert signifikant mit dem AMH-Wert im Serum (p-Wert 0,000) und in der FF (p-Wert 0,001). Schwangere Patientinnen haben durchschnittlich einen AMH-Wert von 1,75pg/ml im Serum und von 2,58pg/ml in der FF. Bei nicht-schwangeren Patientinnen lag der AMH-Wert im Serum bei 0,88pg/ml und in der FF bei 1,71pg/ml.

Schlussfolgerung: In dieser Arbeit konnte eine Veränderung des AMH-Wertes während eines Zyklus unter Hormonsubstitution beschrieben werden. Die Werte der Patientinnen, die schwanger wurden, zeigten einen extremeren Kurvenverlauf über einen Zyklus mit dem niedrigsten Wert am Tag der Follikelpunktion. Die

Veränderungen der Werte der Patientinnen, die in einem Zyklus unter Hormongabe nicht schwanger wurden, waren im Durchschnitt geringer. Die Anzahl der Eizellen korrelierten positiv mit der AMH-Konzentration. Die AMH-Konzentrationen im Serum sowie in der FF zeigten keinen signifikanten Zusammenhang mit der Erkrankungsschwere des OHSS. Die Sterilitätsbehandlung mit IVF oder ICSI hatte ebenso keine signifikante Korrelation mit der AMH-Konzentration. Jedoch zeigte sich ein Unterschied bei der hormonellen Therapie. Eine Gabe von FSH korrelierte hier mit erhöhten AMH-Werten gegenüber den anderen Behandlungsmethoden. Dies scheint am ehesten in der unterschiedlichen Behandlung der Frauen je nach ovarieller Reserve begründet. Die AMH-Konzentrationen von FF und Serum korrelierten deutlich positiv mit der Schwangerschaftsrate. AMH, abgenommen am Tag der Follikelpunktion, kann zusammenfassend als Prognosekriterium zur Einschätzung der Schwangerschaftswahrscheinlichkeit herangezogen werden. Dass einige Korrelationen trotz großer Datenmenge keine signifikanten Unterschiede zeigten, könnte daran liegen, dass die physiologische Schwankungsbreite erheblich ist.



## 6 LITERATUR

- Al-Azemi, M;** Killick, S. R.; Duffy, S.; Pye, C.; Refaat, B.; Hill, N.; Ledger, W. (2011) „Multi-marker assessment of ovarian reserve predicts oocyte yield after ovulation induction.“ *Hum Reprod.* 2011 Feb;26(2):414-22. doi: 10.1093/humrep/deq339. Epub 2010
- Al-Qahtani, A.;** Groome, N. (2006) „Anti-Müllerian hormone: Cinderella finds new admirers.“ *J Clin Endocrinol Metab* 2006 Oct;91:3760-3762
- Andersen, C.;** Byskow, A. (2006) „Estradiol and regulation of anti-Müllerian hormone, inhibin-A and inhibin-B secretion: analysis of small antrall and preovulatory human follicles´ fluid“ *Clin Endocrin Metab* 2006 Oct;91:4064-4069
- Antonelli-Orlidge, A.;** Saunders, K.; Smith, S.; D`Amore, P. (1989) „An activated form of transforming growth factor- $\beta$  is produced by coculture of endothelial cells and pericytes“ *Cell Biology, Proc Natl Acad Sci USA.* 1989 Jun; 86 pp 4544-8
- Arce, J. C.;** Klein, B. M.; La Marca, A. (2014) „The rate of high ovarian response in women identified at risk by a high serum AMH level is influenced by the type of gonadotropin.“ *Gynecol Endocrinol.* Jun;30(6):444-50. doi: 10.3109/09513590.2014.892066. Epub 2014 Feb 27
- Artini, P. G.;** Battaglia, C.; D'Ambrogio, G.; Barreca, A.; Droghini, F.; Volpe, A.; Genazzani, A. R. (1994) „Relationship between human oocyte maturity, fertilization and follicular fluid growth factors.“ *Hum Reprod.* 1994 May;9:902–6
- Baarends, W. M.;** Uilenbroek, J. T.; Kramer, P.; Hoogerbrugge, J. W.; van Leeuwen, E. C.; Themmen, A. P.; Grootegoed, J. A. (1995) „Anti-müllerian hormone and anti-müllerian hormone type II receptor messenger ribonucleic acid expression in rat ovaries during postnatal development, the estrous cycle, and gonadotropin-induced follicle growth.“ *Endocrinology.* 1995 Nov;136(11):4951-62.
- Balen, A.** (2002) „Is there a risk of prion disease after the administration of urinary-derived gonadotrophins?“ *Hum Reprod.* 2002 Jul;17 (7): 1676-1680
- Baltzer, J.;** Friese, K.; Graf, M.; Wolff, F. (2004) aus „Praxis der Gynäkologie und Geburtshilfe: Das komplette Praxiswissen in einem Band“, Seite 394
- Bentzen, J. G.;** Forman, J. L.; Pinborg, A.; Lidegaard, Ø.; Larsen, E. C.; Friis-Hansen, L.; Johannsen, T. H.; Nyboe Andersen, A. (2012) „Ovarian reserve

parameters: a comparison between users and non-users of hormonal contraception.“  
Reprod Biomed Online. Dec;25(6):612-9. doi: 10.1016/j.rbmo.2012.09.001. Epub  
2012 Sep 16.

**Böttcher, B.;** Tsybulyak, I.; Grubinger, T.; Wildt, L.; Seeber, B. (2014) „Dynamics of anti-Müllerian hormone during controlled ovarian stimulation.“ *Gynecol Endocrinol*. 2014 Feb;30(2):121-5. doi: 10.3109/09513590.2013.860124. Epub 2013 Dec 6

**Broekmans, F. J.;** Kwee, J.; Hendriks, D. J. (2006) „A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome.“ *Hum Reprod Update*. 2006 Nov-Dec;12(6):685-718

**Capkın, S.;** Ozyer, S.; Karayalçın, R.; Moraloğlu, O.; Ozcan, S.; Uğur, M. (2012) „Serum and follicular fluid Anti-Mullerian hormone concentrations at the time of follicle puncture and reproductive outcome.“ *J Turk Ger Gynecol Assoc*. 2012 Mar 1;13(1):21-6. doi: 10.5152/jtgga.2011.71. eCollection 2012

**Carlsson, I.;** Scott, J.; Visser, J.; Ritvos, O.; Themmen, A. P.; Hovatta, O. (2006) „Anti-Müllerian hormone inhibits initiation of growth of human primordial ovarian follicles in vitro“ *Hum Reprod*. 2006 Sep;21(9):2223-7. Epub 2006 May 23

**Cate, R. L.;** Mattaliano, R. J.; Hession, C.; Tizard, R.; Chow, E. P. et al. (1986) „Isolation of the bovine and human genes for Müllerian inhibiting substance and expression of the human gene in animal cells.“ *Cell*. 1986 Jun 6;45(5):685-98

**Chin, T.;** Parry, R. L.; Donahoe, P. K. (1991) „Human müllerian inhibiting substance inhibits tumor growth in vitro and in vivo.“ *Cancer Res*. 1991 Apr 15;51(8):2101-6

**Cohen-Haguenuer, O.;** Picard, J.; Mattéi, M.; Serero, S.; Nguyen, V. C.; de Tand, M. F.; Guerrier, D.; Hors-Cayla, M. C.; Josso, N.; Frézal, J. (1987) „Mapping of the gene of the anti-müllerian hormone to the short arm of human chromosome 19“ *Cytogenet Cell Genet*. 1987;44(1):2-6

**Conaghan, J.;** Chen, A. A.; Willman, S. P.; Ivani, K.; Chenette, P. E.; Boostanfar, R.; Baker V. L.; Adamson, G. D.; Abusief, M. E.; Gvakharia, M.; Loewke, K. E.; Shen, S. (2013) „Improving embryo selection using a computer-automated time-lapse image analysis test plus day 3 morphology: results from a prospective multicenter trial.“ *Fertil Steril*. 2013 Aug;100(2):412-9.e5. doi: 10.1016/j.fertnstert.2013.04.021. Epub 2013 May 28

**Cupisti, S.;** Dittrich, R.; Mueller, A.; Strick, R.; Stiegler, E.; Binder, H.; Beckmann, M. W.; Strissel, P. (2007) „Correlations between anti-müllerian hormone, inhibin B, and

activin A in follicular fluid in IVF/ICSI patients for assessing the maturation and developmental potential of oocytes.“ Eur J Med Res. 2007 Dec 14;12:604-608

**De Vet, A.;** Laven, J.; de Jong, F.; Themmen, A.; Fauser, B. (2002) „Antimüllerian hormone serum levels: a putative marker for ovarian aging“ Fertil Steril. 2002 Feb;77(2):357-62

**Dewailly, D.;** Gronier, H.; Poncelet, E.; Robin, G.; Leroy, M.; Pigny, P.; Duhamel, A.; Catteau-Jonard, S. (2011) „Diagnosis of polycystic ovary syndrome (PCOS): revisiting the threshold values of follicle count on ultrasound and of the serum AMH level for the definition of polycystic ovaries.“ Hum Reprod. 2011 Nov;26(11):3123-9. doi: 10.1093/humrep/der297. Epub 2011 Sep 16

**Di Clemente, N.;** Josso, N.; Gouedard, L.; Belleville, C. (2003) „Components of the anti-Müllerian hormone signaling pathway in gonads“ Mol Cell Endocrinol. 2003 Dec 15;211(1-2):9-14

**Donahoe, P. K.;** Swann, D. A.; Hayashi, A.; Sullivan, M. D. (1979) „Müllerian duct regression in the embryo correlated with cytotoxic activity against human ovarian cancer.“ Science. 1979 Aug 31;205(4409):913-5.

**Drews, U.** (2006) „Taschenatlas der Embryologie“ Seite 24, ISBN 3-13-109902-X

**Dubeau, L.** (2008) „The cell of origin of ovarian epithelial tumours.“ Lancet Oncol. 2008 Dec;9(12):1191-7. doi: 10.1016/S1470-2045(08)70308-5.

**Dunfield, L. D.;** Dwyer, E.; Nachtigal, M. (2002) „TGF- $\beta$ -induced SMAD signaling remains intact in primary human ovarian cancer cells.“ Endocrinology. 2002 Apr;143(4):1174-81.

**Durlinger, A.;** Gruijters, M.; Kramer, P.; Karels, B.; Kumar, T. R.; Matzuk, M. M.; Rose, U. M.; de Jong, F. H.; Uilenbroek, J. T.; Grootegoed, J. A.; Themmen, A. P. (2001) „Anti-Müllerian hormone attenuates the effects of FSH on follicle development in the mouse ovary.“ Endocrinology. 2001 Nov;142(11):4891-9

**Ebner, R.;** Chen, R.; Lawler, S.; Zioncheck, T.; Derynck, R. (1993) „Determination of type I receptor specificity by the type II receptor for TGF- $\beta$  or activin“ Science. 1993 Nov 5;262(5135):900-2.

**Ebner, T.;** Sommergruber, M.; Moser, M.; Shebl, O.; Schreier-Lechner, E.; Tews, G. (2006) „Basal level of anti-Müllerian hormone is associated with oocyte quality in stimulated cycles.“ Hum Reprod. 2006 Aug;21(8):2022-6. Epub 2006 May 5.

- Ehrmann, D. A.;** Barnes, R. B.; Rosenfield, R. L.; Cvaghan, M. K.; Imperial, J. (1999) „Prevalence of impaired glucose tolerance and diabetes in women with polycystic ovary syndrome.“ *Diabetes Care*. 1999 Jan;22(1):141-6.
- Ericson, A;** Källén, B. (2001) „Congenital malformations in infants born after IVF: a population-based study.“ *Hum Reprod*. Mar;16(3):504-9.
- Espey, L.** (1994) „Current status of the hypothesis that mammalian ovulation is comparable to an inflammatory reaction.“ *Biol Reprod*. 1994 Feb;50(2):233-8.
- Eyheremendy, V.;** Raffo, F. G.; Papayannis, M.; Barnes, J.; Granados, C.; Blaquier, J. (2010) „Beneficial effect of autologous endometrial cell coculture in patients with repeated implantation failure.“ *Fertil Steril*. 2010 Feb;93(3):769-73. doi: 10.1016/j.fertnstert.2008.10.060. Epub 2009 Feb 26.
- Fanchin, R.;** Schonäuer, L. M.; Righini, C.; Frydman, N.; Frydman, R.; Taieb, J. (2003) „Serum anti-Müllerian hormone dynamics during controlled ovarian hyperstimulation.“ *Hum Reprod*. 2003 Feb;18(2):328-32.
- Fanchin, R.;** Mendez Lozano, D. H.; Frydman, N. (2007) „Anti-Müllerian hormone concentrations in the follicular fluid of the proovulatory follicle are predictive of the implantation potential of the ensuing embryo obtained by in vitro fertilization“ *J Clin Endocrinol Metab*. 2007 May;92(5):1796-802. Epub 2007 Feb 27.
- Fausser, B. C.;** Van Heusden, A. M. (1997) „Manipulation of human ovarian function: physiological concepts and clinical consequences.“ *Endocr Rev*. 1997 Feb;18(1):71-106.
- Freeman, E.;** Gracia, C.; Sammel, M. D., Lin, H.; Lim, L. C.; Strauss, J. F. (2007) „Association of anti-Müllerian hormone levels with obesity in late reproductive age women.“ *Fertil Steril*. 2007 Jan;87(1):101-6. Epub 2006 Nov 15.
- Fuller, A. F.;** Krane, I. M.; Budzik, G. P.; Donahoe, P. K. (1982) „Müllerian inhibiting substance reduction of colony growth of human gynecologic cancers in a stem cell assay.“ *J Clin Endocrinol Metab*. 1982 May;54(5):1051-5.
- Ganten, D.;** Köhrle, J.; Ruckpall, K. (2006) „Molekularmedizinische Grundlagen Von Para- und Autokrinen Regulationsstörungen“ Seite XLVI ISBN-10: 3540287817, ISBN-13: 978-3540287810
- Greuner, M.** (2008) „Untersuchung morphologischer Kriterien der Gameten und Vorkernstadien zur Erzielung einer Schwangerschaft“ Dissertation Charité Berlin, 2008

**Greuner, M.;** Winkler, S.; Maxrath, B.; Montag, M.; Schmiady, H. (2012) „Charakterisierung des morphologischen Entwicklungspotenzials von der Oozyte bis zum Embryo“ J Reproduktionsmed Endokrinol. 2012 Sep;9(1):13-19

**Guibourdenche, J.;** Lucidarme, N.; Chevenne, D.; Rigal, O.; Nicolas, M.; Luton, D.; Léger, J.; Porquet, D.; Noël, M. (2003) „Anti-Müllerian hormone levels in serum from human foetuses and children: pattern and clinical interest.“ Mol Cell Endocrinol. 2003 Dec 15;211(1-2):55-63.

**Hansen, M.;** Bower, C.; Milne, E.; de Klerk, N.; Kurinczuk, J. J. (2005) „Assisted reproductive technologies and the risk of birth defects - a systematic review.“ Hum Reprod. 2005 Feb;20(2):328-38. Epub 2004 Nov 26.

**Hardarson, T.;** Löfman, C.; Coull, G.; Sjögren, A.; Hamberger, L.; Edwards, R. G. (2002) „Internalization of cellular fragments in a human embryo: time-lapse recordings.“ Reprod Biomed Online. 2002 Jul-Aug;5(1):36-8

**Honma, H.;** Asada, Y.; Baba, T.; Endo, T. (2014) „Continuous high-dose estrogen controls serum FSH and LH levels: new treatment strategy for extremely low ovarian reserve patients, two case reports.“ Gynecol Endocrinol. May;30(5):341-4. doi: 10.3109/09513590.2013.871524. Epub 2014 Jan 7

**Hudson, P.;** Dougas, I.; Donahoe, P.; Cate, R. L.; Epstein, J.; Pepinsky, R. B.; Mac Laughlin, D. T. (1990) „An Immunoassay to detect human mullerian inhibiting substance in males and females during normal development“ J Clin Endocrinol Metab. 1990 Jan;70(1):16-22.

**Imbeaud, S.;** Faure, E.; Lamarre, I.; Mattéi, M. G.; di Clemente, N.; Tizard, R.; Carré-Eusèbe, D.; Belville, C.; Tragethon, L.; Tonkin, C.; Nelson, J.; McAuliffe, M.; Bidart, J. M.; Lababidi, A.; Josso, N.; Cate, R. L.; Picard, J. Y. (1995) „Insensitivity to anti-mullerian hormon due to a mutation in the human anti-Müllerian hormone receptor“ Nat Genet. 1995 Dec;11(4):382-8.

**Imura, H.;** Fukata, J.; Muri, T. (1991) „Cytokines and endocrine function: an interaction between the immun and neuroendocrine systems.“ Clin Endocrinol (Oxf). 1991 Aug;35(2):107-15.

**Insler, V.;** Lunenfeld, B. (1991) „Pathophysiology of polycystic ovarian disease: new insights“ Hum Reprod. 1991 Sep;6(8):1025-9.

**Jang, W. K.;** Lim, S. Y. ; Park, J. C.; Lee, K. R.; Lee, A.; Rhee, J. H. (2014) „Surgical impact on serum anti-Müllerian hormone in women with benign ovarian cyst: A

prospective study.“ *Obstet Gynecol Sci.* 2014 Mar;57(2):121-7. doi: 10.5468/ogs.2014.57.2.121. Epub 2014 Mar 15

**Josso, N;** Picard, J.Y.; Vigier, B. (1981) „Purification of bovine antimullerian hormone using a monoclonal antibody.“ *C R Seances Acad Sci III.* 1981 Nov 2;293(8):447-50.

**Källén, B.;** Finnström, O.; Nygren, K. G.; Olausson, P. O. (2005) „In vitro fertilization (IVF) in Sweden: risk for congenital malformations after different IVF methods.“ *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 2005 Mar;73(3):162-9.

**Keck, C.;** Neulen, J.; Behren, H.; Breckwoldt, M. (2002) „Endokrinologie, Reproduktionsmedizin und Andrologie“ Seite 6, ISBN 3-13-109921-6

**Kedem, A.;** Haas, J.; Geva, L. L.; Yerushalmi, G.; Gilboa, Y.; Kanety, H.; Hanochi, M.; Maman, E.; Hourvitz, A. (2013) „Ongoing pregnancy rates in women with low and extremely low AMH levels. A multivariate analysis of 769 cycles.“ *PLoS One.* 2013 Dec 16;8(12):e81629. doi: 10.1371/journal.pone.0081629. eCollection 2013

**Kevenaar, M.;** Meerasahib, M.; Kramer, P. et al. (2006) „Serum anti-mullerian hormone levels reflect the size of the primordial follicle pool in mice“ *Endocrinology.* 2006 Jul;147(7):3228-34. Epub 2006 Mar 23.

**Kevenaar, M.;** Themmen, A. P.; Laven, J. S.; Sonntag, B.; Fong, S. L.; Uitterlinden, A. G.; de Jong, F. H.; Pols, H. A.; Simoni, M.; Visser, J. A. (2007) „Anti-Müllerian hormone and Anti-Müllerian hormone typ II receptor polymorphism are associated with follicular phase estradiol levels in normo-ovulatory woman“ *Hum Reprod.* 2007 Jun;22(6):1547-54. Epub 2007 Mar 2.

**Kosmann, M.** (1998) „Expression von lokalen Regulationsfaktoren im Ovar des Rindes“ Dissertation Universität München, 1998 ISBN 3-89675-360-6, Seite 22-23

**Kreiner, D.;** Liu, H. C.; Itskovitz, J.; Veeck, L.; Rosenwaks, Z. (1987) „Follicular fluid estradiol and progesterone are markers of preovulatory oocyte quality.“ *Fertil Steril.* 1987 Dec;48(6):991-4.

**Kuroda, T.;** Lee, M. M.; Haqq, C. M.; Powell, D. M.; Manganaro, T. F.; Donahoe, P. K. (1990) „Mullerian inhibiting substance ontogeny and its modulation by follicle-stimulating hormone in the rat testes.“ *Endocrinology* 1990 Oct;127(4):1825-32.

**La Marca, A.;** De Leo, V.; Giulini, S.; Orvieto, R.; Malmusi, S.; Giannella, L.; Volpe, A. (2005) „Anti-Mullerian hormone in premenopausal woman and after spontaneous or surgically induced menopause“ *J Soc Gynecol Investig.* 2005 Oct;12(7):545-8. Epub 2005 Jul 19.

- La Marca, A.;** Stabile, G.; Artensio, A.; Volpe, A. (2006) „Serum anti-Müllerian hormone throughout the human menstrual cycle“ *Hum Reprod.* 2006 Dec;21(12):3103-7. Epub 2006 Aug 21.
- La Marca, A.;** Sighinolfi, G.; Radi, D. (2010) „Anti-Müllerian hormone (AMH) as a predictive marker in assisted reproductive technology (ART).“ *Hum Reprod Update.* 2010 Mar-Apr;16(2):113-30. doi: 10.1093/humupd/dmp036. Epub 2009 Sep 30.
- Laiho, M.;** Keski-Oja, J. (1989) „Growth factors in the regulation of pericellular proteolysis- a review“ *Cancer Res.* 1989 May 15;49(10):2533-53.
- Legro, R. S.;** Kusanman, A. R.; Dodson, W. C.; Dunaif, A. (1999) „Prevalence and predictors of risk for type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in polycystic ovary syndrome: a prospective, controlled study in 254 affected women“ *J Clin Endocrinol Metab.* 1999 Jan;84(1):165-9.
- Leonhardt, H.;** Hellström, M.; Gull, B.; Lind, A. K.; Nilsson, L.; Janson, P. O.; Stener-Victorin, E. (2014) „Ovarian morphology assessed by magnetic resonance imaging in women with and without polycystic ovary syndrome and associations with antimüllerian hormone, free testosterone, and glucose disposal rate.“ *Fertil Steril.* 2014 Mar 21. pii: S0015-0282(14)00175-7. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.02.022
- Lillie, Frank R.** (1916) „Theorie of the Free-martin“ *Science* 28 April 1916: 611-613
- López-Casillas, F.;** Wrana, J. L.; Massague, J. (1993) „Betaglycan presents ligand to the TGF- $\beta$  Signaling Receptor“ *Cell.* 1993 Jul 2;73(7):1435-44.
- Loppnow H.** (2001) „Zytokine: Klassifikation, Rezeptoren, Wirkungsmechanismen.“ *Internist (Berl).* 2001 Jan;42(1):13-4, 17-27.
- Lyons, R.;** Keski-Oja, J.; Moses H. (1988) „Proteolytic activation of latent transforming growth factor- $\beta$  from fibroblast-conditioned medium“ *J Cell Biol.* 1988 May;106(5):1659-65.
- Massague, J.** (1990) „The transforming growth factor- $\beta$  family“ *J Biol Chem.* 1990 Dec 15;265(35):21393-6.
- Massague, J.** (1998) „TGF- $\beta$  signal transduction“ *Annu Rev Biochem.* 1998;67:753-91.
- McGee, E. A.;** Hsueh, A. J. (2000) „Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles.“ *Endocr Rev.* 2000 Apr;21(2):200-14.

**McGee, E. A.;** Smith, R.; Spears, N.; Nachtigal, M. W.; Ingraham, H.; Hsueh, A. J. (2001) „Müllerian inhibitory substance induces growth of rat preantral ovarian follicles.“ *Biol Reprod.* 2001 Jan;64(1):293-8.

**Mehta, B. N.;** Chimote, M. N.; Chimote, N. N.; Nath, N. M.; Chimote, N. M. (2013) „Follicular-fluid anti-Müllerian hormone (FF AMH) is a plausible biochemical indicator of functional viability of oocyte in conventional in vitro fertilization (IVF) cycles.“ *J Hum Reprod Sci.* Apr;6(2):99-105. doi: 10.4103/0974-1208.117168

**Midrio, P.;** Nogare, C. D.; Di Gianantonio, E.; Clementi, M. (2006) „Are congenital anorectal malformations more frequent in newborns conceived with assisted reproductive techniques?“ *Reprod Toxicol.* Nov;22(4):576-7. Epub 2006 May 16.

**Mishina, Y.;** Rey, R.; Finegold, M. J.; Matzuk, M. M.; Josso, N.; Cate, R. L.; Behringer, R. R. (1996) „Genetic analysis of the Müllerian-inhibitin substance signal transduction pathway in mammalian sexual differentiation“ *Genes Dev.* 1996 Oct 15;10(20):2577-87.

**Moran, L.;** Noakes, M.; Clifton, P.; Norman, R. (2007) „The use of anti-müllerian hormone in predicting menstrual response after weight loss in overweight woman with polycystic ovary syndrom“ *J Clin Endocrinol Metab.* 2007 Oct;92(10):3796-802. Epub 2007 Jul 24.

**Müller, M.;** Haag, P.; Hanhart, N. (2010/2011) „Gynäkologie und Urologie für Studium und Praxis“ Seite 239-241 ISBN 978-3-929851-74-8

**Nilsson, E.;** Rogers, N.; Skinner, M. (2007) „Actions of anti-Müllerian hormone on the ovarian transcriptome to inhibit primordial to primary follicle transition“ *Reproduction.* 2007 Aug;134(2):209-21.

**Oppelt, P.;** Strissel, P. L.; Kellermann, A.; Seeber, S.; Humeny, A.; Beckmann, M. W.; Strick, R. (2005) „DNA sequence variations of the entire anti-Müllerian hormone (AMH) gene promoter and AMH protein expression in patients with the Mayer-Rokitanski-Kuster-Hauser syndrome.“ *Hum Reprod.* Jan;20(1):149-57. Epub 2004 Nov 18.

**Panidis, D.;** Georgopoulos, N.; Piouka, A. (2011) „The impact of oral contraceptives and metformin on Anti-Müllerian hormone serum levels in woman with polycystic ovary syndrome.“ *Gynecol Endocrinol.* 2011 Aug;27(8):587-92. doi: 10.3109/09513590.2010.507283. Epub 2010 Sep 14.



**Parry, R. L.;** Chin, T. W.; Epstein, J.; Hudson, P. L.; Powell, D. M.; Donahoe, P. K. (1992) „Recombinant human mullerian inhibiting substance inhibits human ocular melanoma cell lines in vitro and in vivo.“ *Cancer Res.* 1992 Mar 1;52(5):1182-6.

**Pellatt, L.;** Hanna, L.; Brincat, M.; Galea, R.; Brain, H.; Whitehead, S.; Mason, H. (2007) „Granulosa cell production of Anti-Müllerian hormone is increased in polycystic ovaries“ *J Clin Endocrinol Metab.* 2007 Jan;92(1):240-5. Epub 2006 Oct 24.

**Pellatt, L.;** Rice, S.; Mason, H. D. (2010) „Anti-Müllerian hormone and polycystic ovary syndrome: a mountain too high?“ *Reproduction.* 2010 May;139(5):825-33. doi: 10.1530/REP-09-0415. Epub 2010 Mar 5

**Piltonen, T.;** Morin-Papunen, L.; Koivunen, R.; Perheentupa, A.; Ruukonen, A.; Tapanainen, J. S. (2005) „Serum anti-Müllerian hormone levels remain high until late reproductive age and decrease during metformin therapy in woman with polycystic ovary syndrom“ *Hum Reprod.* 2005 Jul;20(7):1820-6. Epub 2005 Mar 31.

**Raddatz, J.** (2009) „Bestimmung der Ovarialtoxizität von Chemotherapien und des ovarialprotektiven Effekts von GnRH-Analoga mit Hilfe von Anti-Müller-Hormon und Inhibin B“ Dissertation Universität Heidelberg, 2009

**Reefhuis, J.;** Honein, M. A.; Schieve, L. A.; Correa, A.; Hobbs, C. A.; Rasmussen, S. A.; National Birth Defects Prevention Study. (2009) „Assisted reproductive technology and major structural birth defects in the United States.“ *Hum Reprod.* 2009 Feb;24(2):360-6. doi: 10.1093/humrep/den387. Epub 2008 Nov 14.

**Revermann, C.;** Hüsing, B. (2011) „Fortpflanzungsmedizin: Rahmenbedingungen, wissenschaftlich-technische Fortschritte und Folgen“ Seite 9-10 ISBN 978-3-8360-8132-0

**Rey, R. A.;** Lhomme, C.; Marcillac, I.; Lahlou, N.; Duvillard, P.; Josso, N.; Bidart, J. M. (1996) „Anti-Müllerian as a serum marker of granulosa cell tumours of the ovary: comparative study with serum inhibin A and estradiol.“ *Am J Obstet Gynecol.* 1996 Mar;174(3):958-65.

**Rey, R.;** Sabourin, J. C.; Venara, M., Long, W. Q.; Jaubert, F.; Zeller, W. P.; Duvillard, P.; Chemes, H.; Bidart, J. M. (2000) „Anti-Müllerian hormone is specific marker of sertoli -and granulose-cell origin in gonadal tumors.“ *Hum Pathol.* 2000 Oct;31(10):1202-8.

- Rosen, M. P.;** Johnstone, E.; McCulloch, C.; Schuh-Huerta, S.; Sternfeld, B.; Reijo-Pera, R.; Cedars, M. (2012) „A characterization of the relationship of ovarian reserve markers with age“ *Fertil Steril.* 2012 Jan;97(1):238-43. doi: 10.1016/j.fertnstert.2011.10.031. Epub 2011 Nov 30.
- Schuffenhauer, W.;** Pemsel, H., Duschinski, U. (1987) „Follikelentwicklung bei Rindern Anlage 4 zum F/E Bericht. Ovarstimulierung und Oozytengewinnung beim Rind für Zelltechniken zur Reifung und Befruchtung in vitro.“ AdL der DDR, FZT Dummerstorf-Rostock; F/E Bericht
- Schwarzmeier, J. D.;** Reinisch, W. W.; Augustin, I. (1991) „Interferon-alpha induces complete remission in angioimmunoblastic lymphadenopathy (AILD): late development of aplastic anaemia with cytokine abnormalities“ *Br J Haematol.* 1991 Oct;79(2):336-7
- Seifer, D. B.;** Baker, V. L.; Leader, B. (2011) „Age-specific serum anti-Müllerian hormone values for 17,120 women presenting to fertility centers within the United States.“ *Fertil Steril.* 2011 Feb;95(2):747-50. doi: 10.1016/j.fertnstert.2010.10.011. Epub 2010 Nov 13.
- Shebl, O.;** Ebner, T.; Sir, A.; Schreier-Lechner, E.; Mayer, R. B.; Tews, G.; Sommergruber, M. (2011) „Age-related distribution of basal serum AMH level in women of reproductive age and a presumably healthy cohort.“ *Fertil Steril.* 2011 Feb;95(2):832-4. doi: 10.1016/j.fertnstert.2010.09.012
- Siegenthaler, W.;** Blum, H. E. (2006) „Klinische Pathophysiologie“ Seite 249 ISBN-10: 3134496097 ISBN-13: 978-3134496093
- Silberstein, T.;** MacLaughlin, D. T.; Shai, I.; Trimarchi, J. R.; Lambert-Messerlian, G.; Seifer, D. B.; Keefe, D. L. ; Blazar, A. S. (2006) „Müllerian inhibiting substance levels at the time of hCG administration in IVF cycles predict both ovarian reserve and embryo morphology.“ *Hum Reprod.* 2006 Jan;21(1):159-63. Epub 2005 Aug 25.
- Skalba, P.;** Cygal, A.; Madej, P.; Dąbkowska-Huć, A.; Sikora, J.; Martirosian, G.; Romanik, M.; Olszanecka-Glinianowicz, M. (2011) „Is the plasma anti-Müllerian hormone (AMH) level associated with body weight and metabolic, and hormonal disturbances in women with and without polycystic ovary syndrome?“ ; *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2011 Oct;158(2):254-9. doi: 10.1016/j.ejogrb.2011.06.006. Epub 2011 Jul 12

**Smeenk, J. M.;** Sweep, F. C.; Zielhuis, G. A.; Kremer, J. A.; Thomas, C. M.; Braat, D. D. (2007) „Antimüllerian hormone predicts ovarian responsiveness, but not embryo quality or pregnancy, after in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection.“ *Fertil Steril.* 2007 Jan;87(1):223-6. Epub 2006 Nov 1

**Sowers, M.;** Eyvazzadeh, A.; McConnell, D.; Yosef, M.; Jannausch, M. L.; Zhang, D.; Harlow, S.; Randolph, J. F. Jr (2008) „Anti-mullerian hormone and inhibin-B in the definition of ovarian aging and the menopause transition“ *J Clin Endocrinol Metab.* 2008 Sep;93(9):3478-83. doi: 10.1210/jc.2008-0567. Epub 2008 Jul 1.

**Streuli, I.;** Fraisse, T.; Pillet, C.; Ibecheole, V.; Bischof, P.; de Ziegler, D. (2008) „Serum anti-Müllerian hormone levels remain stable throughout the menstrual cycle and after oral or vaginal administration of synthetic steroids.“ *Fertil Steril.* 2008 Aug;90(2):395-400. Epub 2007 Oct 24.

**Subramanian, M. G.;** Sacco, A. G.; Moghissi, K. S.; Magyar, D. M.; Hayes, M. F.; Lawson, D. M.; Gala, R. R. (1988) „Human follicular fluid: Prolactin is biologically active and ovum fertilization correlates with estradiol concentration.“ *J In Vitro Fert Embryo Transf.* 1988 Jun;5(3):129-33.

**Takahashi, C.;** Fujito, A.; Kazuka, M.; Sugiyama, R.; Ito, H.; Isaka, K. (2008) „Anti-Müllerian hormone substance from follicular fluid is positively associated with success in oocyte fertilization during in vitro fertilization.“ *Fertil Steril.* 2008 Mar;89(3):586-91. Epub 2007 Jun 4.

**Tal, R.;** Seifer, D. B.; Khanimov, M.; Schwartz, E.; Grazi, R. V.; Malter, H. E. (2012) „Anti-Müllerian hormone as an independent predictor of twin versus singleton pregnancy in fresh cycles.“ *Reprod Biomed Online.* 2013 Apr;26(4):360-7. doi: 10.1016/j.rbmo.2012.12.002. Epub 2012 Dec 19

**Tarlatzis, B. C.;** Pazaitou, K.; Bili, H.; Bontis, J.; Papadimas, J.; Lagos, S., et al. (1993) „Growth hormone, oestradiol, progesterone and testosterone concentrations in follicular fluid after ovarian stimulation with various regimes for assisted reproduction.“ *Hum Reprod.* 1993 Oct;8(10):1612-6

**Teissier, M. P.;** Chable, H.; Paulhac, S.; Aubard, Y. (2000) „Comparison of follicle steroidogenesis from normal and polycystic ovaries in women undergoing IVF: Relationship between steroid concentrations, follicle size, oocyte quality and fecundability.“ *Hum Reprod.* 2000 Dec;15(12):2471-7.

- Themmen, A.** (2005) „Anti-Müllerian hormone: its role in follicular growth initiation and survival and as an ovarian reserve marker“ J Natl Cancer Inst Monogr. 2005;(34):18-21.
- Van den Berg, M. H.;** van Dulmen-den Broeder, E.; Overbeek, A.; Twisk, J. W. ; Schats, R.; van Leeuwen, F. E.; Kaspers, G. J.; Lambalk, C. B. (2010) „Comparison of ovarian function markers in users of hormonal contraceptives during the hormone-free interval and subsequent natural early follicular phases.“ Hum Reprod. 2010 Jun;25(6):1520-7. doi: 10.1093/humrep/deq071. Epub 2010 Mar 27
- Van Montfoort, A. P.;** Dumoulin, J. C.; Kester, A. D.; Evers, J. L. (2004) „Early cleavage is a valuable addition to existing embryo selection parameters: a study using single embryo transfers.“ Hum Reprod. 2004 Sep;19(9):2103-8. Epub 2004 Jul 8
- Van Rooij, I.;** Tonkelaar, I.; Broekmann, F.; Looman, C.; Scheffer, G.; de Jong, F., et al. (2004) „Anti-mullerian hormone is a promising predictor for the occurrence of the menopausal transition“ Menopause. 2004 Nov-Dec;11(6 Pt 1):601-6.
- Vigier, B.;** Forest, M. G.; Eychenne, B.; Bezard, J.; Garrigou, O.; Robel, P.; Josso, N.(1989) „Anti-Muellerian hormone produces endocrine sex reversal of fetal ovaries.“ Proc Natl Acad Sci U S A. 1989 May;86(10):3684-8.
- Visser, J. A.** (2003) „AMH signaling: from receptor to target gene“ Mol Cell Endocrinol. 2003 Dec 15;211(1-2):65-73.
- Visser, J. A.;** Themmen, A. P. (2005) „Anti-Müllerian hormone and folliculogenesis“ Mol Cell Endocrinol. 2005 Apr 29;234(1-2):81-86 Review
- Von Wolff, M.;** Stute, P. (2013) „Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin: Das Praxisbuch“ Seite 322 ISBN 978-3-7945-2792-2
- Webber, L.;** Stubbs, S.; Stark, J.; Trew, G. H.; Margara, R.; Hardy, K.; Franks, S. (2003) „Formation and early development of follicles in the polycystic ovary“ Lancet. 2003 Sep 27;362(9389):1017-21.
- Weenen, C.;** Laven, J.; von Bergh, A.; Cranfield, M.; Groome, N. P.; Visser, J. A.; Kramer, P.; Fauser, B. C.; Themmen, A. P. (2004) „Anti-Müllerian hormone expression pattern in the human ovary: potential implications for initial an cyclic follicle recruitment“ Mol Hum Reprod. 2004 Feb;10(2):77-83.

- Weghofer, A.;** Dietrich, W.; Barad, D. H.; Gleicher, N. (2011) „Live birth chances in woman with extremely low-serum anti-Müllerian hormone levels“ *Hum Reprod.* 2011 Jul;26(7):1905-9 doi: 10.1093/humrep/der134. Epub 2011 Apr 30
- Welsch, U.;** Sobotta, J. (2006) „Lehrbuch Histologie“, Seite 503 ISBN-10: 3437444301
- Wunder, D.;** Bersinger, N.; Yared, M.; Kretschmer, R.; Birkhäuser, M. (2008a) „Statistically significant changes of antimüllerian hormone and inhibin levels during the physiologic menstrual cycle in reproductive age woman“ *Fertil Steril.* 2008 Apr;89(4):927-33. Epub 2007 Jul 2.
- Wunder, D.;** Guibourdenche, J.; Birkhauser, M. H.; Bersinger, N. A. (2008b) „Anti-Müllerian hormone and inhibin B as predictors of pregnancy after treatment by in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection.“ *Fertil Steril.* 2008 Dec;90(6):2203-10. doi: 10.1016/j.fertnstert.2007.10.078. Epub 2008 Feb 21.
- Zhang, X. D.;** Liu, J. X.; Liu, W. W.; Gao, Y.; Han, W.; Xiong, S.; Wu, L. H.; Huang, G. N. (2013) „Time of insemination culture and outcomes of in vitro fertilization: a systematic review and meta-analysis.“ *Hum Reprod Update.* 2013 Nov-Dec;19(6):685-95. doi: 10.1093/humupd/dmt036. Epub 2013 Aug 2.
- Ziltener, H.;** Maines-Bandiera, S.; Schrader, J.; Auersperg, N.; (1993) „Secretion of bioactive interleukin-1, interleukin-6, and colony-stimulating factors by human ovarian surface epithelium.“ *Biol Reprod.* 1993 Sep;49(3):635-41.
- Zwink, N.;** Jenetzky, E.; Schmiedeke, E.; Schmidt, D.; Märzheuser, S.; Grasshoff-Derr, S.; Holland-Cunz, S.; Weih, S.; Hosie, S.; Reifferscheid, P.; Ameis, H.; Kujath, C.; Rissmann, A.; Obermayr, F.; Schwarzer, N.; Bartels, E.; Reutter, H.; Brenner, H.; CURE-Net Consortium. (2012) „Assisted reproductive techniques and the risk of anorectal malformations: a German case-control study.“ *Orphanet J Rare Dis.* 2012 Sep 15;7:65. doi: 10.1186/1750-1172-7-65.

## 7 DANKSAGUNG

Den größten Beitrag zum Gelingen dieser Arbeit lieferten mein Mann und meine Kinder. Ohne sie hätte ich diese nie abgeschlossen. Daneben möchte ich noch meinem Vater für die Korrekturen und meiner Tante für gute Kommentare danken.

Ein weiteres Dankeschön richte ich an meine Doktormutter Frau Professor Mettler und dem Statistiker Herrn Dipl. inf. Hedderich für die Hilfe und Geduld. Letzterer hat mir mehrfach seine für diese Arbeit durchgeführten Statistiken erklären müssen.

Die Durchführung der Stimulationen und der Follikelpunktionen erfolgten durch Herrn PD Dr. med. Schmutzler. Hervorzuheben ist auch seine Unterstützung bei den Korrekturen dieser Arbeit. Ein ganz herzliches Dankeschön dafür. Einen Dank auch an Herrn Professor Salmassi, der für die Fragestellung und den Versuchsaufbau verantwortlich war.

Und zuletzt gilt mein Dank dem Kinderwunsch-Team der Universität Kiel, allen voran Frau Koch, für das riesige Engagement und der großartigen Hilfe bei den Untersuchungen im Labor.

## 8 LEBENS LAUF

### Persönliche Daten

Geburtsdatum: 1981  
Geburtsort: Warendorf  
Staatsangehörigkeit: deutsch

### Schulbildung

1988 - 1992 katholische Grundschule St. Josef, Warendorf  
1992 - 2001 Gymnasium Laurentianum, Warendorf (Abitur)

### Ausbildung

09/2001 - 08/2003 Rettungsassistentenausbildung, Münster  
11/2005 - 11/2005 Weiterbildung zur Lehrrettungsassistentin, Hannover

### Medizinstudium

WS 2003 - SS 2005 Vorklinischer Teil an der Medizinischen Hochschule Hannover  
SS 2005 Abschluss des 1. Teils der ärztlichen Prüfung  
WS 2005 Klinischer Teil an der Universität Duisburg-Essen  
SS 2006 - SS 2010 Klinischer Teil an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel  
SS 2010 Abschluss des 2. Teils der ärztlichen Prüfung

### Praktisches Jahr

02/2009 - 06/2009 Chirurgie im Spital Zimmerberg, Horgen, Schweiz  
06/2009 - 10/2009 Gynäkologie im KKH Rendsburg  
10/2009 - 01/2010 Innere Medizin an der Universitätsklinik Kiel

### Berufstätigkeit

10/2010 - 06/2014 Allgemeinchirurgie am Klinikum Itzehoe  
10/2011 - 03/2012 Intensivmedizin des Universitätsklinikums Hamburg Eppendorf  
07/2014 - 09/2015 Kinderchirurgie am Asklepios Klinikum Heidberg, Hamburg  
Seit 01/2017 Allgemeinchirurgie Helios Mariahilf Harburg