

JOURNAL FÜR FERTILITÄT UND REPRODUKTION

**19. Jahrestagung der Österreichischen Gesellschaft für
Reproduktionsmedizin und Endokrinologie, 17. bis 18. Oktober
2003, Bregenz - Abstracts der Vorträge**

*Journal für Fertilität und Reproduktion 2003; 13 (3) (Ausgabe
für Österreich), 22-43*

*Journal für Fertilität und Reproduktion 2003; 13 (3) (Ausgabe
für Schweiz), 18-35*

Homepage:

www.kup.at/fertilitaet

**Online-Datenbank mit
Autoren- und Stichwortsuche**

ZEITSCHRIFT FÜR IN-VITRO-FERTILISIERUNG, ASSISTIERTE REPRODUKTION UND KONTRAZEPTION

19. JAHRESTAGUNG DER ÖSTERREICHISCHEN GESELLSCHAFT FÜR REPRODUKTIONSMEDIZIN UND ENDOKRINOLOGIE, 17. BIS 18. OKTOBER 2003, BREGENZ – ABSTRACTS DER VORTRÄGE^{*)}

Programm

<u>Freitag, 17. Oktober 2003</u>	8 Uhr	Begrüßung (H. Zech) Eröffnung der Tagung (G. Dohr)
	8.10–10 Uhr	Endometriose, Tuben, Kultur (Vorsitz: W. Urdl, S. Szalay)
	10–10.30 Uhr	Pause
	10.30–11.30 Uhr	Qualitätsmanagement (Vorsitz: G. Tews, P. Weiss)
	11.30–12.30 Uhr	Round table-Podiumsdiskussion (Moderation: H. Zech)
	12.30–14 Uhr	Mittagspause
	14–15.20 Uhr	Stammzellen (Vorsitz: J. Huber, N. Zech)
	15.20–16.20 Uhr	Recht / Ethik (Vorsitz: E. Bernat, K.-H. Brandt)
	16.20–16.50 Uhr	Pause
	16.50–18.20 Uhr	PID (Vorsitz: M. Hengstschläger, H. Zech)
	19.15 Uhr	Abendprogramm: Kreuzfahrt auf dem Bodensee, Gourmetabend mit Tanz (Live-Band: Die Cornellis)
<u>Samstag, 17. Oktober 2003</u>	8–9.30 Uhr	Stimulation, PCO, IVF, Tuben (Vorsitz: D. Spitzer, M. Moser)
	9.30–10.20 Uhr	IVF (Überblick, Umwelt) (Vorsitz: W. Feichtinger, P. Uher)
	10.20–10.50 Uhr	Pause
	10.50–11.50 Uhr	Andrologie (Vorsitz: H. Pusch, A. Reissigl)
	11.50–12.30 Uhr	Psychologie (Vorsitz: Th. Sander, M. Mieke)
	12.30–13 Uhr	Jahreshauptversammlung
	13–14 Uhr	Mittagspause
	14–15.40 Uhr	Immunologie (Vorsitz: G. Dohr, M. Hengstschläger)
	15.40–16.30 Uhr	Endokrinologie (Vorsitz: L. Wildt, H. Concini)

EIN MENSCHENRECHT AUF TEILHABE AN DEN METHODEN DER NICHT-KOITALEN FORTPFLANZUNG

E. Bernat
Institut für Zivilrecht, Universität Graz

Das österreichische Fortpflanzungsmedizinengesetz (FMedG, BGBl 1992/275) verbietet etliche Methoden der medizinisch assistierten Zeugung, die etwa in England und Amerika zur täglichen Praxis des Gynäkologen zählen, der sich auf Fortpflanzungsmedizin spezialisiert hat. Unter anderem verbietet das FMedG den Embryotransfer nach Eizell- und Embryospende sowie die IVF mit Samen eines Drittspenders (§ 3 FMedG).

Im Jahre 1999 mußte der Verfassungsgerichtshof (VfGH) – aufgrund von Individualanträgen zweier betroffener Frauen – die Frage beantworten, ob die oben

genannten Verbote (Embryotransfer nach Eizell- und Embryospende, IVF mit Samen eines Drittspenders) vor dem Hintergrund des Gleichheitssatzes (Art 7 B-VG) sowie vor dem Hintergrund der in der Europäischen Menschenrechtskonvention (EMRK) verbrieften Freiheitsrechte vertretbar erscheinen oder ob sie verfassungswidrig sind. Der VfGH vertrat zwar die Auffassung, daß die Teilhabe an den Methoden der nicht-koitalen Fortpflanzung grundsätzlich von Art 8 Abs 1 EMRK geschützt werde (Recht auf Achtung des Privatlebens), so daß der Gesetzgeber schon aus verfassungsrechtlichen Gründen daran gehindert sei, die Reproduktionsmedizin in Bausch und Bogen zu verbieten. Andererseits meinte das Höchstgericht, daß es dem Gesetzgeber per Verfassungsrecht – jedenfalls derzeit – nicht untersagt werden könne, einige Methoden der Fortpflanzungsmedizin zu verbieten, deren Legitimität im moralischen Diskurs nicht zweifelsfrei bejaht werde (argumento Art 8 Abs 2 EMRK). Daher hielt der VfGH die bekämpften Verbote (Embryotransfers nach Eizellspende sowie IVF mit gespendetem Drittsamen) für verfassungsrechtlich noch vertretbar. Allerdings deutet der VfGH an, daß es dem Gesetzgeber in Zukunft

durch Veränderungen im Tatsächlichen auch verfassungsrechtlich geboten sein könnte, das Recht der Fortpflanzungsmedizin liberaler auszugestalten und bestehende gesetzliche Verbote aufzuheben.

Der Vortrag evaluiert die innere Logik dieser Entscheidung, die im österreichischen und deutschen Schrifttum fundamentaler Kritik unterzogen worden ist.

Literatur:

1. Bernat E (Hrsg). Die Fortpflanzungsmedizin am Prüfstand von Recht und Ethik. Manz, Wien, 2000.
2. Bernat E. A Human Right to Reproduce Non-Coitally? University of Tasmania Law Review 2002; 21: 20–38.

DIE NEUGIERDE DES UNGEBORENEN WECKEN

K. H. Brandt
Institut für Reproduktionsmedizin und Endokrinologie, Bregenz

Einleitung: Den Mitarbeitern reproduktionsmedizinischer Zentren ist wohl bekannt,

^{*)} Die Abstracts sind namensalphabetisch nach Erstautoren geordnet, ein Autorenindex befindet sich auf S. 43.

wie sich der Kinderwunsch auf das Leben des Paares untereinander wie auch auf die Beziehung zu den ÄrztInnen auswirkt: das „Ungeborene“ steht im Mittelpunkt der Aufmerksamkeit und der Wunsch, es zu einem Geborenen zu machen, erzeugt häufig psychischen Stress. In unseren Studien und Veröffentlichungen in den 90er Jahren haben wir darüber berichtet, wie Kurzpsychotherapie zur Stressreduktion und Erhöhung der Schwangerschaftsrate beitragen kann. Neuere Vergleichsuntersuchungen zur Effektivität der unterschiedlichen psychologischen Interventionen bei den Paaren haben ein verbessertes Behandlungskonzept entstehen lassen.

Daten und Methoden: Im Mittelpunkt des Vortrags steht eine kreative Interventionsform aus der Paar- und Familientherapie, die „Aufstellung“. Sie ist die Basis für hypnotherapeutische Vorgehensweisen zur Stressreduktion bei den Kinderwunschpaaren. Die Paare werden auf die „Bühne ihres Lebens“ gebeten, um ihre – zumeist stressgeprägte – Position gegenüber dem Ungeborenen darzustellen. Im weiteren geht es um die Schaffung eines „attraktiven Milieus“ für das Ungeborene. Die Paare werden angeregt, neue Positionen auf der „Bühne ihres Lebens“ einzunehmen, um ihre persönlichen Stärken und Fähigkeiten zu beleben. In der Folge können sie experimentelle und entspanntere Formen des Umgangs mit dem Ungeborenen entdecken und so ihre Lebensqualität wiedergewinnen. Dadurch kann es leichter zu einer Schwangerschaft kommen oder aber eine fortdauernde Kinderlosigkeit eher akzeptiert werden.

Ergebnisse: Während der fünfzehnmönatigen Dauer dieser Studie wurden 50 Paare zur psychologischen Betreuung überwiesen und mit der Methodik der „Aufstellung“ behandelt. Die Mehrzahl von ihnen berichtete in der Folge von fortdauernden Schwangerschaften oder der Geburt eines Kindes oder von Zwillingen. Andere Paare wurden ermutigt, sich anderweitig zu orientieren, auf Adoption oder Akzeptanz der Kinderlosigkeit hin.

Folgerungen: Die Anwendung der Interventionstechnik der „Aufstellung“ hat nicht nur eine vergleichsweise höhere Rate fortdauernder Schwangerschaften und Geburten erbracht, sondern auch bei fast allen Paaren in dieser Studie eine höhere Zufriedenheit mit der psychologischen Betreuung bewirkt.

ENDOMETRIOSE – EIN PROBLEM IN DER GYNÄKOLOGISCHEN PRAXIS

K. Bühler
Zentrum für Gyn. Endokrinologie &
Reproduktionsmedizin, Langenhagen/
Hannover, Deutschland

Bei Endometriose erfolgt die adäquate Diagnosestellung häufig erst im Rahmen einer Sterilitätsabklärung – dies, obwohl bei mehr als 10 % aller Besuche in der gynäkologischen Praxis chronische Unterbauchschmerzen beklagt werden. Davon findet sich bei 70–90 % der in der reproduktiven Lebensphase stehenden Frauen auch Endometriose. Trotzdem benötigt es 7 bis 10 Jahre nach dem Auftreten der ersten Symptome, bis endlich die gesicherte Diagnose der Endometriose gestellt ist. Da bei Vorliegen von Endometriose Fertilitätsprobleme 20fach höher erscheinen und selbst bei extrakorporaler Fertilisation die Schwangerschaftsraten um 50 % reduziert sind, ist die frühzeitige Abklärung der Endometriose schon in der allgemeinen gynäkologischen Praxis von großer Wichtigkeit für die spätere Fertilitätsprognose der betroffenen Frau.

Eine Medline-Suche und eine Auswertung der Literatur hinsichtlich der Validität der mit Endometriose assoziierten Symptome und der Untersuchungsmethoden wurden durchgeführt. Ebenso ging in die Beurteilung die Erfahrung aus der täglichen Praxis eines großen Fertilitätszentrums ein. Bei ovarialer Endometriose zeichnet sich die sonographische Untersuchung durch eine hohe Spezifität und einen hohen positiven Vorhersagewert aus. Mit einer exakten körperlichen Untersuchung läßt sich das Vorliegen von Endometriose in drei Viertel der Fälle ebenfalls korrekt klassifizieren. Allgemeine Symptome wie Dysmenorrhoe, Dyspareunie und Unterleibsschmerzen sind weniger spezifisch. Werden Auftreten und Art von Dyspareunie und Dysmenorrhoe aber gezielt befragt, so scheinen diese Beschwerden spezifischer zu sein. In 75 % der Fälle mit mindestens milder Endometriose kann mittels MRI der Verdacht auf Endometriose gefestigt werden. Allerdings ergibt sich auch eine deutliche Diskrepanz zwischen visueller Diagnose von endometriotischen Läsionen bei der operativen Diagnose und der histologischen Verifizierung: Nur in zwei Drittel bis drei Vier-

tel der verdächtigen Areale läßt sich die Endometriose dann auch mikroskopisch bestätigen. Dabei ergibt sich bei weißen oder gemischt-farbigem, bei großflächigen und tiefen Läsionen und bei Endometriomata häufiger eine histologische Bestätigung als bei kleinen, schwarzen oder roten Läsionen. Es fehlt immer noch der spezifische und sensitive Serummarker, mit dem in der gynäkologischen Praxis, aber insbesondere in der Fertilitätspraxis, ein Screening auf Endometriose durchgeführt werden könnte.

In der spezialisierten Fertilitätstherapie muß das Vorhandensein von Endometriose und deren Aktivität schon in der Therapieplanung besondere Berücksichtigung finden. Schon eine gezielte Stimulations-therapie kann im Vergleich zu dem immer noch propagierten abwartenden Verhalten die Schwangerschaftschancen einer Endometriosepatientin deutlich verbessern. Im Rahmen der Therapie mit extrakorporalen Maßnahmen ist es insbesondere das Ultralang-Protokoll mit GnRH-Agonisten, das zu einer höheren Schwangerschaftsrate führt. In der täglichen gynäkologischen Praxis muß das Bewußtsein für das Vorliegen einer Endometriose, insbesondere bei Unterbauchbeschwerden und Fertilitätsstörungen, geschärft werden. Auch wenn nicht geklärt erscheint, ob eine frühere Diagnosestellung das Endometriose-Stadium letztlich reduzieren und die Fertilität der Endometriose-Patientin besser bewahren könnte, so bedeutet die frühe Einleitung von adäquaten therapeutischen Maßnahmen für die betroffene Frau eine Verminderung der Beschwerden und somit einen Gewinn an Lebensqualität.

OVERVIEW OF LABORATORY TECHNIQUES AND STRATEGIES USED FOR PREIMPLANTATION GENETIC DIAGNOSIS

J. Cieslak, S. Rechitsky, A. Kuliev, Y. Verlinsky
Reproductive Genetics Institute, Chicago,
USA

Preimplantation genetic diagnosis (PGD) has been applied in more than 5,000 clinical cycles worldwide, resulting in the birth of over one thousand unaffected children. Over 2,300 cycles of PGD have been performed at the Reproductive Genetics Institute for monogenic disorders,

chromosomal translocations and aneuploidy testing resulting in approximately 500 unaffected pregnancies and to date approximately 400 healthy children have been born. An overview of the strategies employed and laboratory techniques used to accomplish PGD will be presented.

INTERPRETATION VON ELISA-ERGEBNISSEN – LÖSLICHES HLA-G IN DER REIFEN PLAZENTA

Ch. Daxböck
*Institut für Histologie und Embryologie,
Universität Graz*

Wasserlösliche Isoformen von HLA-G sind seit Jahren von großem wissenschaftlichem Interesse – diverse biologische Funktionen wurden ihnen zugeschrieben und verschiedene Detektionssysteme entwickelt. Um die Hauptquelle des löslichen HLA-Gs in der reifen Plazenta zu bestimmen, haben wir wässrige Extrakte aus verschiedenen Plazentabereichen (Amnion, Chorion laeve, Zotten, Basalplatte) von fünf Plazenten hergestellt.

Mit einem Fangantikörper-ELISA wurden diese Extrakte analysiert, wobei verschiedene Fang- und Detektionsantikörper verwendet wurden. Dieses ELISA-System erkennt Fragmente von HLA-G1, HLA-G2 und „pseudo Intron4“ beinhaltende Isoformen, wie die Analyse von Zellkulturüberständen verschiedener HLA-G transfizierter Zelllinien (721.221 G1, 721.221 G5, K562 G2), nicht transfizierter Kontrollzelllinien (721.221, K562) und der natürlich HLA-G exprimierenden Chorionkarzinom-Zelllinie Jeg3 zeigt.

Während die Ergebnisdaten der Zellkulturüberstände einfach zu interpretieren sind, erscheinen die der Gewebeextrakte eher widersprüchlich. Besonders beim „pseudo Intron4“-spezifischen ELISA, bei dem 16G1 als Fang- und W6/32 als Detektionsantikörper verwendet werden, liegt das Signal für das Zottengewebe deutlich über dem Hintergrund, während alle anderen Versuchsanordnungen mit üblicherweise höherer Sensitivität, die ebenfalls „pseudo Intron4“ beinhaltende Isoformen detektieren, kein Signal ergeben.

Das sensitivste und spezifischste ELISA-System, bei dem sowohl Fang- als auch

Detektionsantikörper HLA-G spezifische Antikörper sind, zeigt, daß die Hauptquelle für wasserlösliche HLA-G-Moleküle (lösliche HLA-G1- und G2-Moleküle und „pseudo Intron4“ beinhaltende Isoformen) die Basalplatte ist.

Diese Beobachtung deckt sich mit den durch Immunhistochemie und Western Blot gewonnenen Daten des gleichen Gewebes. Die Kombination zweier HLA-G-spezifischer Antikörper zu einem Fangantikörper-ELISA reduziert das Hintergrundsignal und die gewählten Antikörper sind fähig, HLA-G2-Isoformen zu erkennen. Da sie HLA-G-unabhängig von beta2-Mikroglobulin binden, halten wir dieses System für das beste, um wasserlösliche HLA-G-Moleküle in verschiedenen biologischen Flüssigkeiten zu detektieren. Somit bietet unser System eine Grundlage für medizinische Diagnostik im Bereich der HLA-G-Thematik.

IVF IN THE WORLD

J. De Mouzon
*International Committee for Monitoring
Assisted Reproduction (ICMART), France*

Introduction: IVF has now more than 25 years of success, since the first tube baby (Louise Brown, 1978). Its practice has been largely developed, in numbers, indications, and techniques. Many countries have built national evaluation systems through registries. Since 1991, an international group was created, to gather information coming from various countries with IVF registries, in order to have an overview of the World practice and results and to analyse the differences between the countries (International Working Group for Registers on Assisted Reproduction, IWGROAR). This group has produced six World reports between 1991 and 2001. The group has grown up, with a collaboration with WHO, and changed its name to International Committee for Monitoring Assisted Reproduction (ICMART). The next world report will be published in early 2004.

Patients and methods: Data come from 46 countries, representing all America, most of Europe, some Asian countries, and Australia-New Zealand. According to the countries, data come from individual registers or from clinic summaries.

They contain information on cycles (IVF, ICSI, frozen embryos transfers (FET)) and oocyte donation with initiated cycles, OPU, transfers, transferred embryo numbers, clinical pregnancies, women's age and indications, deliveries, perinatal mortality according to multiple births, and malformations.

Results: The annual number of oocyte recoveries has increased from 138 238 in 1991 to 334 381 in 1998, with a parallel increase in births (19 319 to 76 084). By extrapolation, the total number of recoveries was evaluated to 524 322 for the year 2002 in the 46 countries and ICMART covering two thirds of the world activity to 700 000 worldwide, corresponding to nearly 210 000 births. The total number of babies conceived through IVF may reach 1,200 000 since 1978. The techniques have been largely modified. IVF decreased from 85 % in 1991 to 54 % in 1998, ICSI increased from 0.5 % to 45 % and GIFT decreased from 15 % to 1 %. FET increased from 10 % to 15 % of the cycles and oocyte donations have been multiplied by 4. The mean women's age has a tendency to increase, those aged forty or more representing 13.5 % vs. 9.5 %. There was an increase in the dual embryo transfer (from 21 % to 29 %), but no decrease in the 4 or plus embryo transfers (more than 1 out of 5 transfers). The pregnancy rate increased from 18.1 % to 24.7 %, and no decrease was observed in multiple birth rate (3.4 % triplets and 27.4 % twins). When grouping the countries according to the average number of transferred embryos, the pregnancy rate increased only above three. There were many differences across the world regions, Europe representing more than 50 % of the cycles. There were huge differences in the mean number of transferred embryos (2.40 in Europe, 2.17 in Australia, 3.46 in North America, 3.33 in Latin America, the transfers of four embryos or more representing respectively 6.4 %, 2.1 %, 45.8 %, and 48.2 %). This was parallel to the triplet rates (1.4 %, 2.2 %, 7.0 % and 8.6 %).

Conclusion: IVF is a large success for infertile couples. However, there are huge differences between countries, in availability, practice, and results. There are many open questions on the results and on the consequences. The purpose of the International Committee for Monitoring Assisted Reproduction is (1) to identify important characteristics

and trends in ART in the international community, (2) to enable politicians to make recommendations based on large and global data, (3) to develop standardized international definitions of ART (presented to WHO) and (4) to develop guidelines for countries that wish to establish or improve registers.

POLKÖRPERCHENDIAGNOSTIK MITTELS FLUORESCENZ-IN-SITU- HYBRIDISIERUNG (FISH)

H. Duba, Th. Ebner, M. Moser, G. Tews
IVF-Labor, Landesfrauenklinik Linz

Zytogenetische Untersuchungen an Gewebe aus Frühaborten haben gezeigt, daß bei ca. 60 % eine Chromosomenstörung vorliegt. Neben einer Triploidie und Monosomie X finden sich v.a. Trisomien der Chromosomen 13, 16, 18, 21 und 22. Der Anteil der chromosomal auffälligen Eizellen steigt mit dem mütterlichen Alter an. Ein erhöhtes Abortrisiko findet sich ebenso bei Frauen, die Träger einer balancierten Translokation sind.

Polkörperchen entstehen in der Meiose einer Eizelle. Um ein Kind mit einem diploiden Chromosomensatz von 46 Chromosomen zu zeugen, müssen die Eizellen und die Samenzellen den halben Chromosomensatz, also 23 Chromosomen, aufweisen. Der diploide Chromosomensatz mit 2 Chromosomen mit 4 Chromatiden (2n4c) wird so in der Meiose I auf 1 Chromosom mit 2 Chromatiden (1n2c) und in der Meiose II auf 1 Chromosom bestehend aus einem Chromatid (1n1c) reduziert. Analog dazu findet man im 1. Polkörperchen 1n2c und im zweiten 1n1c. Während die Präimplantationsdiagnostik in Österreich laut Gesetz verboten ist, gilt dies laut juristischem Gutachten nicht für die Polkörperchendiagnostik.

Die Polkörperchen können mit Hilfe eines Lasers entnommen werden und dann mittels FISH mit verschiedenen Sonden für die häufigsten Trisomien (13, 16, 18, 21, 22) auf ihren Chromosomengehalt untersucht werden. Diese Analyse hat den Vorteil, daß man „genetisch unauffällige“ Eizellen auswählen kann und dadurch die Möglichkeit hat, die Einnistungsrate zu erhöhen. Erste publizierte Daten zeigen, daß der IVF-Erfolg bei Frauen über

29 nach vorhergehender Polkörperchendiagnostik gesteigert werden kann.

Eine weitere Einsatzmöglichkeit liegt bei Trägerinnen von balancierten Translokationen. Hier kann man durch die Auswahl geeigneter Sonden feststellen, ob die Eizelle einen normalen oder balancierten Chromosomensatz enthält und somit den Patientinnen das bisher übliche, psychisch und physisch stark belastende Vorgehen (Schwangerschaft – Pränataldiagnostik – Interruptio bei unbalanciertem Karyotyp) ersparen.

Anhand von konkreten Beispielen werden die Möglichkeiten, technischen Besonderheiten und Einschränkungen der Polkörperchendiagnostik erläutert.

NEUE ASPEKTE DER ZYGOTENEVALUIERUNG

T. Ebner, M. Moser, M. Sommergruber,
M. Puchner, R. Wiesinger, G. Tews
IVF-Labor, Frauenklinik Linz

Einleitung: Während sich international die Embryologen über die Bedeutung der Vorkernmuster als prognostische Hilfe weitgehend einig sind, gibt es bezüglich der zusätzlichen Berücksichtigung des Haloeffektes unterschiedliche Meinungen. Jene Gruppen, die Zygoten nach Tesarik und Greco (1999) einteilen, verlassen sich auf die Aussagekraft der Vorkernmuster, während jene, die nach Scott et al. (1998) klassifizieren, auch den Haloeffekt mit berücksichtigen. Da es in letzterer Gruppe beträchtliche Auffassungsunterschiede hinsichtlich des Erscheinungsbildes eines Halos gibt, wurde in dieser Studie erstmals untersucht, ob die Art oder die Expansion des Halos einen Einfluß auf die weitere Entwicklung in vitro hat.

Methoden: Insgesamt wurden 321 Zygoten analysiert. Wenn vorhanden, wurde der Halo in einen symmetrischen (konzentrischen) und einen asymmetrischen (polaren) Typ unterteilt, wobei bei letzterem Rücksicht genommen wurde, ob sich der Halo bei oder gegenüber der Polkörper befand. Zusätzlich wurde jeder Halo mittels Octax EyeWare exakt vermessen. Parallel wurden die Vorkernmuster bestimmt und in Relation zum Haloeffekt gesetzt.

Resultate: Halo-positive Zygoten unterschieden sich weder hinsichtlich der Embryoqualität (Tag 2) noch der Zahl der Blastozysten (Tag 5) von Zygoten ohne Halo. Jedoch war die Qualität der entstandenen Blastozysten (Extension, innere Zellmasse) deutlich besser ($p < 0,05$), wenn am Tag 1 ein Haloeffekt vorlag. Dieses Phänomen korrelierte weder zum Typ noch zur Ausdehnung des Halos. Hinsichtlich der Vorkernmuster zeigte sich, daß Vorkernmuster mit optimaler Prognose (OA, OB) zu mehr Blastozysten ($p < 0,05$) von besserer Qualität (innere Zellmasse) führten ($p < 0,05$).

Schlußfolgerungen: Die vorliegende Studie beweist, daß jeder Halo unabhängig seiner Ausprägung einen prognostischen Wert hinsichtlich der Blastozystenqualität hat und zusammen mit dem Vorkernmuster für die Zygotenevaluierung dienlich sein kann. Eine logistische Regression zeigte aber, daß beide morphologischen Kriterien in keinem Zusammenhang zueinander stehen.

PSYCHOTHERAPEUTISCHE INTERVENTI- ON UND SCHWANGERSCHAFTSRATEN NACH IN-VITRO-FERTILISIERUNG

W. Feichtinger, M. Poehl, K. Pichler,
V. Wicke, V. Dörner
Wunschbaby-Zentrum Wien

Einleitung: Seit dem Inkrafttreten des Österreichischen Fortpflanzungsmedizingesetzes am 01.07.1992 sind die IVF-Zentren angehalten, eine psychotherapeutische Beratung der Paare vor der Durchführung reproduktionsmedizinischer Techniken zu veranlassen, die Teilnahme für die Patienten ist allerdings nicht verpflichtend. Die Akzeptanz der psychotherapeutischen Intervention und ihr Einfluß auf die Schwangerschaftsraten werden diskutiert.

Methoden: Die Studiengruppe beinhaltet 1.156 konsekutive Paare (mittleres Alter 33,3 Jahre) mit 1.736 in vitro-Fertilisierungs-Zyklen. Nach einer Einverständniserklärung vor der Follikelpunktion wurden die Patienten folgendermaßen über die psychotherapeutische Intervention interviewt: Verschiedene Methoden der psychologischen Unterstützung während des IVF-Embryotransfer-Zyklus wurden

angeboten, speziell Psychotherapie, Hypnotherapie und Relaxation sowie psychische Perzeptionserfahrungen.

Ergebnisse: 40,3 % der Patienten lehnten eine psychotherapeutische Intervention ab. 17,8 % hatten bereits vorher eine psychotherapeutische Beratung, 10,4 % waren bereit, an der Studie teilzunehmen. Die Akzeptanz der psychotherapeutischen Intervention hatte keine Relevanz betreffend Schwangerschaftsrate. Die kumulative Berechnung der Schwangerschaftsraten zeigte, daß bei bis zu 56,4 % der Paare, welche eine psychotherapeutische Intervention annahmen, eine Schwangerschaft eintrat. Patienten, welche eine psychotherapeutische Intervention planten, erreichten in 41,9 % eine Schwangerschaft. Betreffend der kumulativen Schwangerschaftsrate zeigt diese Studie, daß Patienten, welche eine solche Intervention akzeptierten oder bereits durchgeführt hatten, eine höhere Schwangerschaftsrate hatten als jene, welche dieses Angebot ablehnten.

Schlußfolgerung: Diese Ergebnisse sollten Fertilitätsspezialisten ermuntern, eine psychotherapeutische Intervention als einen wichtigen Aspekt der IVF-Behandlung zu betrachten. Eine schriftlich dargelegte Erklärung alleine, an so einer Therapie teilnehmen zu wollen, bzw. die Befassung mit diesem Thema ist unserer Ansicht unzureichend; eine psychotherapeutische Beratung und Intervention sollte vorgenommen werden.

EMBRYONENSCHUTZ UND DAS MISSTRAUEN GEGEN BIOMEDIZINISCHE TECHNIKEN

M. Frommel
Institut für Sanktionenrecht und Kriminologie der Christian-Albrechts-Universität Kiel, Deutschland

Problem: Nach drei Jahrzehnten Abtreibungsdebatte haben wir einen breiten Konsens bei der Abtreibung, aber wir können uns nicht einigen über die Standards einer angemessenen IVF-Behandlung, insbesondere nicht über die Zulässigkeit einer Embryonenauswahl nach genetischer Untersuchung (PID).

Noch schärfer: Wieso neigen ausgerechnet Feministinnen dazu, ihre Geschlechts-

genossinnen, die eine IVF-Behandlung wünschen, zu bevormunden?

Offenbar geht es bei der Debatte über die moderne Reproduktionsmedizin um ein ökologisches Thema: „unbeherrschbare Technikfolgen“ und die Verfügung über Embryonen nach einer genetischen Untersuchung ist offenbar ein prägnantes Beispiel für dieses allgemeine Mißtrauen.

Im folgenden soll geprüft werden, ob in Österreich PID erlaubt ist und wie eine konsensfähige Lösung für die umstrittene Frage der Standards an eine angemessene IVF-Behandlung aussehen kann.

WAR OF TALENTS – WOHIN FÜHRT DER ÄRZTEMANGEL?

F. Gagsteiger
Zentrum für Reproduktionsmedizin, Ulm, Deutschland

In den letzten Jahren hat sich die Situation auf dem Arbeitsmarkt für Ärzte drastisch geändert. Während noch vor kurzer Zeit in den Medien von der zu befürchtenden „Ärztenschwemme“ zu hören war und immer wieder ein Horrorszenario von unzähligen arbeitslosen Medizinerinnen zu lesen war, hat sich das Bild nun ins entgegengesetzte Extrem gewandelt. Im Hinblick auf die Diskussion zu Fragen der Arbeitszeitregelungen im Gesundheitswesen und den bisher häufig unentgeltlich geleisteten Überstunden steht nun fest, daß vor der befürchteten „Ärztenschwemme“ in Zukunft genau das Gegenteil zur Sorge werden könnte, nämlich ein eklatanter Ärztemangel. Der Trend des Ärztemangels in Deutschland kann nur verhindert werden, wenn:

- die Arbeitsbedingungen der Ärztinnen und Ärzte grundlegend verbessert werden;
- der Arztberuf durch die Einstellung zusätzlicher Ärzte, durch flexible Arbeitszeit, leistungsgerechte Vergütung und dem Abbau dysfunktionaler, überholter, hierarchischer Führungsstrukturen im Krankenhaus zugunsten kooperativer Führungsstrukturen wesentlich attraktiver gestaltet wird;
- die neue Approbationsordnung an den Fakultäten umgesetzt, die längst überflüssige AiP-Phase abgeschafft und die Qualität der Medizinerausbildung noch weiter verbessert werden;

- die Niederlassung als Arzt erleichtert wird;
- Bürokratie und Gängelung durch Politik und Krankenkassen abgebaut statt verstärkt werden.

Zusammenfassung

- Es wird zu einem Ärztemangel kommen. In Zukunft wird ein Mehrfaches an ärztlicher Entscheidungskompetenz in immer weiterer Spezialisierung benötigt.
- Die Ressource „Arzt“ muß gezielter eingesetzt werden. Die ärztliche Tätigkeit muß von Aufgaben befreit werden, die ohne Qualitätsverlust durch andere abgedeckt werden können.
- Der Einsatz der Ressource „Arzt“ muß sorgfältig mit Hilfe bewährter Strukturen des Qualitätsmanagements geplant werden.
- Die Umsetzung von Konzepten zur Qualitätsförderung erfordert geeignete Rahmenbedingungen bzw. Anreizsysteme. Möglichkeiten der erfolgs- bzw. Outcome-orientierten Vergütung müssen erprobt werden.
- Grundlagen und Methoden kontinuierlicher Qualitätsförderung in Praxis und Klinik sollten Eingang in die Curricula der (ärztlichen) Aus-, Weiter- und Fortbildung finden und so eine Etablierung sichern.
- Systematische Qualitätsförderungsmaßnahmen setzen eine z. T. tiefgreifende Bewußtseinsänderung der Ärzte voraus: „Qualitätsförderung beginnt im Kopf“. Dies ist in der Ausbildung am effektivsten zu erreichen.

EINFLUSS DER ÖSTRADIOL-ZU-PROGESTERON-RATIO (E2/P) AM TAG DES EMBRYOTRANSFERS AUF DIE SCHWANGERSCHAFTSRATE IM RAHMEN EINER IVF-BEHANDLUNG

I. Gruber, A. Just, J. Lahodny, A. Lösch
IVF-Ambulanz, Abteilung für Gynäkologie und Geburtshilfe, KH St. Pölten

Einleitung: Östradiol und Progesteron sind jene Hormone, die für eine erfolgreiche Schwangerschaft notwendig sind. Beide bewirken eine Reifung des Endometriums, damit dem Embryo günstige Bedingungen für die Implantation geboten

werden können. Ob eine optimale Östradiol-zu-Progesteron-Ratio (E2/P) in der frühen Lutealphase für Implantation und Verlauf einer frühen Schwangerschaft entscheidend ist, scheint noch unklar zu sein.

Methoden: Anhand einer retrospektiven Analyse der Daten wurden insgesamt 239 IVF-ET-Behandlungszyklen, in der Zeit von Jänner 2000 bis Mai 2002, ausgewertet. Am Tag der Follikelpunktion und am Tag des jeweiligen Embryotransfers wurde eine Bestimmung von Östradiol und Progesteron im Serum durchgeführt. Eine Ratio aus Östradiol zu Progesteron wurde für Zyklen mit Konzeption und für nicht konzeptive Zyklen berechnet. Zur statistischen Auswertung wurden eine Varianzanalyse (ANOVA) und ein *t*-Test angewendet.

Resultate: Die 239 IVF-ET-Behandlungszyklen resultierten in 76 Schwangerschaften (31,7%). 120 Tag 2-, 79 Tag 3- und 30 Tag 5-Embryotransfers (ET) resultierten schließlich in 30, 30, 16 Schwangerschaften. Die klinische Schwangerschaftsrate beträgt somit 18,0%, 21,5% und 43,3%. Die klinische Schwangerschaftsrate zeigt einen signifikanten Zusammenhang mit den errechneten Werten der E2/P-Ratio am Tag 2 des ET von $12,7 \pm 0,87$ (*p*: 0,018), am Tag 3 von $10,37 \pm 0,91$ (*p*: 0,001), am Tag 5 ET von $8,41 \pm 1,47$ (*p*: 0,013).

Schlußfolgerung: Unsere Ergebnisse zeigen, daß ein relatives Verhältnis zwischen der Höhe der Serumkonzentration von Östradiol und der Serumkonzentration von Progesteron gegeben sein muß, um ein endometriales Muster entstehen zu lassen, welches den Eintritt einer klinischen Schwangerschaft begünstigt.

ENDOSKOPISCHE SANIERUNG BEI KOMPLEXER ENDOMETRIOSE UNTER ERHALTUNG DER FERTILITÄT

F. Häberlin
Frauenklinik, Kantonsspital St. Gallen,
Schweiz

Einführung: Zur dauerhaften Sanierung einer schweren Endometriose ist derzeit chirurgisches Vorgehen unumgänglich. Die gleichzeitige Erhaltung der spontanen oder extrakorporell unterstützten Fertilität

bedarf insbesondere im Bereich der Ovarien eines differenzierten Operations-Konzeptes, darf doch der Sanierung weder eine spätere Stimulation multipler Follikel zum Opfer fallen, noch sollen rekonstruktive Möglichkeiten an Ovar und Tube außer acht gelassen werden.

Methoden: Vorstellung eines seit zehn Jahren angewendeten und weiterentwickelten Operationskonzeptes anhand von videodokumentierten Beispielen (Level 5 evidence based medicine; konsequent laparoskopischer Zugang; womöglich Anwendung mikrochirurgischer Operationsregeln; regelhafte Behandlung der typischen urogenitalen Endometriose-manifestationen).

Resultate: Die chirurgische Sanierung schwerer Endometriosemanifestationen ist häufig mit der Erhaltung der extrakorporell unterstützten oder auch spontanen Fertilität vereinbar. Entscheidend ist dabei die schonende, aber zugleich vollständige Behandlung der ovariellen Endometriose-pseudozysten. Klar ungünstig wirken sich das mehrfache Eröffnen des Ovars bei Persistenz/Rezidiv unvollständig behandelte Endometriome sowie die grobe Koagulation in Hilusnähe aus. Unter Fertilitätsaspekten ist gegebenenfalls (Endometriom > 4 cm, Perifokalödem) mehr-zeitig zu operieren. Jeder Schritt verfolgt dabei umschriebene Ziele.

Schlußfolgerung: Urogenitale Endometrioseerscheinungen jeglichen Schweregrades lassen sich systematisch und weitgehend endoskopisch sanieren. Zur gleichzeitigen Fertilitäts-Erhaltung bedarf es speziell schonender Techniken.

PRÄIMPLANTATIONS-DIAGNOSTIK AUS DER SICHT DES GENETIKERS

M. Hengstschläger
Genetisches Labor der Abteilung für Prä-natale Diagnostik und Therapie, Universitätsklinik für Frauenheilkunde Wien

Ziel der Präimplantationsdiagnostik ist es, spezifisch jene Embryonen der Frau einzusetzen, die nicht Träger bestimmter untersuchter genetischer Krankheiten sind. Hierzu wird einem über künstliche Befruchtung erzeugten Embryo eine Zelle entnommen und anhand molekularzytogenetischer (Fluoreszenz-in-situ-Hybrid-

sierung) oder molekulargenetischer (PCR) Verfahren auf bestimmte genetische Krankheiten untersucht. Ethische Diskussionen entfacht unter anderem die Tatsache, daß die als krank identifizierten Embryonen „verworfen“ werden. In vielen Fällen, bei denen die Präimplantationsdiagnostik heute zur Anwendung kommt, werden allerdings hierbei solche Embryonen nicht eingesetzt, die auch von Natur aus nicht lebensfähig wären.

Anwendung findet diese Methode zum Beispiel bei Paaren mit einem hohen Risiko, ein genetisch krankes Kind zu bekommen. Es ist in diesem Zusammenhang von großer Bedeutung, klar zu machen, daß menschliche Eigenschaften, Intelligenz oder Verhalten von einem Zusammenspiel vieler Gene mit Umwelt-einflüssen bestimmt werden. Sie sind einer Präimplantationsdiagnostik – im Sinne einer sicheren Voraussage betreffend bestimmter späterer Eigenschaften des Ungeborenen – nicht zugänglich. Neben Chromosomenschäden können (und werden auch) heute ungefähr 40 Erkrankungen, die durch die Veränderung eines Gens ausgelöst werden, mittels Präimplantationsdiagnostik getestet werden. Getestet wird immer nur dann (und nur auf die eine Krankheit), wenn aufgrund einer bestimmten Familiengeschichte der entsprechende Verdacht besteht. Wissenschaftliche Untersuchungen verschiedenster Art weisen darauf hin, daß vielleicht die Hälfte aller auf natürlichem Wege oder durch künstliche Befruchtung entstandenen Embryonen eine Chromosomenveränderung haben. Davon ist ein beträchtlicher Anteil nicht lebensfähig. Ob bemerkt oder unbemerkt, entwickelt sich die Schwangerschaft nicht (weiter). Zusätzlich gibt es Paare, die aufgrund bestimmter genetischer Anlagen ein noch höheres Risiko für nicht lebensfähige Embryonen haben. Es besteht die Hoffnung, daß das Auswählen von Embryonen ohne Chromosomenschäden für solche Paare durch eine Steigerung der Erfolgsrate der assistierten Reproduktion die Erfüllung des Kinderwunsches ermöglicht. Wenn auch vielleicht die Fallzahlen noch nicht groß genug sind, so weisen erste wissenschaftliche Studien darauf hin, daß es sich hierbei um eine äußerst realistische Chance handelt, die auch eventuell positiven Einfluß zur Vermeidung von Mehrlingsschwangerschaften nach assistierter Reproduktion (da die Erfolgchancen bei einem einzigen eingesetzten Embryo wesentlich gesteigert

werden können) hat. Diese Technologie existiert seit über 10 Jahren und es wird geschätzt, daß bereits über 1000 Kinder nach Präimplantationsdiagnostik geboren wurden. Diese genetische Diagnosemethode ist zur Zeit zum Beispiel in Frankreich, Dänemark, Spanien und Großbritannien gesetzlich erlaubt. Weiters wird sie auch in Ländern angewandt, in denen keine gesetzlichen Regelungen für ein Verbot vorliegen, wie zum Beispiel Italien, Niederlande, Portugal, Belgien, Kanada, Finnland, Schweden, Griechenland oder USA. Gesetzlich verboten ist die Präimplantationsdiagnostik in Deutschland, Irland und Österreich.

EXPRESSION UND FUNKTION VON HUMANEN LEUKOZYTEN-ANTIGENEN (HLA) KLASSE I AN MÄNNLICHEN KEIMZELLEN

H. Hutter
Institut für Histologie & Embryologie,
Universität Graz

Der Hoden des Mannes wird als immunologisch privilegiertes Organ betrachtet. Männliche Keimzellen reifen dort über Entwicklungsstadien (Spermatogonien, Spermatozyten I, II, Spermatiden) heran. Humane Leukozyten-Antigene (HLA) der Klasse I werden am Haupthistokompatibilitätskomplex (MHC, Chromosom 6) kodiert und haben immunologische Bedeutung zur Markierung von Zellen als „selbst“ bzw. „fremd“.

Daneben wurden auch nicht-immunologische Funktionen beschrieben; HLA könnten an der interzellulären Interaktion z. B. bei der Fertilisierung involviert sein. Die Befunde über das Vorkommen von Klasse I HLA an männlichen Keimzellen sowohl auf mRNA als auch auf Proteinebene sind sehr kontroversiell und unvollständig. Um einen besseren Einblick in das Expressionsmuster und die Funktion von Klasse I HLA während der Spermatogenese zu bekommen, wurde deren Verteilung an Präparaten menschlichen Hodengewebes mit zellbiologischen Methoden (Immunhistochemie, konfokale LSM-FACS) bzw. molekularbiologischen Methoden untersucht. Mit monoklonalen Antikörpern (mAb), die HLA Klasse I schwere Ketten in Verbindung mit $\beta 2\text{-m}$

erkennen, konnte keine Expression dieser Komplexe nachgewiesen werden. Im Gegensatz dazu zeigten mAb, die nur mit freien schweren Ketten von HLA-Molekülen reagieren (HCA2: anti-HLA-A, -G; HC10: anti-HLA-B, -C; LA45: anti-HLA-A, -B; L31: anti-HLA-C), eine deutlich positive Reaktion an primären und sekundären Spermatozyten. In-situ-Hybridisierungs-Experimente mit Klasse I HLA-spezifischen Digoxigenin-markierten DNA- bzw. RNA-Sonden ergaben die Präsenz von HLA Klasse I mRNA an primären und sekundären Spermatozyten. In anderen Differenzierungsstadien der Spermatogenese, z. B. Spermatogonien, Spermatiden und reifen Spermien, konnte keine mRNA für Klasse I HLA detektiert werden.

Das Auftreten von Klasse I HLA als schwere Kettenmoleküle während der Spermatogenese hat u. U. einen Einfluß auf die Meiose, die Reifung u. Differenzierung der Keimzellen, bzw. könnte im Zusammenhang mit der Selektion der männlichen Samenzellen bei der Befruchtung stehen (gefördert durch den Jubiläumsfond der Österreichischen Nationalbank, Projektnr. 9627 an H.H. und die Franz-Lanyar-Stiftung, Med. Fakultät, KF-Univ. Graz).

SOLUBLE HLA-G AND HUMAN BLASTOCYST-CULTURE: SHLA-G CAN NOT BE USED AS A PARAMETER FOR BLASTOCYST-QUALITY

H. Juch, K. Bratko, C. Daxböck,
A. Blaschitz, W. Mahnert, G. Dohr
Institut für Histologie & Embryologie,
Universität Graz

Water-soluble HLA-G was described to be found in the culture-supernatant of human embryos after 72 hours of culture and suggested to be a fundamental prerequisite for the obtainment of pregnancy [1]. We have developed an ELISA test that recognises all different soluble forms of HLA-G i.e. HLA-G5, G6, G7 and shedded forms of HLA-G1, G2, G3 and G4 and have tested culture-supernatant of several human blastocysts of different quality.

Considering data from serum of pregnant women, where mainly HLA-G6 was observed [1], it is important to include all soluble isoforms in such observations.

As soluble HLA-G in blastocyst-culture media could be an ideal marker for blastocyst-quality in the IVF-lab, we first tried to find sHLA-G in pooled, minimal diluted blastocyst-culture media of several, unselected IVF patients, collected on day five after in vitro insemination. No sHLA-G was found in pooled culture-supernatants of blastocysts, although we used a system of high sensitivity (detection-limit 1.2fmol sHLA-G per ml).

However, the use of two well characterised monoclonal anti HLA-G mouse-antibodies (4H84 and MemG1), which recognise the alpha1 domain of HLA-G, provided highest possible specificity and the ability to study all soluble forms of HLA-G. These results indicate, that sHLA-G cannot serve as a reliable additional, biochemical criteria for the ethically sophisticated assessment of embryo quality in the IVF, esp. because five of the blastocysts tested negative for sHLA-G implanted successfully. According to these results, we also conclude, that the relevance of sHLA-G expression by early embryos for human implantation has to be reconsidered.

Literatur:

1. Fuzzi B, Rizzo R, Criscuoli L et al. HLA-G expression in early embryos is a fundamental prerequisite for the obtainment of pregnancy. Eur J Immunol 2002; 32: 311-5.

KRYOKONSERVIERUNG UND SICHERE „POST-THAW RECOVERY“ BEI SCHWERER MÄNNLICHER INFERTILITÄT UND BEI AZOOSPERMIE

A. Just, I. Gruber, M. Wöber, J. Lahodny,
A. Obruca, H. Strohmayer
IVF-Ambulanz, Abteilung für Gynäkologie
und Geburtshilfe, KH St. Pölten

Einleitung: Die erfolgreiche Etablierung der intrazytoplasmatischen Spermieninjektion (ICSI) im Rahmen der in vitro Fertilisation (IVF) als Behandlungsoption bei schwerer männlicher Infertilität war ein Meilenstein in der Reproduktionsmedizin. Durch die Gewinnung einzelner Samenzellen direkt aus dem Hoden mittels testikulärer Spermienextraktion (TESE) oder aus dem Nebenhoden mittels mikrochirurgischer Spermienaspiration (MESA) erlaubt die ICSI sogar in einigen

Fällen von Azoospermie noch die Befruchtung von Eizellen. Einschränkend muß gesagt werden, daß mit der Kryokonservierung eine Qualitätsminderung der Gewebeproben und damit der Samenzellen verbunden ist. Cohen et al. zeigten durch die Benutzung der Zona pellucida eine mögliche Alternative für die Kryokonservierung einzelner motiler Samenzellen. Wir benutzen die Kugelalge *Volvox globator* als Behältnis für eine ausreichende Anzahl von beweglichen Samenzellen.

Material und Methodik: Das Patientenkollektiv umfaßte 15 Patienten mit schwerer männlicher Infertilität (Dichte < 100 bewegliche Spermien/ml), die aus zwei IVF-Programmen (3 Patienten Privatinstitut Goldenes Kreuz, Wien; 12 Patienten KH St. Pölten) rekrutiert wurden.

Ergebnisse: Es erfolgte eine Beurteilung hinsichtlich des Handlings, der Samenqualität und der Identifikation des *Volvox*. Von den insgesamt 45 eingefrorenen *Volvox*-Kugeln waren alle nach dem Auftauen intakt und konnten eindeutig identifiziert werden. Darüber hinaus konnten auch alle der insgesamt 360 Spermien mit Hilfe der Injektionspipette aus der Kugelalge gewonnen werden. Somit betrug die „post thaw recovery rate“ 100 %. Aus jeder *Volvox*-Kugel waren zumindest 5 der 8 Samenzellen motil.

Diskussion: *Volvox globator* ist eine Kugelalge, die billig und einfach kultivierbar ist. Aufgrund ihrer Größe (200 µm) und der grünen Farbe ist sie leicht zu identifizieren. Ihre Größe und ihr Membranverhalten erlauben ein ähnliches Handling wie bei der ICSI an der humanen Eizelle. Damit ist bei Personen, die bereits Erfahrung auf dem Gebiet der Mikromanipulation haben, mit einer sehr kurzen Einschulungsphase zu rechnen. Die Gitterstruktur bietet dabei ein stabiles Membranverhalten und schützt die Alge einerseits vor Überdehnung durch übermäßige Flüssigkeitsinfiltration und andererseits vor dem Kollaps durch zu starken Flüssigkeitsentzug. Die Kugelalge muß vor der Injektion nicht präpariert werden. Es ist möglich, die Alge steril zu filtrieren, um etwaige Verunreinigungen zu verhindern. Zusammenfassend stellt die Verwendung der Kugelalge *Volvox globator* einen vielversprechenden, billigen und methodisch einfachen Ansatz für die Kryokonservierung einzelner motiler Samenzellen dar.

SPERMIENCHEMOTAXIS DURCH HLA?

K. Kofler, H. Juch, Ch. Daxböck, A. Blaschitz, A. Ziegler, B. Uchanska-Ziegler, G. Dohr
Institut für Histologie und Embryologie, Universität Graz

Die Anziehung zwischen Gameten des anderen Geschlechts durch Chemotaxis ist ein bekanntes Phänomen bei marinen Metazoen; bei Säugetieren wurde chemotaktische Spermienaktivierung erst in kürzerer Zeit beschrieben. In verschiedenen Studien wurde nachgewiesen, daß Follikelflüssigkeit auf Spermien chemoattraktiv wirkt, der chemotaktisch aktivierende Faktor in der Follikelflüssigkeit des Menschen konnte bis jetzt allerdings noch nicht genau beschrieben werden [Eisenbach, 1999]. Auf männlichen Keimzellen verschiedener Säugetierspezies, auch beim Menschen, wurden Transkripte olfaktorischer Rezeptoren gefunden, denen eine Rolle bei chemotaktischer Aktivität zugeschrieben wird. Das sind die gleichen Transkripte olfaktorischer Rezeptoren, die sich auch im Vomeronasalorgan und im olfaktorischen Epithel in der Nase von Säugetieren finden, wo ihnen unter anderem eine Rolle bei der geruchsabhängigen Partnerwahl zukommt. HLA beeinflusst den Körpergeruch und Frauen wählen bevorzugt Partner, deren HLA-Haplotyp nicht ihrem eigenen entspricht [Wedekind et al. 1995] – eine im Sinne der Evolution vorteilhafte Wahl, bringt sie doch den Nachkommen durch polymorphe HLA-Loci mehr immunologische Kompetenz. Die genetische Information für HLA und ein Teil der genetischen Information für olfaktorische Rezeptoren liegen auf Chromosom 6, werden daher gemeinsam vererbt und sind wahrscheinlich auch funktionell miteinander verbunden. Basierend auf diesen Fakten wurde die Sperm-Receptor-Selection-Hypothese postuliert, der zufolge während der Spermienreifung olfaktorische Rezeptoren im endoplasmatischen Retikulum mit HLA-Molekülen interagieren. Mehrere hundert Gene, die für olfaktorische Rezeptoren codieren, sind bis heute bekannt, eine Vielzahl davon wird an der Spermienzelloberfläche exprimiert, außer jenen wenigen, die mit den eigenen HLA-Molekülen reagieren. Im weiblichen Genitaltrakt werden die Spermien durch einen HLA-Gradienten zur Eizelle gelockt. Wenn diese HLA-Moleküle mit den olfaktorischen Rezeptoren der Spermien in

Kontakt kommen, erfolgt eine Spermien-Aktivierung, die Spermien bewegen sich gerichtet auf die Eizelle hin [Ziegler et al., 2002].

Um die Hypothese zu überprüfen, wurden verschiedene Untersuchungen angestellt. Mittels ELISA-Technik wurde nachgewiesen, daß sich in der Follikelflüssigkeit HLA-Klasse I-Moleküle finden. Anhand immunhistochemischer Techniken konnte weiters gezeigt werden, daß das Tubenepithel, das Gewebe des Ovars und auch Granulosazellen HLA-Klasse I positiv sind.

EINFLUSS VORAUSGEHENDER SCHWANGERSCHAFTEN AUF DEN AUSGANG EINER IVF/ICSI-THERAPIE – ERFAHRUNGEN AUS 175.000 ZYKLEN

M. S. Kupka, R. Felberbaum, K. Friese
Reproduktionsmedizin & Endokrinologie, Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Universität München-Innenstadt, Deutschland

Fragestellung: Ziel der Untersuchung war es, den Einfluß vorausgehender Schwangerschaften auf den Erfolg einer Behandlung im Bereich der humanen Reproduktionsmedizin zu ermitteln. Dabei wurden in vitro-Fertilisationsversuche (IVF) mit und ohne Zuhilfenahme der intrazytoplasmatischen Spermieninjektion (ICSI) und Behandlungen mit dem Transfer aufgetauter, zuvor kryokonservierter Pronuclei-Eizellen (cryopreserved embryo transfer, CPE) analysiert.

Methodik: Es wurden Daten von 103 Deutschen IVF-Zentren im Zeitraum Januar 1998 bis Dezember 2000 ausgewertet. Insgesamt wurden 174.909 Behandlungszyklen analysiert. Die Daten wurden anonymisiert vom Deutschen IVF-Register zur Verfügung gestellt. Ein multiples logistisches Regressionsmodell wurde eingesetzt. Untersucht wurden Kenngrößen wie Art der vorherigen Konzeption (mit oder ohne reproduktionsmedizinischer Behandlung), Ausgang der Schwangerschaft, Dauer der Subfertilität, Alter der Frau und klinische Schwangerschaftsrate pro Punktion.

Ergebnisse: Mehr als eine vorausgehende Schwangerschaft war negativ korreliert

zur Erfolgsrate einer IVF-Behandlung. Bei Patientinnen unter 35 Jahren verschwand diese Korrelation wieder. Eine Schwangerschaft durch eine IVF-Therapie war wahrscheinlicher bei Paaren mit einer vorausgehenden Schwangerschaft, die ebenfalls durch eine reproduktionsmedizinische Behandlung erzielt wurde, verglichen mit vorausgehenden spontanen Konzeptionen. Eine vorherige Lebendgeburt oder ein vorausgehender Abort hatten einen stärkeren positiven Einfluß auf die IVF-Erfolgsrate als eine vorausgehende Extrauterinschwangerschaft bzw. Interuptio.

Schlußfolgerung: Die reproduktive Anamnese muß bei der Beratung von Paaren über die Erfolgsaussichten einer IVF-Therapie mit einbezogen werden. Das Alter der Frau, die Art einer vorausgehenden Konzeption und der Schwangerschaftsausgang zeigten signifikante Einflüsse auf die Erfolgsaussicht einer reproduktionsmedizinischen Therapie.

THE ROLE OF THE GENETICS PROFESSIONAL IN AN IVF/PGD PROGRAM

Ch. M. Lavin
Reproductive Genetics Institute, Chicago, USA

Reproductive Genetics Institute has been working in the field of preimplantation genetics diagnosis (PGD) since its inception in 1990. Since that time, there have been numerous genetic counsellors and medical geneticists who have been employed and who have been integral in streamlining the program. As PGD becomes increasingly popular and more diseases are possible to test for, it becomes increasingly complex. New options open up for patients who would traditionally be faced with the choice of facing prenatal diagnosis and the possibility of pregnancy termination or the utilization of unrelated gamete donation. The testing options vary as technology advances and accuracy of the testing and methodologies improves. Those individuals trained in genetics become the best qualified to work with the patient seeking IVF/PGD treatment, as these patients have multiple needs. This lecture will review the special needs of the patient seeking PGD

for genetic reasons, the numerous responsibilities of coordinating a PGD program, the tenets of genetic counselling in the PGD setting, and the uniqueness of those patients seeking PGD treatment. Additional time will be spent reviewing the complexity of interpreting the results of PGD testing, reviewing the informed consent process of the treatment, the work-up of the PGD patient and follow-up of these same patients.

GESTAGENS IN IMMUNO-MODULATION OF EARLY PREGNANCY

Z. Malý
Institute of Reproductive Medicine and Endocrinology Unica, Brno, Czech Republic

A crosstalk between the embryo and the mother starts early after fertilisation, and results in a protective immune response in the mother. In some pregnancies, the mother recognises foreign paternal antigens and sets up an immune rejection reaction to them, which causes abortion. Gestagens modulate the mother's immune response from rejection of the embryo to protection.

How gestagens achieve this embryo-protective immuno-modulation is explained in this lecture. Described is the stage at which the antigens of the embryo are recognised by the mother and the point at which the immune reaction – whether one of rejection, or of protection – finally comes into effect. There are quite a number of pathways involved in abortogenic shift, but three in particular are of special importance. These are mediated by: Antibodies, T helper (Th1) cells and Natural Killer (NK) cells.

Embryo-protective immuno-modulation takes place in 3 ways: The asymmetric antibodies block the antigenic structures, the protective or favourable Th2 response dominates, resulting in activation of protective cytokines, with suppression of the harmful Th1 response and the NK cell activity diminishes. This events sequence constitutes a protective immuno-modulation.

The key to this embryo-protective immuno-modulation and embryo survival is Progesterone Induced Blocking Factor

(PIBF). PIBF induces asymmetric antibodies, Th2 dominance and reduces NK cell activity. Progressive increase in PIBF positive cells is described with increasing concentrations of Progesterone.

NATURAL FAMILY PLANNING: DETECTION OF THE FERTILE DAYS IN EXPIRATION

K. T. Moeller, D. Hadziomerovic, E. Soelder, L. Wildt
Klinik für Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin, Universität Innsbruck

One of the major problems in natural family planning is the – compared to other mammals – hidden ovulation in humans. Methods to detect the fertile days are except of laboratory hormone diagnostics based on more or less empirical findings of earlier cycles like cycle length and temperature curves. We have studied a simple and reliable method to determine the fertile phase of the actual cycle by measuring etpCO₂ in expiration.

Materials and methods: End tidal pCO₂ (etpCO₂) is centrally regulated and strictly maintained within a narrow range. Its base level is precisely correlated to the menstrual cycle. It follows a biphasic pattern, starting at a higher level during menstruation, dropping to a lower level due to physiologic hyperventilation with the growth of a dominant follicle, thus indicating upcoming ovulation. When levels of sexual hormones go down at the end of the luteal phase, etpCO₂ rises again. In 195 cycles ovulation was identified by hormone assay and measurement of pCO₂.

Results: Discrimination of ovulatory vs. anovulatory cycle with etpCO₂ was possible in all of the 195 cycles.

Conclusions: End tidal pCO₂ is regulated to a very stable level: this level is identical in women during the follicular phase of the menstrual cycle and in men. With rising estradiol and a growing dominant follicle it is trimmed down by physiological hyperventilation. Our observations clearly demonstrate a lower level of etp-CO₂ in ovulatory cycles, which seems to be mandatory for fertility. This lower

level is reached before ovulation and maintained during the luteal phase and in case of a pregnancy during the complete length of it until childbirth. Having been preserved at this level for months, it rises again to the higher stage within minutes to hours. In the light of these findings we conclude that the change of the etpCO_2 level is obligatory in ovulatory cycles and hence seems to be of some importance for implantation and preservation of pregnancy. It is a reliable marker for an upcoming ovulation and marks the beginning of the fertile phase in the menstrual cycle.

LASER-UNTERSTÜTZTE INTRAZYTOLASMAISCHE SPERMIAINJEKTION

M. Moser, T. Ebner, G. Tews
IVF-Labor, Landesfrauenklinik Linz

Einleitung: Kürzlich wurde eine Methode beschrieben, die die Überlebensrate nach ICSI signifikant erhöhen soll. Dabei wird vor dem Einstechen die Zona pellucida mit einem einzelnen Laserpuls lokal abgetragen, was in weiterer Folge ein leichteres Eindringen in die Eizelle ermöglicht. Da sich aber diese Öffnung zu einem späteren Zeitpunkt nicht mehr lokalisieren läßt, kann man kein „Assisted Hatching“ anwenden, um nicht Gefahr zu laufen, durch eine zusätzliche Öffnung der Zona entweder dem Embryo das Schlüpfen unmöglich zu machen oder die Rate an monozygotischen Zwillingen zu erhöhen.

Methoden: Deshalb wurde bei 85 Patientinnen die Hälfte der Oozyten ($n = 870$) mittels mehreren Laserpulsen nahezu halbiert, so daß die ICSI durch eine ca. $70 \mu\text{m}$ große Verdünnung (später leicht zu identifizieren) durchgeführt werden konnte. Die verbleibenden Oozyten wurden mittels konventioneller ICSI behandelt.

Resultate: Es zeigte sich, daß durch die Laser-unterstützte ICSI die Rate der degenerierten Eizellen signifikant gesenkt werden konnte ($p = 0,005$). Außerdem zeigte sich die Qualität der Embryonen deutlich verbessert ($p = 0,024$). Im Falle eines Blastozystentransfers (Tag 5) fanden sich in der Studiengruppe signifikant mehr „hatchende“ Blastozysten ($p = 0,011$), die alle (100 %) an der manipulierten

Stelle schlüpften. Die Schwangerschaftsrate zeigte sich jedoch unbeeinflusst.

Schlußfolgerung: Die beschriebene Methodik vereint eine wenig invasive ICSI mit einem „Assisted Hatching“ im Eizellstadium. Durch die beschriebenen Vorzüge würde sich diese Methode besonders im Falle eines bekannten sehr schweren Anstehens (hohe Degenerationsrate) der Eizellen und bei bekannter schlechter Embryoqualität anbieten.

PRODUKTION UND CHARAKTERISIERUNG MONOKLONALER ANTIKÖRPER GEGEN HLA-G

I. Obermayer, A. Blaschitz, Ch. Daxböck, H. Juch, G. Dohr, H. Hutter
Institut für Histologie & Embryologie, Universität Graz

HLA-G ist ein humanes Leukozyten-Antigen (HLA Klasse Ib) und wird im extravillösen Zytotrophoblast der Plazenta exprimiert. Dieses Molekül spielt eine bedeutende Rolle in der Auslösung der maternalen Toleranzentwicklung während der Schwangerschaft (feto-maternale Kontaktzone). HLA-G ist durch geringen Polymorphismus, Transkription einiger Isoformen infolge alternativen „RNA splittings“ und begrenzte Organverteilung charakterisiert. In letzter Zeit wurden einige wenige spezifische monoklonale Antikörper (mAk) beschrieben, die helfen könnten, die verschiedenen HLA-G-Isoformen zu detektieren; wirklich Isoform-spezifische monoklonale Antikörper sind bisher noch nicht produziert worden und daher ist nicht bekannt, welche der unterschiedlich prozessierten mRNA-Formen „in vivo“ in Protein übersetzt werden. Neue Isoform-spezifische Reagentien könnten folgende Fragen klären: i) Welche Isoformen werden „in vivo“ in der Plazenta bzw. anderen humanen Geweben (Thymus, Keimzellen) in Protein übersetzt? ii) Gibt es pathologische Gewebe (präeklampsische Plazenta, Tumoren), die HLA-G Proteine exprimieren und können diese HLA-Proteine als Tumormarker bzw. für die Pränataldiagnostik eingesetzt werden? iii) Welche Funktionen haben membrangebundene und lösliche HLA-G-Isoformen in der Schwangerschaft bzw. Krankheitsentstehung?

Zur Produktion von Isoform-spezifischen mAk wurden Balb/c-Mäuse mit synthetischen Peptiden, die verschiedenen HLA-G-Proteinabschnitten entsprechen, immunisiert und die Milzzellen dieser Mäuse mit Mausmyelomzellen fusioniert. Die Überprüfung der Kulturüberstände der Hybridomzellen auf das Vorhandensein von Ak erfolgte mittels ELISA. Im Anschluß daran wurden die Ak auf ihre Spezifität an verschiedenen transfizierten Zelllinien bzw. humanen Geweben mit Hilfe von Immunzyto- und -histochemie getestet und mit dem Reaktionsmuster von bereits vorhandenen mAk verglichen. Die mAk 4H84 und MEM-G/1 lieferten an Paraffinschnitten und Zytospinpräparaten gute Ergebnisse; sie erkennen HLA-G1, -G2 und -G5 und binden zusätzlich an Choriokarzinomzelllinien und extravillöse Zytotrophoblasten in Plazenten aller Reifestadien. Der mAk MEM-G/9 zeigt gute Resultate an Gefrierschnitten, kann jedoch an Paraffinschnitten nicht angewendet werden. Weitere mAk sind derzeit in Herstellung bzw. werden genauer charakterisiert (gefördert vom Dekanat der Med. Fakultät der Karl-Franzens-Universität Graz, Dissertationsstipendium an I.O.).

DAS FRUCHTWASSER ALS NEUE QUELLE FÜR STAMMZELLFORSCHUNG

A. R. Prusa, M. Hengstschläger
Genetisches Labor der Abteilung für Pränatale Diagnostik und Therapie, Universitätsklinik für Frauenheilkunde, Wien

Einer der aktuell wichtigsten Teilbereiche der Stammzellforschung beschäftigt sich mit der Suche nach neuen Quellen zur Gewinnung von Vorläuferzellen mit noch möglichst hohem Entwicklungspotential. Um in einem breiten Spektrum humaner Gewebe untersuchen zu können, ob Stammzellen vorhanden sind, war es Ziel, ein effizientes molekulares Screening zu entwickeln. Stammzellen unterschiedlicher Herkunft und mit verschiedenen Potentialen haben bestimmte spezifische Genaktivitäten. Basis unseres Screenings ist die Extraktion von mRNA aus verschiedensten Geweben und der Nachweis von Stammzell-spezifischen Markern mittel RT-PCR. Durch die Auswahl bestimmter Oligonukleotide kann jedes Gewebe auf die Expression einer großen Anzahl verschiedener Stammzell-

marker untersucht werden. Das Set an verwendeten Markern erlaubt somit Rückschlüsse auf das Vorhandensein von pluripotenten oder gewebspezifischen Stammzellen.

Untersuchungen an humanem Fruchtwasser haben gezeigt, daß sich darin Oct-4-positive Stammzellen befinden. Diese Zellen exprimieren Oct-4-mRNA und es konnte auch Oct-4-Protein in den Zellkernen nachgewiesen werden. Oct-4 ist ein spezifischer Marker für humane Stammzellen mit einem sehr hohen Entwicklungspotential. Solche Stammzellen wurden bisher nur aus frühen humanen Embryonen (verbrauchende Embryonenforschung) isoliert.

Im humanen Fruchtwasser findet man Zellen aller drei Keimblätter des Fetus. In unserem Labor kommen proteinchemische, molekulargenetische und zellbiologische Technologien zum Einsatz, um Fragen zu beantworten, wie:

- 1) Welche Zellen/Zelltypen liegen im Fruchtwasser vor?
- 2) Können Amnionzellen als primäre Zellmodelle für grundlagenwissenschaftliche Projekte verwendet werden?
- 3) Kommen Amnionzellkulturen als Quelle für Forschung an Progenitorzellen/Stammzellen in Betracht?
- 4) Welche Ansätze für „Tissue engineering“ aus Amnionzellkulturen sind denkbar?

UMWELTSCHADSTOFFE UND FERTILITÄT: EINE BESTANDSAUFNAHME

H. Pusch

Ambulatorium für Andrologie und Reproduktionsmedizin, Graz

Die Belastungen durch Umweltschadstoffe (Xenobiotika) und endokrin wirksame Chemikalien nehmen stetig zu. Im Gegenzug wurde in den vergangenen 50 Jahren eine kontinuierliche Abnahme der Spermatozoendichte beobachtet. Paradoxerweise wurden die Normwerte für die Samenqualität ebenfalls sukzessive herabgesetzt – ein in der medizinischen Welt einmaliger Vorgang. Global gesehen scheint die Spezies Homo sapiens (sapiens?) kein Vermehrungsproblem zu haben – die Weltbevölkerung liegt bei weit über 6 Mrd. Menschen. Individuell gesehen nimmt aber sowohl in den Industriestaaten

als auch in den „Entwicklungsländern“ der Prozentsatz ungewollt kinderloser Paare zu.

Mit welchen Noxen haben wir vorwiegend zu tun?

- 1) Physikalische Einflüsse: Trauma, Temperatur, Strahlung, Mikrowellen.
- 2) Chemische Einflüsse: Metallsalze, Mineralöle, Hormone, Pestizide, Herbizide, Insektizide, Medikamente.
- 3) Störfaktoren: Lärm, Streß, Gerüche, Witterungseinflüsse, Staub, Ruß, Kälte, Feuchtigkeit, künstliches Licht.

Die chemischen Noxen haben verschiedene Ansatzpunkte: Speicherung im Fettgewebe, Anreicherung in den Sekreten des Genitaltraktes und in der Follikelflüssigkeit. Chlorierte Kohlenwasserstoffe (DDT) bleiben lebenslang gespeichert. Zur Zeit sind etwa 150 Substanzen bekannt, die das Potential haben, endokrine Vorgänge negativ zu beeinflussen. Herbizide und Pestizide: Jährlich werden Pflanzenschutzmittel im Wert von 25 Mrd. Euro eingesetzt. 750.000 Menschen sind weltweit mit der Produktion und Anwendung dieser Substanzen befaßt. Bestimmte Berufsgruppen sind besonders exponiert, dazu gehören Raffinerie- und Tankstellenpersonal, Chemiearbeiter, Asphaltierer, Landwirte, Schweißer, Anstreicher, Spritzlackierer, med.-techn. Personal, Nacht- und Schichtarbeiter.

Was ist aus der Sicht des Reproduktionsmediziners zu tun? Eine sorgfältige Erhebung der beruflichen Situation bei der Anamnese ist unabdingbare Voraussetzung zur Beurteilung der individuellen Situation des Patienten. Vermeidbare Noxen ausschalten: in erster Linie geht es um Nikotin, Streß, Gewerbegeifte und extreme Freizeitaktivitäten. Analyse berufsbedingter Belastungen (z. B. Landwirte – Spritzmittel) und Erarbeitung von Vermeidungsstrategien.

ORGANISATION AMBULANTER TESE AM FOLLIKELPUNKTIONSTAG

A. Reissigl, J. Brunner, St. Obwexer, J. Pointner

Urologische Abteilung, Landeskrankenhaus Bregenz

Wir berichten über unser ambulantes Vorgehen bei Männern mit obstruktiver

und nicht-obstruktiver Azoospermie mit ambulant durchgeführter testikulärer Spermaextraktion. Analysiert wird die Aufenthaltsdauer im Krankenhaus, der postoperative Schmerz und das Befinden des Patienten sowie die Ergebnisse nach ICSI und Embryo-Transfer.

Ergebnisse: Bei 45 Männern wurde die Hodenbiopsie durchgeführt, 53 x konnte ein Embryo-Transfer vorgenommen werden. In 6 Fällen mit nicht obstruktiver Azoospermie konnten keine Spermatozoen zur ICSI gefunden werden.

Nach Transfer von maximal 2 Embryonen am Tag 2/3 (n = 13) bzw. am Tag 5 im Blastozystenstadium (n = 40) konnten insgesamt 26 positive Ergebnisse mit Herzaktion in der 6. Woche erzielt werden.

Bei 12 Patienten lag eine obstruktive Azoospermie vor (aus 15 Transfers in dieser Gruppe resultierten 5 Schwangerschaften), bei 33 Patienten bestand eine nicht-obstruktive Azoospermie (aus 38 Transfers aus dieser Gruppe resultierten 21 Schwangerschaften).

Die Patienten wurden mindestens zwei Stunden nach der TESE entlassen, die Angaben über die postoperativen Beschwerden ergaben keinerlei Auffälligkeiten, es bestanden nur noch leichte Schmerzen am Tag nach der TESE.

Das mittlere Alter der Männer betrug 34,7, jenes der Frauen 31,2 Jahre. Die mittlere Anzahl der transferierten Embryonen betrug 1,8. Die kumulative Schwangerschaftsrate pro Hodenbiopsie betrug 58 %, die Schwangerschaftsrate pro Embryo-Transfer betrug 49 %.

QUALITÄTS-MARKETING FÜR IVF

G. F. Riegl

Institut für Management im Gesundheitsdienst, Augsburg

In der Reproduktionsmedizin spielt sich eine der spannendsten Erfolgsstories der Medizin ab. Wer zu den Gewinnern und Verlierern zählt, wird jedoch nicht allein fachlich, sondern auch vom intelligenten Zusammenspiel des Marketings und Qualitätsmanagements im IVF-Zentrum entschieden. Jedes Zentrum ist anders und das eigene Zentrum muß auf geniale

Weise für die Zielgruppen einzigartig sein. Patentlösungen von der Stange sind beim IVF-Qualitäts-Marketing leider wenig wert, denn hier geht es um Profil.

Was für den ur-eigenen Weg zum unternehmerischen Erfolg weiterhilft, sind vorliegende Marketing-Forschungsergebnisse zur Definition gewisser Goldstandards für das Management und zu den bewährten Strategie-Regeln für den kundenorientierten Umgang mit Kinderwunschpaaren, Zuweisen und Meinungsbildnern speziell im Metier der Reproduktionsmedizin.

Beim Leistungswettbewerb im Gesundheitssektor spielen die IVF-Zentren wieder eine Vorreiterrolle: Der Liebhaberwert für gesunde Wunschbabys steigt, die Eigenverantwortung und die Überansprüche der Betroffenen nehmen zu, es soll immer weniger dem Zufall überlassen werden. Die grenzüberschreitende Konkurrenz in Europa wird u. a. durch die unterschiedlichen Freiheitsgrade in der IVF-Behandlung angeheizt. Die Transparenz der Ergebnis-Qualitäten ist mehr als in anderen Disziplinen fortgeschritten. Daneben finden Wettläufe um fachliche Reputation und um Marktanteile bei den Fallzahlen statt. Dies ist die Geburtsstunde für ein professionelles arzt- und patientengerechtes IVF-Qualitäts-Marketing.

Qualitätsmanagement im IVF-Bereich ist viel schwieriger als in der Industrie: Es gibt keine standardisierbaren Fälle. Die Patientinnen sind Qualitätsfaktor Nummer 1 und das IVF-Ergebnis ist zum großen Teil auch ein Gemeinschaftswerk von Behandler, therapietreuer Patientin, deren Partner und eventuell der zusehenden Kollegen. Qualität in der Medizin verkauft sich nicht von selbst, weil gute Medizin sehr belastend sein kann und besonderer Vertrauensbildung bedarf.

Das Qualitäts-Marketing bietet IVF-Profis praxisbezogene Hilfen zur Entstehung eines ausgewogenen Casemix. Selbstbestimmte Fälle im Zentrum erfordern Zusatzkompetenzen beim externen Patientenverdienenden. Außerhalb des Zentrums fallen die strategischen Entscheidungen für die Auslastung, die Spezialisierung, die solidarische Ausgewogenheit und die Veredelung der jeweiligen Erfolgsbilanz von privaten oder öffentlichen Zentren. Werbung und Public Relations sind die Speerspitzen des IVF-Marketings, aber ohne vorherige Analyse, am besten mit IVF-Qualitäts-Benchmarking, und ohne

schlüssige darauf aufbauende Strategie, droht die Promotion zum Kunstfehler und Verlust zu werden. Seriöses Qualitäts-Marketing macht in erster Linie Patientinnen zu Gewinnern und sichert damit für die Zentren den Gewinn im Qualitätswettbewerb. Marketing unterstützt Ärzte, damit sie ihren Prinzipien treu bleiben können.

THROMBOSEN – EIN LEBENSBEDROHLICHES RISIKO NACH STIMULATION IN DER REPRODUKTIVMEDIZIN

*Th. Sander, M. Mieke
Institut für Reproduktionsmedizin, Bregenz*

Das ovarielle Überstimulationssyndrom (OHSS) ist eine seltene, aber potentiell gefährliche Folge der Ovulationsauslösung mit Gonadotropinen. Die Häufigkeit schwankt zwischen 0,5 bis 5 %. Da es sich um eine nicht notwendige Behandlung mit fakultativ fatalem Ausgang handelt, bleibt es ein ernsthaftes Problem in der Reproduktionsmedizin.

Das Syndrom ist gekennzeichnet durch Flüssigkeitsverschiebung vom Intravasal in den Extravasalraum mit nachfolgender Hypotonie, Abnahme des renalen Blutflusses und daraus resultierender Oligo- und Anurie. Es wird vermutet, daß der auslösende Faktor eine erhöhte kapilläre Permeabilität ist. Weitere schwerwiegende Komplikationen sind Leberfunktionsstörungen, akutes Nierenversagen, schwere Dyspnoe und stillgedrehte Ovarien. Die gefährlichste Komplikation des OHSS ist eine zerebrovaskuläre Thromboembolie mit nachfolgendem ischämischem Insult. Der vaskuläre endotheliale Wachstumsfaktor und andere Zytokine sind in der Pathogenese des OHSS federführend.

Berichtet wird anhand einer Kasuistik über Ursache, Behandlung und Prävention des OHSS. Bei unserem Sonderfall bestand eine Kombination aus grippalem Infekt mit gastrointestinalen Symptomen bei beiden Partnern und einem OHSS mit nachfolgendem zerebrovaskulärem Insult.

Die Kunst des Reproduktionsmediziners wird es weiterhin sein, die Risikopatientinnen herauszufiltern und entsprechende präventive Maßnahmen zu ergreifen.

IMPROVED EMBRYONIC STEM CELL MEDIA

*L. Schoonjans
Senior Scientist, Stem Cell Technologies,
Leuven*

Genetically altered mice may exhibit highly variable phenotypes due to variation in genetic background, which can only be circumvented by generation of inbred, isogenic gene-targeted and control mice. Here we report the production of two new embryonic stem (ES) cell culture media, namely TX-ES and TX-WES. TX-ES is an embryonic stem (ES) cell culture medium, conditioned by a fibroblast cell line transduced with genomic rabbit leukaemia inhibitory factor (LIF), which allows efficient derivation and maintenance of ES cell lines from all of ten inbred mouse strains tested, including some that were presumed to be non-permissive for ES cell derivation (129/SvEv, 129/SvJ, C57BL/6N, C57BL/6J, CBA/CaOla, DBA/2N, DBA/1Ola, C3H/HeN, BALB/c and FVB/N). Germline transmission was established by blastocyst injection of established ES cell lines after 10 or more passages from all of seven strains tested (129/SvJ, C57BL/6N, C57BL/6J, CBA/CaOla, DBA/2N, DBA/1Ola, BALB/c and FVB/N), by diploid aggregation of ES cell lines from all of four strains tested (129/SvEv, C57BL/6N, CBA/CaOla and FVB/N) or by tetraploid aggregation of ES cell lines from all of three strains tested (129/SvEv, C57BL/6N and CBA/CaOla).

Thromb-X NV also developed a second, LIF-free ES cell medium. Thus far, this LIF-free TX-WES medium has already allowed the derivation of embryonic stem cells from the C57BL/6N, BALB/c, FVB/N, 129SvEv and DBA/2N strain. The derivation efficiency varied between 40 % and 60 %. Eleven different C57BL/6N ES cell lines were injected into Swiss Webster blastocysts. Ten C57BL/6N ES cell lines were able to generate chimeric pups after blastocyst injection into blastocysts of Swiss Webster mice. Only for a female ES cell line no germline transmission was obtained. Nine FVB/N and seven BALB/c ES cell lines were injected into C57BL/6N blastocysts. For each of these ES cell lines from the FVB/N strain as well as from the BALB/c strain chimeric pups were born after injection in blastocysts of C57BL/6N mice. Six FVB/N ES cell lines

and all BALB/c ES cell lines have shown germline transmission capability. Germline transmission capacity of the 129SvEv and DBA/2N ES cell lines is presently ongoing.

These inbred ES cell lines may constitute useful tools to derive gene-targeted mice and isogenic controls in selected genetic backgrounds.

PERSPEKTIVEN NICHTINVASIVER PRÄNATALDIAGNOSTIK AUF DER BASIS VON OBJEKTTRÄGER-ZYTOMETRIE

P. Sedlmayr, E. Schulz, S. Hennerbichler, E. Petek, B. Pertl, R. Wintersteiger, P. Kroisel, G. Dohr
Institut für Histologie und Embryologie, Universität Graz

Eine sehr kleine Zahl an Zellen fötalen Ursprungs findet sich im peripheren Blut schwangerer Frauen. Könnte man diese Zellen zum Zweck einer Pränataldiagnostik verwenden, würden invasive Eingriffe wie Amniozentese durch eine Punktion der Kubitalvene ersetzbar, und human- und molekulargenetische Analysen fötaler Zellen wären wegen des fehlenden Risikos jeder schwangeren Frau anzubieten. Aufgrund von technischen Problemen ist es jedoch bis heute nicht möglich, ein derartiges Verfahren in der Routinediagnostik einzusetzen.

Fötale Erythroblasten sind einfach zu charakterisieren und somit als Zielzelle interessant. Wir entwickelten eine Methode zur Detektion dieser Zellen unter Ausnutzung einer Funktionseigenschaft der Laser Scanning Zytometrie, individuellen Meßereignissen durch Relokalisierung die zugehörige Zelle visuell zuordnen zu können. Die Charakterisierung der auf der Basis der Expression von CD71 angereicherten Zellen erfolgte über anti-Hba-FITC, DNA-Fluoreszenz (TO-PRO-3) und FISH-Analyse über eine Y-Chromosom-spezifische Sonde. Gleichzeitig Hba- und TO-PRO-3-positive Ereignisse wurden relokalisiert und deren Morphologie und FISH-Reaktivität visuell beurteilt.

Waren die Föten männlich, so war eine eindeutige Identifizierung fötaler Zellen in der Mehrzahl der Fälle möglich. Unser

Verfahren vermittelt einen zusätzlichen – virtuellen – Anreicherungs-schritt. Es bietet sich die Perspektive, über Relokalisierung identifizierter Zellen auf dem Objektträger weitere Untersuchungsschritte, wie z. B. wiederholte FISH-Analysen unter Verwendung unterschiedlicher Sonden oder auch Mikrodisektion für PCR-Untersuchungen an den definierten Zielzellen, durchzuführen.

ENDOMETRIOSE UND IVF – 2 FALLBEISPIELE

M. Sommergruber, U. Gaiswinkler, J. Hartl, M. Moser, Th. Ebner, G. Tews
IVF-Institut, Landesfrauenklinik Linz

Die Therapie der Endometriose sowie die Behandlung von Patientinnen mit Kinderwunsch und höhergradiger Endometriose wird sehr kontroversiell diskutiert. Wir berichten über zwei Fallbeispiele, in denen bei ausgeprägter Endometriose ein IVF-ET durchgeführt wurde. Anamnese, Diagnostik, Therapie und Outcome werden dargestellt.

Fallbeispiel I: Eine 32jährige Patientin mit Endometriose, AFS IV, wird bei ausgeprägter Endometriose im kleinen Becken, funktionsloser Sackniere und Hydroureter dext. per medianer UB Laparotomie operiert. Im Zuge der dabei durchgeführten Nephroureterektomie re, einer en bloc-Resektion des Rektosigmoids und einer Adnexektomie re. wurde auch eine Freipräparation des linken Ureters durchgeführt. Der erste IVF-ET-Versuch nach vier Monaten wird als „long protocol“ hochdosiert mit einem HMG-Präparat geführt und wegen „non response“ abgebrochen. Der folgende zweite Versuch wird als Antagonistenprotokoll, ebenfalls mit einem HMG-Präparat hochdosiert geführt. Eine Woche nach Blastozysten-transfer kommt die Patientin mit höchstgradiger renaler Funktionseinschränkung und beginnender klinischer Symptomatik zur stationären Aufnahme. Nach Durchführung der Akutdialyse und Schienung des linken Ureters normalisieren sich die Nierenfunktionsparameter und im weiteren Verlauf kann eine intakte Geminigravidität diagnostiziert werden. In der 16. SSW kommt es zum Spontanabort des ersten Zwillings, der ein komplexes Mißbildungssyndrom mit Gastroschisis zeigt.

In der 21. SSW kommt es zum vorzeitigen Blasensprung des zweiten Zwillings. In der 23. SSW muß bei kompletter Anhydramnie ein medikamentös induzierter Spätabortus eingeleitet werden.

Fallbeispiel II: Eine 35jährige Patientin mit Endometriose, AFS III-IV, unterzieht sich dem ersten IVF-ET-Versuch. Es wird ein „low dose“ Antagonisten-Protokoll mit einem HMG-Präparat gewählt. Die Patientin entwickelt extrem hohe Östradiolwerte, es werden 30 Eizellen gewonnen. Aufgrund dessen wird in Absprache mit der Patientin auf einen ET im selben Zyklus verzichtet und ein Kryo-ET in einem der nächsten Zyklen vereinbart. Trotzdem muß nach einer Woche bei massiver OHSS-Symptomatik eine stationäre Aufnahme erfolgen und eine Entlastungspunktion per laparoscopiam bei fehlendem Ascitesdepot im kleinen Becken und massiv vergrößerten Ovarien durchgeführt werden. Der SST ist zu diesem Zeitpunkt negativ. Weitere Entlastungspunktionen werden durchgeführt. Nach weiteren 10 Tagen ist der SST positiv. Anamnestisch kann erhoben werden, daß die Patientin zuletzt 4 Tage vor der Follikelpunktion Verkehr hatte. Es kommt zur Entwicklung einer Geminigravidität mit „vanishing twin“ und in weiterer Folge einer intakten Einlingsschwangerschaft. Die Patientin befindet sich derzeit in der 32. SSW.

THERAPIE-„OUTCOME“ NACH ICSI MIT SPERMEN AUS OBSTRUKTIVEN UND NICHT-OBSTRUKTIVEN TESTIKULÄREN BIOPSIEN IN KLASSISCHER KULTUR UND NACH BLASTOZYSTEN-KULTUR

A. Stecher, I. Zech, H. Zech
Institut für Reproduktionsmedizin, Bregenz

Die Intrazytoplasmische Spermieninjektion (ICSI) aus testikulären Biopsien ist seit langem Routine in der Reproduktionsmedizin und wird mit Erfolg durchgeführt. In der Literatur werden ähnliche Fertilisations- und Implantationsraten bei Patienten mit normaler Spermatogenese mit testikulären Spermien, wie mit ejakulierten Spermien angegeben. Der Einfluß der Pathologie im Hoden (obstruktiv oder

nicht-obstruktiv) spielt eine maßgebliche Rolle, um Spermien gewinnen und eine Schwangerschaft etablieren zu können. Die Qualität der extrahierten Spermien bezüglich Motilität, Morphologie und Einfrierbarkeit sowie ICSI mit aufgetauten testikulären Spermien beeinflussen die Schwangerschaftsrate. Durch die Entwicklung der sequentiellen Medien ist eine Kultur bis zum Blastozystenstadium möglich geworden. Die Ergebnisse mittels klassischer Kultur (bis Tag 3) werden mit der Blastozystenkultur – eingesetzt seit 1998 – verglichen. Es werden die Daten von 420 ICSI-Zyklen mit testikulären Spermien der letzten sieben Jahre retrospektiv verglichen.

BESONDERHEITEN DER EKTOPEN SCHWANGERSCHAFT NACH IVF/ICSI

G. Tews, M. Moser, Th. Ebner, J. Hartl, M. Sommergruber
IVF-Institut, Landesfrauenklinik Linz

Einleitung: Entgegen vielen landläufigen Meinungen ist im Bereich der reproduktionsmedizinischen Eingriffe die Rate an ektopen Schwangerschaften nicht erniedrigt, sondern vielmehr erhöht. Insbesondere dürfte der tubare Faktor, der meist zur IVF führt, auch dafür verantwortlich sein, einen fehlgeleiteten Embryo nicht mehr in das Cavum zurückzutransportieren.

Methoden: Insgesamt wurden 19 ektopen Schwangerschaften, die nach IVF/ICSI entstanden sind, prospektiv 16 intakten Schwangerschaften gegenübergestellt. In der Auswertung wurden β -HCG-Werte, Progesteronwerte und β -HCG-Anstiege gegenübergestellt und miteinander verglichen.

Resultate: Ähnlich wie bei herkömmlich entstandenen ektopen Schwangerschaften zeigte sich, daß auch hier die β -HCG-Werte, aber auch insbesondere die Progesteronwerte gegenüber intakten intrauterinen Graviditäten vermindert sind. Weiters kommt es auch hier zu deutlich verzögerten β -HCG-Anstiegen. Ausnahmen bilden lediglich die in der Reproduktionsmedizin häufiger vorkommenden heterotopen Schwangerschaften (ektopen mit intrauteriner Schwangerschaft kombiniert), die insgesamt äußerst schwierig zu diagnostizieren sind.

Schlußfolgerungen: Ektopen Schwangerschaften kommen insbesondere gehäuft nach IVF, weniger oft nach ICSI, vor. Im Vergleich zu herkömmlich entstandenen ektopen Graviditäten weisen sie durch die hohe Anzahl der Gelbkörper etwa 5 x höhere Progesteronwerte auf. Gleichzeitig muß insbesondere in der Reproduktionsmedizin mit dem eventuellen Auftreten einer heterotopen Schwangerschaft gerechnet werden.

TELEMEDIZIN ERHÖHT DIE QUALITÄTSKONTROLLE BEI DER STERILITÄTSBEHANDLUNG

P. Uher, N. Van Rooij (Serono), K. Rink (Octax), H. Zech
Institut für Reproduktionsmedizin und Endokrinologie, Bregenz

Einleitung: Die schnellen technologischen und wissenschaftlichen Fortschritte im Bereich der Reproduktionsmedizin, Endokrinologie und Embryologie erfordern einerseits eine tiefgehende Spezialisierung auf den verschiedenen Gebieten der assistierten Reproduktion und andererseits das ständige Verfolgen des aktuellen Wissensstandes und der praktischen Kenntnisse.

Methoden: Es wird eine permanente internationale Internet-Verbindung (VPN) zwischen drei IVF-Zentren (Meran – Italien, Niederuzwil – Schweiz und Bregenz – Österreich) präsentiert.

Resultate: Das VPN ermöglicht eine online- (in der Zeit) Verbindung und damit jederzeit aktuelle Konsultationen zwischen Fachleuten in allen Bereichen der IVF-Zentren. Man könnte nicht nur retrospektive Daten und Erfahrungen austauschen, sondern in der Zeit Methoden der assistierten Reproduktion diskutieren und „zusammen“ durchführen.

Schlußfolgerung: Die internationale online-Kooperation zwischen drei IVF-Zentren kann wissenschaftliche Erkenntnisse, praktische Erfahrungen und hauptsächlich die Qualitätskontrolle der Behandlung erhöhen.

DHEA UND ANDROPAUSE

W. Urdl
Universitätsfrauenklinik Graz

Im Rahmen von Alterungsvorgängen kommt es zu einer partiellen Nebennierenrindeninsuffizienz, die durch erniedrigte Blutspiegel von DHEA und DHEA-Sulfat (DS), verbunden mit normalen Cortisolspiegeln charakterisiert ist (Andropause). Es existieren viele klinische Berichte über positive Effekte einer oralen DHEA-Substitution im Rahmen der Prävention und Behandlung degenerativer Erkrankungen im Alter.

Üblicherweise werden Frauen im Rahmen derartiger Substitutionen 25–50 mg, Männern 50–100 mg oral verabreicht. Im Rahmen von Dosisfindungsstudien konnte nachgewiesen werden, daß bei inadäquater Dosierung klinische Nebenwirkungen wie Müdigkeit, Ruhelosigkeit, Alopezie, Akne, Hirsutismus bzw. Migräne auftreten konnten. Ist die Dosis adäquat, kommt es vielfach zu einer signifikanten Verbesserung der Befindlichkeit. Eine hochdosierte Substitution mit DHEA erscheint dagegen nur bei spezifischen Erkrankungen, wie Autoimmunerkrankungen (z. B. Lupus erythematoses), indiziert.

DIE KONTROLLIERTE OVARIELLE ÜBERSTIMULATION BEI „NORMAL, HIGH AND LOW RESPONDERS“ IM RAHMEN DER ASSISTIERTEN REPRODUKTION

W. Urdl
Universitätsfrauenklinik Graz

Um eine Verbesserung der Ergebnisse im Rahmen der assistierten Reproduktion zu erzielen, ist es ratsam, die sogenannte Ovarialreserve jener Frauen, die in derartige Programme einbezogen sind, zu bestimmen. Hiefür eignen sich folgende Tests:

- Basaler FSH, E_2 und Inhibin A- bzw. B-Spiegel
- FSH/LH-Ratio
- GnRH-Analoga-Stimulationstest
- Clomiphen-citrate-challenge-Test
- Die sonographische Kontrolle basaler antraler Follikel am Tag 2.

Auch die Dicke des Endometriums, in Kombination mit dessen Muster (homogen bzw. trilaminar) am Tag der HCG-Gabe, erscheint als prognostischer Faktor äußerst wichtig. Im weiteren sollten die Ergebnisse ovarieller Überstimulationen früherer Behandlungszyklen herangezogen werden, um die sogenannte Ovarialreserve zu bestimmen. Dies berücksichtigend unterscheiden wir „low, normal und high responders“. Demnach werden, dem jeweiligen „Response“ auf die kontrollierte ovarielle Überstimulation entsprechend, folgende Stimulationsprotokolle empfohlen:

„Normal responders“:

- Long protocol: GnRH-Agonisten in Kombination mit rekombinantem FSH und/oder HMG
- Rekombinantes FSH oder HMG/GnRH-Antagonisten

„High responders“:

- Ein modifiziertes step-down-protocol
- Coasting
- Rekombinantes FSH/GnRH-Antagonisten (zur Ovulationsinduktion: GnRH-Agonisten)
- Modifiziertes step-down-protocol, Kryokonservierung aller Embryonen und Embryotransfer in einem folgenden, nicht stimulierten Zyklus

„Low responders“:

- Short flare-up protocol: short GnRH-Agonisten/Rekombinantes FSH oder HMG
- Microdose GnRH-Agonisten flare up protocol

In der Zeit zwischen 1. Jänner 2001 und 31. Dezember 2002 konnten an der Grazer Klinik nach Berücksichtigung dieser Stimulationsprotokolle nach 587 Embryotransfers eine klinische Schwangerschaftsrate von 27,5 % erzielt werden. Darüber hinaus waren höhergradige Überstimulationssyndrome (OHSS III) in 2,5 % und eine Mehrlingsschwangerschaftsrate von 29,6 % zu beobachten.

Zusammenfassung: Die Protokolle der kontrollierten ovariellen Stimulation im Rahmen der assistierten Reproduktion müssen den individuellen Gegebenheiten der jeweiligen Kinderwunschpatientin angepaßt werden, um akzeptable Resultate zu erzielen, schwere Überstimulationssyndrome zu vermeiden und die Zahl von Mehrlingsschwangerschaften zu minimieren. Das Alter der Frau, die

Ergebnisse spezifischer prognostischer Tests und die Ergebnisse früherer Behandlungszyklen („normal, high und low responder“) sind zu berücksichtigen.

DAS BESORGT SCHWEIZER ART-LABOR ODER: WIE LÄSST ES SICH ARBEITEN ANGESICHTS EINES RESTRIKTIVEN GESETZES?

M. Van den Bergh, M. K. Hohl, M. Fahy, C. Urech, K. Flügel, J. Stutz, S. Rüflin, K. Schmenger, A. Kratzer, A. Siragusa
Fertilitätslabor Kinderwunsch, Kantons-
spital Baden, Schweiz

Einleitung: Das Fortpflanzungsmedizin-gesetz (FMedG), seit Januar 2001 in Kraft, behindert gemäß aller ART-Labors eine optimale Behandlung unfruchtbarer Paare. Wertvolle Anwendungen, wie verlängerte Kultur, Präimplantationsdiag-nostik, Embryonenkryokonservierung und Eizell- und Embryonenspende, wurden verboten. Das Fertilitätslabor wollte ver-suchen, die negativen Auswirkungen der auferlegten Einschränkungen auf ein Mi-nimum zu reduzieren und überarbeitete seine ART-Praxis. Ziel war eine Schwan-gerschaftsrate wenigstens gleich oder über dem Schweizerischen Mittelwert des Jahres 2001.

Material und Methoden: Das Kultursystem mit Tag 3-Transfer wurde ersetzt durch ein System mit Tag 2-Transfer und sequenti-ellen Medien. Die Medien, deren Zusam-mensetzung an die Stoffwechselbedürf-nisse des Embryos angepaßt ist, wurden unter strenger Kontrolle der Spitalapothe-ke hergestellt. Die Zygoten wurden entsprechend ihrer Vorkernmorphologie ausgewählt zur Weiterkultur. Je nach Alter der Patientin und Anzahl vorausgehender Behandlungszyklen wurden 2 oder 3 Zy-goten in Kultur gehalten. Zusätzlich wurde das Einfrierprotokoll überarbeitet. Wir stellen hier die Ergebnisse der 636 Be-handlungszyklen des Jahres 2002 vor, dem Zeitraum der Optimierung des La-bors, und der ersten 6 Monate des Jahres 2003.

Ergebnisse: Von diesen 636 Zyklen waren 47 % ICSI- und 40 % Kryo-Zyklen. Die ICSI-Patientinnen waren im Durchschnitt 2 Jahre jünger als die IVF-Patientinnen (36 ± 4). In den 274 ICSI-Zyklen fand man

im Schnitt 8 Eizellen, die Befruchtungs-rate war 79 %, weniger als 10 % der Eizellen wurden beschädigt. In 15 Zyklen gab es keinen Transfer. In 48 % der Trans-fers wurden 2 Embryonen zurückgegeben, in 37 % 3 Embryonen. Aus den 242 Trans-fers, deren Ergebnis bis dato vorlag, resultierten 71 klinische Schwangerschaf-ten (31 %). Die klinische Schwanger-schaftsrate pro Transfer im IVF betrug 35 % (18/52). Weitere 37 klinische Schwangerschaften resultierten aus 204 Kryo-Transfers (18 %). Insgesamt wurden aus 339 Punktionen 112 klinische Schwangerschaften erzielt (einschließlich der Kryo-Zyklen), das entspricht einer kumulativen Schwangerschaftsrate von 36 % pro Punktion. Nach der Stabilisie-rung des Kultursystems blieb die Schwan-gerschaftsrate seit Januar 2003 konstant: 81 Punktionen ergaben 33 klinische Schwangerschaften (40,7 %), dazu kom-men 22 Kryo-Schwangerschaften, d. h. eine kumulative Schwangerschaftsrate von 67,9 % pro Punktion.

Schlußfolgerung: FIVNAT-CH 2000/2001 meldete eine mittlere klinische Schwan-gerschaftsrate pro Transfer (IVF+ICSI) von 24,6 % bzw. 24,2 %. Unsere Ergebnisse von 2002 und mehr noch die von 2003, welche 50 % höher sind als der nationale Mittelwert, bestätigen, daß es uns gelang, die negativen Einflüsse des restriktiven Gesetzes zu minimieren. Trotzdem sind wir überzeugt, daß das FMedG dringend überarbeitet werden sollte.

EINFLUSS DES TUBENSTATUS NACH TUBARIA AUF IVF-PARAMETER UND SCHWANGERSCHAFTSRATE

M. Weigert, U. Krischker, W. Feichtinger
Wunschbaby-Zentrum, Wien

Einführung: In der Literatur finden sich zahlreiche Studien bezüglich „Tuben-faktor“ unterschiedlicher Genese als Ursache weiblicher Sterilität. Ziel dieser Studie war, den Einfluß des Tubenstatus nach Behandlung einer Tubaria auf Schwangerschaftsrate (SSR) und IVF-Para-meter zu evaluieren.

Material und Methodik: Diese retrospek-tive Studie basiert auf den Daten von 181 Frauen, die in spontanen Zyklen eine (mehrere) Tubaria(e) hatten und sich

aufgrund der folgenden Infertilität einer IVF-Behandlung (482 Zyklen) unterzogen. Evaluiert wurde der Status beider Tuben mittels OP-Bericht und/oder HSG-Befunden. Folgende Einteilung wurde getroffen: Gruppe (1): beide Tuben durchgängig, (2): beide verschlossen, (3): beide salpingektomiert, (4): eine Seite salpingektomiert, (5): offen, (6): eine Tube offen, die andere verschlossen.

Resultate: Es ergab sich eine durchschnittliche SSR/ET von 32,2 % (Absetzrate 13,9 %). Bei 8,3 % (n = 11) der Schwangeren (133) trat erneut eine Tubaria im Rahmen einer IVF-Behandlung auf. Gruppen mit vorhandenen, jedoch in der HSG nicht durchgängigen Tuben, zeigten im allgemeinen höhere Absetzraten und niedrigere SSR. Die höchsten SSR/ET (41,2 %, p = 0,01) fanden bei den 19–29jährigen Patientinnen (30–35 J: 38,1 %, 36–39 J: 23,3 %, ≥ 40 J: 18,7 %) statt. Bezüglich weiterer IVF-Parameter (Eizellen, Endometriumdicke, Stimulations-schemata) fanden sich keine statistisch signifikanten Unterschiede. 75 % der Frauen (p = 0,02), die erneut eine Tubaria entwickelten, waren Raucherinnen.

Schlußfolgerung: Die Art der operativen Behandlung einer Tubaria bzw. der daraus resultierende Tubenstatus hat keinen statistisch signifikanten Einfluß auf das Ergebnis einer folgenden IVF-Behandlung. Verbliebene, jedoch in der HSG nicht durchgängige Tuben, scheinen einen negativen Faktor darzustellen. IVF-Patientinnen mit einer Tubaria in der Anamnese sollten angehalten werden, das Rauchen vor einer IVF-Behandlung aufzugeben.

DIE DIAGNOSTIK DER FUNKTIONELLEN TUBAREN STERILITÄT

L. Wildt, K. Moeller, E. Sölder, T. Kuwert
Klinik f. Frauenheilkunde Innsbruck und
Klinik f. Nuklearmedizin d. Universität
Erlangen-Nürnberg

Die tubare Sterilität stellt eine der klassischen Indikationen für die extrakorporale Befruchtung im Rahmen der Sterilitätsbehandlung dar. Ursprünglich wurde darunter der mechanische Tubenverschluß verstanden, der mit der Hysterosalpingographie, der Kontrastmittel-unterstützten

Sonographie oder der Chromopertubation bei der Laparoskopie diagnostiziert wurde. Diese Untersuchungsverfahren sind mit einer hohen Rate an falsch-negativen Befunden belastet; sie erfassen darüber hinaus nur die mechanische Tubendurchgängigkeit, während funktionelle Aspekte der Tubenfunktion unberücksichtigt bleiben. Die Hysterosalpingosintigraphie stellt eine Untersuchungsmethode dar, mit der die Transportfunktion der Tube überprüft werden kann. Damit können physiologische und pathologische Aspekte des Transportmechanismus im weiblichen Genitaltrakt erfaßt werden. Dazu werden Albuminaggregate mit dem Durchmesser von Spermien mit Technetium radioaktiv markiert. Nach Applikation intrauterin oder in das hintere Scheidengewölbe wird der Transport dieser Partikel unter der Gamma-Kamera verfolgt.

Die an über 800 Patientinnen mit dieser Methode erhobenen Befunde lassen sich wie folgt zusammenfassen: 1. Der Transport im weiblichen Genitaltrakt erfolgt gerichtet bevorzugt zur Seite des Ovars hin, welches den dominanten Follikel trägt. 2. Das Ausmaß des gerichteten Transports nimmt mit der Größe des Follikels zu. 3. Oxytocin ist in der Lage, den gerichteten Transport quantitativ zu verstärken. 4. Das Fehlen des gerichteten Transports ist mit einer erheblichen Verringerung der spontanen Schwangerschaftsrate und einer erheblichen Reduktion der Schwangerschaftsrate nach intrauteriner Insemination verbunden.

Tabelle: Schwangerschaftsrate (nach 6 Monaten bzw. 3 IVF/ICSI-Zyklen, Ergebnisse von 450 Patientinnen mit mechanisch offenen Tuben)

Behandlung	Unilateraler Transport	
	Positiv	Negativ
Spontan /IUI	25 %	3,5 %
IVF/ICSI	23 %	24,5 %

Aus diesen Befunden ergibt sich die Schlußfolgerung, daß der fehlende Nachweis eines unilateralen Transportmechanismus auch bei mechanisch offenen Tuben eine Indikation für die extrakorporale Befruchtung darstellt. Die Hysterosalpingosintigraphie stellt damit eine Untersuchungsmethode dar, deren Anwendung zu einer genaueren Diagnose der tubaren Sterilität führen kann und die dazu beiträgt, frustrierte Behandlungsversuche mit intrauteriner Insemination zu reduzieren.

HUMAN SOMATIC CELL NUCLEAR TRANSFER INTO ENUCLEATED BOVINE OOCYTES: A POTENTIAL BIOASSAY

P. M. Zavos, K. Illmensee
Reprogen Ltd., Limassol, Cyprus

Objectives: Various mammalian species have been used as biological models for somatic cell nuclear transfer (SCNT) and extensive research on this subject has been performed in the bovine system. It was shown that fusing enucleated bovine oocytes with bovine granulosa or cumulus cells yielded success rates of 38 % [Kato et al., 1998] and 69 % [Wells et al., 1999]. In other species, the use of similar cell populations showed an efficiency of 56 % in the mouse [Wakayama et al., 1998] and 61 % in the rabbit [Chesné et al., 2002]. The bovine oocyte is an excellent and highly efficient model as it provides adequate bioresponses when investigating the effects of various treatments and establishing new and comparable biological parameters for SCNT. Based upon these experiences, we have decided to use the bovine oocyte model and human granulosa cells to test and extend the efficiency of interspecies-specific SCNT with the aim to establish a series of bioassays for different types of human nuclear donor cells.

Materials and methods: Bovine oocytes were obtained from slaughter house ovaries. The harvested oocytes were washed and incubated overnight in maturation media and then denuded and randomly treated either for induction of parthenogenesis or for enucleation and SCNT using human granulosa cells. All of the oocytes were electrically stimulated and activated and then cultured in IVF media. The microsurgically enucleated bovine oocytes and their fusion with human granulosa cells was analogous to previously published interspecies-specific cloning attempts [Dominko et al., 1999]. Treated oocytes were evaluated for evidence of cleavage and embryonic development daily and the embryo quality was assessed using similar grading to that employed in IVF. This prospective study was IRB approved at the research facilities of Reprogen Ltd.

Results: In the first series of experiments, 11 bovine oocytes (Group A) were micro-

surgically enucleated and fused with human granulosa cells, and 17 oocytes (Group B) served as controls (parthenogenesis). After 3 days of sequential culture, Group A showed embryo development in 5 of the 11 oocytes (45 %), and Group B showed activation or parthenogenesis in 10 of the 17 oocytes (59 %). In a second series of experiments, we obtained a 21 % embryo development with human granulosa cells (3 of 14) versus 36 % parthenogenesis in the control group (8 of 22). The decrease in efficiency could be related to possible inter-batch variability of the bovine oocytes.

Conclusions: Our results point out that SCNT as applied in the current study fusing human granulosa cells with enucleated bovine oocytes is feasible and can yield appreciable success rates. With this interspecies-specific bioassay we present the first attempts to reveal the embryonic developmental capacity of nuclei from adult human cells. Such bioassays will enable us to primarily examine, evaluate and explore the developmental potential of various human adult somatic cells in their usefulness as nuclear donor cells for reproductive and therapeutic cloning [Illmensee, 2001].

UNTERSUCHUNGEN ZUR INVASION ADULTER STAMMZELLEN IN DIE EMBRYONALE MAUSMATRIX

N. Zech, P. Vanderzwalmen, G. Dohr
Institut für Reproduktionsmedizin und
Endokrinologie Bregenz

Unter Verwendung der embryonalen Mausmatrix als Gewebeslayer für das Anhaften und die weitere Invasion von Progenitorzellen aus dem Nabelschnurblut soll eine Identifikation und nähere Charakterisierung von adulten Vorläuferzellen ermöglicht werden. Neueste Publikationen bestätigen, daß humanes Nabelschnurblut pluripotente Progenitorzellen besitzt, welche sich mit entsprechenden Techniken anreichern lassen. Aus der Fachliteratur ist ebenfalls bekannt, daß nach der Injektion solcher Vorläuferzellen in Mäuseembryonen diese sich am Aufbau des blutbildenden Systems beteiligen.

Um diese Plastizität zu erreichen, müssen gewisse Zellen aus der hochgereinigten Zellfraktion des Nabelschnurblutes 1.) mit der inneren Zellmasse des Embryos in Kontakt treten und 2.) sich in den Gewebsverband integrieren, ausdifferenzieren und vermehren. Die Regulationsvorgänge für diese individuellen Prozesse beginnt die Fachwelt allmählich zu verstehen, vor allem, ob sich ausdifferenzierte Zellen de-differenzieren, trans-differenzieren oder ob eine Fusion von Mauszellen mit menschlichen Zellen in der Integration eine Rolle spielt.

Ziel unserer Untersuchungen war es, die adulten Vorläuferzellen aus dem Nabelschnurblut direkt nach dem Anhaften und nach der Invasion in die Mausmatrix, welche als Gewebeslayer dient, näher zu charakterisieren. Erste vorläufige Ergebnisse werden präsentiert.

GEFÜHLE, GERÜCHE, GENE: OLFAKTORISCHE REZEPTOREN UND REPRODUKTION

A. Ziegler, G. Dohr, H. Herbst,
H. Kantenich, A. Volz, B. Uchanska-Ziegler
Institut für Immunogenetik, Charité, Humboldt-Universität Berlin, Deutschland

Einleitung: Gene des Haupt-Histokompatibilitätskomplexes (major histocompatibility complex, MHC; beim Menschen, HLA) und ihre Produkte sind wiederholt mit verschiedenen Aspekten der Reproduktion in Verbindung gebracht worden. Es besteht allerdings keine Klarheit darüber, bei welchen der weit mehr als 100 Genen des HLA-Komplexes ein derartiger Zusammenhang besteht. Individualspezifische Gerüche, die bei der Partnerwahl eine Rolle spielen, sind wahrscheinlich auf HLA Klasse I- und II-Antigene bzw. von diesen Molekülen gebundene Substanzen zurückzuführen. Deshalb könnte es einen funktionellen Zusammenhang zwischen diesen Molekülen und einer Vielzahl von olfaktorischen Rezeptoren (OR) geben, deren Gene unmittelbar telomer vom HLA-Komplex lokalisiert sind. Wir untersuchten, ob eine OR/HLA-Interaktion nicht nur bei der geruchsbeeinflussten Partnerwahl, sondern auch im Rahmen der Reproduktion eine Bedeutung haben kann.

Methoden: Die Expression von OR wurde im Hoden mittels Analyse von Transkripten und auf Proteinebene durch Immunhistologie, die Synthese der verschiedenen Ketten von HLA Klasse I-Molekülen ebenfalls mit immunhistologischen Methoden untersucht. Außerdem wurden lösliche HLA Klasse I Antigene in der Follikelflüssigkeit von mehr als 60 Frauen, die sich einer IVF-Behandlung unterzogen, mittels ELISA analysiert.

Resultate: Bei 15 potentiell exprimierbaren HLA-gekoppelten OR-Genen, welche analysiert wurden, konnten in 13 Fällen Transkripte im Hoden nachgewiesen werden. Antiseren gegen zwei OR reagierten überwiegend mit späten Spermien-Vorläuferzellen und einigen Spermien. Intakte, β_2 -Mikroglobulin-assoziierte HLA Klasse I-Moleküle wurden nur im extratubulären Gewebe gefunden, während polymorphe schwere Ketten (HC) dieser Antigene, jedoch nicht β_2 -Mikroglobulin, ausschließlich intratubulär, vorwiegend in Spermatozyten I und II, vorkamen. Sämtliche Follikelflüssigkeiten enthielten lösliche HLA Klasse I-Moleküle in Mengen, die etwa denen im Serum entsprechen.

Schlußfolgerungen: Die Expression von HLA Klasse I-HC und OR in Spermien-Vorläuferzellen führt uns zu der Vermutung („Spermien-Rezeptor-Selektions-(SRS)“-Hypothese), daß Spermien nur solche OR exprimieren, die nicht mehr in der Lage sind, mit HLA-Antigenen des Mannes zu interagieren. Dies dürfte es der Frau erlauben, Spermien auf der Basis ihrer OR-Expression zu unterscheiden, wobei mittels chemischer Gradienten im Eileiter besonders solche Spermien angelockt werden dürften, die mit weiblichen HLA-Molekülen reagieren können. Letzteres sollte nur dann der Fall sein, wenn sich die Partner in ihren HLA-Antigenen voneinander unterscheiden. Wir schlagen vor, daß diese Form von „cryptic female choice“, die in ähnlicher Form im Tier- und Pflanzenreich weit verbreitet ist, bereits vor dem Zusammentreffen von Ei- und Spermium von Bedeutung ist und die Bildung eines HLA-homozygoten Embryos mit möglicherweise suboptimalen Eigenschaften weniger wahrscheinlich macht. Dies könnte einen Mechanismus darstellen, um die aus immunologischer Sicht erwünschte HLA-Heterozygotie der Nachkommen zu begünstigen.

AUTORENINDEX

Bernat E.	22	Häberlin F.	30	Sander Th.	37
Brandt K.-H.	22	Hengstschläger M.	30	Schoonjans L.	37
Bühler K.	23	Hutter H.	32	Sedlmayr P.	38
Cieslak J.	23	Juch H.	32	Sommergruber M.	38
Daxböck Ch.	24	Just A.	32	Stecher A.	38
De Mouzon J.	24	Kofler K.	33	Tews G.	39
Duba H.	26	Kupka M. S.	33	Uher P.	39
Ebner T.	26	Lavin Ch. M.	34	Urdl W.	39
Feichtinger W.	26	Malý Z.	34	Van den Bergh M.	40
Frommel M.	28	Moeller K. T.	34	Weigert M.	40
Gagsteiger F.	28	Moser M.	35	Wildt L.	41
Gruber I.	28	Obermayer I.	35	Zavos P. M.	41
		Prusa A. R.	35	Zech N.	42
		Pusch H.	36	Ziegler A.	42
		Reissigl A.	36		
		Riegl G. F.	36		

ANTWORTFAX

JOURNAL FÜR FERTILITÄT UND REPRODUKTION

Hiermit bestelle ich

ein Jahresabonnement
(mindestens 4 Ausgaben) zum
Preis von € 36,- (Stand 1.1.2007)
(im Ausland zzgl. Versandkosten)

Name

Anschrift

Datum, Unterschrift

Einsenden oder per Fax an:

Krause & Pachernegg GmbH, Verlag für Medizin und Wirtschaft,
Postfach 21, A-3003 Gablitz, **FAX: +43 (0) 2231 / 612 58-10**

Bücher & CDs
Homepage: www.kup.at/buch_cd.htm

Unsere Sponsoren:

BA~CA Real Invest

Real Invest Austria.
Der erste österreichische Immobilienfonds.

☎ 01/331 71-9000
oder www.realinvest.at.