

Journal für

Reproduktionsmedizin und Endokrinologie

– Journal of Reproductive Medicine and Endocrinology –

Andrologie • Embryologie & Biologie • Endokrinologie • Ethik & Recht • Genetik
Gynäkologie • Kontrazeption • Psychosomatik • Reproduktionsmedizin • Urologie

8. DVR-Kongress, 05.–07.12.2019, Leipzig (Abstracts)

J. Reproduktionsmed. Endokrinol 2019; 16 (5), 228-246



www.kup.at/repromedizin

Online-Datenbank mit Autoren- und Stichwortsuche

Offizielles Organ: AGRBM, BRZ, DVR, DGA, DGGEF, DGRM, D-I-R, EFA, OEGRM, SRBM/DGE

Indexed in EMBASE/Excerpta Medica/Scopus

Krause & Pachernegg GmbH, Verlag für Medizin und Wirtschaft, A-3003 Gablitz



ENDO FERTI FORUM

ENDOKRINOLOGIE & FERTILITÄT
FÜR KLINIK & PRAXIS

20.-21. März 2026

Universitätsmedizin Mainz

Einladung zu unserer wissenschaftlichen Veranstaltung Endo-Ferti-Forum

Brücke(n) zwischen Unikliniken und Praxen an Rhein und Main(z)

– die aus dem bisherigen Format „Ferti Forum“ ab 2026 hervorgeht –



Freuen Sie sich auf spannende Vorträge und den lebendigen Austausch mit Kolleg:innen und Expert:innen aus Klinik und Praxis. Freitagabend laden wir Sie herzlich zu einem entspannten Empfang ein – eine perfekte Gelegenheit, Kontakte zu knüpfen und den Tag genussvoll ausklingen zu lassen.

Wissenschaftliche Leitung: Univ.-Professorin Annette Hasenburg, Dr. Susanne Theis, Universitätsmedizin Mainz, Sanitätsrat Dr. Werner Harlfinger, BVF Rheinland-Pfalz Dr. Rüdiger Gaase, BVF Hessen Dr. Klaus J. Doubek

Schirmherrschaften: Prof. Nicole Sänger, Uniklinik Bonn, Prof. Jan-Steffen Krüssel, Uniklinik Düsseldorf, Dr. Annette Bachmann, Uniklinik Frankfurt am Main, Prof. Christine Skala, Uniklinik Köln

Weitere Informationen
& Anmeldung unter



8. DVR-Kongress

05.–07.12.2019, Leipzig

Abstracts*

Editoren: Dr. K. Bühler (Tagungspräsident), Prof. Dr. K. Herkommer (Tagungspräsidentin)

Poster

■ Assistierte Reproduktion (IUI, IVF, ICSI) / Natürlicher und stimulierter Zyklus

P01

Impact of *Corpus luteum* on maternal vascular health and pregnancy outcome after assisted reproduction

F. von Versen-Höyneck^{1, 2}, E. S. Selamet Tierney³, V. L. Baker^{2, 4}, V. Dragone Winn⁵

¹Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Medizinische Hochschule Hannover, Germany; ²Department of Obstetrics and Gynecology, Division of Reproductive Endocrinology and Infertility, Stanford University Medical Center, Palo Alto; ³Department of Pediatrics, Division of Pediatric Cardiology, Lucile Packard Children's Hospital, Stanford University, Palo Alto; ⁴Division of Reproductive Endocrinology and Infertility, Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore; ⁵Department of Obstetrics and Gynecology, Perinatal Biology, Stanford University Medical Center, Palo Alto, USA

Background Recent reports of abnormal vascular adaptation in early pregnancy and emerging maternal and perinatal pathology after assisted reproduction warrant further investigations. Herein we extended our previous work and further examined, whether perturbations of blood pressure and endothelial function during the first trimester in conceptions with non-physiologic corpus luteum (CL) numbers, would persist through the third trimester of pregnancy and into the postpartum period and investigated both maternal and perinatal outcomes.

Methods Women with viable pregnancies were prospectively recruited at 6–8 weeks and participants were grouped according to CL number and method of conception: 0 CL (programmed frozen embryo transfer [FET], N = 10–18); 1 CL (spontaneous conception [N = 16] and natural cycle FET [N = 12]); or > 3 CL associated with fresh embryo transfer [N = 8–12]. Blood pressure and endothelial function were determined at 11 to 14 weeks' and 35–37 weeks' gestation as well as 6–12

weeks postpartum. Preeclampsia incidence and perinatal outcomes were assessed.

Results Compared to women with 1 CL participants with 0 CL lacked the physiologic drop in mean arterial blood pressure in 1st trimester and Reactive Hyperemia Index (RHI), a measure of endothelial function, was impaired. RHI dropped in 3rd trimester in 1 CL conceptions and recovered postpartum. Suppression of CL was associated with a persistently low RHI in 3rd trimester and postpartum. Augmentation index, a measure of arterial stiffness, was higher during the 3rd trimester in the absence of a CL compared to 1 CL and in FET in a programmed compared to a natural cycle. Moreover, baseline pulse wave amplitude was higher in > 3 CL conceptions at all time points. The incidence of preeclampsia and preeclampsia with severe features was significantly higher in the absence of a CL compared to the presence of one or > 3 CL. Infants from conceptions with > 3 CL had lower birth weights and a higher rate of low birth weight offspring.

Conclusion Deficient vascular adaptation during early gestation in conceptions with non-physiologic CL numbers might predispose women to adverse pregnancy outcomes, e.g. preeclampsia. If the findings of our study can be confirmed in larger cohorts or RCTs, transfer of embryos should be preferably performed in the presence of a CL (e.g. in natural or stimulated cycles) instead of in the absence of a CL to improve maternal and pregnancy health.

P02

Einfluss von Endometrie auf die ovarielle Response während der kontrollierten Stimulationsbehandlung

D. Bräuer, I. Hoppe, K. Nicolaus, I. Runnebaum
Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Fortpflanzungsmedizin, Jena, Deutschland

Zielsetzung Ziel der Untersuchung war es, den Einfluss der Endometrie auf die ovarielle Response während der kontrollierten ovariellen Stimulationsbehandlung vor ART zu untersuchen. Die Anzahl der gewonnenen Oozyten und die FORT (Follicular Output Rate) wurden während ICSI-Zyklen bestimmt.

Patienten, Material und Methode Im Rahmen einer retrospektiven Kohortenstudie wurden alle Patientinnen eingeschlossen,

die von Januar 2016 bis Juni 2018 eine kontrollierte ovarielle Stimulationsbehandlung mit einem GnRH-Antagonistenprotokoll vor ICSI-Behandlung erhielten. Die finale Oozytenmaturierung wurde mit humanem Choriongonadotropin induziert und es erfolgte die ICSI-Behandlung an MII-Oozyten. Als primäres Ziel wurden die Anzahl der reifen, Metaphase-II-Oozyten und die FORT definiert. Eine multiple lineare Regressionsanalyse wurde durchgeführt, um die Beziehung zwischen der Anzahl der gewonnenen Oozyten, der FORT und der Endometrie zu untersuchen.

Ergebnisse 96 Frauen erhielten insgesamt 205 frische ICSI-Zyklen, davon führten Patientinnen mit Endometrie (n = 26) 47 Behandlungszyklen und Patientinnen ohne Endometrie (n = 70) 158 Zyklen durch. Patientinnen mit Endometrie zeigten eine geringere Anzahl von gewonnenen Oozyten (5,89 vs. 7,25, p = 0,045), eine niedrigere FORT (75,67 vs. 94,63, p = 0,046) und eine verminderte Anzahl von Metaphase-II-Oozyten (4,87 vs. 6,04, p = 0,046).

Es stellten sich keine Unterschiede in Bezug auf AMH, AFC, FSH, Estradiolspiegel sowie die Dauer und Dosierung der Gonadotropinstimulation zwischen den beiden Gruppen dar. Die Anzahl der gewonnenen Oozyten, die FORT und das Vorhandensein einer Endometrie waren unabhängig von Alter der Patientin, AFC und AMH. Die Anzahl der gewonnenen Oozyten zeigte sich in der Gruppe der Endometrie um 0,71 (p = 0,026) vermindert. Die FORT war in der Gruppe mit Endometrie um 24,55 niedriger (p = 0,025).

Zusammenfassung Endometrie reduziert die Anzahl der Metaphase-II-Oozyten und die FORT nach kontrollierter ovarieller Überstimulation im GnRH-Antagonistenprotokoll unabhängig vom Alter der Patientin, des AFC und des AMH.

P03

Clinical efficacy of follitropin alfa in GnRH antagonist protocols: a prospective observational post-authorisation study on the use of Bemfola® in human assisted reproductive technology

T. Schill¹, J.-S. Krüseff², G. Griesinger³, M. Sator⁴, M. Schenk⁵, Bemfola Study Group

¹MVZ Kinderwunschzentrum Langenhagen-Wolfsburg, Langenhagen; ²Universitäres interdisziplinäres

*Begutachtet und zusammengestellt vom wissenschaftlichen Komitee. Ein alphabetisches Verzeichnis der präsentierenden Autoren finden Sie auf Seite 246.

Kinderwunschzentrum Düsseldorf (UniKiD), Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Universitätsklinikum Düsseldorf; ³Sektion Reproduktionsmedizin und gynäkologische Endokrinologie, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein – Campus Lübeck, Deutschland; ⁴Kinderwunsch im Zentrum GmbH, Tulln an der Donau, Österreich; ⁵Das Kinderwunsch-institut Schenk GmbH, Dobl b. Graz, Österreich

Study setting and objective This prospective non-interventional post-authorization study in Germany and Austria included 885 patients with 986 ART treatment cycles from 24 ART centres for analysis. The study population comprised women undergoing ovarian stimulation with follitropin alfa (Bemfola®) in order to have oocyte retrieval performed as part of an in vitro fertilisation cycle with or without intracytoplasmic sperm injection, and who were pituitary-suppressed with a GnRH antagonist. Primary objective was to identify predictive factors for the number of oocytes retrieved.

Main results Mean patient age was 34.0 ($\pm$ 4.3 SD) years, BMI 24.7 ($\pm$ 5.3). The mean AMH level was 2.84 $\pm$ 2.43 ng/ml (n = 862), mean basal FSH level 7.1 $\pm$ 2.7 U/l (n = 522).

On first day of controlled ovarian stimulation (COS), 220.7 ($\pm$ 68.9) I.U. r-hFSH was applied. On average, ovarian stimulation was conducted for 9.9 ($\pm$ 1.8) days. During COS, patients received a total of 2184.3 ($\pm$ 837.5) I.U. r-hFSH. 99.1% (n = 977) of all started cycles resulted in follicular puncture. A mean number of 10.7 ($\pm$ 6.6) oocytes was retrieved. Successful fertilization after in vitro fertilization was achieved in 93.76% (n = 916) of the cycles with follicular puncture. 14.20% (n = 140) of all started ART cycles ended-up with cryopreservation of all available cells ("Freeze-all"), with increasing trend towards the end of the study period.

Embryo transfers were performed in 751 cycles (76.87% of all follicular punctures). Mean day of embryo transfer was day 3.52 $\pm$ 1.30. On average, 1.76 ($\pm$ 0.50) embryos were transferred. Clinical pregnancy rate per transfer was 30.8% (n = 231) (IVF: 32.4%, n = 48; ICSI: 30.4%, n = 176; IVF+ICSI: 29.2%, n = 7). Multiple gestation occurred in 47 cycles (20.35%). No triplet pregnancies were documented.

106 adverse drug reactions were recorded in 104 cycles (10.55% of all cycles). Six were

rated serious and 100 non-serious. Ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS) as ADR was reported in 69 cases. Severity was mild in 25 cases (2.54% of all cycles), moderate in 42 cases (4.26%) and severe in two cases (0.20%).

Wider implications This study demonstrates the clinical relevance of Bemfola® in ART daily practice, applied in the commonly performed GnRH-antagonist protocol. Due to its prospective setting and non-interventional character, the results provide real-world evidence as additional source for evidence-based clinical decisions.

Study funding This study was funded by Gedeon Richter Pharma GmbH, Germany.

P04

Successful treatment of genuine empty follicle syndrome (EFS) in Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) with metabolic control according to treatment targets for gestational diabetes mellitus (GDM)

M. Bals-Pratsch¹, S. Fill Malfertheiner²

¹Kinderwunschlinik profertilita, Regensburg; ²Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe, Klinik St. Hedwig Krankenhaus Barmherzige Brüder, Universitätsklinik Regensburg, Deutschland

Can EFS in PCOS be treated by a preconceptual improvement of the metabolism with metformin, diet and self-monitoring of blood glucose like in GDM-therapy?

PCOS is a complex hormonal disorder affecting the reproductive and metabolic systems. EFS is rare and until now the pathogenesis is unclear and appropriate treatment strategies are not established. Metformin is widely used especially in PCOS patients with poor egg quality and insulin resistance (IR). It efficiently regulates blood glucose levels in IR and is also worldwide used in the therapy of GDM. Preconceptional elevated blood glucose levels (EBGL) and EBGL in pregnancy are known to be toxic for oocytes and for embryos with the risk for implantation failure, miscarriages or malformations and the risk for epigenetic inheritance for diabetes mellitus (DM).

Case report of a 35year old lean PCOS patient (Rotterdam criteria) with 11 years of primary infertility (BMI 18.6, AFC > 40, AMH 24.1 ng/ml) and male factor. 2 years before ART DM was ruled out again by standardized 75 g oral glucose tolerance tests (oGTT) including assessment of IR (Tab. 1).

Case report PCOS oGTT pre-and postconception in ART Metformin co-medication with 1500 mg was initiated due to PCOS and mild IR. Metformin dosage was increased to 2500 mg prior to ART. ICSI was performed in a standard agonist protocol with rec FSH and oocyte retrieval 36hrs after hCG 5000 IU.

Peak estradiol was 1628 pg/ml. 26 developed follicles were empty and only 1 oocyte could be retrieved. OGTT for GDM testing on the day of embryo transfer (ET) of 1.4-cell stage revealed severe EBGL. A referral to a diabetologist was immediately initiated for treatment with dietary counselling and instructions for self-monitoring of blood glucose. In the following ICSI cycle 3 months after diabetic care an improvement of oocyte maturation was confirmed. 5 oocytes were retrieved (2 MII, 3 atretic). 1 year after the 1st ICSI attempt prior to a further ICSI cycle a spontaneous ongoing pregnancy occurred. Repeated GDM testing revealed again EBGL above the treatment targets for GDM and add-on Insulin was initiated.

In summary EFS may successfully be treated by long-term metabolic control, proved by spontaneous conception with an ongoing pregnancy in this case report.

P05

Lebendgeburt nach ICSI an einer aufgewärmten Zona-freien Oozyte nach „social freezing“ – ein Case Report

D. Baston-Büst, A. Bielfeld, J.-S. Krüssel, N. Weber, J. Hirchenhain
Frauenklinik, UniKiD, Uniklinik Düsseldorf, Deutschland

Hintergrund Die Zahl der Patientinnen, die für ein „social freezing“ in Kinderwunschzentren vorgestellt werden, steigt. Die Lagerungsdauer der kryokonservierten Oozyten hängt sehr vom initialen Alter beim Einfrieren, sozialem und Beziehungsstatus ab.

oGTT (Glucose Tolerance Test)		Basal including *calculation insulin resistance (IR)	Embryo transfer (ET) week of gestation: 2+2	Spontaneous conception week of gestation: 4+4
Metformin (mg)		-	2.500	2.500
Glucose mg/dl (Insulin mU/l)	0 min	84 (Insulin 9.7)	93	94
Glucose mg/dl (Insulin mU/l)	+60 min	80 (Insulin 36.1)	215	178
Glucose mg/dl (Insulin mU/l)	+120 min	88 (Insulin 36.9)	153	120
*Insulin Resistance (IR) Homeostasis Model Assessment (HOMA): 2.0 insulin sensitivity index (ISI): 6,3				

Table 1. M. Bals-Pratsch, et al.

Fallbeschreibung Wir zeigen hier den Fall einer 37-jährigen Patientin mit 2 Stimulationszyklen für „social freezing“, die 4 Jahre später zur Realisierung des Kinderwunsches vorstellig wurde. Eine der Oozyten trat während des Aufwärmens aus der Zona. Die ICSI wurde ebenfalls an dieser Oozyte durchgeführt und alle befruchteten Vorkernstadien wurden in einem Embryoscope (Vitrolife, Göteborg, Schweden) bis Tag 5 kultiviert. Die Zona-freie Oozyte zeigte die embryologische beste Entwicklung und wurde im Blastozysten-Stadium transferiert („single embryo transfer“). Die Patientin wurde in der 39. Schwangerschaftswoche nach komplikationsloser Schwangerschaft von einem gesunden Jungen entbunden.

Fazit Die ersten Patientinnen melden sich jetzt erneut in den Kinderwunschzentren, um die gelagerten Oozyten zu nutzen. Diese Patientinnen unterscheiden sich oft hinsichtlich des fortgeschrittenen Alters gegenüber idealen Eizellspenderinnen im Ausland, für die international die meisten Erfahrungen vorliegen. Aus unserer Sicht lohnt auch die Injektion Zona-freier Oozyten, wenn diese in ihrer Entwicklung nahtlos in Time-Lapse-Inkubatoren beobachtet werden können mit Transfer im Blastozysten-Stadium, um einen möglichen Zerfall der Blastomeren in Teilungsstadien und die Etablierung einer Mehrlingsschwangerschaft zu vermeiden.

■ Ejakulat: Qualität und Fertilität

P06

Quantitative Analysis of the sHLA-G Protein in Seminal plasma

A. Schallmoser

Reproduktionsmedizin, Universitätsklinikum Bonn, Deutschland

Background Recent studies revealed that maternal and embryonic contributions impact on HLA-G protein expression and might contribute to pregnancy success or failure, respectively. The main objective of this study was to examine the paternal levels of the immunoregulatory soluble human leukocyte antigen-G (sHLA-G) protein in seminal plasma and testicular biopsy samples during artificial reproductive technique treatment (ART) and to investigate possible correlations with other semen parameters, age and pregnancy outcome of the female partner.

Methods Soluble HLA-G levels of 106 seminal plasma samples and 8 testicular biopsy samples were determined using a commercial sHLA-G ELISA kit.

Results We observed a significant negative correlation of male age with total sHLA-G amount ($P = 0.023$, $R = -0.221$) and semen volume ($P = 0.047$, $R = -0.193$). Testicular biopsy samples were analyzed and tested positively with sHLA-G ELISA. Levels of sHLA-G in seminal plasma samples from men with normozoospermia did not deviate significantly

from those with reduced semen quality. No significant difference of sHLA-G levels in seminal plasma and pregnancy outcome of the female partner was detected. Our data showed that age of men with normozoospermia was significantly lower when the female partner conceived after ART treatment ($P = 0.016$, Mann-Whitney-U-test).

Conclusions High sHLA-G levels in seminal plasma of the male partner appear not to be required for pregnancy but might contribute among other factors to the success of establishing and maintaining pregnancy through long term priming of the female uterine milieu.

P07

Externe Qualitätskontrolle der Ejakulatanalyse verzeichnet nur langsam steigende Konformität mit den Richtlinien

T. Pock, B. Hellenkemper, E. Nieschlag

Qualitätskontrolle der Deutschen Gesellschaft für Andrologie (QuaDeGA), Münster, Deutschland

Seit 2011 ist jedes Labor, das humane Ejakulatuntersuchungen durchführt, zur Teilnahme an einer externen Qualitätskontrolle verpflichtet. Die Richtlinien der Bundesärztekammer (RiLi-BÄK) schreiben vor, dass die Bestimmungen der Spermienkonzentration, Motilität und Morphologie entsprechend dem gültigen Handbuch der WHO durchgeführt werden. Gegenwärtig nehmen etwa 700 Labore an den QuaDeGA-Ringversuchen teil. Die Ringversuche zeigen nur geringe Fortschritte bei der Bestehensquote der teilnehmenden Labore. Um herauszufinden, ob Zusammenhänge zwischen der strikten Befolgung der WHO-Richtlinien und der Bestehensquote bestehen, führte QuaDeGA 2017 und 2019 Umfragen unter den Teilnehmern durch.

Online-Umfragen mit 43 Topics wurden an alle Teilnehmer in Deutschland, Österreich und der Schweiz versandt, die am 30. bzw. 31. Ringversuch teilgenommen hatten (2017: 624; 2019: 608 Teilnehmer). Die Umfrage wurde mit Hilfe der Online-Plattform SurveyMonkey® erstellt. Dabei ging es unter anderem um die vorhandene Laborausstattung, die Durchführung der Analysen, und die Interne Qualitätssicherung (IQK) im Labor.

2017 füllten 273 (43,7 %) und 2019 262 (43,1 %) der Teilnehmer die Umfrage teilweise oder vollständig aus. 2019 war in 95 % der Labore das WHO-Handbuch vorhanden (2017: 93 %). Adäquate Ausrüstung ist jetzt in 70 % der Fälle vorhanden (2017: 64 %). Bei der Laborausstattung besitzen 76 % der Teilnehmer einen Rüttler/Vortexer, 62 % eine einfache Zählhilfe und 71 % einen Laborcounter (2017: 72, 55 und 66 %). Das WHO-Diluent verwenden 41 % der Teilnehmer (2017: 38 %) und 56 % verwenden eine WHO-empfohlene Färbemethode (2017: 55 %). Seit der Umfrage 2017 stieg die Nutzung der „Neubauer improved Zählkammer“ von 56 auf 60 % der Teilnehmer. Die Frage

nach der Durchführung einer IQK bejahten 2017 nur 65 % und 2019 immer noch nur 68 % der Befragten.

Die Ergebnisse der Umfrage offenbaren nach wie vor bestehende Defizite in der Anwendung der RiLi-BÄK und der Ausstattungen der Labore. Selbst einfache und grundlegende Ausstattung ist in manchen Laboren nicht vorhanden und nicht empfohlene Verdünnungsmedien und Färbemethoden werden weiterhin verwandt. Noch immer führen knapp ein Drittel der Teilnehmer keine IQK durch. Insbesondere die Implementierung einer IQK korreliert positiv mit dem Erhalt des Zertifikats. Die korrekte Befolgung der RiLi-BÄK/WHO-Richtlinien erscheint dringend erforderlich, um Standardisierung und Vergleichbarkeit der Ergebnisse der Ejakulatanalyse zu erreichen.

P08

Untersuchung von Motilität und DNA-Integrität während Kultivierung und Kryokonservierung humaner Spermien

D. Bräuer, F. Urbanek, K. Nicolaus, I. Hoppe,

I. Runnebaum

Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Fortpflanzungsmedizin, Jena, Deutschland

Hintergrund Der Erhalt der Qualität und DNA-Integrität von Spermien während der Verfahren der assistierten Reproduktionstechniken ist von eminenter Bedeutung. Die Spermien unterliegen dabei exogenen Einflüssen über die Dauer der Kultivierung wie auch bei der Anwendung von Kryokonservierungsmethoden.

Zielsetzung Ziel der Untersuchung war es, Veränderungen der Spermienmotilität und DNA-Fragmentierung über die Zeit der Kultivierung zu detektieren. Ebenso war es Gegenstand, Samenproben anhand von Motilität und DNA-Integrität vor und nach Kryokonservierung zu untersuchen, um ihre Kryotoleranz zu bestimmen.

Patienten, Material und Methoden Samenspenden waren Patienten des Kinderwunschzentrums des Universitätsklinikums Jena mit diagnostizierter Normozoospermie. Die Proben wurden nativ sowie nach Aufarbeitung mittels modifizierten Swim-ups nach WHO-Kriterien (2010) beurteilt. Die Untersuchung der DNA-Fragmentierung erfolgte mittels des „Sperm Chromatin Dispersion Tests“. Die Swim-up-Probe wurde bei 37 °C bei 5 % CO₂ inkubiert und erneut nach 4h und 24h untersucht. Die Kryokonservierung erfolgte mittels „slow freeze in cryostraws“. Das Ejakulat-Aliquot wurde mit „Sperm-freeze“ über 10 Minuten bei 37 °C inkubiert und nach programmiertem Einfrieren für mindestens 24h bei -196 °C gelagert. Nach Auftau im Inkubator bei 37 °C über 10 Minuten erfolgten erneut o. g. Analysen.

Ergebnisse Über die Dauer der Kultivierung von Samenproben zeigten sich gegenüber 0h nach 4h keine wesentlichen Veränderungen hinsichtlich Motilität und DNA-Integrität, wohl aber nach 24h. Bei der

Untersuchung der Kryotoleranz zeigte sich in der Gruppe der motilitätsbedingt kryointoleranten Samenproben eine deutliche Erhöhung der DNA-Fragmentierung.

Zusammenfassung Es zeigt sich, dass über den reproduktionsbiologisch wichtigen Zeitraum von 4h die Spermienintegrität gewährleistet ist. Zudem weisen Samenproben eine individuelle Kryotoleranz hinsichtlich Motilität und DNA-Stabilität auf, sodass die Etablierung schonenderer Verfahren eine Verbesserung des ART-Outcomes bewirken kann.

P09

The PD-1/PD-L1 immune evasion axis in the male genital tract

A. Buchen¹, W. Peng², N. Novak², G. Kristiansen³, J.-P. Allam¹

¹Andrologie; ²Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie; ³Institut für Pathologie, Universitätsklinikum Bonn, Deutschland

Introduction Since recently, immune checkpoint inhibitors such as anti-PD-1 and anti-PD-L1 are used for adjuvant treatment in melanoma patients with curative intent. Thus, the question of fertility protection has been emerged as only little is known about the effect of this therapy on male fertility, the expression of PD-1 and PD-L1 in the male germinal epithelium and on male sperm.

Methods Thus, we investigated the expression of PD-1 and PD-L1 in human testis and sperms. 117 semen samples were analysed with flow cytometry (FACS). Five testis samples were stained by immunohistochemistry. Further we used immunofluorescence to locate PD-1 expression on sperms.

Results We could detect a significant expression of PD-1 on sperm by flow cytometry and immunofluorescence. PD-L1 could not be determined by the above-mentioned methods. By immunofluorescence we identified a significant expression of PD-1 on the head, postacrosomal segment, mid piece and flagellum. Furthermore, Leydig cells of the testis expressed PD-1, while there was no clear expression in the germinal epithelium. PD-L1 could not be detected in immunohistochemistry. Moreover, we analysed the relation between the PD-1 expression and standardized spermogram-parameters and inflammation markers.

Thereby, we detected an inverse correlation between PD-1 and motility as well as vitality. In view of inflammation parameters of the ejaculate, no correlation could be made between PD-1 expression and peroxidase, IL-6 and ROS. However, a significant inverse correlation could be drawn from the PD-1 expression on sperm to citrate in the ejaculate, which would be lowered in the state of prostatitis.

Conclusion The preliminary results of our study indicate that PD-1 is not only expressed in the testis, but also on sperms. Particularly in view of the testicular Leydig-cells, adverse events during PD-1 and PD-L1 inhibition therapy could impact male fertility.

■ Endometrium, Endometriose, Myome, Fertilitätschirurgie

P10

Proteomsignatur von Patientinnen mit wiederholtem Implantationsversagen

D. Baston-Büst¹, G. Poschmann², K. Stühler², J.-S. Krüssel¹, A. Bielfeld¹

¹Frauenklinik, UniKiD, Düsseldorf, Uniklinik Düsseldorf; ²Biologisch Medizinisches Forschungszentrum (BMFZ), Molecular Proteomics Laboratory (MPL), Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf, Deutschland

Fragestellung Die endometriale Rezeptivität ist eine entscheidende Voraussetzung für eine erfolgreiche embryonale Implantation. Kommerzielle Testverfahren geben Aufschluss über den Grad der Dezidualisierung des Endometriums unter dem Einfluss von Progesteron auf RNA-Ebene. Einige Studien haben allerdings gezeigt, dass Patientinnen mit wiederholtem Implantationsversagen (RIF) nicht durch die bisherige Testung der Rezeptivität erfasst werden [Macklon, Fertil Steril, 2017; Koot et al., Sci Rep, 2016], sondern RIF als eigenständige Pathologie zu werten sei.

Ziel Die finale Genexpression wird zudem durch post-transkriptionelle und post-translationale Veränderungen beeinflusst, somit fokussiert sich die folgende Studie auf die Analyse der Proteine im Endometrium zum Zeitpunkt der erwarteten Implantation, um Unterschiede zwischen RIF-Patientinnen und fertilen Frauen zu identifizieren. Durch die genauere Kenntnis der Proteomsignatur könnten neue Therapien zur Steigerung der Schwangerschaftsrate entwickelt werden.

Angewandte Methoden Biopsien (RIF; n = 6 vs. fertile Individuen, n = 10), Proteinlyse, tryptischer Verdau, Flüssigchromatographie, Massenspektrometrie, Auswertung mit MaxQuant Software.

Fazit Die bislang innerhalb von Implantations- und Rezeptivitäts-Studien unbekannten Proteine Epiplakin (EPPK1) und *Bcl-2-associated transcription factor 1* (BCLAF1) waren in den Biopsien der RIF-Patientinnen stärker vertreten als in den Proben fertiler Kontrollen. Prothymosin α (PTMA) fand sich seltener bei RIF. Die Entität RIF scheint daher nicht alleine mit einem temporären, über die Progesteron-Exposition definierten Rezeptivitätsstatus erfasst werden zu können, wie es auch für das Transkriptom berichtet wurde [Macklon, Fertil Steril, 2017]. Zum ersten Mal konnten wir zeigen, dass sich die Korrelation der Proteinintensitäten zwischen RIF und fertil signifikant unterscheidet. Die Proteine der RIF-Patientinnen sind sehr viel enger gefasst (Pearsons Korrelationskoeffizient 0,95; 0,92–0,97) als die von fertilen Individuen (Pearsons Korrelationskoeffizient 0,88; 0,78–0,96), was dafür spricht, dass fertile Individuen eine größere Variation an Proteinen aufweisen, die die embryo-materiale Kommunikation auf molekularer Ebene

sichern. Die fehlende Bandbreite mag einer der Gründe für die wiederholt ausbleibende embryonale Implantation bei RIF-Patientinnen trotz Transfer morphologisch idealer Embryonen sein.

■ Erektile Dysfunktion und Ejakulationsstörungen

P11

Ejaculatory disorders in case of pharmacological BPH treatment – Novel insights by time-lapse recordings

M. Seidensticker¹, S. Tasch¹, B. Exintaris², R. Middendorff¹

¹Institut für Anatomie und Zellbiologie, Justus-Liebig-Universität, Giessen, Deutschland; ²Drug Discovery Biology, Monash University, Melbourne, Australien

Benign prostate hyperplasia (BPH) is a very common and bothersome disease of the prostate affecting nearly every male, especially with age. While the exact mechanism of the development of BPH is unclear, different classes of drugs relieve symptoms. The most frequently prescribed class of drugs are α 1-blockers (e.g. tamsulosin) which reduce the tension in muscular structures of the prostate, especially stromal smooth muscle cells (SMCs). Treatment often results in severe side-effects like abnormal ejaculation, ultimately leading to discontinuation of therapy.

In a previous work, we distinguished two different functional and architectural components of the prostate: the secretory glands and excretory ducts. The prostate ducts were recently described as the most relevant structure for the release of the fluid towards the urethra while the prostate glands produce the fluid. A different arrangement of SMCs around the prostate ducts compared to single glands shows architectural varieties. Also, the single glands contract spontaneously whereas the ducts are quiescent and only contract in response to external stimuli.

In this study, we visualized and compared different BPH drugs (α 1-blockers, PDE5 inhibitors and β 3-agonists) in the individual prostatic structures to predict and avoid ejaculatory disorders.

For this, the tissue was exposed to the drug of interest in an established time-lapse imaging approach. Afterwards, noradrenaline (NA), the key mediator for the emission phase of ejaculation, was added to the tissue. Thus, emission phase was simulated under the influence of BPH drugs.

Single prostate glands treated with tamsulosin were unaffected in spontaneous contractions, whereas PDE5 inhibitors significantly decreased contractility. Noradrenergic stimulation of glandular contractions however, was inhibited in the presence of tamsulosin, but unaffected in the presence of PDE5 inhibitors.

In prostatic ducts, PDE5 inhibitors did not affect NA-induced contractions, whereas tam-

sulosin blocked NA-induced contractions. These differentiated results were compared with those using mirabegron (beta3-agonist) and alfuzosin (alpha1-blocker).

Generally, our approach allows to reveal different drug effects in the prostatic structures. From a clinical point of view, our study revealed that PDE5 inhibitors might only affect the mixture of prostate secretions in the single glands, whereas tamsulosin has an impressive direct negative impact on the emission phase.

P12

Welchen Nutzen können Oxytocin-Agonisten im Zusammenhang mit Ejakulationsstörungen haben?

B. Stadler^{1,2}, B. Exintaris², M. Whittaker², S. Tasch¹, R. Middendorff¹

¹Institut für Anatomie und Zellbiologie, Justus-Liebig-Universität, Giessen, Deutschland; ²Monash Institute of Pharmaceutical Sciences, Melbourne, Australien

20–30 % der Männer haben oder hatten Ejakulationsstörungen unterschiedlichster Genese. Die noch unreifen Spermien des Hodens erlangen ihre Befruchtungsfähigkeit während des Transports durch den Nebenhoden, in dessen distalsten Teil sie gesammelt und durch starke Kontraktionen in der Emissionsphase ausgestoßen werden. Oftmals war und ist hierbei der Fokus auf Noradrenalin, als Transmitter des Sympathikus, aber auch Oxytocin wurde bereits in den 1970er-Jahren in Zusammenhang mit Ejakulationsmenge gebracht. In dieser Studie wurde der kontraktile Einfluss von Oxytocin auf definierte Abschnitte des Nebenhodens der Ratte (je $n \geq 6$) mittels Videomikroskopie untersucht und mit der Reaktion auf Noradrenalin verglichen, um Aufschlüsse über deren therapeutischen Nutzen zu gewinnen. Dabei galt besonderes Augenmerk dem letzten Abschnitt des Nebenhodenschwanzes (S19) und dem Übergang zum *Ductus deferens* (DDPe), da hier die gereiften Spermien bis zu ihrem Ausstoß im Zuge des Ejakulationsprozesses gelagert werden. In dieser Studie wurden adulte (über 6 Wochen alte Ratten) mit Spermien gefüllten Nebenhoden mit postnatalen (6 Tage alte Ratten) ohne das Vorhandensein von Spermien verglichen.

S19 und DDPe der adulten Ratten zeigten sehr starke Reaktionen auf die Zugabe von Oxytocin (0,5 μ M), und in einigen Fällen fielen diese sogar stärker aus als auf die Zugabe von Noradrenalin (10 μ M). Dabei zeigten proximale (für Transport und Reifung zuständige) Abschnitte des Nebenhodenganges keine signifikanten Reaktionen auf Oxytocin, sondern nur auf Noradrenalin. Im postnatalen Nebenhoden fanden sich nur im distalsten Teil Kontraktionssteigerungen auf Oxytocin, die deutlich geringer waren als auf Noradrenalin.

Somit wirkt Oxytocin selektiv im ejakulationsrelevanten Anteil des Nebenhodens geschlechtsreifer Ratten. Momentan von uns getestete neusynthetisierte Oxytocin-Agonisten und -Antagonisten könnten attraktive

Therapiemöglichkeiten bei Ejakulationsstörungen darstellen und wären sogar als Mittel zur Kontrazeption beim Mann denkbar.

P13

Chronische Penisschmerzen – eine Psychopathie?

B. Schwindl

Urologie, Kliniken Nordoberpfalz AG, Weiden, Deutschland

Hinter dem chronischen (mehr als 6 Monate anhaltenden) Penisschmerz-Syndrom verbirgt sich mannigfaltige Genese (organisch, psychisch bis hin zur artifiziellen Störung); weitere Bezeichnungen wie Urethral-Syndrom des Mannes, chronisches Beckenboden-Syndrom (CPPS) etc. sind Ausdruck des oft unklaren Ursprungs.

Begleitende Erektionsstörungen, Ejakulationsbeschwerden mit Vermeidungsstrategie haben auch Auswirkung auf die Fertilität. Antibiotische Stoßtherapie steht zumeist am Anfang des Krankheitsbildes. Häufiger Einsatz von Antibiotika führt zu Kollateralschäden und Reduktion der Spermienqualität.

In Ermangelung eines aktuellen Standards (EAU-Leitlinien 2014) für das chronische Geschehen – im Gegensatz zu akuten Erkrankungen – wird ein, in unserer andrologischen Sprechstunde gängiger, diagnostischer und therapeutischer Algorithmus aufgezeigt. Allgemein- und Sexual-Anamnese und exakte Befunderhebung schaffen eine Vertrauensbasis. Ein Entzündungs-/Keimnachweis gelingt in der modifizierten 4-Gläserprobe oft nicht (u. a. Anaerobier, Viren). Die Sonographie des Penis, der Urethra (mit Gel), der Prostata und des Unterbauchs sind durch Uroflowmetrie, retrograder Urethrographie, Zystoskopie und MRT von Becken-Abdomen zu ergänzen. Organische Ursachen sind Infektion, inkl. STI, Harnröhren-Striktur, -Divertikel, IPP, ausstrahlender Schmerzen durch Erkrankungen der proximalen Harnröhre etc. Tumorausschluss ist oberstes Gebot und dem Patienten klar zu vermitteln. Dennoch werden auch nach moderner Bildgebung, bakteriologischer und viraler, endokriner, immunologischer, genetischer und epigenetischer Diagnostik idiopathische Verlaufsformen resultieren. Differentialdiagnostik und konzertierte Therapie im Team unter bedarfsweisem Hinzuziehen von Neurologe, Psychiater, Psychologe, Proktologe, Dermatologe, Schmerztherapeut etc.) sind hilfreich. Aggravation, psychische Fixierung und Stigmatisierung gilt es zu verhindern. Psychisch stützende Gesprächsführung bei wechselnder Beschwerdeintensität und potentieller Selbstheilung beugt Engrammierung vor. Realistische Zielsetzung beugt (häufigem) Arztwechsel der zeitintensiven Patienten vor. Neben schulmedizinischer Therapie (Externa, Instillation, Lokalanästhesie, Antiphlogistika, Analgetika, SSRI, Alpha-Blocker, Phytotherapie, ESWT, Elektrotherapie, Muskelrelaxation, Yoga, Psychotherapie, Coping-Strategien, selten Botox-Injektion) stehen ganzheitliche Therapie-Ansätze zur Verfügung. Über allem steht das Gebot des *nilhil nocere*.

■ Genetik in der Reproduktionsmedizin und Endokrinologie

P14

Analysis of 62 genes associated with meiotic arrest in a cohort of 61 highly selected men

M. J. Wyrwoll¹, A. Pilatz², D. Fietz³, R. Wabschke¹, C. Krallmann⁴, S. Kliesch⁴, F. Tüttelmann¹

¹Institute of Human Genetics, University of Münster;

²Clinic for Urology, Pediatric Urology and Andrology;

³Institute of Veterinary Anatomy, Histology and Embryology, Justus-Liebig-University, Giessen; ⁴Centre of Reproductive Medicine and Andrology, Department of Clinical and Surgical Andrology, University Hospital Münster, Deutschland

Infertility is observed in men with a frequency of about 7%. By revealing the cause of a man's infertility, which currently often remains unclear, counselling for the couple can be improved. Azoospermia is the most severe form of male infertility, with a complete absence of spermatozoa in the ejaculate. Some of the men choose to undergo testicular biopsy for testicular sperm extraction (TESE). The tissue is examined histologically, revealing meiotic arrest (MeiA) in about 2–10% of cases. After excluding chromosomal aberrations and Y-chromosomal microdeletions, a monogenic cause is suspected. Many genes have been described to be associated with MeiA. However, besides *TEX11*, evidence is low for many of them, i.e. clinical validity is lacking.

We performed whole exome sequencing (WES) in 61 men who attended the Centre of Reproductive Medicine and Andrology (CeRA, Münster) or the Clinic for Urology, Pediatric Urology and Andrology, Giessen, for couple infertility. All had complete bilateral MeiA and negative sperm retrieval results in TESE procedures. Known causes for infertility in the patient's history as well as aberrations of the karyotype and the Y-chromosomal AZF regions were excluded in advance. The data obtained by WES were screened for rare coding variants (maximum allele frequency [MAF] < 1% in gnomAD) in 62 genes that have been reported to be associated with MeiA.

We identified 9 men with possibly causal variants in the X-chromosomal gene *TEX11*, representing 14.8%. Four men had likely biallelic variants in the autosomal-recessive gene *TEX14* (6.6%). Three men had homozygous nonsense-variants in *MIAP*. One patient each was found carrying likely biallelic variants in *MSH5*, *STAG3*, *SYCE1* and *SYCP2*, respectively. Taken together, under the assumption of pathogenicity of the detected variants, we were able to reveal the cause for MeiA in 20 of the 61 patients, representing 32.7% of cases.

Our data strengthen evidence for *TEX11*, *TEX14*, *MIAP*, *MSH5*, *STAG3*, *SYCE1* and *SYCP2*, to be associated with MeiA. We suggest including validated genes in a diagnostic panel analysis, preferably before TESE, to assess chances for successful sperm retrieval.

The role of the other genes in the pathogenesis of MeiA currently remains unclear.

Grants: This work was carried out within the frame of the DFG Clinical Research Unit “Male Germ Cells: From Genes to Function” (CRU 326).

P15

Eine Kostenanalyse zur Aneuploidieuntersuchung von Eizellen durch Polkörperbiopsie im Kontext der assistierten Reproduktion

K. Neumann, G. Griesinger
Universitäres Kinderwunschzentrum Lübeck,
Deutschland

Hintergrund Die ESTEEM-Studie zeigte, dass eine Aneuploidieuntersuchung (PID-A) von Eizellen durch Polkörperbiopsie und *array comparative genomic hybridization* (aCGH-) Diagnostik im Rahmen einer assistierten Reproduktion bei Frauen im Alter von 36 bis 40 Jahren die Lebendgeburt rate nicht steigert, jedoch die Anzahl der Behandlungszyklen mit Embryoübertragung und Abortrisiko verringert.

Methode Es wurde ein entscheidungsanalytisches Modell basierend auf Daten der ESTEEM-Studie erstellt, und drei Kosten-szenarien einer assistierten Reproduktion in Deutschland (gesetzlich versichert [GKV] = Selbstbehalt 50 % der EBM-Kosten; privat versichert [PKV] = Abrechnung basierend auf Gebührenordnung für Ärzte (GOÄ); privat versichert [einfacher GOÄ-Faktor] Abrechnung GOÄ mit einfachem Faktor) auf Kosteneffektivität (Kosten pro Lebendgeburt), Kosten- und Effektschwellenwerte und Kosten pro verhindertem Abort untersucht.

Ergebnisse PID-A erhöht die Kosten pro Lebendgeburt in allen drei Szenarien (GKV: +308 %; PKV: +49 %; einfacher GOÄ-Faktor: +89 %). Eine Schwellenwertanalyse zeigt eine erhebliche Diskrepanz zwischen den Kosten einer aCGH-Polkörperdiagnostik von im Mittel EUR 5801,- und den für eine Kosteneffektivität theoretisch maximal zulässigen Kosten für die genetische Diagnostik (GKV: EUR 561,-, PKV: EUR 1037,-, einfacher GOÄ-Faktor: EUR 743,-). Die inkrementellen Kosten pro verhindertem Abort betragen rund EUR 70.000–75.000 zusätzlich in allen Kostenszenarien.

Schlussfolgerung Die Aneuploidieuntersuchung von Eizellen durch Polkörperbiopsie und *array comparative genomic hybridization* (aCGH) im Rahmen einer assistierten Reproduktion ist unter Kosten-Wirksamkeits-Aspekten nicht empfehlenswert.

P16

Molecular markers of ageing in sex chromosome aneuploidies

S. Laurentino¹, E. Pohl², S. Muschal¹, S. Kliesch¹, M. Zitzmann¹, J. Rohayem¹, J. Gromoll¹
¹Centrum für Reproduktionsmedizin und Andrologie;
²Institut für Humangenetik, Universität Münster, Deutschland

Introduction Molecular markers of ageing, such as telomere length and “epigenetic” age, are useful for the study of biological ageing and the aspects influencing it, such as genetic determinants. The most common sex chromosome aneuploidy, Klinefelter syndrome (KS; 47,XXY), is characterized amongst other features by increased morbidity and mortality and a reduced life span. Although other chromosomal aneuploidies have been suggested to influence biological ageing, little is known about ageing in sex chromosome aneuploidies. We hypothesize that men with KS might display accelerated biological ageing, therefore the aim of this study was to investigate molecular signs of ageing in men with KS and compare them with men with 46,XX testicular disorder of sex development (46,XX DSD) and euploid male and female controls.

Material and Methods We studied two markers of ageing, namely relative telomere length (by quantitative PCR) and age-related DNA methylation changes (by pyrosequencing) in men with KS (n = 266), 46,XX DSD (n = 29), XY male controls (n = 189) and XX female controls (n = 50).

Results There was no influence of karyotype on the progression of age-associated DNA methylation patterns. Individuals with KS aged < 25 years presented significantly longer telomeres compared to the other groups studied. This difference in telomere length, however, disappeared in subsequent age groups. We found no difference in telomere length in the 46,XX DSD samples when compared to male and female euploid controls.

Conclusion Klinefelter syndrome is associated with normal epigenetic age progression. However, younger KS individuals have longer telomere length in adolescence, followed by accelerated telomere length attrition during young adulthood, which results in normal telomere length in subsequent life. Whether this phase of accelerated telomere loss in early adult life has long term health consequences remains to be elucidated.

Grants: Supported by the DFG projects CRU326 and GR 1547

P17

Microdeletions in infertile, azoospermic patients with meiotic arrest or Sertoli cell only phenotype

R. Wabschke¹, A. Röpké¹, M. Wyrwoll¹, S. Kliesch², F. Tüttelmann¹
¹Institut für Humangenetik; ²Abteilung für Klinische und Operative Andrologie, Centrum für Reproduktionsmedizin und Andrologie (CeRA), Universitätsklinikum Münster, Deutschland

Up to 15% of all couples are affected by infertility and male factors contribute in up to 50%. Semen analysis reveals ~ 12% of men suffering from azoospermia and the (genetic) origins are not understood sufficiently.

We retrospectively selected unexplained azoospermic patients attending the CeRA, Münster. All men underwent a testicular biopsy with the aim of sperm extraction (TESE).

We performed array-Comparative Genomic Hybridization (CGH, Agilent platform) in 194 highly selected patients with complete, bilateral Sertoli cell only (SCO) phenotype and 37 patients with meiotic arrest. Part of the currently analysed data of SCO patients has been published previously [Tüttelmann et al, PLoS one, 2011]. Array-CGH detects sub-microscopic imbalanced structural chromosomal (copy number) variation (CNV). The patients' results were compared with data from 21 men with normal semen parameters.

We currently focussed on deletions affecting genes. First, we applied quality criteria to allow for the reliable distinction of hetero- vs. homozygous deletions. Deletions also found in controls were excluded, resulting in 4 homozygous, 336 heterozygous and 5 hemizygous (X-chromosomal) deletions. We then prioritised genes predominantly expressed in the testis. We further used an internal candidate gene list and carried out a Reactome overrepresentation analysis. Out of the remaining 15 candidates, we here report our 3 highest prioritized genes. One man carried a homozygous deletion of *SYCE1*, which encodes a protein important for the formation of the synaptonemal complex during meiosis. Mutations have previously been reported to cause meiotic arrest in men and premature ovarian insufficiency (POI) in women. *MLH3* was deleted in one man heterozygously. *MLH3* encodes a mismatch repair protein interacting with *MLH1* and is essential for recombination and chiasmata separation during meiosis. We also detected one heterozygous deletion of *SLX4*. *SLX4* is important for the repair of DNA lesions.

Since CNV calling from whole-exome sequencing (WES) datasets is not yet reliable, this dataset will be a valuable resource especially in synergy with the WES data produced in parallel in the same men. Specifically, this will allow detection of compound heterozygosity for sequence variation and deletions.

Grants: This work was carried out within the frame of the DFG Clinical Research Unit “Male Germ Cells: from Genes to Function” (CRU 326).

P18

Defining the genetic causes of male infertility using flies as model organism

L. M. Cauchi^{1, 2}, K. Hartmann², B. J. Houston¹, L. Nagirnaja³, K. I. Aston⁴, D. F. Conrad⁴, R. Burke¹, M. K. O'Bryan¹, D. Fietz²
¹School of Biological Sciences, Monash University, Clayton, Australia; ²Institut für Veterinär Anatomie, Histologie und Embryologie, Justus-Liebig-Universität Giessen, Deutschland; ³Oregon National Primate Research Center, Oregon Health & Sciences University, Oregon, USA; ⁴Andrology and IVF Laboratory, University of Utah School of Medicine, Utah, USA

Male infertility affects 7% of men in developed countries. Due to the use of highly sensitive sequencing techniques, such as whole exome sequencing, infertility causing mutations have recently come in to focus in

reproductive medicine. Analysis of mutations is essential, as assisted reproductive technologies (ARTs) can bypass genetically-caused infertility. For this reason, known fertility genes need to be screened for, before making use of ART. Data also indicates that male infertility is a 'canary in the coalmine' for general health in men. Over 15,000 genes are estimated to be involved in male fertility, and infertility if mutated. Individually, these mutations are rare within the population, making confirmation of causality difficult. Model organisms, such as the fly, can be used to validate clinically relevant mutations quickly and cheaply. To this end, *Drosophila melanogaster* was used to carry out rapid functional characterisation of candidate infertility-causing genes discovered by whole exome sequencing of infertile men.

In this study, 15 UAS-RNA interference lines for the *Drosophila* orthologues of 10 different human infertility candidate genes were crossed to GAL4 lines that target expression to the germline (*nanos-GAL4*) and somatic (*trafficjam-GAL4*) cells of the fly testis. Males were crossed to wildtype females to determine the effect on male fertility. The *Drosophila* orthologue of Zinc Finger RNA Binding Protein 2 (*ZFR2*), a gene of unknown function, caused infertility when knocked down in somatic and germ cells.

To examine *ZFR2* expression in the human, we studied testis biopsies from men diagnosed with obstructive or non-obstructive azoospermia. Histological evaluation revealed normal spermatogenesis (NSP) or spermatogenic impairment such as Sertoli cell only syndrome (SCO).

ZFR2 expression was measured at the mRNA level using RT-PCR, and protein level, using immunohistochemistry. In NSP, it was expressed in somatic peritubular myoid and Sertoli cells, and in germ cells from spermatogonia up to early primary spermatocytes. These results are consistent with results in the fly model. We therefore propose *ZFR2* mutation as a potential cause of human male infertility. Using SCO samples, we demonstrated the preserved qualitative expression of *ZFR2* on mRNA and protein levels in somatic cells. Quantitative analysis and experiments on different pathological manifestations are pending to further investigate *ZFR2* involvement on male infertility development.

■ Hypogonadismus

P19

Stabilisierung der GFR für bis zu 7 Jahre Beobachtungszeit bei hypogonadalen Männern unter Testosteron-Langzeittherapie (TTh) im Vergleich zu unbehandelten Kontrollpatienten

K. S. Haider¹, A. Haider¹, X. Xu²

¹Praxis Dr. Haider, Bremerhaven, Deutschland;

²Department of Epidemiology & Biostatistics, College Station, Texas A&M School of Public Health, Texas, USA

Einführung Hypogonadismus wurde 2018 zu den AUA- (American Urological Association-) Leitlinien mit 31 Punkten hinzugefügt. Keiner dieser Punkte bezog sich auf die Nierenfunktion.

Material und Methoden Wir berichten über 776 symptomatische hypogonadale Männer aus einer laufenden Registerstudie, die 2004 startete, in der regelmäßig die GFR berechnet wird. 400 Männer haben einer Behandlung mit Testosteron Undecanoat (TU) 1000 mg/12 Wochen nach einem erstmaligen Intervall von 6 Wochen zugestimmt (T-Gruppe). 376 Männer haben sich gegen TTh entschieden und dienten als Kontrollpatienten (CTRL). Langzeitänderungen der GFR und des Testosteronspiegels (T-Level) wurden in beiden Gruppen verglichen. Ein gemischtes Effektivmodell für wiederholte Messungen, welches für Alter, Gewicht, Bauchumfang, Blutdruck, Nüchtern-Blutzucker, Lipiden und Lebensqualität bereinigt wurde, half bei der Untersuchung des natürlichen Zusammenhangs zwischen GFR und T-Level. GFR wurde anhand der MDRD-Formel berechnet.

Ergebnisse Mittleres Follow-up: 84 Monate. Baseline-Alter: 58 Jahre in T-Gruppe, 64 Jahre in CTRL. Baseline-T-Level: 9,7 nmol/L in beiden Gruppen ($p = 0,841$).

Im Vergleich zu CTRL, die einen etwas rapideren Abfall in sowohl T-Level als auch GFR erfuhr, verblieben sowohl T-Level als auch GFR in der T-Gruppe relativ stabil über den gesamten Beobachtungszeitraum. Das gemischte Effektivmodell zeigt, dass für 1 nmol/L Anstieg des Serum T-Levels die GFR nach Bereinigung der Störfaktoren um 0,308 ml/min/1,73 m² anstieg ($p = 0,005$).

T-Gruppe: 16 (3,9 %) Todesfälle

CTRL: (18,8 Todesfälle, 70 (17,8 %) Herzinfarkte und 59 (15 %) Schlaganfälle.

Schlussfolgerungen Langzeitbehandlung mit Testosteron bei hypogonadalen Männern stabilisiert die GFR trotz fortschreitendem Alter. Bei unbehandelten Kontrollpatienten verschlechterte sich die GFR.

P20

Remission von Typ-2-Diabetes (T2DM) bei 51 von 152 hypogonadalen Männern unter Langzeittherapie mit Testosteron: klinische Beobachtungen aus einer urologischen Registerstudie

K. S. Haider¹, A. Haider¹, M. Abufarha²

¹Praxis Dr. Haider, Bremerhaven, Deutschland;

²Dasman Diabetes Institute, Kuwait

Einleitung Nach Diabetes- und Adipositas-Guidelines der ADA 2018 und der AACE/ACE 2016 soll bei adipösen Männern und Diabetikern das Vorliegen eines Hypogonadismus überprüft werden. Wir hatten im Vorfeld 3 Fallberichte über die Remission von T2DM unter Testosteronbehandlung publiziert.

Material und Methoden In einer seit 2004 in einer urologischen Praxis laufenden Registerstudie bei hypogonadalen Männern haben

ca. 1/3 T2DM. 152 erhalten Testosteron-Undecanoat 1000 mg alle 3 Monate, 172 entschieden sich gegen diese Behandlung. Diabetes-Patienten werden in Zusammenarbeit mit einem Diabetes-Zentrum ausgewertet.

Ergebnisse Bei 51 von 152 Patienten (Anfangsalter: 61 Jahre) konnten alle Diabetes-Medikationen abgesetzt werden, ohne dass der konstant unterhalb von 6,5 % befindliche HbA_{1c}-Wert sich wieder erhöhte.

Der durchschnittliche HbA_{1c} fiel von $8,6 \pm 1,0$ % auf $5,5 \pm 0,2$ % bei der letzten Messung, Nüchtern-glukose von $7,8 \pm 1,2$ auf $5,4 \pm 0,1$ mmol/l. HOMA-IR fiel von $9,8 \pm 2,7$ auf $2,0 \pm 0,5$. Das durchschnittliche Gewicht fiel von $112,9 \pm 13,2$ auf $90,2 \pm 7,4$ kg, der Bauchumfang von $110,7 \pm 7,6$ auf $97,8 \pm 4,6$ cm.

Alle Patienten waren anfangs auf orale Antidiabetika eingestellt (Metformin). 17 Patienten waren auf Insulin bei einer durchschnittlichen Dosis von $25,3 \pm 5,9$ IE/d eingestellt. Die durchschnittliche Beobachtungszeit betrug 124 ± 237 Monate ($10,3 \pm 1,9$ Jahre). Die Durchschnittszeit bis zum Absetzen der Diabetes-Medikation betrug 107 Monate (8,9 Jahre).

Ein Patient wurde mit Prostatakarzinom diagnostiziert und bekam nach Absetzen der Testosteronbehandlung T2DM. Nach Wiederaufnahme der Testosterontherapie trat eine Remission des T2DM nach 48 Monaten ein.

Die Adhärenz bezüglich Testosteron betrug 100 %, da alle Injektionen in der urologischen Praxis verabreicht und dokumentiert wurden.

Schlussfolgerungen Langzeitbehandlung mit Testosteron bei hypogonadalen Männern mit T2DM führte in 33,6 % der Fälle zu einer Remission von T2DM.

P21

Verbesserung des Blutdrucks in hypogonadalen Männern unter Testosteron-Langzeittherapie im Vergleich zu unbehandelten Kontrollpatienten: 6471 Patienten-jahre klinischer Erfahrung

A. Haider¹, K. S. Haider¹, A. Traish²

¹Praxis Dr. Haider, Bremerhaven, Deutschland;

²Department of Biochemistry and Department of Urology, Boston University School of Medicine, Boston, MA, USA

Einleitung Hypogonadismus wurde 2018 zu den AUA-Leitlinien mit 31 Punkten hinzugefügt. Hiervon beziehen sich 3 auf kardiovaskuläre Faktoren. In einer laufenden Registerstudie wurden kardiovaskuläre Parameter bei behandelten und unbehandelten Patienten über bis zu 12 Jahre kontrolliert.

Material und Methoden Wir berichten über 805 symptomatische hypogonadale Männer aus einer laufenden Registerstudie, die 2004 startete. 412 Männer haben einer Behandlung mit Testosteron Undecanoat (TU) 1000 mg/12 Wochen nach einem erst-

maligen Intervall von 6 Wochen zugestimmt (T-Gruppe). 393 Männer haben sich gegen die Therapie entschieden und dienten als Kontrollpatienten (CTRL). Die Unterschiede über die Beobachtungszeit wurden anhand eines gemischten Effektsmodells für wiederholte Messungen verglichen, welches für Alter, Gewicht, Bauchumfang, Blutdruck, Nüchtern-Blutzucker, Lipiden und Lebensqualität an der Baseline bereinigt wurde.

Ergebnisse Mittleres (medianes) Follow-up: T-Gruppe 8 ± 3 (8), CTRL 8 ± 2 (9) Jahre. Gesamtbeobachtungszeit: T-Gruppe 3309, CTRL 3162 Jahre. Baseline-Alter 58 ± 7 (T-Gruppe) und 64 ± 5 Jahre (CTRL).

Antihypertensiva: 52,7 % (T-Gruppe) vs. 46,7 % (CTRL).

Statingebrauch: 43,6 % (T-Gruppe) vs. 55,7 % (CTRL).

Systolischer Blutdruck sank um 23,6 $\pm$ 0,7 mmHg (T-Gruppe) vs. stieg um 7,7 $\pm$ 0,8 mmHg (CTRL) in 10 Jahren.

BMI sank um $6,0 \pm 0,1$ kg/m² (T-Gruppe) vs. stieg um $1,1 \pm 0,2$ kg/m² (CTRL).

T-Gruppe: Keine Herzinfarkte oder Schlaganfälle

CTRL: 59 Herzinfarkte und 52 Schlaganfälle.

Schlussfolgerungen Langzeit-Testosterontherapie bei hypogonadalen Männern verbessert den Blutdruck trotz des steigenden Alters. Bei unbehandelten Kontrollpatienten verschlechterte sich der Blutdruck. BMI und Bauchumfang erhöhten sich bei den Kontrollen und sanken bei den behandelten Patienten.

P22

Nachhaltiger Gewichtsverlust bei hypogonadalen Männern mit Typ-2-Diabetes (T2DM) unter Langzeitbehandlung mit Testosteron: Real-World-Erfahrungen aus einer urologischen Registerstudie

A. Haider¹, K. S. Haider¹, M. Abdul-Ghan²

¹Praxis Dr. Haider, Bremerhaven, Deutschland;

²UT Health, Graduate School of Biomedical Sciences, San Antonio, USA

Einleitung und Fragestellung Die Prävalenz von Hypogonadismus bei adipösen Männern und Diabetikern beträgt ca. 50 %. Wir untersuchten den Einfluss der Testosteronbehandlung auf anthropometrische Parameter.

Material und Methoden Von 324 hypogonadalen Männern mit T2DM in einer urologischen Registerstudie erhalten 152 Testosteron-Undecanoat 1000 mg alle 3 Monate (T-Gruppe), 172 entschieden sich gegen diese Behandlung (CTRL). Gewicht und Bauchumfang wurden 2–4mal jährlich gemessen. 10-Jahresdaten wurden analysiert.

Ergebnisse Mittlere und mediane Beobachtungszeit: 7,9 bzw. 9 Jahre. Mittleres Alter: T-Gruppe: $61,8 \pm 5,1$ Jahre, CTRL: $63,6 \pm 4,9$ Jahre.

T-Gruppe: 88,2 % waren adipös, 11,2 % übergewichtig, 1 % normalgewichtig. Das Gewicht

nahm progressiv von $113,6 \pm 14,1$ um $21,4 \pm 0,5$ kg nach 10 Jahren ab. Der Gewichtsverlust betrug $18,8 \pm 0,4$ %. CTRL: 71,5 % waren adipös, 25 % übergewichtig, 3,5 % normalgewichtig. Das Gewicht nahm von $101,8 \pm 13,0$ kg um $4,8 \pm 0,4$ kg zu. Die Gewichtszunahme betrug $5,5 \pm 0,3$ %.

T-Gruppe: der Bauchumfang fiel progressiv von $114,4 \pm 12,9$ um $12,8 \pm 0,4$ cm. CTRL: der Bauchumfang nahm von $116,9 \pm 13,5$ um $5,6 \pm 0,4$ cm zu.

T-Gruppe: der BMI fiel von $36,3 \pm 4,5$ um $6,9 \pm 0,2$ kg/m² nach 10 Jahren. CTRL: der BMI nahm von $33,3 \pm 5,3$ um $1,5 \pm 0,1$ kg/m² zu.

In der T-Gruppe fiel die Waist:Height-Ratio von $0,65 \pm 0,07$ um $0,07 \pm 0,00$. CTRL: die Waist:Height-Ratio stieg von $0,66 \pm 0,08$ um $0,03 \pm 0,00$.

T-Gruppe: der Visceral-Adiposity-Index (VAI) fiel von $5,2 \pm 2,9$ um $2,5 \pm 0,2$. CTRL: VAI stieg von $5,0 \pm 2,5$ um $2,5 \pm 0,2$.

Bei keinem Patienten in der T-Gruppe wurde eine erneute Gewichtszunahme beobachtet.

Alle Änderungen waren statistisch signifikant ($p < 0,0001$). Alle Injektionen wurden in der Praxis verabreicht und dokumentiert. Die Adhärenz betrug 100 %.

Schlussfolgerungen Langzeitbehandlung mit Testosteron bei hypogonadalen, überwiegend adipösen Männern mit T2DM verbesserte alle anthropometrischen Parameter nachhaltig im Vergleich zu einer unbehandelten Kontrollgruppe.

■ Infertilität

P23

Die Leihmutterschaft als Option zur Kinderwunscherfüllung in einem EU-Land mit entsprechender Gesetzgebung: Ein kritischer Überblick unserer Erfahrung in Griechenland

I. Zervomanolakis¹, E. Nikitos², K. Agapitou², E. Nikolopoulou¹, A. Dimou¹, S. Kallerg², M. Mpotzak², C. Makri², K. Diamantopoulou², D. Pappa², A. Spyrou², T. Mantzavinos²

¹SFS Southeastern Fertility Solutions, Marousi, Athen; ²Institute of Life, IASO Klinik, Marousi, Athen, Griechenland

Fragestellung Aufgrund der Gesetzgebung ist die Leihmutterschaft aus medizinischer Indikation als Option zur Kinderwunscherfüllung auch für ausländische Paare in Griechenland möglich. Ziel unserer retrospektiven Studie ist die Darstellung des Ablaufs und der Behandlungsergebnisse.

Methodik In einer retrospektiven Studie wurde Google Analytics Solutions (Google Inc, 2017) als analytische Methode verwendet, um die Besuche unserer Webseite aus Deutschland bzw. Österreich für 36 Monate zu dokumentieren. Des Weiteren wurden sowohl die Patientenfragen über E-Mail, Skype-Konferenzen bzw. Beratungsgesprächen als auch der Behandlungsausgang ausgewertet.

Ergebnis 28.639 Besucher haben die Webseite www.womancenter.gr über das Schlüsselwort „Leihmutterschaft“ aufgerufen. 409 Patientinnen zwischen 30 und 50 Jahren mit einem Durchschnittsalter von $40,06 \pm 5,76$ Jahren wurden in die Studie eingeschlossen. 52,6 % leiden an wiederholten erfolglosen IVF-Versuchen, während sich 8 % einer Hysterektomie unterzogen, 7,6 % an MRKH-Syndrom leiden und jeweils 6,3 % eine interistische Erkrankung bzw. Abortus habitus aufweisen. 6,8 % der Anfragen kamen aus homosexuellen Paaren. Nach einer Skype-Konferenz mit 27,4 % der Patientinnen wurde ein Beratungsgespräch mit 17,3 % von ihnen vor Ort durchgeführt. Infolgedessen entschieden sich 16,1 % für die Behandlung. Die Verfügbarkeit der Embryonen vor der Behandlung wurde durch die Follikelpunktion zur Gewinnung von eigenen oder fremden Eizellen und anschließender Embryonenkryokonservierung gewährleistet. Bei 56,1 % der Patientinnen wurde eine Follikelpunktion durchgeführt. Die Fertilisierungsrate lag bei 75,9 %. 22,7 % der Patientinnen wurden über eine Eizellspende behandelt, während bei 21,2 % der Patientinnen im Heimatland bereits eingefrorene Embryonen zur Verfügung standen. Bisher wurden 35 Embryotransfers durchgeführt, daraus resultierten 22 Einlingschwangerschaften, 4 Zwillingschwangerschaften, 17 Entbindungen bzw. 4 Aborte und eine extrauterine Schwangerschaft.

Schlussfolgerung Die Leihmutterschaft ist in den meisten EU-Ländern aus medizinischen, ethischen bzw. rechtlichen Gründen nicht erlaubt. Die Erfahrung in Griechenland zeigt, dass die Behandlung erfolgreich abgeschlossen werden kann, vorausgesetzt, die ausführliche Rechtsberatung zum Schutz aller beteiligten Seiten bzw. der Respekt vor der Würde der Leihmutter, des Kindes und der Eltern sind gewährleistet.

P24

Excessive unilateral proliferation of spermatogonia in a patient with non-obstructive azoospermia – adverse effect of clomiphene citrate pre-treatment?

D. Fietz¹, A. Pilatz², T. Diemer², F. Wagenlehner², M. Bergmann¹, H.-C. Schuppe²

¹Institut für Veterinär-Anatomie, -Histologie und -Embryologie; ²Klinik und Poliklinik für Urologie, Kinderurologie und Andrologie, Justus-Liebig-Universität, Giessen, Deutschland

Introduction Clomiphene citrate has been proposed as pre-treatment for infertile men with non-obstructive, testicular azoospermia (NOA) before surgery for testicular sperm extraction (TESE), especially when serum testosterone is low. Here, we report on a 33-year old azoospermic patient with a previous history of repeated “fresh” TESE (without histology) and clomiphene citrate therapy (50 mg/d over 6 months; “off-label”) before undergoing microscopically assisted, bilateral testicular biopsy (M-TESE).

Material and Methods For histological analysis, four biopsies of each testis were

fixed with Bouin's solution, processed and evaluated according to standard protocols. Protein detection for germ cells (MAGEA4), germ cell neoplasia in situ (PIAP), cell proliferation (Ki67) and apoptosis (TUNEL assay), and Sertoli cell markers (AR, vimentin, cytokeratin 18, zona occludin protein-1, claudin 11, and connexin 43) has been performed using specific antibodies.

Results Histological analysis revealed mixed atrophy of spermatogenesis, predominantly with arrest of spermatogenesis at the level of spermatogonia or primary spermatocytes, respectively. Foci with qualitatively preserved, however quantitatively severely reduced spermatogenesis up to elongated spermatids were found in the right testis. In the left testis, seminiferous tubules were massively packed with cells that proved to be normally differentiated spermatogonia (MAGEA4+, PIAP-) with slightly increased proliferative activity and a higher degree of apoptosis. Sertoli cells proved to be correctly matured (AR+, vimentin+, cytokeratin 18-). Formation of the blood-testis barrier (BTB), however, seemed to be disturbed, as the expression of ZO-1, claudin 11, and connexin 43 was absent or dislocated in the tubules with proliferation of spermatogonia or arrest at this level, compared to tubules with single remaining spermatocytes and a visible lumen, indicating functional BTB formation.

Conclusion To our knowledge this is the first observation of excessive, non-malignant proliferation of spermatogonia in a NOA patient. The unusual pathology is associated with impairment of Sertoli cell function that might have stirred massive proliferation and differentiation deficiency of spermatogonia. Although underlying molecular mechanisms remain to be elucidated, i.e. unilateral manifestation, we hypothesize that spermatogonial dysfunction is caused by the high-dose clomiphene citrate treatment preceding testicular biopsy.

P25

Reduced number of spermatogonia after gender affirming hormone therapy in transwomen testes

J. Dabel¹, J. Wistuba¹, S. Schlatt¹, S. Kliesch², N. Neuhaus¹, F. Schneider¹

¹Institute of Reproductive and Regenerative Biology;

²Department of Clinical and Surgical Andrology, Centre of Reproductive Medicine and Andrology, Münster, Deutschland

Gender affirming hormone therapy (GAHT) affects fertility of transwomen by suppressing spermatogenesis before testes are irreversibly removed during gender confirming surgery (GCS). Transwomen are therefore a target group for fertility preservation approaches and should ideally cryopreserve sperm prior to therapy. This option however, is often not used either due to missing awareness or to psychological problems. Thus, cryopreservation of testicular tissues containing spermatogonia at the time of GCS may be an alternative opportunity to rescue the fertil-

ity of transwomen. As limited information is available regarding the effects of the GAHT on spermatogonial numbers, this study aimed at quantification of spermatogonia in the testes of transwomen.

Testicular tissues of 25 transwomen in reproductive age between 16 and 40 years receiving comparable GAHT (10–12.5 mg CPA and estrogens) were selected. Tissues were obtained on the day of GCS from three clinics with different treatment regimens. In clinic A and B, GAHT was stopped 2–6 weeks prior to GCS, while patients of clinic C continued GAHT until surgery. Serum hormone measurements, and histological and morphometrical analyses of testicular tissues were performed. As controls, testicular tissues of adult men (n = 5; 35–48 yrs) and pre-/pubertal boys (n = 5; 5–14 yrs) were included. The germ cell differentiation status was assessed and based on MAGE A4 staining numbers of spermatogonia per mm³ (Spg/mm³) were determined in two independent cross-sections.

Histological evaluation revealed that none of the tissues contained elongated spermatids. Spermatogonia were detected in tissues of 23 transwomen and were the most advanced germ cell type in 17 patients. Tissues of pre-/pubertal boys and adult men contained 78.5 ± 32.5 Spg/mm³ ($\times 10^3$) and, respectively 80.6 ± 19.4 Spg/mm³ ($\times 10^3$). In transwomen significantly fewer spermatogonia ($P < 0.01$) were observed compared to the control groups with a mean of 25.1 ± 19.4 Spg/mm³ ($\times 10^3$). Spermatogonial numbers in transwomen correlated negatively with age ($P < 0.05$), serum LH ($P < 0.05$) and estradiol levels ($P < 0.05$). However, neither the duration of GAHT nor the dose of estrogens correlated with spermatogonial numbers.

As no sperm was found in transwomen tissues, cryopreservation of spermatogonia and in vitro differentiation of sperm is a promising alternative method to preserve the fertility of transwomen on the day of surgery.

P26

Does the *FSHB* c.-211G>T polymorphism impact the spermatogenic potential in infertile male patients?

S. Kaldewey¹, M. Schubert¹, L. Pérez Lanuza²,

H. Krenz³, M. Dugas³, S. Berres³, S. Kliesch¹,

J. Wistuba², J. Gromoll¹

¹Abteilung für Klinische und Operative Andrologie;

²Institut für Reproduktions- und Regenerationsbiologie, Centrum für Reproduktionsmedizin und Andrologie, Münster; ³Institut für Medizinische Informatik – Informatik für die personalisierte Medizin, Münster, Deutschland

Background In men, FSH is a key driver of spermatogenesis. It targets Sertoli cells (SC), which fulfil a crucial nursing role for maturing germ cells. A single nucleotide polymorphism (SNP) within the FSH beta promoter gene (rs10835638 *FSHB* c.-211 G > T) can lead to reduced promoter activity and impaired fertility parameters in patients with a T-allele (lowered sperm counts and reduced FSH values).

Aim The aim of this study was to determine the impact of the *FSHB* c.-211 G > T SNP on human spermatogenic efficiency. We therefore analysed testicular tissue of azoospermic patients homozygous for the T allele and compared results to patients homozygous for the G allele with respect to their spermatogenic potential.

Methods Applying strict selection criteria, we identified 62 patients homozygous for T or G, from our inhouse database, of whom testicular biopsies were available. Patients were subgrouped into obstructive azoospermia (OA) vs. non-obstructive (NOA) and adjusted according to their genotype: NOA: n = 26 with GG, n = 26 with TT; OA (serving as controls): n = 5 with GG, n = 5 with TT.

Immunohistochemistry was performed using the following antibodies: SOX9 for SC, MAGE A4 for spermatogonia and CREM for round spermatids (RS). Quantitative analyses of distinct germ cell types were performed and the Sertoli cell Workload (SCWL), giving the number of germ cells served for by one SC, was determined.

Results We did not find significant differences in SC-, spermatogonia- and RS-numbers between patients carrying the wildtype *FSHB* c.-211G > T(GG) and those with two T-alleles (TT) within the NOA cohort. Neither was the SCWL significantly different within the NOA group.

Conclusion This study indicates no quantitative effect of the *FSHB* polymorphism c. -211 G > T on spermatogenesis in azoospermic men. Patients carrying a T-allele show no reduced number of SC and no reduction of Sertoli Cell workload compared to G-allele carriers.

Since we did not observe differences of SC numbers with regard to the polymorphism variant, there is no hint that the *FSHB* TT variant results in a reduced SC proliferation during development.

Grants: This study was supported by the DFG "CRU326".

P27

Impact of testicular microlithiasis on spermatogenesis in patients with unexplained infertility

Y. Rassam¹, J. Gromoll¹, S. Kliesch¹, M. Schubert¹

Centrum für Reproduktionsmedizin und Andrologie, Münster, Deutschland

Introduction In infertile men testicular inhomogeneities including Testicular microlithiasis (TML) are frequent sonographic finding in 8.8% of cases TML was first described in 1987 as multiple 1 to 3 mm small echogenic foci in testicular ultrasound imaging. TML has been shown to be associated with an increased risk of infertility and testicular germ cell neoplasia. However, the association of TML and spermatogenesis in a high selected patient cohort auf unexplained infertility is currently unknown.

Aim To study the effect of TML on hormonal and sperm parameters in a large cohort

	Total (n 2904)	no microlithiasis (n 2696)	microlithiasis (n 208)	
	mean (min - max)	mean (min - max)	mean (min - max)	p-value
Age (y)	35.4 (18 - 63)	35.4 (18 - 63)	34.8 (20 - 60)	0.149
BMI	26.8 (16.3 - 50.9)	26.8 (16.3 - 50.9)	26.6 (19.7 - 42.8)	0.942
Bi-Test. Vol. (ml)	41.3 (16 - 119)	41.5 (16 - 119)	39.5 (17 - 92)	0.034
FSH (U/l)	5 (1 - 42.5)	5 (1 - 42.5)	5.5 (1 - 24.6)	0.029
LH (U/l)	3.4 (0.6 - 26.2)	3.4 (0.6 - 26.2)	3.6 (1 - 11.9)	0.204
Testosterone (nmol/l)	17 (8 - 101.9)	17 (8 - 101.9)	17.1 (8.4 - 59.9)	0.881
Sperm conc. (mill/ml)	32.7 (0.2 - 435.5)	33.3 (0.2 - 435.5)	24.9 (0.2 - 236.8)	0.001
Total sperm count (mill/ejac.)	118.9 (1 - 1654.9)	121.1 (1 - 1654.9)	91.9 (1.2 - 1136.6)	0.004
Sperm a-motility (%)	29.5 (0 - 72)	29.8 (0 - 72)	26.8 (0 - 67)	0.005
Sperm ab-motility (%)	43.6 (0 - 84)	43.8 (0 - 84)	41.4 (0 - 75)	0.051
Sperm normal morphology (%)	4.15 (0 - 50)	4.2 (0 - 50)	3.5 (0 - 11)	0.001
Glucosidase (mU/ejac.)	92.6 (0 - 488)	92.7 (0 - 488)	91 (11.4 - 285)	0.952
Fructose (μmol/ejac.)	65 (0 - 331.8)	64.9 (0 - 331.8)	66.6 (7.1 - 231)	0.383
Zinc (μmol/ejac.)	7.9 (0 - 67.1)	7.8 (0 - 67.1)	8.4 (0.7 - 31.3)	0.146

Table 2. Y. Rassam, et al. Biometric, hormonal and semen parameters of all patients, patients with no microlithiasis and patients with microlithiasis. The p-Value was assessed between patients with and without microlithiasis.

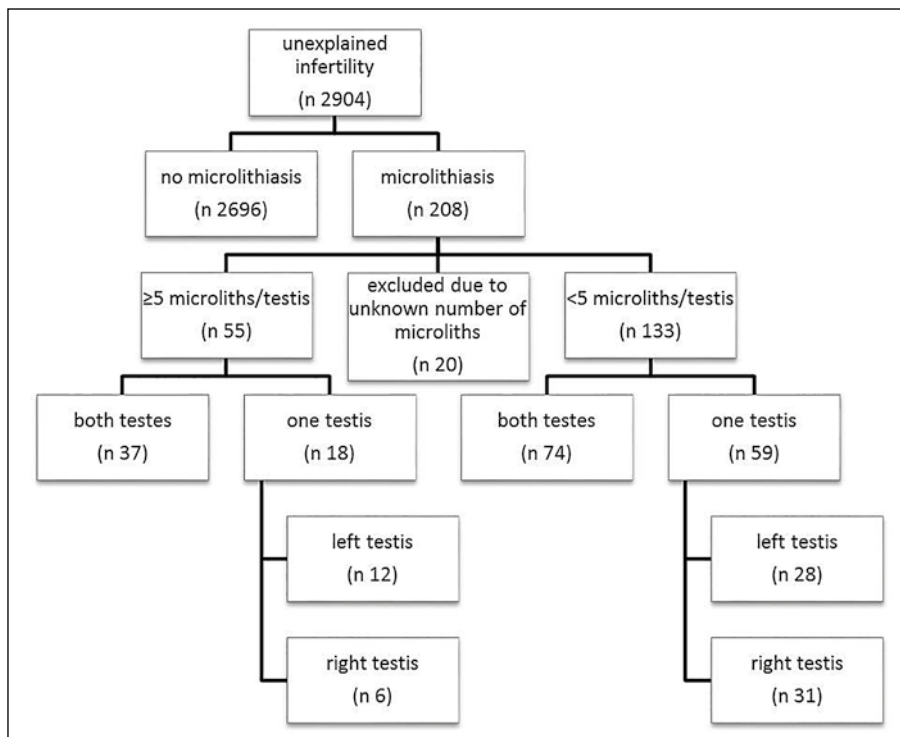


Figure 1. Y. Rassam, et al. Cohort of patients with unexplained infertility, building subgroup by microlithiasis and the number of microliths.

of infertile men without major factors for impaired fertility.

Methods We retrospectively analyzed our Database (Androbase®) over a period of 10 years for men with unexplained infertility. Strict inclusion and exclusion criteria were set to rule out other factors causing male infertility. In total 2904 patients matching the criteria were further sub-classified into two groups, 1st: ≥ 5 microliths/testis and 2nd: < 5 microliths/testis. Subsequently we performed a thorough analysis of reproductive parameters and their association with TML.

Results The overall incidence of TML in patients with unexplained infertility was 7.7%

(n = 208/2094). Patients with TML showed significant smaller testicular volume and elevated FSH level, lower sperm counts and motility compared to patients with unexplained infertility without TML (p < 0.05). Noteworthy, the impact on spermatogenesis was not associated with the number of microliths.

Conclusion In this highly selected cohort of infertile patients TML is significantly associated with impaired spermatogenesis. However, not the number of microliths, but rather the presence or absence of TML is a clinically important factor, which should be addressed by routine ultrasound examination (Tab. 2, Fig. 1)

Grants: Supported by the DFG CRU326

Klinische Embryologie

P28

Artificial oocyte activation and morphokinetics: a retrospective analysis of implanted embryos

N. L. Sandi-Monroy^{1, 2}, S. Musanovic^{1, 2}, D. Zhu^{1, 2}, N. Reeka^{1, 2}, K. Eibner^{1, 2}, J. Koglin^{1, 2}, K. Bundschu^{1, 3}, F. Gagsteiger^{1, 2}

¹Kinderwunsch MVZ Ulm GmbH, Ulm; ²NextClinics International GmbH, Aystetten; ³Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Universitätsklinikum Ulm, Deutschland

Introduction Several studies have shown that artificial oocyte activation (AOA) with calcium ionophore improves not only fertilization and embryo quality but also implantation and clinical pregnancy rates. A few studies have also reported that AOA does not have an impact on perinatal outcomes. However, no study so far has analysed, whether AOA may lead to a shift in morphokinetics. Therefore, the aim of this study was to analyse if artificial oocyte activation influences the morphokinetics of implanted embryos.

Methods ICSI cycles with known implantation data from August 2014 until December 2018 were retrospectively analysed. Implanted embryos without AOA (n = 229) were compared to implanted embryos after AOA (n = 8). Morphokinetic parameters were selected and compared among the groups, as well as embryo quality, fertilization, implantation and pregnancy rates. Patients underwent controlled ovarian stimulation and oocytes were exposed to a ready-to-use calcium ionophore solution (GM508 CultActive, Gynemed) immediately after ICSI. Embryos were cultured for up to 5 days in the EmbryoScope® or in a standard incubator and transferred with intravaginal ultrasound guidance. Statistical analyses were performed by Fisher's exact test or Mann Whitney test.

Results Female age and stimulation did not differ among the groups. As expected, the fertilization rate was significantly higher in the AOA group (62.44% vs 42.81%, $p < 0.0001$), as well as the number of good quality embryos for transfer (1.07 vs 0.683, $p = 0.0057$). Clinical pregnancy per transfer (31.58% vs 13.33%, $p = 0.0254$) and implantation rates (23.53% vs 10.71%, $p = 0.0402$) were significantly higher in the AOA group, although similar number of embryos were transferred (1.491 vs 1.4, $p = 0.3153$). No differences could be observed on abort rates (22.22% vs 25%, $p > 0.9999$). Regarding morphokinetics, no statistically significant differences could be observed in the 24 parameters analysed, which included: tPB, tPNa, tPNf, t2-t9, tM, tSB, tB, tEB, tHB, cc1, cc2, cc3, S2, S3, direct cleavage, interval from t5-t2 and time at 4-cell stage.

Conclusions This is the first report comparing morphokinetics of implanted embryos after AOA. These results suggest that the same algorithms for embryo selection may be used for AOA embryos. Although better implantation and clinical pregnancy rates could be obtained after AOA, its application should be carefully considered and patients thoroughly consulted.

■ Reproduktionsbiologie/ Grundlagenforschung/ Stammzellen

P29

Testicular morphogenesis in a novel xeno-organoid approach combining rat gonadal- and human germ cell-like cells *in vitro*

N. Rotte¹, E. M. MalP¹, J. Wistuba¹, R. Sandhowe-Klaverkamp¹, K. Hübner², H. Schöler², S. Schlatt¹
¹Centre of Reproductive Medicine and Andrology, Münster; ²Max-Planck-Institute for Molecular Biomedicine, Münster, Deutschland

The developing gonad is characterised by its bi-potential nature, capable of giving rise to either ovary or testis. Depending on the respective sex, the progenitors of the germline – the primordial germ cells (PGCs) – are directed into female or male differentiation. Thereby, their specification is precisely coordinated by the somatic microenvironment. Gaining insight into these processes in humans is limited and reliable model systems are needed. In the past years, several protocols have been established generating PGC-like cells (PGCLC) from pluripotent stem cells. We aimed at combining these cells with a surrogate testicular microenvironment using rat tissue, facilitating a xeno-organoid system for *in vitro* recapitulation of initial sex-specification.

Postnatal rat testes (5–8 days postpartum) were enzymatically digested and cultured on laminin-coated coverslips. After 24 hours of pre-culture, various human germline-like

cells were added: the seminoma TCam-2 cell line ($n = 4$ experiments), precursor cells prior to hPGCLC generation ($n=5$), and further differentiated hPGCLCs ($n = 2$) were used. Cells were co-cultured for 5–14 days. Dynamics during culture were evaluated by microscopy and time-lapse imaging. Further, cells were fixed with 4% PFA and analysed by immunofluorescent staining using SOX9 (Sertoli cells), SMA (peritubular cells), ZO-1 (tight junction proteins), OCT4 (pluripotency), SOX17/AP2γ (key germline factors) or recovered from the culture system by FACS and analysed by qPCR instead.

Testicular cells self-assembled into cord-like structures following defined morphologically distinct stages, building the basis for our xeno-organoid system. Addition of TCam-2 cells enhanced cord formation processes, indicating an interaction between both populations. Precursor experiments resulted in increased survival of those cells when cultured within the testicular environment, and additionally exhibited the maintenance of pluripotency factors such as OCT4 and NANOG. Combining the rat somatic testicular cell culture and hPGCLCs revealed an acceleration of cellular dynamics, hPGCLC colonisation primarily on Sertoli cell aggregates, and co-expression of relevant pluripotency and germline markers including OCT4, SOX17 and AP2γ. We hypothesise that specification towards the male fate within hPGCLC populations might occur and plan to perform further experiments, including transcriptome, proteome and methylome analysis for detailed cellular and molecular explorations.

P30

Vital labeling of potential naïve pluripotency in genetically engineered mice

I. Hyder¹, N. Selokar^{1, 2}, W. Garrels³, S. Klein¹, W. Kues¹
¹Friedrich-Loeffler-Institut, Neustadt, Deutschland; ²ICAR-Central Institute for Research on Buffaloes, Hisar, Indien; ³Medizinische Hochschule Hannover, Deutschland

Background Recent studies suggested that two distinct pluripotent states exist in mouse and human embryonic stem cells that are termed as naïve and primed. The naïve pluripotency constitutes a ground state with full differentiation potential, whereas the primed state has a restricted differentiation potential [Boroviak et al. Nat. Cell Biol 2014; 16: 516–28]. The preimplantation epiblast represents a naïve pluripotent state, whereas the post-implantation epiblast reaches a primed state. Recently, it was shown that the expression of particular classes of endogenous retrovirus (ERV) mirror the naïve state in murine and human pluripotent cells [Wang et al. Nat Protoc 2016; 11: 327–46].

Aims We hypothesized that the naïve pluripotency could be tagged *in vivo* by a fluorescent reporter construct driven by the long terminal repeat (LTR) promoter of the human ERV7.

Methods To achieve this, the LTR7-GFP construct in a Sleeping Beauty (SB) transposon together with the SB transposase vector were co-injected into the cytoplasm of murine zygotes. The zygotes were transferred to surrogate animals, and subsequently the newborn mice were genotyped. A total of four founder transgenic animals were identified and used to establish stable lines. Expression of the LTR7-GFP was restricted to a subpopulation of the inner cell mass of late murine blastocysts. Additionally, expression of the reporter could be reactivated by reprogramming of fetal fibroblasts to induced pluripotent stem (iPS) cells. In somatic cells, no reporter expression was detected by fluorescence microscopy and RT-PCR. Thus the vital reporter labels a subpopulation of pluripotent cells *in vivo* and *in vitro*. Currently, additional experiments are ongoing to characterize this subpopulation in detail.

Conclusions This mouse model can be used to understand the development of pluripotency during early ontogenesis, and may provide insights into the regulation of pluripotency especially by temporal divergence in expression patterns of various endogenous retroviruses.

Acknowledgments This work was supported by the Indian Council of Agricultural Research (ICAR) by an ICAR International Fellowship to I.Q., and a postdoctoral fellowship of the Department of Science and Technology (DST) of the Indian government to N.L.S. The first three authors contributed equally to this work.

P31

Functionally relevant connective tissue septa of the epididymis already exist before the first sperm reach the epididymis

D. Weiser, T. Hau, A. Reckmann, A. Mietens, R. Middendorff
Institut für Anatomie und Zellbiologie, Justus-Liebig-Universität, Gießen, Deutschland

The epididymis is anatomically divided in caput, corpus and cauda. Furthermore, connective tissue septa (CTS) subdivide the epididymis into different segments. The number of segments differs among species [urner et. al 2003, Thong et. al 2014, Stammler et al. 2015] In adults, these CTS are involved in creating a specific segmental interstitial milieu, which is important for the different steps during sperm maturation within the epididymal duct. In the first days after birth individual septa begin to develop and epithelial cells start differentiation (at postnatal day 14 in the rat). However, data about structural integrity and function of CTS as well as a segmental interstitial milieu before adulthood are missing.

The two- and three-dimensional structure of the epididymal CTS of 6-day-old – 40-day-old rats were visualized morphologically (serial sections, clarity). Interstitial and luminal perfusions with color tracer were used to characterize barrier functions.

The presence of CTS could be revealed at all investigated days in the postnatal rat epididymis. The known 19 segments in adult rats matched with the clearly visible 19 segments in postnatal rats. Infusion into the interstitial tissue resulted in a tracer distribution of one single segment restricted by sharp boundaries to the next non-infused segment. Luminal perfusion showed no restriction.

Our data showed CTS in the postnatal epididymis. These CTS created an interstitial segmental milieu already before the first sperm reach the epididymis or the differentiation of epithelial cells begins. This suggests an additional yet unknown function of the CTS during postnatal development.

P32

Cell-lineage specific effects of granulocyte macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) in mouse blastocysts

T. Pock¹, K. Schulte², S. Schlatt¹, M. Boiani², V. Nordhoff¹

¹Centre of Reproductive Medicine and Clinical Andrology, Münster; ²Zentrale Tierexperimentelle Einrichtung, Münster; ³Max-Planck-Institute for Molecular Biomedicine, Münster, Deutschland

Granulocyte macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) is a cytokine influencing the maternal-fetal interface and supporting placental development in mouse and human. It is expressed in epithelial cells of the endometrium under regulation of estrogens. GM-CSF supplemented in an embryo culture medium leads to an increased survival of embryos up to week 12, especially in women with previous miscarriages. 68 female mice (B6C3F1, 5–0 weeks old) were superovulated by injection of 5 IU PMSG and 10 IU hCG and mated to males (C57BL/6J). Zygotes were isolated on day 0.5 *post coitum*, pooled and randomly allocated to KSOM(aa) with 1–0 ng/ml or without GM-CSF. Medium refreshment was applied on day 2.5. A total of 715 blastocysts were fixed and subjected to immunohistochemical staining. Markers of the three cell lineages trophoblast (CDX2), epiblast (NANOG) and primitive endoderm (SOX17) enabled selective scoring of absolute cell numbers. 604 blastocysts were eligible for scoring. Total blastocyst cell numbers changed significantly between KSOM(aa) with 0, 2 and 5 g/mL mouse GM-CSF and between 2 and 5 g/mL and 20 ng/mL ($p < 0.005$; mean values: 0 ng/mL mGM-CSF: 80.2 ± 18.8 ; 1 ng/mL: 84.5 ± 15.7 ; 2 ng/mL: 90.9 ± 16.7 ; 5 ng/mL: 91.4 ± 13.5 ; 10 ng/mL: 86.1 ± 14.9 ; 20 ng/mL: 76.2 ± 17.1). Total cell numbers did not change in human GM-CSF groups. 519 of 604 embryos (86%) showed normal expression of specific cell lineage markers, whereas 85 of 604 embryos (14%) showed an ectopic expression of NANOG among CDX2-positive trophoblast cells at increasing concentrations of either mouse or human GM-CSF supplemented media. While embryos cultured in medium supplemented with mouse GM-CSF showed abnormalities only in the highest

concentrations (KSOM(aa)+10 ng/mL: 40%; +20 ng/mL: 39%), embryos cultured in human GM-CSF showed abnormalities already from the lowest concentration onwards (0 ng/mL: 0%; 1 ng/mL: 11%; 2 ng/mL: 15%; 5 ng/mL: 29%; 10 ng/mL: 24%; 20 ng/mL: 35%). GM-CSF has led to an ectopic expression of the pluripotency marker NANOG in trophoblast cells. This may be due to a change of identity because of a false reprogramming or due to a change of location because of false positioning. Either way, these errors could impact the pre- and post-implantation processes. A limitation is that this study was performed in a mouse model and would need further investigation in other animal models or experiments with human embryos to elucidate and validate the influence of GM-CSF.

P33

Placental morphology remains unaffected by addition of GM-CSF

L. Ogoniak¹, T. Pock¹, K. Schulte², S. Schlatt¹, M. Boiani², V. Nordhoff¹

¹Centre of Reproductive Medicine and Clinical Andrology, Münster; ²Zentrale Tierexperimentelle Einrichtung, Münster; ³Max-Planck-Institute for Molecular Biomedicine, Münster, Deutschland

The growth factor granulocyte macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) is used in ART for preimplantation embryo cultivation. Naturally, GM-CSF is produced by the endometrium during early gestation. Corresponding receptors can be found in the trophoblast cells of the embryo. Studies showed a GM-CSF-related improvement of implantation rates and embryo survival, especially in patients with previous miscarriages. After implantation trophoblast cells establish the connection to the maternal tissue for placenta development. The mature placenta consists of the fetal layers labyrinth and spongiotrophoblast and the maternal decidua. Our study examined if GM-CSF, used in the preimplantation phase, has an influence on placenta development.

Female mice were treated with hormones to induce superovulation. Zygotes were collected and cultivated up to the blastocyst stage in KSOM(aa) medium with different concentrations of GM-CSF (0, 2 and 10 ng/mL). After transfer to foster mothers, the developing fetuses and placentas were dissected at day 13.5 of gestation. Tissues were collected to measure fetus weight, fetus length and placenta weight. Placentas were embedded, cut and stained by PAS-reaction. Area and diameter of the single placenta layers were measured. In total 41 placentas and 6 sections per placenta were analyzed.

The fetus weight was significantly higher after culture in medium containing 2 ng/mL GM-CSF compared to the control medium (mean values: 0 ng/mL = 0.17g; 2 ng/mL = 0.21g; 10 ng/mL = 0.18g; p -value < 0.05). No difference was found between placenta weight in different concentrations of GM-CSF (mean values: 0 ng/mL = 0.115 g; 2 ng/mL = 0.122 g; 10 ng/mL = 0.122 g). Values for placenta layer areas and diameters were

similar in each group, as well as the whole placenta area (mean values: 0 ng/mL = 10.01mm² g; 2 ng/mL = 10.49mm² g; 10 ng/mL = 10.65mm² g) and diameter (mean values: 0 ng/mL = 2.05mm²; 2 ng/mL = 2.19mm² g; 10 ng/mL = 2.29mm²).

GM-CSF had an effect on embryo growth as fetus weight was higher when cultured in medium containing 2 ng/mL GM-CSF. However, placenta morphology was not affected by different concentrations of GM-CSF. The difference in fetal weight raises awareness for the use of growth factors in ART culture media. A limitation in this study is the use of an animal model. Still further studies should investigate the effect of new culture ingredients on fetal development.

P34

Loss of CCR2 inhibits the development of testicular inflammation and fibrosis in a murine model of experimental autoimmune orchitis – possible implications for activin A

A. Kepsch¹, W. Peng¹, T. Kracht¹, A. C. Kauerhof^{1,2}, E. Wahle¹, S. Bhushan¹, K. Loveland^{2,3}, A. Meinhardt^{1,3}, M. Hedger^{2,3}, M. Fijak¹

¹Institut für Anatomie und Zellbiologie, Justus-Liebig-Universität, Giessen, Deutschland; ²Department of Molecular & Translational Sciences, Monash University, Clayton; ³Centre for Reproductive Health, Hudson Institute of Medical Research, Clayton, Australia

Testicular biopsies (ca. 30%) from asymptomatic patients with impaired fertility demonstrates immune cell infiltration, loss of germ cells, thickening of the lamina propria and tubular fibrosis. Experimental autoimmune orchitis (EAO) is a rodent model of inflammation mimicking pathology observed in the human testis that can lead to infertility. The disease is characterized by the increase of pro-inflammatory mediators, particularly TNF, monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) and activin A, resulting in leukocytic infiltration, germ cell sloughing, fibrotic tissue remodeling and loss of organ integrity. Activin A, MCP-1 and its receptor CCR2 are involved in regulation of inflammation and fibrosis in various tissues. However, the role of activin A and MCP-1/CCR2 in testicular inflammation and fibrosis associated with autoimmunity are still unclear. Therefore, in this study, the influence of activin A and MCP-1/CCR2 axis during testicular inflammation and associated fibrotic response will be investigated.

EAO was induced in C57/BL6 (WT) and CCR2^{-/-} deficient (CCR2^{-/-}) mice. Adjuvant control and untreated mice were also included. In contrast to drastic destruction of testicular architecture in WT mice 50 days after EAO induction, the CCR2^{-/-} testes showed less organ damage and leukocytic infiltration, respectively. Consistent with histological observations *Il10*, *Tnf*, *Il1a* and *Inhba* mRNA as well as total collagen levels were reduced in CCR2^{-/-} EAO group as compared to WT EAO testis.

Moreover, in bone marrow derived macrophages (BMDM) – utilized as a surrogate of testicular macrophages – treated with activin A, the mRNA expression of fibrotic markers was analyzed by qRT-PCR. Our preliminary results indicate that activin A induced the expression of fibronectin and α -smooth muscle actin (α SMA) mRNA in BMDM. Furthermore, the influence of activin A on the expression of CCR2 was determined by immunoblot in BMDM. Our preliminary findings indicate an activin A dependent upregulation of CCR2 in BMDM. All observed activin A specific effects were abolished by the activin-binding protein follistatin.

Our initial data demonstrate that the MCP-1/CCR2 and its modulation by activin A might be involved in testicular inflammatory response and fibrotic remodeling during EAO.

P35

An AndroMiR landscape of adipogenesis

J. Jansen, T. Greither, H. M. Behre
Center for Reproductive Medicine and Andrology,
Martin-Luther-University Halle-Wittenberg, Halle
(Saale), Germany

Background Adipogenesis designates the differentiation process leading from undifferentiated mesenchymal stem cells (MSCs) to differentiated mature adipocytes. This differentiation can be inhibited by androgens, changing the stem cells fate to myoblasts or osteoblasts. Adipogenesis inhibition is mediated – among others – by microRNAs, which are small non-coding RNAs inhibiting the translation of their complementary target mRNAs. As the extent and impact of androgen-regulated miRNAs (AndroMiRs) during adipogenesis is still scarcely described, we aimed to fully elucidate androgen-regulated miRNAs inhibiting adipogenesis and elucidate candidate regulated target genes essential for the adipogenic process.

Methods Human pre-adipocytes from a patient with Simpson-Golabi-Behmel syndrome (SGBS cells) were cultured under adipogenic differentiation medium (ADM) with or without additional testosterone (100 nM) or dihydrotestosterone (DHT, 30 nM) stimulation. Samples were harvested on day 0, day 1, day 3 or day 9 of adipogenic differentiation and RNA isolated. MiRNA profiles were generated via next generation sequencing (NGS), and significantly differentially expressed miRNAs (DEGs) were further analyzed by quantitative real-time PCR. Additionally, putative target genes of DEGs were selected in silico by database analyses.

Results In NGS analyses, a significant number of DEGs could be detected comparing the different phases of adipogenesis to the control sample (day 1: eight DEGs, day 3: 24 DEGs; day 9: 13 DEGs). Analyzing the corresponding samples treated with androgens, we observed significant differences in the expression of miR-4485-3p, miR-194-5p, miR-30b-5p and miR-26b-3p (false detection rate [FDR] < 0.05). In quantitative real-time PCR analyses, a significant androgen-stimulated

upregulation of miR-194-5p (up to 10fold) and miR-4485-3p (up to 23fold) during the early phases of adipogenesis in comparison to the untreated control were detected. In silico identified target genes for miR-194-5p includes the adipogenesis regulator PPAR- γ and for miR-4485-3p/miR-4485-5p the fat mass and obesity related gene FTO and the adipogenesis marker APOL-6.

Conclusion The newly identified androgen-regulated miRNAs miR-194-5p and miR-4485-3p are involved in adipogenic differentiation of MSCs. These AndroMiRs are interesting targets for the evaluation of the complex pathophysiological interplay between a male hypogonadism and an increase in visceral adipose tissue.

P36

Adipogenesis-related microRNAs miR-148b and miR-214 are androgen-regulated

S. Moser, J. Jansen, M. Giebler, T. Greither,
H. M. Behre
Center for Reproductive Medicine and Andrology,
Martin-Luther-University Halle-Wittenberg, Halle
(Saale), Germany

Background During adipogenesis, an adipocyte differentiates from an undifferentiated mesenchymal stem cell. This process is coordinated and tightly regulated by a plethora of cellular effectors, one of the most influential are microRNAs. MicroRNAs are small non-coding RNAs capable of the translational inhibition of a large proportion of the transcriptome, therefore having a great impact on differentiation and final phenotype during cellular development. In previous studies we identified several candidate microRNAs which may be androgen-regulated during adipogenesis via microarray analyses. Therefore, in this project we aimed to determine the regulation of miR-148b and miR-214 by testosterone and dihydrotestosterone (DHT) and evaluate putative target genes of these microRNAs in the context of the adipogenic differentiation.

Methods Human pre-adipocytic SGBS (Simpson-Golabi-Behmel syndrome) cells were cultured with or without additional testosterone (100 nM) or dihydrotestosterone (DHT, 30 nM) stimulation in adipogenic differentiation medium (ADM). During adipogenic differentiation, cells were harvested on day 1, day 2, day 3, day 5, day 7, day 10 and day 14, respectively, and RNA was isolated via phenol/chloroform extraction. MiR-148b and miR-214 expression were analyzed by quantitative real-time PCR measurements. Putative target genes of both microRNAs were selected in silico by searches in the target database Targetscan.org.

Results miR-148b was significantly downregulated under androgen stimulation (testosterone 100 nM or DHT 30 nM) from day 2 to day 7 of adipogenic differentiation, with an up to 40fold downregulation on day 7. MiR-214 expression was also altered due to androgen stimulation in the early determination

phase of adipogenesis (day 2 and day 3), with an up to 6.4fold downregulation. Putative target genes of these microRNAs associated with adipogenesis and metabolism are Adiponectin receptor 2 (ADIPOR2), dipeptidyl peptidase 4 (DPP4), insulin-like growth factor 1 (IGF-1) and insulin receptor substrate 2 (IRS2).

Conclusion miR-148b and miR-214 expressions are inhibited by androgens during adipogenesis and subsequently several metabolic target genes are de-repressed, altering the course of differentiation towards myogenesis. Both microRNAs may be interesting candidates for the understanding of the effects of a low serum testosterone levels in hypogonadal males on the increase of the visceral fat mass.

P37

Analyzing the role of genes associated with infertility in early PGC development: combining human iPSC differentiation with genome editing

E. M. Mall¹, N. Rotte², J. Emich³, F. Tüttelmann³,
S. Schlatt², H. R. Schöler¹
¹Department for Cell and Developmental Biology,
Max-Planck-Institute for Molecular Biomedicine
Münster; ²Centre of Reproductive Medicine and
Andrology, Münster; ³Institute of Human Genetics,
Münster, Germany

Primordial germ cells (PGCs) are the earliest progenitors of the mammalian germline and thus the requisite cells for transmitting genetic and epigenetic information from one generation to the next. Several differentiation protocols have been established to derive early primordial germ cell-like cells (PGCLCs) from human pluripotent stem cells (hPSCs). These cells resemble migrating PGCs in terms of epigenetic and transcriptomic profiles. These precursors represent the best available model to mimic early human developmental processes *in vitro*, and are used to further our understanding in germ cell specification and underlying molecular pathways.

Aim of this study is to combine the PGCLC differentiation with genome editing to elucidate the role of genes associated with male infertility in early germ cell development.

We optimized existing PGCLC differentiation protocols to reproducibly derive PGCLCs from different hPSC lines. The derived cells exhibit a PGC-like gene expression, with persisting expression of pluripotency genes such as *OCT4* and *NANOG*, upregulation of early germline markers, such as *SOX17*, *BLIMP1*, *TFAP2c*, *c-KIT*, and *NANOS3*.

Within our clinical research unit, both clinical and genomic data of infertile patients are available and novel genetic causes are identified by utilizing genome-wide genetic analyses. Currently, more than 800 whole-exome datasets are available, mostly of infertile azoospermic men. Several interesting candidate genes have been prioritized through multiple levels of *in silico* evidence. From these, appropriate candidate genes have been selected

for a functional analysis in the PGCLC differentiation system.

Genetic mutations are introduced in human iPSCs using the CRISPR/Cas9 system in order to derive clonal line. We currently establish *NANOS3* knockout hiPSCs for proof of concept. Human iPSCs were transfected with CRISPR targeting plasmids co-expressing GFP and single GFP positive cells were seeded for clonal expansion. Batch PCR indicated presence of mutations and clonal lines are currently expanded and genotyped. Two to three defined clones per gene will be studied using our PGCLC differentiation protocol and will be analyzed *in depth* for potential differences in gene expression or methylation.

We propose that the combination of both technologies will be a valuable tool to better understand genetic causes and associated molecular pathways leading to impaired fertility.

P38

Benigne Prostatahyperplasie und PDE-Inhibitoren – neue Therapieoptionen durch Untersuchung des Zusammenhanges zwischen cGMP/PDE-Signalwegen und den Hormonspiegeln

M. A. Kuchta¹, M. Seidensticker¹, A.-C. Gronau¹, F. Wagenlehner², G. Schuler³, R. Middendorff¹

¹Institut für Anatomie und Zellbiologie; ²Klinik für Urologie, Kinderurologie und Andrologie; ³Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Groß- und Kleintiere, Justus-Liebig-Universität, Giessen, Deutschland

Mit zunehmendem Alter steigt das Risiko für Männer, eine benigne Prostatahyperplasie (BPH) zu entwickeln und ca. 80–90 % aller > 80-jährigen Männer sind betroffen. In der Übergangszone der Prostata kommt es dabei zu einem erhöhten Muskeltonus und einer unkontrollierten Zellproliferation, wobei die vergrößerte Prostata im Verlauf der Krankheit auf die Harnröhre drückt. Zwar sind die genauen Mechanismen für die Entwicklung der BPH unbekannt, es wird aber vermutet, dass die Sexualhormone bei der Regulierung eine wichtige Rolle spielen. Veränderungen der Hormonspiegel im Alter wurden beschrieben. Die Interaktion der Hormone mit den zyklischen Guanosinmonophosphat-(cGMP-) Signalwegen könnte bei der BPH-Entwicklung relevant sein, da diese eine Vielzahl von physiologischen Funktionen regulieren, wie z.B. die Relaxation von glatten Muskelzellen oder die Zellproliferation. Von großer Bedeutung sind dabei die cGMP-abhängigen Proteinkinasen (z.B. PKG I) und Phosphodiesterasen (PDEs). Frühere Studien unserer Arbeitsgruppe zeigten an Tiermodellen, dass Testosteronentzug zu einer erhöhten Expression von cGMP-Komponenten führt. Dieser Effekt scheint prostataspezifisch zu sein, da die Testosterondepletion keinen Einfluss auf die Expression der cGMP-Komponenten in anderen androgenabhängigen Organen wie Nebenhoden oder Penis hatte. Daher stellt sich die Frage, ob Testosteron

(und Estradiol) auch cGMP-Signalwege und die Entwicklung von BPH bei Männern beeinflussen. Dafür wurden humane Prostataproben von BPH-Patienten untersucht und die Hormonkonzentrationen im Serum und der Prostata selbst in einem Radioimmunoassay (RIA) bestimmt. Für die Untersuchung der Expression der cGMP-Komponenten (z. B. PDE5 und PKG I) wurden Proben mit verschiedenen Hormonwerten ausgewählt. Die Expression wurde mit Western Blot und RT-q-PCR analysiert. Von den cGMP-produzierenden Enzymen zeigte nach den aktuellen Ergebnissen die durch das natriuretische Peptid CNP aktivierbare Guanylylcyclase B (GC-B) die höchste Expression. Weiterhin ließ sich für die neben der PDE5 ebenfalls cGMP-abbauende PDE9 eine Hormonabhängigkeit ihrer Expression zeigen. Eine solche fand sich auch für den Androgenrezeptor und den Estrogenrezeptor 1. Die Daten legen nahe, dass zusätzlich zu dem PDE5-Inhibitor Tadalafil therapeutische Beeinflussungen der cGMP-produzierenden GC-B und der cGMP-abbauenden PDE9 attraktive, neue Therapieoptionen in der BPH-Behandlung darstellen können.

P39

Aussagekraft der NK-Zell-Differenzierung in der immunologischen Abklärung bei unerfülltem Kinderwunsch

M. Rakhmanov¹, C. Santjohanser², S. Völker², K. Hirv³, J. Krüsmann², N. Al-Kais², H.-G. Klein⁴, W. Würfel¹

¹Zentrum für Humangenetik und Laboratoriumsdiagnostik (MVZ), Forschung und Entwicklung, Martinsried; ²Kinderwunsch Centrum München; ³Zentrum für Humangenetik und Laboratoriumsdiagnostik (MVZ), Immunogenetik, Martinsried; ⁴Zentrum für Humangenetik und Laboratoriumsdiagnostik (MVZ), Martinsried, Deutschland

Natürliche Killer- (NK-) Zellen sind einer der wichtigsten Immunzellen während der frühen Schwangerschaft. Im ersten Trimenon der Schwangerschaft machen NK-Zellen ca. 70% der Leukozyten in der Plazenta aus. Deswegen hat die NK-Zell-Testung eine mehr als 20-jährige klinische Vorgeschichte. Die Bestimmung der NK-Zellen aus peripherem Blut bei Patientinnen mit wiederholten Fehlgeburten (*recurrent spontaneous abortion* [RSA]) wurde 1995 eingeführt. Laut einer in 2013 publizierten Umfrage, obwohl ca. 70 % der Reproduktionsmediziner immunologische Testungen vor der Behandlung von Paaren mit Unfruchtbarkeitsproblemen empfehlen, berücksichtigen nur noch 8–9 % der Kollegen tatsächlich NK-Zell-Testung bei habitueller Abortneigung und wiederholten Implantationsversagen. Da die genauen pathophysiologischen und immunologischen Zusammenhänge bisher nicht geklärt sind, besteht ein Bedarf für weitere Forschung und Entwicklung im Bereich der Reproduktionsimmunologie. In den Studien, die die Frequenz und Aktivität der NK-Zellen im Zusammenhang des Schwangerschaftserfolgs bei Patientinnen mit RSA oder Im-

plantationsversagen untersuchten, wurde die CD3^{neg}CD16^{pos}CD56^{pos} Gesamt-NK-Zellpopulation in Betracht gezogen. Im peripheren Blut sind ca. 90 % CD16^{pos}CD56^{pos} und ca. 10 % CD56^{hi} NK-Zellen, hingegen sind ca. 90 % der NK-Zellen CD56^{hi}-Zellen und der Rest ist CD16^{pos}CD56^{pos}-Zellen im Uterus. Die CD16^{pos}CD56^{pos} und CD56^{hi} NK-Zellen unterscheiden sich nicht nur phänotypisch, sondern auch funktionell: die CD16^{pos}CD56^{pos}-Zellen leisten vor allem zytotoxische Funktionen, während die CD56^{hi}-Zellen dagegen weniger zytotoxisch sind und hauptsächlich immunmodulatorische Funktionen durch die Sekretion von bestimmten Zytokinen (e.g. IFN γ und TNF α) und Chemokinen (e.g. CCL3 und CCL4) aufweisen. Es gibt Hinweise auf eine quantitative Assoziation zwischen Zellzahlen von NK-Zellen im Uterus (uNK) und NK-Zellen aus peripherem Blut (pbNK). Deswegen ist die Differenzierung der NK-Zell-Subpopulationen aus peripherem Blut und in den Biopaten des Endometriums ein sinnvoller Ansatz in der immunologischen Abklärung bei unerfülltem Kinderwunsch. Die Differenzierung von pbNK und uNK erlaubt einen Überblick über die Verteilung der NK-Zell-Subpopulationen im Rahmen der Kinderwunschbehandlung und ermöglicht es, eine Korrelation/Assoziation von bestimmten NK-Zell-Subpopulationen mit den zugrundeliegenden Fertilitätsproblemen festzustellen.

Varia

P40

Sexualverhalten ungarischer und deutscher MedizinstudentInnen mit Fokus auf den Einfluss neuer Medien

N. T. Stirenberg¹, K. M. Höppler¹, M. Kron², H. Schulwitz³, O. Takács³, M. Benyó³, J. E. Gschwend¹, K. Herkommer¹

¹Klinik und Poliklinik für Urologie, Universitätsklinikum rechts der Isar der TU München; ²Institut für Epidemiologie und Medizinische Biometrie, Ulm, Deutschland; ³Department of Urology, University of Debrecen MHSC, Debrecen, Ungarn

Fragestellung/Ziel In früheren Studien wurden vermehrt geschlechterspezifische Unterschiede (Frau vs. Mann) im Sexualverhalten untersucht, während das Ziel vorliegender Studie war, gleichgeschlechtliche Unterschiede (Frau vs. Frau; Mann vs. Mann) im Sexualverhalten von MedizinstudentInnen zweier verschiedener europäischer Länder mit Fokus auf den Einfluss neuer Medien zu untersuchen.

Methoden Von Januar 2017 bis Juni 2018 wurden MedizinstudentInnen im 5. Jahr aus Debrecen (Ungarn) und München (Deutschland) mittels anonymem Fragebogen zu sexuellen Erfahrung (Art des Geschlechtsverkehrs [GV], Sex Toys), sexueller Aktivität, Sexualleben und Pornokonsum befragt.

Ergebnisse 568 MedizinstudentInnen aus Debrecen (D-StudentInnen; n = 190) und

München (M-StudentenInnen; n = 378) wurden in die Analyse eingeschlossen, der Altersdurchschnitt war 24 Jahre.

Die Mehrzahl der Studentinnen bezeichnete sich als heterosexuell (D: 97,2 %, M: 91,7 %; bisexuell D: 2,8 %, M: 7,4 %). Der Großteil der Studentinnen hatte bereits erotische Bilder/Pornos konsumiert (D: 81,9 % vs. M: 75,8 %; p = 0,216). 23,3 % der D-Studentinnen im Vergleich zu 54,8 % der M-Studentinnen hatten bereits Sex Toys verwendet (p < 0,001). Analverkehr hatte bereits jede 5. D-Studentin (20,6 %) und jede 3. M-Studentin (36,1 %; p = 0,005). M-Studentinnen hatten wesentlich häufiger GV mit einer Frau verglichen mit D-Studentinnen (19,9 % vs. 5,8 %; p = 0,001). Die maximale Anzahl an Geschlechtspartnern zur selben Zeit war bei M-Studentinnen 5 und bei D-Studentinnen 2 (p < 0,001). D-Studentinnen kamen häufiger während des GV zum Orgasmus als M-Studentinnen (75,0 % vs. 60,0 %; p < 0,001).

Die Mehrzahl der männlichen Studenten bezeichnete sich als heterosexuell (D: 96,3 %, M: 92,5 %; homosexuell D: 3,7 %, M: 5,7 %). D-Studenten konsumierten doppelt so lange Pornos im Vergleich zu M-Studenten (D: 2,0 Std./Wo. vs. M: 1,0 Std./Wo.; p < 0,001). 28,8 % der D-Studenten und 38,6 % der M-Studenten hatten bereits Sex Toys verwendet. Mehr M-Studenten hatten bereits Analverkehr als D-Studenten (M: 40,9 % vs. D: 27,9 %; p = 0,049).

Fazit Deutsche Studierende haben mehr Erfahrung mit Analverkehr, Sex Toys und Geschlechtsverkehr mit mehreren Partnern im Vergleich zu ungarischen Studierenden. Dabei scheinen neue Medien insbesondere durch Pornographie einen großen Einfluss auf das Sexualleben junger Menschen zu haben. Besonders Jugendliche sollten auf die oft überzogenen Darstellungen im Internet aufmerksam gemacht werden und darüber, wie diese korrekt zu interpretieren sind.

P41

Serum Inhibin B but not Anti-Müllerian hormone correlates with spermatogonial numbers in transwomen

F. Schneider^{1, 2}, J. Dabe¹, R. Sandhove², S. Kliesch¹, S. Schlatt², N. Neuhaus²

¹Abteilung für Klinische und Operative Andrologie;

²Institut für Reproduktions- und Regenerationsbiologie, Centrum für Reproduktionsmedizin und Andrologie, Münster, Deutschland

Introduction Anti-Müllerian hormone (AMH) and Inhibin B are released by Sertoli cells. Both hormones are useful markers of Sertoli cell activity and testicular function. AMH secretion is specifically indicative of an immature Sertoli cell state. Identification of markers reflecting the presence of germ cells are of particular relevance in individuals undergoing gender confirming hormone therapy (GAHT), which has negative effects on spermatogenesis. This study therefore aimed at correlating AMH and Inhibin B serum levels with germ cell numbers in transwomen.

Material and Methods 22 transwomen with mean age of 27,95 yr from 3 clinics were included. Patients (n = 4) from clinic A stopped GAHT 4–6 weeks prior to surgery. In clinic B individuals (n = 14) stopped 2 weeks before and in clinic C individuals (n = 4) continued GAHT until surgery. As GAHT 10–12.5 mg of cyproterone acetate plus estrogens were taken. In questionnaires height, weight, age, kind of treatment and treatment duration were inquired. Serum LH, FSH, testosterone and estradiol were measured by AutoDelta. Inhibin B and AMH were measured by commercially available ELISAs. Cell quantification was conducted using a quantitative morphometric analysis. Two independent cross-sections of each patient were evaluated after performing MAGEA4 immunohistochemistry. Numbers of spermatogonia/mm³ testicular tissue were calculated.

Results Mean duration of treatment was 27.50 months (SD 14.95 months) and mean BMI was 24.12 (SD 4.51). Mean Inhibin B (101.5 pg/ml, min 9.5 pg/ml, max 300.6 pg/ml) and mean AMH (21.44 ng/ml, min 0.66 ng/ml, max 116.06 ng/ml) were not significantly different in regard to presurgical treatment strategy. Mean Inhibin B correlated significantly with age (*p < 0.1), FSH (*p < 0.1), testosterone (*p < 0.1) and SPG numbers (*p < 0.1). Patients with high Inhibin B levels showed higher spermatogonial numbers (mean 24,453 cells/mm³, SD 19,897 cells/mm³). Moreover, patients with high Inhibin B levels had low FSH (mean 6.20 U/l), low testosterone (mean 8.66 nmol/l, SD 8.4 nmol/l) levels and were younger. Serum AMH correlated with testosterone (*p < 0.1) and FSH (*p < 0.1). Patients with low AMH levels had high testosterone and FSH levels.

Conclusion Serum Inhibin B levels indicate the attending clinician that spermatogonia are still present in the testes of transwomen whereas AMH is not a reliable marker concerning the presence of germ cells. This could also be useful considering fertility preservation.

P42

Steigende Bereitschaft zur Embryonenspende und zur Freigabe von Vorkernstadien nach erfolgreicher Kinderwunschbehandlung

A. Eder, D. Gutknecht, M. Bals-Pratsch
profertilita Fachklinik für Reproduktionsmedizin,
Regensburg, Deutschland

Fragestellung Nach erfolgreicher Therapie und sicher abgeschlossener Familienplanung können Kinderwunschpaare ihre kryokonservierten planwidrigen Embryonen und Vorkernstadien vernichten lassen, unbefrischtet weiterlagern oder zur Weiterkultivierung und Embryonenspende freigeben, sofern der Zweck der weiteren Verwendung legal ist. Wie hat sich die Spendebereitschaft erfolgreich therapiierter Paare seit den Gerichtsprozessen gegen das Netzwerk Embryonenspende e.V. entwickelt?

Methodik Es wurden die Zeiträume 01.10.2013–30.04.2017 und 01.05.2017–01.09.2019 miteinander verglichen. Am 12.05.2017 erfolgte die Zustellung der Strafbefehle gegen den Vorstand des Netzwerks Embryonenspende mit dem Vorwurf des Verstoßes gegen § 1 Abs.1 Nr. 2 ESchG. Das Auftauen und Weiterkultivieren von Eizellen im Vorkernstadium sei einer Befruchtung gleichzusetzen. Seitdem erfolgten durch das Netzwerk keine Spenden mehr von Embryonen aus der Kultur freigegebener Vorkernstadien. Die Information über die Spendemöglichkeit erhielten die Paare bei Kündigung des Lagerungsvertrages und zunehmend auch aus den öffentlichen Medien.

Ergebnisse Von 01.10.2013–30.04.2017 (44 Monate) stellten sich 19 Paare zur Beratung in unserem Zentrum vor. Die monatliche Spendenhäufigkeit betrug 0,19 %.

Es wurden 9 Embryonen gespendet, 45 Vorkernstadien wurden zur Weiterkultivierung und Spende im Embryonalstadium freigegeben. Von 01.05.2017–01.09.2019 (28 Monate) stellten sich 22 Paare zur Beratung in unserem Zentrum vor. Die monatliche Spendenhäufigkeit betrug 0,28 %. Ebenfalls 9 Embryonen wurden gespendet, 27 Vorkernstadien werden auf Wunsch der Spenderpaare bis zur endgültigen juristischen Klärung kostenfrei gelagert. Die monatliche Spendenhäufigkeit ist gestiegen.

Schlussfolgerung Die steigende Bereitschaft zur Embryonenspende und zur Freigabe von Eizellen im Vorkernstadium nach erfolgreicher Kinderwunschbehandlung ist auf den zunehmenden Bekanntheitsgrad des Netzwerks Embryonenspende zurückzuführen. Die Berichterstattung der Medien über die Freisprüche durch das Amtsgericht Dillingen am 20.03.2018 und das Landgericht Augsburg am 13.12.2018 haben viele Spenderpaare verfolgt. Das Urteil in zweiter Instanz hat die Spende von Vorkernstadien als mit dem Embryonenschutzgesetz vereinbar erachtet und die Vorkernstadien mit planwidrig überzähligen Embryonen hinsichtlich einer Spende gleichgestellt. Das Urteil ist noch nicht rechtskräftig, die Revision ist bei dem Bayerischen Obersten Landesgericht anhängig.

P43

Einfluss gegengeschlechtlicher Hormontherapie bei Trans*Personen auf unterschiedliche Laborparameter

K. Feil¹, E. M. Birstmayr¹, B. Böttcher¹, K. Winkler-Crepaz², B. Toth¹

¹Universitätsklinik für gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin, Innsbruck; ²Universitätsklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe der Paracelsus Medizinischen Privatuniversität Salzburg, Österreich

Einleitung Eine gegengeschlechtliche Hormontherapie (CHT) stellt bei vielen Trans*Personen den Grundstein für ein Leben als Angehörige*r des Wunschgeschlechts dar. Hierfür werden unter anderem männliche und

weibliche Sexualsteroidoide eingesetzt, welche auch zu Nebenwirkungen führen können und Risiken beinhalten. Diese retrospektive Studie befasst sich mit der Konzentration an Gonadotropinen und Sexualsteroiden sowie Leberenzymen, Triglyzerid und Hämoglobin unter CHT. Ebenso wird der Body-Mass-Index im Verlauf erfasst.

Methoden Aus dem Kollektiv der Trans*Personen, welche sich zwischen 2005 und 2017 in unserer Behandlung befanden, konnten 84 Patient*innen (33 Transfrauen und 51 Transmänner) in die Studie eingeschlossen werden. Es erfolgte die Suppression der endogenen Hormonproduktion mittels GnRH Agonisten. Bei Trans*Frauen wurde zusätzlich Estradiol, bei Trans*Männern Testosteron verabreicht.

Neben der Erhebung demographischer Daten erfolgte eine retrospektive Datenanalyse sowohl der Hormonkonzentrationen als auch von metabolischen Parametern. LH, FSH, Testosteron, Östradiol, Leberenzyme, Triglyzeride, Hb und BMI wurden bei der ersten Visite und danach 3, 6, 12 und 24 Monate nach Beginn der Hormontherapie erhoben.

Resultate 61 % der eingeschlossenen Patienten waren Transmänner, das Alter bei Erstvorstellung betrug hier 20,9 Jahre. Die restlichen 39 % der inkludierten Patientinnen waren Transfrauen, das Alter bei Erstvorstellung lag mit 32,7 Jahren deutlich über dem der Transmänner.

LH und FSH fielen bei beiden Geschlechtern unmittelbar nach Beginn einer Therapie

mit GnRH-Analoga ab, allerdings nicht wie erwartet auf Werte unterhalb der Nachweisgrenzen.

Die Sexualsteroidoide zeigten im Verlauf eine schnelle Anpassung an die Referenzbereiche des Wunschgeschlechts. SHBG sank bei Transmännern signifikant, während Hämoglobin signifikant anstieg und sich dann im männlichen Normbereich befand.

Schlussfolgerungen In unserem Kollektiv zeigte sich ein Überwiegen der Vorstellungen junger Transmänner. Die Zielwerte der gegengeschlechtlichen Sexualsteroidoide konnten schnell erreicht werden. Weitere signifikante Veränderungen waren bei Transmännern im Bereich von SHBG und Hämoglobin nachweisbar.

Oral Presentations

■ Assistierte Reproduktion (IUI, IVF, ICSI)/Natürlicher und stimulierter Zyklus

OP1

IVF/ICSI im natürlichen Zyklus – eine Alternative für Paare mit un-erfülltem Kinderwunsch?

K. Glaß, A. Brückner, I. Trinkaus, J. Haußmann, M. Goeckenjan

Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe am Universitätsklinikum Carl-Gustav-Carus, Universitäts-Kinderwunschzentrum, Dresden, Deutschland

Auch ohne kontrollierte hormonelle Stimulation ist eine künstliche Befruchtung mit IVF/ICSI im natürlichen Zyklus (NC) möglich. Dazu erfolgt nach physiologischer Follikelreifung die operative Eizellgewinnung zumeist ohne Narkose. Die Follikelpunktion wird individuell an das Zyklusgeschehen der Frau adaptiert und anhand von Ultraschall- und Serumhormonkontrollen geplant. Der genaue Punktionszeitpunkt wird entweder nach Ovulationsinduktion mit hCG, GnRH-Agonist oder nach endogenem LH-Anstieg festgelegt.

Fragestellung Für welche Paare mit un-erfülltem Kinderwunsch ist die Follikelpunktion im NC eine sinnvolle Alternative zum stimulierten Zyklus?

Ziel Ziel der Studie ist eine differenzierte Abwägung der Chancen einer IVF/ICSI im NC in Abhängigkeit vom Alter der behandelten Frauen.

Methoden/Ergebnisse Im Universitäts-Kinderwunschzentrum Dresden wurden von 2013–2018 461 Follikelpunktionen im NC vorgenommen. Als Outcome-Parameter dieser Zyklen wurden Fertilisationsraten, Transferraten (ET-Rate) und klinischen Schwangerschaftsraten (SS-Rate) in Abhängigkeit des Alters der Frauen retrospektiv ausgewertet. Bei 182 Frauen mit einem durchschnittlichen Alter bei Punktion von $36,9 \pm 5,1$ J (25–49 J) wurden in 75,7 % der Punktionen Eizellen gewonnen. Im Rahmen einer detaillierten Auswertung wurden die ET- und SS-Rate in 3 Altersgruppen analysiert (Tab. 3).

Die ET- und SS-Raten zeigen einen signifikanten Unterschied zwischen jungen Frauen (Gr.I) und älteren Frauen ($p = 0,004$ zu Gr. II, $p = 0,0001$ zu Gr. III, Chi-Quadrat). Zwischen Gr. II und III zeigte sich kein signifikanter Unterschied ($p = 0,339$).

Fazit Auch mit IVF/ICSI im NC konnten in allen Altersgruppen Schwangerschaften eintreten. Die retrospektive Auswertung der NC-Zyklen zeigt, dass vor allem Frauen < 35 J. von der günstigen und wenig aufwändigen künstlichen Befruchtung im NC profitieren können. Die Entscheidung zum NC muss individuell getroffen werden. Hier-

für ist eine Aufklärung über die Methode im Vergleich zu einer möglichen IVF/ICSI-Behandlung nach Stimulation nötig. Dabei müssen die hohe Rate an Follikelpunktionen ohne Embryotransfer, altersangepasste SS-Raten und Behandlungszahl bis Schwangerschaftseintritt bei IVF/ICSI im NC mitberücksichtigt werden.

■ Ejakulat Qualität und Fertilität

OP2

Association of oxidative reduction potential and inflammatory sperm parameters

A. Buchen¹, Y.-G. Duan², W. S. Yeung², G. Haidl¹, J.-P. Allam¹

¹Andrologie, Universitätsklinikum Bonn, Deutschland; ²Key Laboratory of Fertility Regulation, Center of Assisted Reproduction and Embryology (CARE), The University of Hong Kong – Shenzhen Hospital (HKU-SZH), Shenzhen, China

Objective To investigate the association between oxydative reduction potential and inflammatory sperm parameters.

Methods Oxidative reduction potential (ORP) was detected by MiOXSYS system in ejaculate of subfertile men ($n = 189$) and correlated to sperm parameters associated with genital tract inflammation such as peroxidase, interleukin-6 (IL-6), citrate and alpha-glucosidase but also DNA-fragmentation as well as sperm parameters. Correlation with semen parameters was performed using SPSS software.

Results Significant inverse correlation could be detected between ORP and sperm count, motility, morphology and vitality. Moreover, a significant but weak correlation of ORP to IL-6 could be demonstrated while an inverse correlation to citrate and alpha-glucosidase was found. However, ejaculates with leukocytospermia (peroxidase > 106/ml) contained higher concentration of IL-6

Tabelle 3: K. Glaß, et al. Embryotransfer- und Schwangerschaftsraten bei IVF/ICSI im NC in Abhängigkeit vom Alter der Frauen, sowie mittlere Anzahl der NC-Zyklen bis zum Eintritt der Schwangerschaft.

Altersgruppen (n = Anzahl Follikelpunktionen)	Embryotransferrate pro Follikelpunktion	Schwangerschaftsrate	Anzahl der Zyklen bis Schwangerschafts-eintritt
Gruppe I (≤ 34 Jahre), n = 151	62/151 (41,1 %)	19/62 (30,6 %)	1,9 ± 1,3
Gruppe II (35–39 Jahre), n = 142	61/142 (43,0 %)	6/61 (9,8 %)	1,5 ± 0,8
Gruppe III (≥ 40 Jahre), n = 168	73/168 (43,5 %)	4/73 (5,5 %)	3,5 ± 1,7

but no difference was observed in respect to ORP values. Concerning DNA fragmentation and inverse correlation was detected to ORP and IL-6 while no association was demonstrated to gelatinolysis and 24-hour motility.

Conclusion Although ORP was associated to inflammatory parameters such as IL-6, ORP appear to be irrespective to leukocytospermia. As reported by others, ORP are associated with decreased sperm count, motility, morphology and vitality as well as DNA fragmentation.

■ Endometrium, Endometriose, Myome, Fertilitätschirurgie

OP3

A 3D culture system to study early stages of endometriosis

A. Stejskalova, L. Kiesel, M. Götze
Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Universitätsklinikum Münster, Deutschland

Endometriosis is a hormone-dependent disease in which the endometrial tissue grows outside the uterus. The endometriotic lesions are most frequently found on the fallopian tubes, ovaries and peritoneum, where they grow in synchrony with the menstrual cycle and can cause inflammation and tissue damage. Endometriosis affects up to 10% of females and can cause severe pain and, in some patients, infertility.

Currently, endometriosis remains poorly understood at the molecular level, partially due to the lack of reliable animal models, as the other naturally regularly menstruating animals are mostly primates. In this study, we developed an in vitro model of endometriotic lesions based on spheroids of primary endometriotic cells and cell lines, and used this to study the mechanism governing the early stages of endometriotic-lesion formation.

Spheroids enable paracrine signalling to take place and also contain hypoxic zones which, we hypothesize, mimic the hypoxic conditions of the menstrual phase. In addition, this model makes it easy to track individual cells and changes in migrational patterns in response to different stimuli over time.

While not all cell types do readily assemble into spheres, our initial results confirmed that both the endometriotic-lesion derived cell line 12Z and the stromal cell line ST-T1b form spheres. Interestingly, the ST-T1b cells form spheroids more rapidly compared with the 12Z cells and the spheroids are also denser after 4 days.

Our results further show that spheres formed from both these cell types have strong migratory and proteolytic activity when placed on collagen gels.

The 12Z cells migrated mostly as a sheet, which is characteristic of epithelial cells, with some cells at the periphery breaking from this pattern and migrating solitarily, which is a behavior characteristic of a more mesenchy-

mal phenotype. Spheroids formed from stromal, ST-T1b cells formed long, well-defined, processes and disintegrated the surrounding collagen. Overall, our data demonstrate that the 3D environment promotes cell behaviour that resembles the specific properties of endometrial and endometriotic cells more closely than a 2D culture system, and that the model is suitable for future studies on the endocrine regulation of endometriosis.

Grants: This study was funded by EU-H2020-MSCA-2015 project 691058 MOMENDO (to MG) and a WiRE fellowship of the WWU (to AS).

■ Erektile Dysfunktion und Ejakulationsstörungen

OP4

Sexuelle Dysfunktionen und Vasektomie

S. Hartmann¹, V. H. Meissner¹, S. Schiele¹, M. Kron², J. E. Gschwend¹, K. Herkommer¹
¹Klinik und Poliklinik für Urologie, Universitätsklinikum rechts der Isar, München; ²Institut für Epidemiologie und Medizinische Biometrie, Universität Ulm, Deutschland

Fragestellung/Ziel In früheren Studien wurde ein Zusammenhang zwischen Vasektomie und sexuellen Dysfunktionen festgestellt. Ob dies auch heute noch gültig ist, wurde an einem großen deutschen Kollektiv 45-jähriger Männer untersucht. Hierzu wurde die Inzidenz vier sexueller Dysfunktionen (Erektile Dysfunktion, Libidomangel, Ejaculatio praecox, Ejaculatio tarda) und deren Assoziation zum Vasektomiestatus untersucht.

Methoden Im Rahmen der PROBASE-Studie wurden zwischen April 2014 und April 2018 Männer u. a. zu deren sexuellen Dysfunktionen, Voroperationen, Sexualleben und Vorerkrankungen/Medikamente befragt. Das Kollektiv bestand aus heterosexuellen Männern ohne neurologische Begleiterkrankungen und Medikation, die einen nachgewiesenen Einfluss auf die sexuelle Funktion haben. Die Vasektomie wurde unter Einbezug der Zeit seit des Eingriffs in 4 Gruppen unterteilt (nein; ja, < 2 Jahre; ja, 2–5 Jahre; ja, > 5 Jahre). Mittels multipler logistischer Regression wurde die Vasektomie auf Assoziationen zu den 4 sexuellen Dysfunktionen untersucht.

Ergebnisse Von 23.055 45-jährigen Männern hatten 6,8 % bereits eine Vasektomie, die durchschnittlich 6,6 Jahre vor der Befragung durchgeführt wurde. Bei 13,9 % lag die Vasektomie < als 2 Jahre zurück, bei 38,8 % zwischen 2 und 5 Jahre und bei 47,4 % > 5 Jahre. 88,8 % lebten in einer Partnerschaft und 63,4 % hatten einen hohen Schulabschluss. 86,4 % waren in den letzten 3 Monaten sexuell aktiv und 49,1 % waren mit ihrem Sexualleben zufrieden.

Im Gesamtkollektiv gaben 27,1 % eine erektile Dysfunktion (bei Vasektomie: 17,4 %; $p < 0,0001$), 4,5 % einen Libidomangel (bei Vasektomie: 2,5 %; $p = 0,001$), 5,8 % eine

lebenslange bzw. erworbene Ejaculatio praecox (bei Vasektomie: 7,7 %; $p = 0,0006$) und 0,7 % eine Ejaculatio tarda an (bei Vasektomie: 0,4 %; $p < 0,0001$). Im finalen multiplen logistischen Modell war eine erektile Dysfunktion bei Männern mit Vasektomie seltener als bei Männern ohne Vasektomie ($p = 0,0013$) und eine Ejaculatio praecox häufiger ($p = 0,0020$).

Fazit 6,8 % der 45-jährigen Männer hatten in der Vergangenheit eine Vasektomie, die bei fast 50 % > 5 Jahre zurück lag. Es zeigte sich kein Zusammenhang zwischen einem Libidomangel oder einer Ejaculatio tarda und der Vasektomie. Eine erektile Dysfunktion lag seltener und eine Ejaculatio praecox häufiger bei vasektomierten Männern vor.

■ Hypogonadismus

OP5

Erektile Funktion bessert sich in adipösen hypogonadalen Männern bei bis zu 10 Jahren Behandlung und verschlechtert sich in unbehandelten Kontrollpatienten

K. S. Haider¹, A. Haider¹, A. Traish²
¹Praxis Dr. Haider, Bremerhaven, Deutschland;
²Department of Biochemistry and Department of Urology, Boston University School of Medicine, Boston, MA, USA

Einführung Adipositas kann sowohl Ursache als auch Konsequenz von Hypogonadismus sein und beeinflusst die erektile Funktion negativ. Wir beobachteten die Effekte von Testosteron Langzeittherapie als Behandlung bei adipösen hypogonadalen Männern im Vergleich zu unbehandelten Männern im urologischen Setting.

Material und Methoden In einer Registerstudie mit 805 symptomatischen hypogonadalen Männern sind 462 (57,4 %) adipös ($\text{BMI} \geq 30 \text{ kg/m}^2$). 273 hiervon entschieden sich für eine Therapie mit Testosteron Undecanoat (TU) 1000 mg/12 Wochen nach einem erstmaligen Intervall von 6 Wochen (T-Gruppe). 189 der adipösen Männer entschieden sich gegen eine Therapie und verblieben als Kontrollen (CTRL). Daten von bis zu 10 Jahren werden im Folgenden vorgestellt. Die Unterschiede über die Beobachtungszeit wurden anhand einer gemischten Effektmomente für wiederholte Messungen verglichen, welches für Alter, Gewicht, Bauchumfang, Blutdruck, Nüchtern Blutzucker, Lipiden und Lebensqualität an der Baseline bereinigt wurde.

Ergebnisse Mittleres Baseline-Alter: 61 ± 6 Jahre. Mittleres (medianes) Follow-up: $7,8 \pm 2,2$ (9) Jahre.

IIEF-EF stieg um $7,5 \pm 0,2$ (T-Gruppe) vs. sank um $12,8 \pm 0,3$ (CTRL) über 10 Jahre. Die Patienten verloren $20,3 \pm 0,3$ % ihres Gewichts (T-Gruppe) vs. nahmen $3,9 \pm 0,4$ % in 10 Jahren zu (CTRL). Der Bauchumfang sank um $12,5 \pm 0,2$ cm (T-Gruppe) vs. stieg um $4,6 \pm 0,4$ cm (CTRL) über 10 Jahre. Die Compliance betrug 100 %, da alle Injektio-

nen ausschließlich in der Praxis verabreicht und dokumentiert wurden. Kein Patient hat die Studie abgebrochen.

Schlussfolgerungen Bei hypogonadalen adipösen Männern besserte die Langzeit-Testosterontherapie die erektile Funktion und erhielt diese Besserung. Zudem kam es zu einer anhaltenden Gewichtsreduktion.

■ Infertilität

OP6

Kryokonservierung von Ovarialgewebe bei präpubertären und pubertären Mädchen – Retrospektive Auswertung und Befragung an der Frauenklinik des Universitätsklinikum Erlangen

L. Lotz, I. Hoffmann, J. Feulner, M. W. Beckmann, R. Dittrich
Frauenklinik Erlangen, Deutschland

Einleitung Ziel dieser Arbeit war es, eine Übersicht über die klinischen Erfahrungen mit der Kryokonservierung von Ovarialgewebe (OV) bei präpubertären und pubertären Mädchen an der Frauenklinik Erlangen zu geben. Die Kryokonservierung von OV ist häufig die einzige Option bei jungen Mädchen, da einige etablierte Techniken aufgrund des pubertären Reifezustandes nicht angewendet werden können. Während bei Frauen die Kryokonservierung von OV eine etablierte Technik darstellt, sind bei Mädchen die Indikationen und Outcome noch unklar.

Material und Methoden An der Frauenklinik Erlangen wurde eine retrospektive Datenerhebung und Befragung über die operative Sicherheit, Fertilität, Kinderwunsch und Zufriedenheit zur Kryokonservierung von OV bei Patientinnen durchgeführt, die zum Zeitpunkt (z. Z.) des Einfrierens < 18 Jahre und zum Zeitpunkt der Befragung mindestens 16 Jahre alt waren (n = 102).

Ergebnisse 53 Frauen nahmen an der Befragung teil (13 verstorben, 19 abgelehnt; 18 unerreichbar). Das Durchschnittsalter betrug $14,8 \pm 2,3$ (Range: 6–17) Jahre z. Z. der Kryokonservierung und $21,9 \pm 4,3$ (Range: 16–33) Jahre z. Z. der Befragung. Die Ovarialgewebeentnahme (LSK: n = 45; LLAP: n = 8) erfolgte bei 52 ohne Komplikationen; in einem Fall war aufgrund einer postoperativen Nachblutung eine Re-LSK notwendig. Hauptindikationen waren hämatologische Erkrankungen (51 %) und Sarkome (15 %). Sechs Patientinnen berichteten, dass eine Pubertätsinduktion aufgrund eines POI notwendig war. Bei 23 Frauen trat eine transiente Amenorrhö auf. Zum Zeitpunkt der Befragung berichteten 18 Frauen von einem regulären Menstruationszyklus, 24 nahmen orale Kontrazeptiva ein, 6 Frauen eine Hormonersatztherapie und 4 hatten eine Amenorrhö. Zwei Patientinnen konnten von der Geburt eines gesunden Kindes nach IVF berichten, während 51 Patientinnen aufgrund ihres jungen Alters noch (gewollt) kinderlos sind. Bisher erfolgte bei einer 30-jährigen

Patientin eine Transplantation ihres Gewebes, das mit 17 Jahren eingefroren wurde. 50 der Befragten würden die Entscheidung zur Kryokonservierung von OV wieder treffen, während 3 aufgrund der bisherigen finanziellen Kosten sich dagegen aussprachen.

Schlussfolgerung Auch bei Kindern sollte vor einer zytotoxischen Behandlung an Fertilitätserhaltende Maßnahmen gedacht werden. Eine ausführliche, auf das individuelle Risiko abgestimmte, Aufklärung und Beratung der pädiatrisch-onkologischen Patienten und deren Angehörigen ist obligat.

OP7

Dipeptidyl peptidase IV expression is androgen-regulated in polycystic ovary syndrome

A.-T. John, M. Giebler, P. Kaltwasser, T. Greither, H. M. Behre
Center for Reproductive Medicine and Andrology, Martin-Luther-University Halle-Wittenberg, Halle (Saale), Germany

Background Polycystic ovary syndrome is a complex disease comprising in many cases oligo-/amenorrhoea and ovulatory dysfunction with hyperandrogenism and metabolic disturbances such as insulin resistance and obesity. DPP4 is a serine peptidase involved in the regulation of metabolic pathways such as the incretin pathway, and its dysregulation is closely connected to type 2 diabetes mellitus. In previous studies, we observed an increased dipeptidyl peptidase 4 (DPP4) concentration and activity in the serum of PCOS patients in comparison to other female infertility patients. In this study, we aimed to analyze the regulation of the DPP4 expression and evaluated, whether an increased DPP4 activity is associated to the implantation success in assisted reproduction.

Methods Granulosa cell carcinoma cell lines (KGN and COV434) were treated with different concentrations of testosterone or dihydrotestosterone (DHT) to simulate hyperandrogenism or with glucose or insulin to simulate hyperglycemia or hyperinsulinemia, respectively. DPP4 mRNA and protein expression was analyzed by quantitative real-time PCR and Western blotting. DPP4 activity in 103 infertility patients sera were analyzed by a colorimetric assay, while DPP4 concentration was measured by ELISA, and correlated to clinical pregnancy rate and outcome.

Results We detected a 2.5–3.5fold increased DPP4 mRNA expression in COV434 cells 24h upon testosterone (50 nM/100 nM) or DHT (25 nM/50 nM) stimulation and a similar effect after 72h of androgen stimulation. In KGN cells, a 2.2–2.4 fold overexpression of DPP4 mRNA due to androgen stimulation was detected after 24h, while the effect was less pronounced after 72h of stimulation. On protein level, neither intracellular nor in the culture medium, a significant change in DPP4 concentration could be visualized by Western Blot. Glucose (5–100 mM) or insulin (5–25 nM) stimulation of the granulosa

tumor cell lines showed no significant effects on DPP4 mRNA or protein expression. In the patients sera, neither the DPP4 activity ($p = 0.46$, Mann-Whitney U-test) nor the concentration ($p = 0.76$) was significantly associated to clinical pregnancy or life birth rate.

Conclusion DPP4 transcription is induced by androgen stimulation *in vitro*, which may explain the increased concentration and activity seen in PCOS patients' sera, and therefore add another aspect to this complex disease. Increased DPP4 activity seems not to be detrimental to ART outcome.

■ Reproduktionsbiologie/Grundlagenforschung/Stammzellen

OP8

Three-dimensional ECM-derived scaffolds for reorganization of human testicular cells

V. Höffken, R. Sandhowe-Klaverkamp, S. Schlatt, J. Wistuba
Institute of Reproductive- and Regenerative Biology, Centre of Reproductive Medicine and Andrology, University Hospital Münster, Germany

Male infertility can be caused by genetic defects or anti-cancer therapy. Due to lacking fertility preservation options, especially prepubertal boys with malignant diseases not capable to cryopreserve sperm have poor prospects to father their own children. To date, immature testicular tissues are preserved with the perspective to develop *in vitro* systems for germ cell differentiation providing gametes for future ART use. However, methods to develop competent sperm *in vitro* were only successful in murine systems so far. We addressed the potential of cytocompatible three dimensional ECM scaffolds derived from adult human testis from patients undergoing male to female gender confirming surgery.

The matrices should provide a natural three-dimensional structure likely including factors promoting cell reaggregation and differentiation, which might help isolated testicular cells to reorganize and support differentiation.

Two decellularization protocols were tested for testicular cell removal under maintenance of ECM structure. Commercially available collagen sponges were tested as control for recolonization by isolated human testicular cells. Immunohistochemistry revealed more effective ECM preservation using a protocol containing triton than in one using 1% SDS, but the latter was more effective for testicular cell removal. Flow cytometry detected higher numbers of cells remaining after triton treatment (22000 cells/25 mg) than with 1% SDS (370 cells/25 mg). Compared to untreated tissue, numbers were lower for both protocols, but the 1% SDS protocol was superior. While testicular cells failed to effectively recolonize ECM scaffolds they were able to recolonize artificial collagen sponges in which they assembled to some extent. Molecular cyto-

patibility of testicular ECM was assessed by homogenizing these into a hydrogel, subsequently used as a coating for conventional testicular cell culture. If compared to common matrix coatings, ECM coatings seemed to support cellular survival, structure and reaggregation better, including somatic and several germ cell stages. This indicates that factors of the matrix influencing testicular cells are still present after decellularization and homogenization.

Human testicular ECM appears to contain important regulatory factors that might support *in vitro* differentiation of germ cells. The combination of ECM components with collagen sponges could lead to new fertility preservation approaches for patients threatened by infertility.

OP9

Development and disease-dependent dynamics of spermatogonial subpopulations in human testicular tissues

J. Portela^{1, 2}, L. Heckmann², J. Wistuba², A. Sansone^{2, 3}, A. van Pelt¹, S. Kliesch⁴, S. Schlatt², N. Neuhaus²

¹Center for Reproductive Medicine, Amsterdam Research Institute Reproduction and Development, Amsterdam UMC, Amsterdam, The Netherlands;

²Center of Reproductive Medicine and Andrology,

Institute of Reproductive and Regenerative Biology, Münster, Germany; ³Sapienza University of Rome, Department of Experimental Medicine, Rome, Italy; ⁴Center of Reproductive Medicine and Andrology, Department of Clinical and Surgical Andrology, Münster, Germany

Cryopreservation of testicular biopsies containing spermatogonia is the current strategy for fertility preservation of prepubertal patients. Descriptive and qualitative information of the heterogeneous prepubertal testicular tissues is pivotal to determine its potential use in spermatogonial-based fertility restoration methods. In this study we aimed to assess whether the density and percentage of spermatogonial subpopulations of patients at risk of germ cell loss changes during development and due to disease and/or treatment.

Immature testicular tissues were collected from 31 patients included in fertility preservation programs at the Centre of Reproductive Medicine and Andrology (Androprotect; Münster, Germany) and the Academic Medical Center (Amsterdam, The Netherlands). The patient cohort was divided into two subgroups: NT group including untreated cancer patients (n = 13; 2.5–14 years) and AT group comprising patients with testicular tissue likely to be affected by disease and/or previous gonadotoxic treatment (n = 18; 5 months–17 years). Spermatogonial subpopulation compositions were evaluated by immu-

nohistochemical markers of spermatogonia (MAGEA4), undifferentiated spermatogonia (UTF1), proliferation (PCNA) and global DNA methylation (5mC).

Throughout normal prepubertal testicular development (NT group), only the density of 5mC-positive spermatogonia increased with age (p < 0.05). In comparison, patients affected by disease and/or treatment (AT group) showed a reduced density of UTF1-, PCNA- and 5mC-positive spermatogonia (p < 0.05) while the percentage of spermatogonial subpopulations remained unchanged. As an exception, sickle cell disease patients treated with hydroxyurea within the AT group displayed a reduction in both density and percentage of 5mC-positive spermatogonia (p < 0.016).

Our results demonstrate that generally, reduced spermatogonial density does not alter the percentages of undifferentiated and proliferating spermatogonia, nor the establishment of global methylation. This result is of importance since the presence of unaltered spermatogonial subpopulations is crucial for fertility preservation and restoration. Interestingly, in sickle cell disease patients' establishment of spermatogonial DNA methylation is impaired, possibly indicating an arrested germ cell development. As this is a growing patient group in fertility preservation programs, this finding necessitates further analysis in follow-up studies.

Autorenverzeichnis (nur Erstautoren)

B		J		R	
Bals-Pratsch M.	229	Jansen J.	240	Rakhmanov M.	241
Baston-Büst D.	229, 231	John A.-T.	245	Rassam Y.	236
Bräuer D.	228, 230			Rotte N.	238
Buchen A.	231, 243	K		S	
C		Kaldewey S.	236	Sandi-Monroy N. L.	237
Cauchi L. M.	233	Kuchta M. A.	241	Schallmoser A.	230
E		Kues W.	238	Schill T.	228
Eder A.	242	L		Schneider F.	236, 242
F		Laurentino S.	233	Schwindl B.	232
Feil K.	242	M		Seidensticker M.	231
Fietz D.	235	Mall E. M.	240	Stadler B.	232
Fijak M.	239	Moser S.	240	Stirenberg N. T.	241
G		N		V	
Glaß K.	243	Neuhaus N.	246	von Versen-Höynck F.	228
Götte M.	244	Neumann K.	233	W	
H		Nieschlag E.	230	Wabschke R.	233
Haider A.	234, 235	O		Weiser D.	238
Haider K. S.	234	Ogoniak L.	239	Wyrwoll M. J.	232
Hartmann S.	244	P		Z	
Höffken V.	245	Pock T.	239	Zervomanolakis I.	235

Mitteilungen aus der Redaktion

Besuchen Sie unsere Rubrik

☒ Medizintechnik-Produkte



Neues CRT-D Implantat
Intica 7 HF-T QP von Biotronik



Artis pheno
Siemens Healthcare Diagnostics GmbH



Philips Azurion:
Innovative Bildgebungslösung

Aspirator 3
Labotect GmbH



InControl 1050
Labotect GmbH

e-Journal-Abo

Beziehen Sie die elektronischen Ausgaben dieser Zeitschrift hier.

Die Lieferung umfasst 4–5 Ausgaben pro Jahr zzgl. allfälliger Sonderhefte.

Unsere e-Journale stehen als PDF-Datei zur Verfügung und sind auf den meisten der marktüblichen e-Book-Readern, Tablets sowie auf iPad funktionsfähig.

☒ Bestellung e-Journal-Abo

Haftungsausschluss

Die in unseren Webseiten publizierten Informationen richten sich **ausschließlich an geprüfte und autorisierte medizinische Berufsgruppen** und entbinden nicht von der ärztlichen Sorgfaltspflicht sowie von einer ausführlichen Patientenaufklärung über therapeutische Optionen und deren Wirkungen bzw. Nebenwirkungen. Die entsprechenden Angaben werden von den Autoren mit der größten Sorgfalt recherchiert und zusammengestellt. Die angegebenen Dosierungen sind im Einzelfall anhand der Fachinformationen zu überprüfen. Weder die Autoren, noch die tragenden Gesellschaften noch der Verlag übernehmen irgendwelche Haftungsansprüche.

Bitte beachten Sie auch diese Seiten:

Impressum

Disclaimers & Copyright

Datenschutzerklärung