

Journal für

Reproduktionsmedizin und Endokrinologie

– Journal of Reproductive Medicine and Endocrinology –

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



1. DVR-Kongreß 7.-10. Dezember 2005, Münster -

Abstracts

J. Reproduktionsmed. Endokrinol 2005; 2 (5), 297-334

www.kup.at/repromedizin

Online-Datenbank mit Autoren- und Stichwortsuche

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

Indexed in EMBASE/Excerpta Medica/Scopus

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



ENDO FERTI FORUM

ENDOKRINOLOGIE & FERTILITÄT
FÜR KLINIK & PRAXIS

20.-21. März 2026

Universitätsmedizin Mainz

Einladung zu unserer wissenschaftlichen Veranstaltung Endo-Ferti-Forum

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

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



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

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

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

Weitere Informationen
& Anmeldung unter





1 DVR-Kongress

• Münster · 07.–10.12.2005

Dachverband Reproduktionsbiologie und -medizin e.V.

- 17. AGRBM Jahreskongress
- 17. DGA Jahreskongress
- 11. DGGEF Jahreskongress
- 25. DGRM Kongress
- 19. Jahrestreffen der Deutschen IVF-Zentren

DVR

Dachverband Reproduktions-
biologie und -medizin e.V.

Arbeitsgemeinschaft
Reproduktionsbiologie des
Menschen (AGRBM) e.V.

Arbeitskreis Andrologie der
Dermatologen (AAD)/
Arbeitskreis Dermato-
Endokrinologie (ADE) der
Deutschen Dermatologischen
Gesellschaft (DDG) e.V.

Bundesverband Reproduktions-
medizinischer Zentren (BRZ) e.V.

Deutsche Gesellschaft für
Andrologie (DGA) e.V.

Deutsche Gesellschaft für
Gynäkologische Endokrinologie
und Fortpflanzungsmedizin
(DGGEF) e.V.

Deutsche Gesellschaft für
Reproduktionsmedizin
(DGRM) e.V.

Deutsches IVF-Register
(DIR) in der Deutschen
Gesellschaft für Gynäkologie
und Geburtshilfe (DGGB) e.V.

Sektion Reproduktions-
biologie und -medizin (SRBM)
der Deutschen Gesellschaft
für Endokrinologie (DGE) e.V.

Tagungspräsidenten

Prof. Dr. med. L. Kiesel
Prof. Dr. med. E. Nieschlag

Kontakt und Information

DVR Kongress-Sekretariat
Dr. Schüring / Dr. Luetjens
Domagkstraße 11
48149 Münster
Tel. +49 251-835 60 98
Fax: +49 251-835 60 93
email:
DVR-Kongress2005@
uni-muenster.de

www.dvr-kongress.de



1. DVR-KONGRESS 7.–10. DEZEMBER 2005, MÜNSTER ABSTRACTS*

Andrologie

P 01

ISOLIERUNG UND CHARAKTERISIERUNG
HUMANER PERITUBULÄRER ZELLEN:
ETABLIERUNG EINES MODELLSYSTEMS ZUR
UNTERSUCHUNG FIBROTISCHER PROZESSE
BEI MÄNNLICHER INFERTILITÄT

M. Albrecht, R. Rämisch, U. Schwarzer,
F. M. Köhn, A. Mayerhofer
Anatomisches Institut am Biederstein,
Ludwig-Maximilians-Universität, Mün-
chen

Einleitung: Männliche Infertilität ist typischerweise mit einer fibrotischen Verdickung der peritubulären Region und einer vermehrten Zahl aktivierter testikulärer Mastzellen (MZ) assoziiert [Meineke et al., 2000]. Neuere Studien postulieren, daß MZ direkt (über Histamin, Tryptase und TNF- α) und/oder indirekt (über Leydig-Zellen und Prostaglandine) an der Entstehung der peritubulären Fibrose beteiligt sind [Frungeri et al., 2002; Albrecht et al., 2005]. Bis heute fehlen aber geeignete humane Modellsysteme zur Untersuchung dieser Hypothese.

Methoden: Hodengewebe von Patienten (n = 5) mit obstruktiver Azoospermie wurde isoliert und Explantatkulturen wurden angelegt. Die ausgewachsenen humanen testikulären Fibroblasten (HTF) wurden immunhistochemisch, elektronenmikroskopisch und molekularbiologisch charakterisiert. Expression und Funktionalität von Rezeptoren für Histamin, Tryptase und TNF- α wurden durch RT-PCR und Ca²⁺-Messungen mittels konfokaler Fluoreszenzmikroskopie untersucht.

Resultate: Die immunhistochemischen und elektronenmikroskopischen Befunde zeigten, daß die kultivierten Zellen die Merkmale glatter Muskelzellen (z. B. α -Smooth-muscle-Aktin) und von Fibroblasten (z. B. CD90) besitzen und somit den Peritubulärzellen des humanen Hodens entsprechen. HTF synthetisieren sowohl Kollagen-1 als auch Fibronektin. RT-PCR und immunhistochemische

Experimente belegten die Expression von Rezeptoren für Histamin, Tryptase und TNF- α sowie des Prostaglandinrezeptors PPAR- γ , welcher an der indirekten, über Leydig-Zellen und Prostaglandine vermittelten Wirkung von MZ-Produkten beteiligt ist [Frungeri et al., 2002]). Histamin (100 μ M) und das Tryptase-Analogon SLIGKV (10 μ M) bewirkten einen reversiblen Anstieg der intrazellulären Ca²⁺-Konzentration in 95 % der HTF, während etwa 30 % der Zellen auf TNF- α (100 ng/ml) mit einem Anstieg des Ca²⁺-Spiegels reagierten.

Schlußfolgerungen: Die isolierten peritubulären Zellen sind ein geeignetes Modellsystem zur Untersuchung direkter und indirekter MZ vermittelter parakriner Interaktionen im Hoden und könnten in Zukunft einen wichtigen Beitrag zum Verständnis der Pathogenese peritubulärer fibrotischer Prozesse bei männlicher Infertilität liefern.

Förderung: DFG Ma 1080/16-1

P 02

IN-VITRO-MORPHOGENESE VON HODEN-
TUBULI

K. Gassei, J. Ehmcke, S. Schlatt
Department of Cell Biology and Physiology,
University of Pittsburgh School of
Medicine, Pittsburgh, PA, USA

Einleitung: Eine intakte somatische Mikroumgebung im Hodentubulus ist entscheidend für den korrekten Ablauf der Spermatogenese. Verantwortlich für die Aufrechterhaltung der Homöostase im seminiferen Epithel sind Sertoli-Zellen, die den Hauptanteil der somatischen Hodenzellen darstellen. Die vorliegende Studie vergleicht Zellkultursysteme von Sertoli-Zellen im Hinblick auf deren Potential zur In-vitro-Morphogenese von Hodentubuli. Ziel ist es, die Organogenese der Testes zu rekapitulieren und ein Zellkulturmodell zu etablieren, um Einblicke in Tubulogenese und Stammzellnischenbildung zu gewinnen.

Methoden: Einzelzellsuspensionen von testikulären Zellen aus 7 Tage alten Wildtyp-Ratten oder 5 Tage alten lacZ⁺-Mäusen wurden auf Laminin bzw. extrazellulärem Matrixgel (ECM) kultiviert. Morphologische Veränderungen wur-

den immunhistochemisch, histologisch und mittels Live-cell-Imaging beobachtet. Das Differenzierungspotential der Sertoli-Zellen unter physiologischen Bedingungen wurde durch ektopisches Grafting von in vitro generierten tubulusähnlichen Strukturen in immundefiziente Mäuse untersucht. Grafts wurden für bis zu 8 Wochen in vivo kultiviert und histologisch evaluiert.

Resultate: Sowohl die Kultur von Sertoli-Zellen auf Laminin als auch in ECM führte zur Bildung von tubulusähnlichen Zellaggregaten. Auffallend ist insbesondere, daß die Morphogenese in ECM bereits nach 3 Tagen abgeschlossen ist, während tubulusähnliche Strukturen auf Laminin erst nach 10 Tagen auftraten. Die organisatorische Struktur der Tubuli konnte durch Grafting der kultivierten Zellaggregate gesteigert werden. Die transplantierten Gewebe wiesen durchweg Blutgefäße auf und bestanden in erster Linie aus tubulären Strukturen. Die histologische Analyse zeigte die Bildung von Basalmembranen durch Sertoli-Zellen und peritubuläre Zellen, darüber hinaus wiesen einige Tubuli Lumina auf. In wenigen Tubuli waren Spermatogonien zu beobachten. Der Nachweis von p450-positiven Zellen bestätigte die Präsenz differenzierter Leydig-Zellen.

Schlußfolgerungen: Die In-vitro-Morphogenese differenzierter seminiferer Tubuli demonstriert das hohe Reorganisationspotential immaturer Sertoli-Zellen und bietet vielfältige Möglichkeiten zur weiteren Untersuchung der Organogenese des Hodens und der Bildung von Stammzellnischen.

P 03

DIE KLONALE ORGANISATION PROLIFERIERENDER SPERMATOGONIEN BEI ADULTEN RHESUSAFFEN

J. Ehmcke, D. R. Simorangkir, S. Schlatt
Department of Cell Biology and Physiology,
University of Pittsburgh School of
Medicine, Pittsburgh, PA, USA

Einleitung: Die Anzahl verschiedener Spermatogonien- (SG-) Typen in Testes von adulten Säugetieren wurde bislang anhand von Hoden-Schnittpräparaten bestimmt. Auch wurden Modelle zur

* Ein alphabetisches Verzeichnis der Erstautoren finden Sie auf Seite 334.



ABSTRACTS

SG-Proliferation aufgestellt. Die detaillierte Kinetik der Vermehrung promeiotischer Keimzellen und welcher SG-Typ die „echte“ testikuläre Stammzelle darstellt, wird allerdings weiterhin kontrovers diskutiert. Auch fehlt eine abschließende Evaluierung des seit langem postulierten Modells der klonalen Organisation von SG.

Methoden: Klone von proliferierenden SG wurden in „Wholemounts“ von Hodentubuli adulter Rhesusaffen nachgewiesen. Die kombinierte fluoreszenz-immunhistochemische Markierung des Proliferationsmarkers Bromodesoxyuridine (BrdU) und des akrosomalen Proteins Akrosin unter Verwendung von Konfokalmikroskopie ermöglichte die Beschreibung der räumlichen Anordnung von proliferierenden SG in allen Stadien des Keimepithels. Mit dieser Färbung auf Schnittpräparaten wurde die Identifizierung aller SG-Typen verifiziert und BrdU-Labeling-Indizes bestimmt. Des weiteren wurde mittels eines BrdU-Pulse-Chase die Kinetik proliferierender SG über 72 Stunden verfolgt.

Resultate: Es wurde für alle SG-Typen und alle Stadien des Keimepithels die Größe sämtlicher Klone bestimmt. Proliferierende SG in spezifischen Stadien des Keimepithels sind immer in Klonen angeordnet. Proliferierende A-pale SG traten nur in den Stadien VII und IX als 2- und 4-Zell-Klone auf. B1-SG (Stadium XII) treten als 4- und 8-Zell-Klone, B2-SG (Stadium II) als 8- und 16-Zell-Klone, B3-SG (Stadium IV) als 16- und 32-Zell-Klone und B4-SG (Stadium VI) als 32- und 64-Zell-Klone auf. A-pale-SG zeigten im Stadium VII einen BrdU-Labeling-Index von 27 %. A-dark-SG waren selten BrdU-positiv und traten ohne erkennbare Verbindung zu einem bestimmten Stadium des Keimepithels auf.

Schlußfolgerungen: Die durch Mitose wachsenden Klone der A-pale-SG zerfallen und erlangen so wieder ihre Ausgangsgröße. Sie erhalten ihre Population und erzeugen differenzierende B-SG durch 2 Mitosen pro Zyklus des Keimepithels. Im Gegensatz dazu behalten die B-SG bei jeder Mitose den Zusammenhalt der Klone, welche so stetig wachsen. Die A-dark-SG zeigen Charakteristika, die darauf hinweisen, daß sie die „echten“ testikulären Stammzellen darstellen.

P 04

AZF-GENDIAGNOSTIK BEI IDIOPATHISCHER MÄNNLICHER INFERTILITÄT

P. H. Vogt, C. Enders, U. Bender, T. Strowitzki
Abteilung für Gynäkologische Endokrinologie und Fertilitätsstörungen, Universitätsfrauenklinik Heidelberg

Einleitung: Die molekulare Diagnostik genomischer DNA-Deletionen im Bereich der drei AZF-Loci – AZFa, AZFb und AZFc – ist für die Infertilitätsklinik oft unbefriedigend, da ihre Assoziation zum Spermatogenese-Abbruch des Patienten variabel erscheint und manche Deletionen auch bei fertilen Männern vorkommen. Damit scheint nun die ursprünglich gewonnene Erkenntnis, daß AZFa- und AZFb-Deletionen in der Regel ein komplettes SCO-Syndrom (AZFa) bzw. einen meiotischen Arrest (AZFb) in der Humanspermatogenese bewirken, grundsätzlich in Frage gestellt. Nachdem die komplette genomische DNA-Sequenz und alle Gene in den drei AZF-Loci jetzt bekannt sind, läßt sich diese Variabilität aber auch durch die Vielzahl von Genen mit potentieller Keimbahnfunktion in jedem dieser AZF-Intervalle erklären. Erste AZF-Gendeletionen mit Assoziation zu einer bestimmten Hodenpathologie wurden bereits publiziert. Damit erhebt sich die Frage, ob die klinische AZF-Routinediagnostik ihre STS-Marker für die genomische Deletionsanalyse nicht besser aus den bekannten Gensequenzen rekrutiert, damit auch AZF-Gendeletionen sicher erkannt werden. Als erster Schritt zu solch einer AZF-Genspezifischen Diagnostik wurden in unserem Labor vier PCR-Multiplex-Systeme aufgebaut, die jedes dieser Gene auf Vollständigkeit und Expression in Leukozyten überprüfen kann.

Methoden: Für die DNA-Diagnostik werden 10 ml EDTA-Blut asserviert. Die parallele Chromosomendiagnostik zur Kontrolle des 46,XY-Karyotyps und zum Ausschluß des häufigen Klinefelter-Karyotyps, 47,XXY, benötigt 10 ml Heparinblut. Für jedes der 14 AZF-Gene wurden jeweils zwei unabhängige STS-Primerpaare etabliert und zu 4 Multiplex-Systemen empirisch kombiniert. Die PCR-Multiplex-Analyse wurde entsprechend den Qualitätsstandards der

EMQN mit positiven und negativen Kontrollen versehen.

Resultate: Bisher wurden etwa 100 Patienten mit idiopathischer Infertilität mit Hilfe der AZF-Gendeletionsdiagnostik analysiert. Lag eine Gendeletion vor, so waren meist auch alle anderen Gene des gleichen AZF-Intervalls deletiert. Eine nachfolgende Bruchpunktanalyse ergab, daß diese Personen eine komplette AZFa-, AZFb- bzw. AZFc-Deletion in ihrem Y-Chromosom aufwiesen. Entsprechend wurde auch die zugehörige Hodenpathologie nachgewiesen. Partielle AZF-Deletionen mit dem Verlust von nur wenigen Genen wurden vor allem im AZFb- und AZFc-Intervall identifiziert.

Schlußfolgerungen: Die meisten AZF-Gendeletionen werden wie die kompletten Deletionen der AZFa,b,c-Intervalle durch intrachromosomale Rekombinationen von homologen repetitiven Sequenzblöcken in Yq11 induziert. Diese Blöcke finden sich vor allem im AZFb- und AZFc-Bereich. Deletionen verschiedener Gene im AZFc-Bereich finden sich nur bei infertilen Männern, andere werden auch bei Männern mit normaler Fertilität registriert.

P 05

MUTATIONEN IM DDX3Y-GEN STEHEN IN KEINEM ZUSAMMENHANG MIT DEM PHÄNOTYP AZOOSPERMIE

N. Ditzel¹, N. Reeka¹, T. Paiss², L. Jelinkova¹, F. Gagsteiger¹
¹IVF-Zentrum Ulm, ²Urologische Praxis Einsteinstraße, Ulm

Einleitung: Etwa 10 % aller infertilen Männer mit einer schweren Oligozoospermie oder einer Azoospermie weisen kleinere Deletionen im langen Arm des Y-Chromosoms auf. Es sind 211 Gene auf dem Y-Chromosom bekannt, wovon 30 in den Prozeß der Spermatogenese involviert sein sollen. In der vorliegenden Studie wurde untersucht, ob der Phänotyp der Azoospermie durch einen Genotyp, wie beispielsweise eine Deletion auf der AZF-Region, oder gezielter eine Mutation des DDX3Y-Gens auf der AZFa-Region, zu erklären ist.



Methoden: Aus Blutproben von 89 Patienten mit einer Azoospermie wurde mittels Multiplex-PCR geprüft, ob Deletionen an der genomischen DNA der chromosomalen Regionen AZFa, AZFb und AZFc vorliegen. Pro Ansatz wurden 2 µl DNA-Polymerase und 500 ng DNA zugegeben und für ein anschließendes Amplifikationsprogramm wurde der Robocycler (Stratagene) verwendet. Die anschließende Sequenzierung der 17 Exons des DDX3Y-Gens mit einer Gesamtlänge von 14,42 kb erfolgte mittels der Sanger-Methode [Sanger et al., 1977] auf dem ABI-3100-Kapillar-Sequenzierer unter Verwendung des Big-Dye-Terminator-Kits.

Resultate: Jede der 89 Proben wurde unabhängig mindestens zweimal untersucht, um keine falsch negative Aussage zu erhalten. Alle PCR-Produkte, die bei den fertilen Normozoospermie-Probanden gefunden wurden, konnten auch bei den infertilen Azoospermie-Patienten gefunden werden. Die Sequenzanalyse beinhaltet auch die Exon-Intron-Grenzen, um mögliche Mutationen in den Splice-Stellen des Gens zu erfassen. Bei allen 89 Patienten konnte in keinem der 17 Exons eine Mutation detektiert werden. Es wurden auch keinerlei Sequenzvarianten festgestellt. Die DNA entsprach bei jedem Patienten zu 100 % der Referenzsequenz des humanen DDX3Y-Gens der Gen-Datenbank.

Schlußfolgerungen: Die komplette Übereinstimmung zum einen aller PCR-Produkte der AZF-Region, zum anderen der sequenzierten Proben aller Patienten und Kontrollen mit der Referenzsequenz des humanen DDX3Y-Gens zeigten, daß der Phänotyp der Azoospermie bei den in dieser Studie untersuchten 89 Patienten nicht durch eine Deletion der AZF-Region und nicht durch eine Mutation oder einen Polymorphismus im sequenzierten Gen zu erklären ist.

P 06

DETEKTION VON CHROMOSOMALEN ABERRATIONEN BEI INFERTILEN MÄNNERN MIT HILFE DER COMPARATIVEN GENOMISCHEN HYBRIDISIERUNG

C. M. Luetjens¹, H. Bürger², M. Zitzmann¹, E. Nieschlag¹, M. Simoni¹

¹Institut für Reproduktionsmedizin,

²Institut für Pathologie, Universitätsklinikum Münster

Einleitung: Mikrodeletionen, Mikroduplikationen oder Mosaik geringen Ausmaßes, die in der Routineanalyse des Karyotyps nicht entdeckt werden, können eine wichtige Ursache für menschliche Krankheitsbilder darstellen. Bereits bekannte Mikrodeletionen des Y-Chromosoms können zur männlichen Infertilität führen. Neuere Technologien verbesserter Genauigkeit könnten die Diagnoserate von Chromosomenaberrationen bei diesen Patienten verbessern. Mit der Comparativen Genomischen Hybridisierungstechnik (CGH) wird das Gesamtgenom eines Patienten mit einer Referenz-DNA einer gesunden Person verglichen, um genetische Veränderungen feststellen zu können. Obwohl einige chromosomale Veränderungen für die männliche Infertilität bekannt sind, wie z. B. die Deletionen von Teilen des Y-Chromosoms in der AZF-Region, sind in unserem Institut ca. 30 % der infertilen Männer bisher als idiopathisch beschrieben.

Methoden: Basierend auf der CGH-Technologie haben wir eine Studie an 40 Männern ohne Spermien im Ejakulat und mit diagnostizierter idiopathischer Azoospermie, aber mit einem genetisch normalen Karyotyp durchgeführt, um eventuelle chromosomale Aberrationen bei diesen Patienten aufzudecken. Zur Validierung der CGH-Methode wurden 10 weitere Personen mit bekanntem Karyotyp getestet: zwei Patienten mit Klinefelter-Syndrom, drei Patienten mit bekannten Y-chromosomalen Deletionen, eine gesunde Frau sowie fünf gesunde Männer.

Resultate: Der Vergleich mittels CGH dieser Kontrollgruppe mit einer männlichen genomischen DNA zeigte ein zweites X-Chromosom in den Klinefelter-Patienten. Die Mikrodeletionen im

Y-Chromosom konnten nicht dargestellt werden. Aus der Gruppe der infertilen Patienten bekannten Karyotyps wurde ein bisher nicht entdecktes Mosaik für Chromosom 1 gefunden. Die Analyse der Hodenbiopsie dieses Patienten zeigte in beiden Hoden ein vollständiges Sertoli-cell-only-Syndrom (SCO). Abgesehen von einem erhöhten FSH-Wert, der mit dem SCO vereinbar ist, waren alle weiteren klinischen Parameter unauffällig. Mittels zusätzlicher FISH-Analyse wurde in 12,3 % der Lymphozyten dieses Patienten nur ein Chromosom 1 nachgewiesen und damit der CGH-Befund bestätigt.

Schlußfolgerungen: Diese Ergebnisse zeigen, daß CGH das Potential hat, größere chromosomale Aberrationen zu finden, die in der konventionellen Karyotypisierung nicht entdeckt werden. Weiterhin zeigen die Ergebnisse, daß Männer mit idiopathischer Infertilität chromosomale Mosaik tragen können. Weitere Studien mit array-basierter CGH weit höheren Auflösungsvermögens (bis zur einer Mbp) könnten auch kleinere Deletionen oder Duplikationen in Patienten mit Azoospermie finden.

P 07

JAHRESZEITLICHE SCHWANKUNGEN DER α -GLUKOSIDASEAKTIVITÄT IM MENSCHLICHEN EJAKULAT

H.-C. Schuppe¹, G. Maaß¹, A. Jung¹, J. Schubert², W.-B. Schill¹, R. Henkel^{2,3}
¹Zentrum für Dermatologie und Andrologie, Justus-Liebig-Universität, Gießen, ²Klinik für Urologie, Friedrich-Schiller-Universität, Jena, ³Department of Medical Biosciences, University of the Western Cape, Bellville, Südafrika

Einleitung: Die Aktivität der neutralen α -Glukosidase (NAG) im menschlichen Seminalplasma stammt fast ausschließlich aus dem Sekret des Nebenhodens. Die biochemische Bestimmung der NAG-Aktivität als Parameter der Nebenhodenfunktion wird von der WHO empfohlen, ihre Bedeutung als Indikator für die Durchgängigkeit der Samenwege wird allerdings kontrovers diskutiert. Da für verschiedene diagnostische Parameter saisonale Schwankungen auch beim Menschen beschrieben worden sind,



ABSTRACTS

war es das Ziel dieser Studie, mögliche jahreszeitliche Schwankungen der NAG-Aktivität im menschlichen Seminalplasma zu untersuchen. Dies ist ein wichtiger Aspekt andrologischer Diagnostik, da saisonale Veränderungen spezifischer diagnostischer Marker einen Einfluß auf die Genauigkeit und die Prädiktivität dieser Parameter und damit das therapeutische Konzept für die Patienten haben können.

Methoden: Bei 473 Patienten wurden Ejakulatvolumen, pH-Wert, Spermienkonzentration, Motilität, Leukozytenzahl sowie Fruktosegehalt und die NAG-Aktivität als funktionelle Marker der Bläschendrüse und des Nebenhodens untersucht. Dabei wurden die erhaltenen Ergebnisse kalendermonatsweise nach Jahreszeiten zusammengefaßt (Frühjahr: März, April, Mai; Sommer: Juni, Juli, August; Herbst: September, Oktober, November; Winter: Dezember, Januar, Februar).

Resultate: Die NAG-Aktivität war signifikant mit der Spermienkonzentration ($p < 0,0001$), dem Ejakulatvolumen ($p < 0,0001$) und dem pH-Wert ($p = 0,0025$) korreliert. Signifikante saisonale Schwankungen der NAG-Aktivität mit dem Maximum im Frühjahr (76,87 mU/Ejakulat) und Minimum im Herbst (58,55 mU/Ejakulat) konnten nachgewiesen werden ($p = 0,0008$). Während die Prävalenz einer erniedrigten NAG-Aktivität im Frühjahr 9,2 % betrug, lag sie im Herbst bei 20,3 %.

Schlußfolgerungen: Unsere Daten belegen eindeutig jahreszeitliche Schwankungen der NAG-Aktivität. Diese Beobachtung ist für die klinisch-andrologische Diagnostik nicht unerheblich, da sich die Prädiktivität des Tests im Verlauf des Jahres entsprechend verändert. Saisonale Schwankungen eines diagnostischen Markers wie der NAG-Aktivität haben schließlich Auswirkungen auf die Therapieplanung betroffener Patienten.

P 08

ABHÄNGIGKEIT DER EJAKULATWERTE VON KARENZZEIT, HODENVOLUMEN UND HORMONEN BEI 11.062 MÄNNERN

F. Tüttelmann, C. M. Luetjens, T. G. Cooper, M. Simoni, E. Nieschlag
Institut für Reproduktionsmedizin,
Universitätsklinikum Münster (WHO-Kooperationszentrum für Forschung in männlicher Reproduktion)

Einleitung: Die Beurteilung des Fertilitätsstatus mittels einer Ejakulatanalyse wird durch die große Variabilität der Untersuchungsparameter und das Fehlen evidenzbasierter Normalwerte erschwert. Die Richtlinien des WHO-Laborhandbuches (1999) werden bislang als Standard angesehen. Wir haben deshalb die Abhängigkeit der Ejakulatwerte von der Karenzzeit, dem Hodenvolumen und den Hormonwerten untersucht.

Methoden: Aus der elektronischen Datenbank (Androbase®) des Instituts für Reproduktionsmedizin der Universität Münster wurden 30.965 Ejakulatanalysen von 11.062 Männern mit $\geq 0,1 \times 10^6/\text{ml}$ Spermien nach der Karenzzeit, den sonographisch bestimmten Hodenvolumina oder den Hormonwerten für Regressionsanalysen gruppiert.

Resultate: Hochsignifikante, lineare Korrelationen bestanden zwischen Abstinenzzeit und Spermienkonzentration bzw. Gesamtspermienzahl. Die Gesamtspermienzahl nahm zwischen 2,4 (1 Tag Abstinenz) und $6,9 \times 10^6$ (8 Tage Karenz) pro Milliliter Hodenvolumen zu. Das Ejakulatvolumen wies eine nicht-lineare Zunahme mit der Länge der Karenzzeit auf und erreichte nach 8 Tagen ein Plateau. Motilität und Morphologie der Spermien änderten sich zwischen 1 und 8 Tagen Karenzzeit nur marginal. Die Gesamtspermienzahl nahm mit ansteigendem FSH ab. In Relation zum Hodenvolumen nahmen FSH nichtlinear und LH linear ab. Die Testosteronwerte waren nicht mit dem Hodenvolumen oder der Spermienzahl assoziiert.

Schlußfolgerungen:

1. Die Korrelationen der Gesamtspermienzahl mit Karenzzeit, Hodenvolumen und FSH waren jeweils besser als mit der Spermienkonzentration, sodaß die Gesamtspermienzahl bei der Fertili-

tätsdiagnostik gegenüber der Spermienkonzentration bevorzugt werden sollte.

2. Aufgrund der klaren Abhängigkeiten ist die Berücksichtigung von Karenzzeit und Hodenvolumen für die adäquate Beurteilung einer Ejakulatanalyse unabdingbar.
3. FSH korreliert ebenfalls gut mit der Gesamtspermienzahl und ergänzt die Routinediagnostik.
4. Normal(Grenz-)werte sollten für verschiedene Karenzzeiten und Hodenvolumina etabliert oder die Gesamtspermienzahl für diese korrigiert werden.
5. Eine Empfehlung zu kurzen Karenzzeiten vor ovulationsoptimiertem Verkehr oder assistierter Reproduktion erscheint nicht sinnvoll, da die Gesamtspermienzahl mit steigender Karenz stärker ansteigt als die Motilität und Morphologie variierten.

P 09

HINWEISE AUF EINE TRANSAKTIVIERUNG DES EPIDERMAL-GROWTH-FACTOR-REZEPTORS (EGF-R) ÜBER DEN PROTEASEAKTIVIERTEN REZEPTOR 2 (PAR-2) IN MENSCHLICHEN SPERMATOZOEN

K. Zitta, A. Mayerhofer, M. Albrecht, S. Weidinger, F. M. Köhn
Klinik für Dermatologie und Allergologie, TU München

Einleitung: Mastzellen finden sich im männlichen und weiblichen Genitaltrakt; Tryptase als ein Produkt von Mastzellen konnte im Seminalplasma infertiler Patienten nachgewiesen werden. Vorhergehende Studien haben gezeigt, daß die Aktivierung des PAR-2 durch Tryptase die Motilität menschlicher Spermatozoen dosis- und zeitabhängig reduziert, ohne daß sich der intrazelluläre Kalziumspiegel dabei verändert. Bei der Signaltransduktion nach Aktivierung von PAR-2 sind MAP-Kinasen involviert.

Die Transaktivierung von EGF-Rezeptoren spielt eine Rolle bei der Aktivierung von PAR-2 in Kolon-Karzinomzellen mit nachfolgender Aktivierung von MAP-Kinasen. Das Ziel der vorliegenden Studie war die Untersuchung der Transaktivierung von EGF-Rezeptoren bei



tryptasevermittelten Reaktionen auf die Motilität menschlicher Spermatozoen.

Methoden: Die Ejakulate wurden von 11 gesunden Spendern gewonnen mit einer Progressivmotilität (WHO a+b) von 60–80 % nach Aufbereitung durch Swim-up. Die Spermienmotilität wurde mit computerassistierter Samenanalyse gemessen (Strömberg Mika). Die Lokalisation von EGF-Rezeptoren und PAR-2 an menschlichen Spermatozoen erfolgte immunzytochemisch mit spezifischen EGF- und PAR-2-Antikörpern. Der sekundäre Antikörper war mit FITC gekoppelt. Die Phosphorylierung des EGF-Rezeptors wurde mit Hilfe eines ELISAs (Biosource) überprüft.

Resultate: PAR-2 und EGF-Rezeptoren sind in der Plasmamembran ejakulierter Spermatozoen lokalisiert. Während PAR-2 eine ungleichmäßige Verteilung im Bereich des Kopfes, des Mittelstücks und des Schwanzes zeigten, fanden sich EGF-Rezeptoren vor allem in der äquatorialen Region des Spermatozoenkopfes und im Bereich der akrosomalen Kappe. Nach Stimulation mit dem spezifischen PAR-2-Agonisten SLIGKV (100 μ M) reduzierte sich die Motilität der Spermatozoen nach 30 Minuten statistisch signifikant. Die Inkubation mit SLIGKV und dem EGF-Rezeptor-Inhibitor AG1478 (10 μ M) verhinderte die Reduktion der Spermatozoenmotilität. Eine Phosphorylierung von Tyrosin 1068/1173 im zytoplasmatischen Anteil des EGF-Rezeptors war nicht nachweisbar.

Schlußfolgerungen: Die vorliegenden Experimente deuten darauf hin, daß die Verminderung der Spermatozoenmotilität nach Inkubation mit Tryptase und Aktivierung von PAR-2 durch die Transaktivierung des EGF-Rezeptors vermittelt ist. Eine Phosphorylierung des EGF-Rezeptors an Tyrosin 1068/1173 ist nicht beteiligt.

P 10

CHRONISCHES BECKENSCHMERZSYNDROM/ CHRONISCHE PROSTATITIS BEEINTRÄCHTIGEN DIE AKROSOMREAKTION BEI MENSCHLICHEN SPERMATOZOEN

M. Ludwig^{1, 2}, H.-C. Schuppe³,
T. Diemer¹, W.-B. Schill³, W. Weidner¹,
R. Henkel^{4, 5}

¹Klinik und Poliklinik für Urologie und Kinderurologie, Justus-Liebig-Universität, Gießen, ²Urologische Praxis, Marburg, ³Zentrum für Dermatologie und Andrologie, Justus-Liebig-Universität, Gießen, ⁴Klinik für Urologie, Friedrich-Schiller-Universität, Jena, ⁵Department of Medical Biosciences, University of the Western Cape, Bellville, Südafrika

Einleitung: Entzündungen des männlichen Genitaltrakts stellen einen wichtigen und potentiell therapierbaren Faktor männlicher Subfertilität dar. Verschiedene entzündungsbedingte Veränderungen des Ejakulats wurden beim Prostatitisyndrom nachgewiesen, in Ihrer Wertigkeit für die Ejakulatqualität nach WHO, insbesondere Motilität und Morphologie, jedoch kontrovers diskutiert. Neben den Auswirkungen einer Leukozytospemie werden dabei insbesondere reaktive Sauerstoffspezies (ROS) als relevante Pathomechanismen angesehen, die neben der Spermien-DNA auch die Membranen schädigen. Da die Akrosomreaktion (AR) letztendlich eine Membranfunktion ist, war es Ziel dieser Studie, den Einfluß des chronischen Beckenschmerzsyndroms auf diese für den Fertilisationsprozeß wichtige Spermatozoenfunktion zu untersuchen.

Methoden: Insgesamt wurden 56 Patienten mit chronischem Beckenschmerzsyndrom in die Studie eingeschlossen. Nach NIH-Definition wurden die Patienten in NIH-IIIa (entzündliches chronisches Beckenschmerzsyndrom) (n = 24) und NIH-IIIb (nichtentzündliches chronisches Beckenschmerzsyndrom) (n = 32) eingeteilt. Neben der AR, die mittels Triple-Stain-Technik bestimmt wurde, wurden die Konzentration von Leukozyten im Ejakulat und Urin nach Prostatamassage („2-Gläser-Probe“), die Spermienkonzentration, Motilität, Vitalität sowie die Morphologie bestimmt. Als Kontrollgruppe wurden Patienten mit Normozoospermie sowie nachweis-

lich fehlenden Entzündungszeichen (Leukozyten < 1 $\times$ 10⁶/ml, Elastase < 250 ng/ml) verwendet (n = 95).

Resultate: Beide Patientengruppen mit chronischem Beckenschmerzsyndrom unterschieden sich nicht (p > 0,05) hinsichtlich Zelldichte, Motilität, Morphologie, Vitalität und AR. Die Untersuchungsgruppen NIH-IIIa und -IIIb zeigten im Vergleich zur Kontrollgruppe eine geringere normale Morphologie (p < 0,0001), und Zelldichte (p < 0,002). Während die Vitalität keinen Unterschied zur Kontrollgruppe aufwies, war die Motilität bei NIH-IIIa-Patienten signifikant höher (p = 0,0004). Während die maximale AR nicht beeinträchtigt war, war die Induzierbarkeit der AR bei beiden Gruppen, NIH-IIIa und NIH-IIIb, erniedrigt (p = 0,0036 bzw. p = 0,0076) und die spontane AR erhöht (p = 0,0131 bzw. p = 0,0002).

Schlußfolgerungen: Die Daten belegen eindeutig einen Einfluß des Entzündungsgeschehens auf die akrosomale Funktionalität, wobei die erniedrigte Induzierbarkeit der AR durch eine erhöhte Spontanreaktion bedingt ist. Diese Funktionseinschränkung könnte durch Entzündungsmediatoren wie ROS erfolgen.

P 11

ZYTOPLASMATROPFEN, SPERMIIENMOTILITÄT UND SPERMIIENWANDERUNG DURCH DEN MUCUS

S. Fetic, C.-H. Yeung, B. Sonntag,
T. G. Cooper
Institut für Reproduktionsmedizin,
Universitätsklinikum Münster

Einleitung: Zytoplasmotropfen (ZTs) stellen Organellen dar, die im Normalzustand im Halsbereich menschlicher Spermien lokalisiert sind, die jedoch während der Routineaufarbeitung der Samenzellen zur morphologischen Beurteilung zumeist nicht erhalten bleiben. Die vorliegende Studie untersucht anhand der Beobachtung der Spermienmotilität und der Spermienwanderung durch den Mucus, ob die Anwesenheit von ZTs das Verhalten von Samenzellen beeinflusst.

Methoden: Samenproben von Patienten, Probanden und jungen Vätern wurden



ABSTRACTS

gemäß den WHO-Richtlinien (1999) analysiert und ihre Osmolalität mittels eines Dampfdruckosmometers bestimmt. Die Spermatozoen wurden in Samenflüssigkeit oder in BWW-Medium mit der Osmolalität von zervikalem Mucus mit oder ohne den Zusatz von Quinin untersucht. Nach Inkubation wurde die Motilität unter Prüfung der Anwesenheit von ZTs in motilen und immotilen Spermien beurteilt.

Zur Beurteilung der Spermienwanderung wurde ein Ersatzmucus (Hyaluronsäure) verwendet. Samenzellen wurden in einer horizontalen Kapillare bei 37 °C für 90 Min. mit dem Mucus in Kontakt gebracht. Spermien die danach 1 cm und 4 cm in den Mucus vorgedrungen waren, wurden gezählt sowie die 10 längsten zurückgelegten Strecken gemessen. Anschließend wurden die Spermien aus der Kapillare entnommen und auf ZTs überprüft. Effekte von reinem Mucus auf die ZTs wurden durch Vermischung von Ejakulat und Mucus untersucht.

Resultate: Unter den osmotischen Bedingungen im Samen und Mucus war der Anteil motiler Spermien mit ZTs signifikant höher als der immotiler mit ZTs, unabhängig vom Zusatz von Quinin. Die Osmolalität der Samenflüssigkeit war vom Anteil der ZT-tragenden Spermien unabhängig. Der Anteil motiler Spermien mit ZTs im Ejakulat war vergleichbar mit dem in den an der 1-cm- und 4-cm-Marke entnommenen Proben, in denen er sich ebenso nicht unterschied, wie die maximal zurückgelegten Strecken. Es wurden keine Korrelationen zwischen dem Anteil motiler Spermien mit ZTs und der Anzahl penetrierender Spermien oder der Osmolalität der Samenflüssigkeit gefunden. Durchgehend war der Anteil motiler Spermien mit ZTs in Proben von Vätern höher als in solchen von Patienten.

Schlußfolgerungen: ZTs schaden der Motilität der Spermien in der Samenflüssigkeit, in Medium oder Ersatzmucus nicht. Weder erleichtern noch behindern sie Penetration und Spermienwanderung durch den Mucus.

P 12

DER DSL-INHIBIN-B-ASSAY IN DER ANDROLOGISCHEN DIAGNOSTIK

U. Hipler, D. Ledig, G. Schreiber
Universitätsklinik Jena

Einleitung: Inhibin B korreliert positiv mit der Spermatozoenkonzentration im Ejakulat, dem Hodenvolumen und der quantitativen Spermatogenese bei histologischer Aufarbeitung und negativ mit dem FSH-Spiegel. Damit stellt es als Marker der exokrinen Hodenfunktion einen wichtigen Parameter in der andrologischen Diagnostik dar. Eine Überlegenheit der diagnostischen Sensitivität und Spezifität gegenüber dem FSH ist mit herkömmlichen Immunoassays nicht eindeutig belegt. Ziel der Untersuchung war deshalb, Erfahrungen mit dem neuen DSL-Inhibin-B-Assay vorzustellen.

Methoden: Von 185 andrologischen Patienten im Alter von 17–51 Jahren wurde das Serum-Inhibin B mit Hilfe des DSL-Assays bestimmt, der Inter- und Intraassay-Variationskoeffizient (VK) ermittelt und die Werte zur Spermatozoenkonzentration in Beziehung gesetzt. Die diagnostische Sensitivität und Spezifität hinsichtlich des Vorhandenseins einer Spermatogenese bei Azoospermie wurde bei verschiedenen Cut-off-Werten geprüft.

Resultate: Die mit Hilfe des DSL-Assays gemessenen Serum-Inhibin-B-Werte korrelierten positiv mit der Spermatozoenkonzentration. Die Streuung war zum Teil erheblich: Bei Patienten mit Spermatozoenkonzentration über 20 Mio/ml (WHO-Normgrenze) fanden wir im Mittel $171,8 \pm 85$ pg/ml Inhibin B. Der Interassay-VK betrug 10,8 %, der Intraassay-VK 6,4 %. Ein Cut-off von 60 pg/ml Inhibin B (DSL-Normgrenze für die Altersgruppe ab 18 Jahre) ergab die diagnostische Sensitivität von 95,4 % und die Spezifität von 65,8 % hinsichtlich des Vorliegens einer Spermatogenese bei Azoospermie.

Schlußfolgerungen: Die Ergebnisse stimmen gut mit Befunden anderer Inhibin-B-Assays überein. Die Streuung der Befunde in den spermatologischen Klassen sowie die (noch ausreichend) gute diagnostische Sensitivität und Spezifität sind am ehesten durch individuelle Faktoren zu erklären. Die Assaycharakteristik

des nichtisotopischen hochspezifischen „Two-Site-Two-Step“-ELISA mit gebrauchsfertigen Reagenzien von DSL erscheint insgesamt vorteilhaft: Keine Probenextraktion oder -vorbehandlung und vernachlässigbare Kreuzreaktivität mit der Pro-alpha-C-Untereinheit, Inhibin A oder Activin.

P 13

UNTERSUCHUNGEN ZUR IDENTIFIZIERUNG POST-TRANSLATIONAL MODIFIZIERTER VDAC-ISOFORMEN IN BOVINEN SPERMATOZOEN

V. A. Menzel, Y. Wagner, K.-D. Hinsch, E. Hinsch
Zentrum für Dermatologie und Andrologie, Justus-Liebig-Universität, Gießen

Einleitung: VDACs (voltage-dependent anion channels) sind kleine transmembranäre, porenformende Proteine mit apparenten Molekularmassen von 30–35 kDa, welche zuerst in der äußeren mitochondrialen Membran beschrieben wurden. Hier unterstützen sie den Metabolitenaustausch zwischen den Mitochondrien und dem Cytosol (z. B. ATP-Transfer). Neuere Untersuchungen zeigen, daß VDAC auch in der Plasmamembran lokalisiert sind. Bei höheren Eukaryonten werden drei VDAC-Isoformen exprimiert (VDAC1, VDAC2 und VDAC3). Kürzlich konnten wir das Vorkommen von VDAC2 und -3 in bovinen Spermatozoen im Bereich der Mantelfasern (ODF) nachweisen. Darüber hinaus konnten mittels 2D-Elektrophorese VDAC2 in Form einer Reihe von Spots mit verschiedenen pIs dargestellt werden; diese Beobachtung deutet auf eine post-translationale Modifizierung des Proteins hin. Neuere Studien weisen auf eine mögliche Regulation der Funktion von VDAC-Proteinen durch eine Phosphorylierung hin. Das Ziel dieser Untersuchung war es, tyrosinphosphorylierte VDAC-Isoformen in bovinen Spermatozoen zu identifizieren.

Methoden: Triton-X-100-lösliche Proteine wurden aus bovinen Spermatozoen extrahiert und einer SDS-PAGE unterzogen. VDAC-Isoformen wurden mit Hilfe von subtypspezifischen Anti-VDAC-Antikörpern detektiert. Zum Nachweis tyrosinphosphorylierter Proteine wurden Anti-Phosphotyrosin-Antikörper eingesetzt.



Resultate: In bovinen Spermatozoen-extrakten wurden drei tyrosinphosphorylierte Proteinbanden nachgewiesen, deren biophysikalische Eigenschaften in der Gelelektrophorese mit jenen der immunologisch detektierten VDAC2- und VDAC3-Polypeptide übereinstimmen.

Schlussfolgerungen: Unsere bisherigen Ergebnisse lassen die Aussage zu, daß VDAC2 und -3 in den ODF vermutlich eine andere Funktion haben als die bisher bekannte Kanalbildung in Membranstrukturen. Teleologisch betrachtet könnten die ATP-bindenden Proteine VDAC2 und VDAC3, die in relativ großen Mengen im Flagellum zu finden sind, als Transportvehikel die Versorgung des Axonems mit ATP regulieren. Während der Passage durch den Nebenhoden werden die Spermatozoen motil. Diese Funktionsänderung ist mit einer Zunahme der Tyrosinphosphorylierung verschiedener Proteine assoziiert und läßt die Hypothese zu, daß tyrosinphosphorylierte VDAC-Isoformen in der Entwicklung der Spermatozoenmotilität während der epididymalen Passage eine Rolle spielen könnten.

P 14

INTRAINDIVIDUELLE SCHWANKUNGEN UND AUSWIRKUNGEN EINER ANTIBIOTISCHEN THERAPIE AUF IGA-ANTIKÖRPERTITER GEGEN *CHLAMYDIA TRACHOMATIS* IM SEMINALPLASMA

S. Weidinger, M. Sbornik, J. Ring,
F.-M. Köhn
Klinik für Dermatologie und Allergologie, TU München

Einleitung: Die klinische Relevanz von Urogenitalinfektionen mit *Chlamydia trachomatis* (*Ch. tr.*) wird kontrovers diskutiert. Der häufige Nachweis bei asymptomatischen Männern in infertilen Paaren ist als Hinweis auf eine potentielle Beeinflussung der männlichen Fertilität interpretiert worden. Da der direkte Nachweis von *Ch. tr.* im Seminalplasma schwierig ist, wurde die Untersuchung auf IgA-Antikörper im Seminalplasma eingeführt. Bislang gibt es keine Angaben zu intraindividuellen Schwankungen der Antikörper-Titer und möglichen Auswirkungen einer antibiotischen Therapie.

Methoden: Retrospektiv wurden 1978 Patienten der andrologischen Sprechstunde untersucht. Mittels ELISA konnten bei 157 (7,9 %) dieser Patienten erhöhte Anti-*Ch. tr.*-Antikörper-Titer (Cut-off 1,1 = Extinktion nach Photometrie) nachgewiesen werden. Für die weitere Analyse wurden Patienten, bei denen mehr als eine Antikörper-Bestimmung durchgeführt worden war, in zwei Gruppen eingeteilt: Patienten ohne antibiotische Therapie (n = 35, Gruppe A) und Patienten mit Antibiose (n = 34, Gruppe B).

Ergebnisse: Bei 20 der 35 Patienten der Gruppe A (57 %) zeigte sich ein Abfall der IgA-Antikörper-Titer, wobei 6 Männer (17 %) Normwerte erreichten. Die Unterschiede zwischen erstem ($5,8 \pm 7,0$; $2,6$) und zweitem Untersuchungszeitpunkt ($6,0 \pm 8,5$; $2,9$) waren allerdings nicht statistisch signifikant ($p = 0,86$). Bei 24 der 34 Patienten der Gruppe B (71 %) zeigte sich zwischen erstem Untersuchungszeitpunkt ($6,0 \pm 6,2$; $3,9$) und zweitem Untersuchungszeitpunkt nach Antibiose ($4,2 \pm 6,1$; $1,7$) ein statistisch signifikanter ($p < 0,05$) Abfall der Antikörper-Titer. Der Anteil von Patienten, bei denen es zur Normalisierung der Titer kam, war signifikant höher ($13/34$, $p < 0,05$). Signifikante Veränderungen der Spermaqualität nach Antibiose wurden nicht beobachtet.

Zusammenfassung: IgA-Antikörper-Spiegel im Seminalplasma infertiler Männer zeigen große intraindividuelle Schwankungen. Die signifikante Senkung der IgA-Antikörper gegen *Ch. tr.* im Seminalplasma und der signifikant höhere Anteil von Männern mit unauffälligen entsprechenden Seminalplasmawerten können auf eine klinische Relevanz der Bestimmung von *Ch. tr.*-Antikörpern im Seminalplasma z. B. hinsichtlich der Vermeidung einer Übertragung eventueller Infektionen auf die Partnerin hindeuten.

P 15

ERHÖHTE KALZIUM (Ca^{2+})-KONZENTRATIONEN IM SEMINALPLASMA IN VERBINDUNG MIT EINEM VERMEHRTEN ANTEIL AN AKROSOMENREAKTIONEN ALS URSACHE VON SUBFERTILITÄT BEI EINEM HENGST

S. Pesch¹, H. Bostedt¹, M. Bergmann²
¹Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Groß- und Kleintiere und ²Institut für Veterinär-Anatomie, -Histologie und -Embryologie, Justus-Liebig-Universität, Gießen

Einleitung: Damit Spermien ihr Befruchtungspotential erreichen können, müssen primär Kapazitation und Akrosomenreaktion (AR) durchlaufen werden. Als Folge der Kapazitation kommt es zu einer erhöhten Membran-Permeabilität gegenüber Ca^{2+} , was als Prerequisit der AR angesehen wird. Als Referenzwerte gelten im equinen Seminalplasma Kalziumkonzentrationen zwischen $1,4 \pm 1,04$ mmol/l [1] und $6,5$ mmol/l [2] – ohne Angabe, ob es sich um Gesamtkalzium oder Ca^{2+} handelt und welche Fertilität die untersuchten Probanden besaßen. Über den Anteil an spontanen Akrosomenreaktionen sind beim Hengst keine Daten bekannt.

Methoden: In die Untersuchung fanden 9 Hengste Eingang. Während ein Hengst durch hochgradige Subfertilität nach Flüssigkonservierung des Samens aufgefallen und deshalb nur noch in der Frischsamenübertragung eingesetzt worden war, wiesen die anderen Tiere eine Fertilität zwischen 90 % und 100 % auf. Unmittelbar an die Samengewinnung wurde eine Spermauntersuchung (gemäß WHO) durchgeführt und Seminalplasma durch Zentrifugation gewonnen. Die Bestimmung von Ca^{2+} erfolgte mittels EPAC 6410 (Eppendorf). Bei der elektronenmikroskopischen Auswertung wurden je 500 Akrosomen auf das Vorhandensein von Akrosomenreaktionen untersucht.

Resultate: Während das Ejakulat des betroffenen Hengstes bei der konventionellen Spermauntersuchung unauffällig war, wurden insgesamt 14,2 % AR mittels TEM nachgewiesen. Bei der hochfertilen Kontrollgruppe lagen im Mittel nur 1,2 % AR ($Q_1/Q_3 = 1,0/1,5$ %) vor. Bei der Bestimmung der Ca^{2+} -Konzentration wurden 5,23 mmol/l ermittelt, bei



ABSTRACTS

den Kontrollprobanden betrug sie im Mittel 1,3 mmol/l ($Q_1/Q_3 = 1,1/1,7$ mmol/l).

Schlussfolgerungen: Erhöhte Ca^{2+} -Konzentrationen im Seminalplasma können beim Hengst zu Membranstabilität führen, was eine vermehrte Induktion von AR bedingt. Dies resultiert in einer reduzierten „Haltbarkeit“ des Spermas. Infolgedessen können mit dem Sperma der betroffenen Hengste nach Flüssigkonservierung und Versand keine akzeptablen Fertilitätsraten mehr erreicht werden.

Literatur:

1. Barrier-Battut I, Dellajarraud H et al. Calcium, magnesium, copper, and zinc in seminal plasma of fertile stallions and their relationship with semen freezability. *Theriogenology* 2002; 58: 229–32.
2. Mann T, Lutwack-Mann C. Male reproductive function and semen. Springer Verlag, New York, 1981.

P 16

AUSWIRKUNGEN VON ÜBERGEWICHT AUF DIE MÄNNLICHE FERTILITÄT

F. Wember¹, S. Pflieger-Bruss¹, R.-H. Bödecker², W.-B. Schill¹, H.-C. Schuppe¹

¹Zentrum für Dermatologie und Andrologie, ²Institut für Medizinische Informatik, Justus-Liebig-Universität, Gießen

Einleitung: Seit Jahren wird der Zusammenhang zwischen den vermeintlich abnehmenden Spermatozoendichten bei fertilen Männern und den sich ändernden Umwelteinflüssen kontrovers diskutiert. Neben hormonartigen Umweltschadstoffen müssen in diesem Zusammenhang die veränderten Lebensgewohnheiten, wie beispielsweise das zunehmende Lebensalter bei Erstgebärenden und abnehmende Bewegung bei gleichzeitigem Nahrungsmittelüberschuß als mögliche Mitursache in Betracht gezogen werden. Bislang ist die Datenlage hinsichtlich Übergewicht bei Männern und eine mögliche Beeinflussung der Fertilität spärlich. Daher war das Ziel dieser Untersuchung zu überprüfen, inwieweit dem Übergewicht bei Männern eine fertilitätsmindernde Eigenschaft beigemessen werden kann.

Methoden: Retrospektiv wurden die Daten von 496 Männer im Alter zwischen

18 und 50 Jahren ausgewertet, bei denen mehr als 12 Monate Kinderwunsch bestand und die die definierten Ein- und Ausschlusskriterien im erfaßten Zeitraum erfüllten. Eingeschlossen wurden Männer mit unauffälligem genitalem Untersuchungsbefund, fehlender Vorgeschichte zu Genitalinfektionen, Kryptorchismus, Hodendystrophie/-atrophie, Varikozele, Systemerkrankungen, Malignomen, Alkohol, Drogen, Anabolika und regelmäßiger Medikamenteneinnahme.

Ergebnisse: In dem erfaßten Kollektiv waren 209 Männer normalgewichtig (Body-Mass-Index [BMI] < 25 kg/m²) und 287 übergewichtig (BMI > 25 kg/m²). Verglichen mit der Normalbevölkerung (Mikrozensus, Statistisches Bundesamt, 2004) waren 61 % der 25–29-jährigen (Normalbevölkerung 40 %) und 62 % der 30–34-jährigen (Normalbevölkerung 48 %) übergewichtig. In der Gruppe der Normalgewichtigen fand sich bei 24 % ein vermindertes Testosteron, wohingegen 43 % der Übergewichtigen einen verminderten Wert aufwiesen. Kein Unterschied fand sich bei den FSH- und LH-Werten. Die Standard ejakulatparameter beider Gruppen waren vergleichbar.

Schlussfolgerungen: In dem vorliegenden Kollektiv ergab sich keine signifikante Korrelation zwischen dem BMI und den Standard ejakulatparametern. Allerdings begünstigt Übergewicht reduzierte Testosteronlevel im Serum. Erwähnenswert erscheint, daß in dem untersuchten Kinderwunschkollektiv Übergewicht häufiger auftritt als im vergleichbaren Normalkollektiv.

P 17

Oozytenpenetrationsfähigkeit und Chromatinkondensationsraten Non-Apoptotischer Spermatozoen im In-vitro-Modell

U. Paasch¹, S. Grunewald¹, T. Said², A. Agarwal², C. Kriegl¹, T. Baumann¹, M. Rasch¹, H.-J. Glander¹

¹EAA-Zentrum, Universität Leipzig, ²Cleveland Clinic Foundation, Ohio, USA

Einführung: Magnetische Zellseparation mittels superparamagnetischer Annexin-V-Microbeads (ANMB) ist in der Lage, apoptotische Spermatozoen infolge der

Bindung von ANMB an externalisiertes Phosphatidylserin (EPS) aus dem Ejakulat zu trennen. Das Verfahren liefert 2 Fraktionen: EPS- (nichtapoptotische) und EPS+ (apoptotische) Spermien. Ziel war die Messung des Fertilisierungspotentials von EPS-Spermien bei IVF und ICSI unter Verwendung von In-vitro-Modellen.

Methoden: 35 Spenderejakulate wurden nach Dichtegradientenzentrifugation mittels ANMB separiert. In den unbehandelten Kontrollen und in beiden Fraktionen wurde der Anteil apoptotischer Spermien durch Bestimmung der Caspase-3-Aktivierung (CP3, fluoresceinmarkierter CP3-Inhibitor), des transmembranösen mitochondrialen Membranpotentials (TMP, Disruptionsnachweis mittels lipophiler Kationen) und DNA-Fragmentierungen (TUNEL: terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated fluorescein-dUTP nick end labeling) erfaßt. Das Fertilisierungspotential der Spermatozoen wurde im Hamsteroozyten-Penetrationstest (H-IVF) und durch Hamsteroozyten-ICSI (H-ICSI) an kryokonservierten Hamsteroozyten evaluiert.

Resultate: EPS-Spermien zeichnen sich im Vergleich zu unseparierten Spermien durch eine nahezu inaktivierte Apoptosekaskade (CP3: $8,8 \pm 5,9$ % vs. $15,2 \pm 10,5$ %; intaktes TMP: $88,6 \pm 7,8$ % vs. $77,9 \pm 15,1$ %; TUNEL: $14,4 \pm 13,2$ % vs. $21,0 \pm 13,6$ %) sowie eine verbesserte Gesamtmotilität aus ($78,1 \pm 11,3$ % vs. $74,8 \pm 9,4$ %; $p < 0,05$). Damit einhergehend wiesen sie eine signifikant bessere Oozytenpenetrationsfähigkeit auf (H-IVF: $44,5 \pm 12,6$ % vs. $33,8 \pm 6,9$ % penetrierte Oozyten). Sie zeigten gleiche Chromatinkondensationsraten bei H-ICSI ($34,0 \pm 13,0$ % vs. $34,6 \pm 13,0$ %; $p > 0,05$). Im Gegensatz dazu hatte die EPS+-Fraktion den höchsten Anteil apoptotischer Spermien und das geringste Fertilisierungspotential in H-IVF und H-ICSI ($p < 0,05$).

Schlussfolgerungen: Die Aktivierung der Apoptosekaskade in humanen Spermatozoen beeinträchtigt deren Oozyten-Penetrationsfähigkeit. Da EPS+-Spermien deutlich schlechtere Chromatinkondensationsraten in der H-ICSI aufwiesen, ist auch hier trotz gleicher Ergebnisse der unseparierten und EPS-Spermien von einem potentiell negativen Einfluß der Apoptose auszugehen. Die Anreicherung vitaler, nichtapoptotischer Spermien



en könnte somit eine Verbesserung der Ergebnisse von *In-vitro*-Fertilisationen bei Infertilitätspatienten und nach Kryokonservierung bei erhöhtem Anteil apoptotischer Spermatozoen bewirken.

P 18

DER PATHOMECHANISMUS DER EXPERIMENTELLEN AUTOIMMUN-ORCHITIS BEINHALTET DIE AKTIVIERUNG VON PROTEINASEAKTIVIERTEM REZEPTOR-2 DURCH MASTZELL-TRYPTASE

R. Iosub¹, J. Klug¹, M. Fijak¹,
E. Schneider¹, G. Wennemuth²,
M. Steinhoff³, A. Meinhardt¹

¹Institut für Anatomie und Zellbiologie, Justus-Liebig-Universität, Gießen, ²Institut für Anatomie und Zellbiologie, Philipps-Universität Marburg, ³Univertitätsklinik, Westfälische Wilhelms-Universität, Münster

Einleitung: Der proteaseaktivierte Rezeptor-2 (PAR-2) wird durch Trypsin und Mastzell-Tryptase proteolytisch aktiviert und spielt eine wesentliche Rolle bei vielen neuroinflammatorischen und allergischen Reaktionen. Da Infekte und Entzündungen zu den Hauptursachen männlicher Infertilität gehören und Mastzellen im Hoden infertiler Männer in erhöhter Anzahl gefunden wurden, war es das Ziel dieser Studie, eine potentielle Rolle von PAR-2 in Nagermodellen mit entzündlicher Infertilität zu untersuchen.

Methoden: Die experimentelle Autoimmun-Orchitis (EAO) wurde bei Ratten durch s. c. aktive Immunisierung mit Hodenhomogenat in Adjuvans ausgelöst.

Resultate: PAR-2 wurde immunhistochemisch auf Peritubulär-Zellen (PTC), dem Akrosom von runden und elongierten Spermatozoen sowie testikulären Makrophagen lokalisiert. In EAO-Hoden findet sich eine starke Zunahme der PAR-2-Immunreaktivität in Monocyten/Makrophagen und in PTC, die in multilamellären Schichten am Rande von Granulomen zu finden sind und den Proliferationsmarker Ki67 co-exprimieren. Die Anzahl der Mastzellen ist bei EAO-Tieren um den Faktor 10 erhöht. Die Applikation eines PAR-2-Agonisten resultierte in PTC in einer raschen Phosphorylierung der Erk1/2-MAP-Kinasen

und in einer deutlichen Hochregulation der mRNA-Expression der Entzündungsmediatoren TGF β , MCP-1 und COX-2. Eine vergleichbar erhöhte Expression von TGF β , MCP-1 und COX-2, zusammen mit iNOS, wurde auch im Hoden von EAO-Tieren gemessen. *In vivo* wurde die Expression durch intratestikuläre Injektion von Mastzell-Tryptase (TGF β , MCP-1, COX-2) und des PAR-2-Agonisten (TGF β , MCP-1) ebenfalls hochreguliert, während enzymatisch inaktive Tryptase und das Kontrollpeptid wirkungslos blieben. Durch die Gabe von COX-2 und iNOS-Inhibitoren vor der Injektion von Tryptase und des PAR-2-Agonisten ließen sich diese Effekte teilweise auf Kontrollniveau senken.

Schlußfolgerungen: Peritubulär-Zellen können durch Mastzell-Tryptase ausgelöste Aktivierung von PAR-2 eine Rolle im Pathomechanismus von akuten und chronischen Orchitiden spielen.

P 19

TWO CASES OF ADULT CRYPTORCHIDISM PRESENTING WITH MALE INFERTILITY AND AZOOSPERMIA

F. Endo, J. Miyazaki, S. Ando,
S. Tsukamoto
Department of Urology, Tsukuba-Gakuen-Hospital, Tsukuba, Japan

In Japan, recently, it becomes very rare that cryptorchidism patients without any treatments are found at postpuberty. Although unilateral undescended testis of adult male should be removed, the treatment for bilateral cases is controversial.

Two cases of postpubertal cryptorchidism presenting with male infertility were experienced in our department.

Case 1: A 31-year-old male visited our outpatient clinic with a chief complaint of 2.5 year infertility. Sperm analysis revealed azoospermia, and serum FSH was elevated to 26 mIU/ml. Bilateral testes were palpable in the inguinal canals. MRI imaging showed that right testicular axis was atrophied 15 mm, and the left 45 mm. Each testis had no tumour revealed by MRI and serum tumour markers (hCG- β and AFP). Right testis was removed surgically. Simultaneously both orchiopexy and biopsy for

the left testis was performed. The pathological report of right and left testes was diagnosed as maturation arrest with a small amount of dysplasia, which differed from malignancy in terms of negative stained PLAP.

Case 2: A 30-year-old male came to our office because of his 3 year infertile history. Azoospermia and elevated serum FSH (13.6 mIU/ml) were found by laboratory tests. Physical examination revealed bilateral inguinal type of cryptorchidism. MRI imaging showed each testis was 35 mm in diameter and had no tumor. Serum tumor markers were also negative. According to patient's request, microdissection TESE and bilateral orchiopexy was scheduled.

Unilateral undescended testis in the postpubertal male should be removed surgically to prevent from its carcinogenesis. However, the certain treatment with medical evidence for bilateral cases is not yet confirmed. Our both patients had no request to bilateral orchiectomy, which required testosterone replacement therapy. These cases should be inspected intensively (once a 3–6 months) with imaging studies and tumour markers to find the occurrence of testicular cancer.

P 20

IST DIE HISTOLOGISCHE UNTERSUCHUNG IM RAHMEN DER OPERATIVEN SPERMATOZOEN-ENTNAHME (TESE) NOTWENDIG?

M. Becker¹, J. Bremer¹, T. Katzorke²,
H. Sperling¹, H. Rübber¹
¹Urologische Klinik am Universitätsklinikum Essen, ²Praxis Novum-Zentrum für Reproduktionsmedizin Essen

Einleitung: Bei Patienten mit Azoospermie und operativer Spermatozoenentnahme mittels testikulärer Spermatozoenextraktion (TESE) wird von bis zu 5 % Nachweis maligner Zellen oder deren Vorstufen im Sinne der testikulären intraepithelialen Neoplasie (TIN) bei der histologischen Aufarbeitung der Hodenbiopsate berichtet.

Bei knapper werdenden finanziellen Ressourcen stellt sich die Frage, ob die bisherige Forderung nach obligater histologischer Mitbeurteilung der Biopsate



ABSTRACTS

neben der Spermengewinnung zur assistierten Reproduktion noch zu halten ist.

Methoden: Von 1996 bis heute wurden in Kooperation der Praxis Novum-Zentrum für Reproduktionsmedizin mit der Urologischen Klinik am Universitätsklinikum Essen mehr als 400 TESE zur nachfolgenden assistierten Reproduktion durchgeführt. Auf die histologische Aufarbeitung der Biopsate, die nur zur Realisierung des Kinderwunsches und nicht im Rahmen von Tumoroperationen entnommen wurden, wurde verzichtet.

Im Rahmen einer retrospektiven Analyse haben wir 360 Patienten einen Fragebogen zugesandt und unter anderem die Entwicklung eines Hodentumors und die Notwendigkeit der Testosteronsubstitution erfragt.

Resultate: Von 112 bisher zur Verfügung stehenden Ergebnissen der Patientenfragebögen aus den Jahren 1996–2000 ist bei keinem Patienten ein Hodentumor aufgetreten. Eine Testosteronsubstitution ist bei 2 Patienten, die gleichzeitig zur TESE kontralateral aufgrund eines Hodenkarzinoms orchiectomiert wurden, vorhanden.

Schlussfolgerungen: Aufgrund der exzellenten Therapierbarkeit eines Hodentumors, der häufig fehlenden Therapiekonsequenz (Orchiectomie oder Radiatio des Hodens bei TIN-Nachweis) bei noch unerfülltem Kinderwunsch und der Kostensituation ist das Verzichten auf die histologische Aufarbeitung testikulärer Biopsate bei Infertilität zu vertreten. Dies entbindet nicht von der Notwendigkeit zur histologischen Diagnostik bei palpatorischen, sonographischen oder makroskopischen Auffälligkeiten des Hodenparenchyms.

P 21

ENDOKRINOLOGISCHES DEFIZIT NACH KEIMZELLTUMORTHERAPIE: BEZIEHUNG VON HODENVOLUMEN UND TESTOSTERON

G. Pühse, A. Secker, S. Kemper, L. Hertle, S. Kliesch
Klinik und Poliklinik für Urologie, Universitätsklinikum Münster

Einleitung: Häufigkeit der Entwicklung eines Androgenmangels bei Patienten

mit Keimzelltumoren (KZT) nach Abschluß der onkologischen Therapie unter Berücksichtigung des residualen Hodenvolumens.

Methoden: Nach Abschluß der onkologischen Therapie wurden 376 Patienten mit KZT prospektiv auf das Vorliegen von verminderten Testosteron-Serumspiegeln (Normalwerte $> 2,84$ ng/ml bzw. $> 9,85$ nmol/l) untersucht. Bei 132 Patienten (Alter $33,8 \pm 9,1$ Jahre, Mittelwert $\pm$ Standardabweichung) wurde bisher im Rahmen der regelmäßigen Tumornachsorge mindestens dreimal ein kompletter laborchemischer Hormonstatus erhoben. Das Volumen des verbliebenen, gesunden Hodens wurde nach Entfernung des tumortragenden Hodens im Rahmen der Nachsorgeuntersuchungen mittels transskrotaler Sonographie (7,5-MHz-Scanner, normales Hodenvolumen > 12 ml) bestimmt.

Resultate: Die Analyse von 1831 Testosteron-Serumspiegeln vor und nach der onkologischen Therapie ergab einen dauerhaften Testosteronmangel bei 17 von 71 Patienten (24 %) mit Seminom (Alter $37,3 \pm 8,2$ Jahre) und bei 16 von 61 Patienten (26 %) mit Nichtseminom (Alter $31,2 \pm 9,1$ Jahre). Im Hinblick auf die unterschiedliche Tumorthherapie erhielten 17 der 33 Patienten mit Testosteronmangel eine cisplatinhaltige Chemotherapie, sechs Patienten eine Carboplatin-Monotherapie, sieben Patienten eine retroperitoneale Radiatio und 3 Patienten eine rein chirurgische Therapie.

Die transskrotale Sonographie des verbliebenen Hodens ergab bei den Patienten mit Seminom ein durchschnittliches Hodenvolumen von $15,6 \pm 5,6$ ml. Seminom-Patienten mit Androgenmangel zeigten ein durchschnittliches residuales Hodenvolumen von $11,4 \pm 5,8$ ml, Seminom-Patienten ohne Androgenmangel hatten ein restliches Hodenvolumen von $16,9 \pm 4,8$ ml. Patienten mit Nichtseminom mit Testosteronmangel hatten ein residuales Hodenvolumen von $11,3 \pm 4,0$ ml vs. $15,1 \pm 5,4$ ml bei Nichtseminom-Patienten ohne Testosteronmangel (Hodenvolumen aller Nichtseminom-Patienten: $14,1 \pm 5,3$ ml).

Schlussfolgerungen: In dem untersuchten Kollektiv von Patienten mit KZT nach onkologischer Therapie liegt die Rate der Testosteronmangelpatienten

zwischen 24 % und 26 %. Bei Männern ohne Hodentumorerkrankung ist im Alter von 40–60 Jahren nur bei 7–8 % das Eintreten eines Androgenmangels in der Literatur beschrieben. Ein niedriges residuales Hodenvolumen, welches sonographisch einfach und exakt zu bestimmen ist, scheint mit dem Auftreten eines posttherapeutischen Androgenmangels zu korrelieren.

P 22

DIE FRÜHE TIN-DIAGNOSTIK ZUR ERKENNUNG DES BEIDSEITIGEN KEIMZELLTUMORS (KZT) UND IHRE IMPLIKATIONEN FÜR DIE ENDOKRINE UND EXOKRINE HODENFUNKTION

S. Kliesch¹, M. Ahlers¹, G. Pühse¹, S. Kemper¹, E. Nieschlag², M. Bergmann³
¹Klinik und Poliklinik für Urologie, ²Institut für Reproduktionsmedizin, Universitätsklinikum Münster, ³Institut für Veterinär-Anatomie, -Histologie und -Embryologie, Universität Gießen

Einleitung: Die testikuläre intraepitheliale Neoplasie (TIN; *Carcinoma in situ*, CIS) des Hodens ist bei ca. 5–8 % der Hodentumorpatienten im kontralateralen Hoden zum Zeitpunkt der Erkrankung durch eine Hodenbiopsie sicher zu diagnostizieren. Wir praktizieren die routinemäßige kontralaterale TIN-Diagnostik bei Patienten mit KZT, um das Entstehen von Zweittumoren durch eine frühzeitige Therapie zu verhindern. Die Vorteile dieses Vorgehens sind bislang nicht belegt.

Methoden: Patienten mit histologisch nachgewiesener kontralateraler TIN bzw. bilateraler Hodentumorerkrankung wurden evaluiert. Es wurden die Parameter Alter, Hormonstatus und Ejakulatparameter analysiert.

Resultate: 11 Patienten mit bilateralem KZT (Gruppe I) und 34 Patienten mit unilateralem KZT und kontralateraler TIN (Gruppe II) wurden ausgewertet. Das mittlere Alter (SD) in Gruppe I beträgt 30,8 (7,5) Jahre, in Gruppe II 29,5 (5,2) Jahre.

In beiden Patientengruppen liegen die mittleren Testosteron- und LH-Serumspiegel im Normbereich, die FSH-Werte sind deutlich erhöht und die Ejakulatparameter vermindert (SD) (**Tabelle 1**).



Tabelle 1: S. Kliesch et al. (P 22)

	I – KZT beidseits	II – Kontralat. TIN
Testosteron (nmol/l)	13,06 (6,1)	14,74 (6,64)
LH (IU/l)	9,64 (7,98)	9,70 (12,83)
FSH (IU/l)	23,2 (20,5)	18,54 (14,75)
Spermienkonzentration (Mill/ml)	4,97 (6,6)	4,64 (7,98)

Die Azoospermierate beträgt 60 % in Gruppe I und 19 % in Gruppe II zum Zeitpunkt der Diagnosestellung. In Gruppe I konnte bei 6 Patienten eine organerhaltende Tumorenukleation durchgeführt werden, bei 5 Patienten erfolgte die bilaterale Orchiectomie. Bei insgesamt 7 Patienten dieser Gruppe wurde eine Testosteronsubstitutionstherapie erforderlich (64 %), während diese nur bei 4 Patienten der TIN-Gruppe (12 %) eingeleitet werden mußte. Die Standardtherapie der TIN (Gruppe II) besteht in der Radiatio des Hodens (21 Patienten). 3 Patienten entschlossen sich zur *Ablatio testis*, bei 10 Patienten erfolgte zunächst die BEP-Chemotherapie.

Schlußfolgerungen: Die frühzeitige TIN-Diagnose führt zu einem langfristigen Organerhalt mit guter Funktion des Resthodens, während bei fehlender Erkennung des Risikos einer bilateralen Tumorerkrankung die Möglichkeiten zum organerhaltenden Vorgehen begrenzt sind und eine Therapie mit Testosteron unumgänglich wird. Die initiale Rate der Azoospermie ist beim bilateralen KZT deutlich erhöht.

P 23

LANGZEITFOLGEN DER HODENTUMORTHERAPIE IM HINBLICK AUF VATERSCHAFT UND SEXUALITÄT BIS ZU 17 JAHRE NACH THERAPIEABSCHLUSS

S. Kliesch¹, B. Leder¹, H. M. Behre², H. van Ahlen³, L. Hertle¹

¹Klinik und Poliklinik für Urologie, Universitätsklinikum Münster, ²Sektion Andrologie, Urologische Klinik, Universität Halle, ³Klinik für Urologie und Kinderurologie, Städtische Kliniken Osnabrück

Einleitung: Hodentumorpatienten weisen bereits bei Diagnosestellung pathologi-

sche Ejakulatparameter auf und haben zu diesem Zeitpunkt ihre Familienplanung meist noch nicht abgeschlossen. Allerdings liegen nur wenige Langzeitdaten bezüglich ihrer Chance auf Vaterschaft und mögliche Einschränkungen ihrer Sexualität vor. Wir führten eine Nachuntersuchung an Patienten (P.) mit unilateralem Hodentumor durch, die nach der Therapie des Primärtumors mindestens 5 Jahre rezidivfrei überlebten.

Methoden: 27 P. gaben zu dieser von der Ethikkommission genehmigten Untersuchung ihr schriftliches Einverständnis. Persönliche Lebenssituation und Sexualleben wurden durch Fragebögen evaluiert (u. a. EORTC QLQ-C30 und Testis Cancer Questionnaire). Es wurden Anamnese, körperliche Untersuchung, Skrotalsonographie und Hormonuntersuchungen durchgeführt.

Ergebnisse: 27 rezidivfreie P. wurden im Alter von 37–57 Jahren (Durchschnitt 44 Jahre) 7–17 Jahre nach Hodentumorerkrankung und abgeschlossener Therapie (Stadium I: n = 15; Stadium II: n = 10; Stadium III: n = 1) nachuntersucht. 18 P. waren zum Zeitpunkt der Erkrankung verheiratet, 8 P. heirateten danach und 5 P. blieben ledig. 16 Kinder wurden vor und 24 nach Therapieabschluß geboren, wobei 4 Schwangerschaften zum Zeitpunkt der Behandlung bestanden. 5 P. blieben ungewollt kinderlos. Klinische Androgenmangelsymptome bestanden in Knochenschmerzen (n = 12), Müdigkeit (n = 6), Schweißausbrüchen (n = 8) sowie Verlust der spontanen morgendlichen Erektionen (n = 8). Die genitale Untersuchung zeigte 23 normale Testes. Die sexuelle Aktivität wurde von 14 P. als vermindert erlebt. Erektionsprobleme berichteten 8 Patienten. Unzufrieden mit ihrem Sexualleben waren 10 P.

Schlußfolgerungen: Bei 80 % der Hodentumorpatienten ging das rezidivfreie Überleben mit einer Vaterschaft einher. Nach Hodentumorthherapie zeugten 12

Patienten Kinder, dies allerdings zum Teil erst 9 oder 12 Jahre nach Therapieende. Allerdings bestanden bei der Hälfte der P. eine Verminderung der sexuellen Aktivität und Zufriedenheit sowie klinische Zeichen des Androgenmangels. 22 % wiesen einen Testosteronmangel auf, der in dieser Altersgruppe (44 Jahre) normalerweise nicht zu erwarten ist.

P 24

EJAKULATBEFUNDE UND PRÄVALENZ VON TESTIKULÄREN TUMOREN BEI MÄNNERN MIT ADRENOGENITALEM SYNDROM

H. M. Behre¹, W. Hoepffner²

¹Sektion Andrologie, Urologische Klinik, Universität Halle, ²Klinik für Kinder und Jugendliche, Universitätsklinikum Leipzig

Einleitung: Von Männern mit einem klassischen Adrenogenitalen Syndrom (AGS), die in langjähriger endokrinologischer Betreuung sind, liegen nur wenige Daten zu den Ejakulatbefunden und zur Prävalenz der mit dem Krankheitsbild assoziierten sogenannten testikulären Nebennierenrest-Tumoren vor.

Methoden: In die Studie wurden 11 männliche Patienten eingeschlossen, die einen klinisch und molekulargenetisch gesicherten 21-Hydroxylasemangel aufweisen und bei denen eine Ejakulatuntersuchung, eine Hodensonographie und endokrinologische Untersuchungen durchgeführt wurden. Alle Patienten waren zunächst in der endokrinologischen Kinderambulanz des Universitätsklinikums Leipzig behandelt worden und werden nach einer gemeinsamen Transfersprechstunde jetzt in der andrologischen Ambulanz des Universitätsklinikums Halle betreut. Sie erhielten seit der Diagnosestellung eine Substitutionstherapie mit Hydrocortison und bei AGS mit Salzverlust (10 von 11 Patienten) zusätzlich Fludrocortison. Die Therapie wurde engmaschig durch Bestimmung der 17-Hydroxyprogesteronkonzentration im Speichel überwacht. Die Ejakulatanalyse erfolgte nach den aktuellen WHO-Vorgaben, die Skrotalsonographie mit einem hochauflösenden Linearschallkopf.

Resultate: Das durchschnittliche Alter der Patienten zum Zeitpunkt der Untersuchungen betrug 25,8 ± 4,5 Jahre (Mit-



ABSTRACTS

telwert $\pm$ Standardabweichung). Nur ein Patient wies eine Normozoospermie auf. Bei 3 der 11 Patienten zeigte sich eine Azoospermie, bei den übrigen 7 Männern lagen unterschiedlich ausgeprägte Einschränkungen der Ejakulatbefunde vor. 6 der 11 Männer wiesen Hodentumoren auf, die stets doppelseitig waren. Eindeutige klinisch relevante Zusammenhänge zwischen den Ejakulatbefunden, der Prävalenz von Hodentumoren, den 17-Hydroxyprogesteronkonzentrationen im Speichel und den molekulargenetischen Befunden zeigten sich nicht.

Schlußfolgerungen: Auch nach langjähriger Substitutionstherapie zeigen Patienten mit AGS deutliche Einschränkungen der Ejakulatbefunde und eine hohe Prävalenz von AGS-assoziierten Hodentumoren.

P 25

FERTILITÄTSINDUKTION BEI SEKUNDÄREM HYPOGONADISMUS DES MANNES: EINE ANALYSE VON 85 PATIENTEN

M. Zitzmann, H. Ezgimen, E. Nieschlag
Institut für Reproduktionsmedizin, Universitätsklinikum Münster (WHO-Kooperationszentrum zur Erforschung der männlichen Reproduktion)

Einleitung: Eine Fertilitätsinduktion bei sekundärem Hypogonadismus des Mannes ist nicht immer erfolgreich und mögliche Einflußfaktoren sind schwer abschätzbar.

Methoden: In dem bisher größten Kollektiv solcher Patienten wurde eine Analyse der Behandlungseffektivität durchgeführt. 85 Männer (Kallmann-Syndrom: $n = 20$; idiopathischer hypogonadotroper Hypogonadismus: $n = 34$; postpubertäre Hypophyseninsuffizienz: $n = 31$) wurden in 109 Stimulationszyklen mit hCG/hMG ($n = 102$) oder pulsatilem GnRH ($n = 7$) behandelt; 53/85 Männern strebten eine Vaterschaft an.

Resultate: Die Spermatogenese wurde bei 74/85 Patienten erfolgreich induziert. In 74 Behandlungszyklen wurde eine Schwangerschaft intendiert und in 45 Fällen mittels spontaner Fertilisierung ($n = 37$) oder ICSI ($n = 8$) erzielt. Die maximale Zeit bis zum Auftauchen von Spermien im Ejakulat betrug 38 Monate,

bis zur Induktion einer Schwangerschaft 50 Monate. Regressionsmodelle zeigten, daß das Alter des Mannes ($p = 0,03$), hypothalamische Störungen ($p = 0,05$) und ein Maladesensus wenigstens eines Hodens ($p = 0,03$) negative Auswirkungen auf die Induktion der Spermatogenese hatten, während die Testosteronkonzentrationen unter der Therapie positiv mit dem Erfolg korrelierten ($p = 0,002$). Die Spermienkonzentrationen wurden von den FSH-Spiegeln unter Therapie ($p = 0,02$) und dem biteminalen Volumen ($p < 0,001$) positiv beeinflusst. Die Erzielung einer Schwangerschaft wurde weniger wahrscheinlich bei einem Maladesensus ($p = 0,009$), während Ejakulatvolumen ($p = 0,005$), Spermienkonzentration ($p = 0,01$) und Morphologie ($p = 0,001$) positiven Einfluß hatten. Entsprechend wurde die Zeit bis zum Eintritt einer Schwangerschaft von diesen Faktoren beeinflusst, neben der Progressivmotilität der Spermien ($p = 0,001$) und dem Body-Mass-Index des Mannes (negativ, $p = 0,01$). Die Odds-Ratio für die Induktion einer Schwangerschaft für Männer mit einer Hypophyseninsuffizienz im Vergleich zu Patienten mit einer hypothalamischen Störung betrug 1,68 (95%-KI: 1,08–2,62; $p = 0,02$) und für Männer ohne Vorgeschichte eines Maladesensus vs. Maladesensus 1,52 (95%-KI: 1,13–1,75; $p = 0,008$).

Schlußfolgerungen: Die Fertilitätsinduktion bei Männern mit sekundärem Hypogonadismus ist hocheffektiv, erfordert aber in manchen Fällen Geduld. Einflußfaktoren existieren in Form der Grunderkrankung und der unter Therapie erzielten Hormonspiegel.

P 26

LEBENSQUALITÄT (QUALITY OF LIFE) DES ANDROGENDEFIZIENTEN ÄLTEREN MANNES

D. Finas¹, M. Bals-Pratsch², J. Sandmann³, R. Eichenauer³, D. Jocham³, K. Diedrich¹, P. Schmucker², M. Hüppe⁴
¹Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe, Universität Lübeck, ²Zentrum für Gynäkologische Endokrinologie, Reproduktionsmedizin und Humangenetik, Regensburg, ³Klinik für Urologie, ⁴Klinik für Anästhesiologie, Universität Lübeck

Einleitung: Androgene sind essentiell für eine gute Lebensqualität (Quality of Life,

QoL) des Mannes. Die partielle Androgendefizienz des alternden Mannes (PADAM) ist daher seit einigen Jahren von großem Interesse für Forschung und Gesellschaft. Bisher ist die Datenlage zu QoL und PADAM jedoch sehr eingeschränkt.

Material und Methoden: Die Evaluation von Veränderungen des individuellen Wohlbefindens erfolgte mit einem Fragebogen zur QoL. Es wurden Männer mit einer benignen Prostatahyperplasie (BPH) im Alter von über 50 Jahren in zwei Gruppen befragt. Die Männer hatten Spiegel freien Testosterons von < 200 pmol/l (Gruppe 1) bzw. > 200 pmol/l (Gruppe 2). Ziel der Studie war der Vergleich der Gruppe androgen-defizienter Männer (Gruppe 1; $n = 24$) mit normoandrogenämischen Männern (Gruppe 2; $n = 24$) im Hinblick auf die QoL und somatische Indikatoren des endokrinen Status. Hierzu wurden Paare gleichen Alters gebildet. Die gesundheitsbezogene QoL wurde anhand des SF-12-Health-Survey-Fragebogens mit dem Physical-Health-Index und dem Mental-Health-Index ermittelt. Dieser wurde durch zwei Skalen des SF-36 zur Vitalität und zum psychologischen Wohlbefinden ergänzt. Außerdem wurden die Männer zu sozialen und klinischen Items befragt.

Resultate: Die beiden Gruppen unterschieden sich nicht in den sozialen und klinischen Parametern. Der Wert des Physical-Health-Index war in Gruppe 1 reduziert ($p < 0,05$; die Effektstärke war mittel [$d = 0,57$]). In beiden Gruppen war der Wert des Mental-Health-Index jedoch gleich. Die Korrelation zwischen den Gesundheitsindizes der beiden Gruppen war sehr niedrig und nicht statistisch signifikant unterschiedlich ($r = 0,05$, $p = 0,72$). Patienten der Gruppe 1 beschrieben im Vergleich zu jenen der Gruppe 2 ein niedrigeres Vitalitätsniveau ($p < 0,05$). Es konnten aber keine Unterschiede in Bezug auf das psychische Wohlbefinden ermittelt werden. Die androgen-defizienten Patienten beschrieben eine deutlich reduzierte QoL in Bezug auf das physische Wohlbefinden. Androgen-defiziente Patienten scheinen demnach das Gefühl einer reduzierten physischen Einsatzfähigkeit zu haben.

Schlußfolgerungen: Unsere Ergebnisse legen nahe, daß die subjektive Beschrei-



bung gesundheitsbezogener Aspekte der QoL eine sehr sensitive Methode zur Evaluation psychologischer Unterschiede zwischen Patienten ist. Der Physical-Health-Index scheint sensitiver in der Differenzierung zwischen androgendefizienten Patienten und solchen mit normalen Testosteronspiegeln zu sein als der Mental-Health-Index.

Es wäre von Interesse, ob die Unterschiede unter Androgensubstitution androgendefizienter Patienten persistieren. Ein möglicher Vorteil einer Substitution mit Testosteron bedarf jedoch genauer Prüfung.

P 27

TESTOSTERON BEEINFLUSST DIE INTERAKTION ZWISCHEN BESCHWERDEBILDERN UND METABOLISCHEN RISIKOFAKTOREN ÄLTERER MÄNNER: EINE STUDIE BEI 434 PATIENTEN MIT VERDACHT AUF ALTERSHYPOGONADISMUS

M. Zitzmann, S. Faber, E. Nieschlag
Institut für Reproduktionsmedizin,
Universitätsklinikum Münster (WHO-
Kooperationszentrum zur Erforschung
der männlichen Reproduktion)

Hintergrund: Die Struktur psychischer und somatischer Beschwerdebilder bei älteren Männern ist in bezug auf den Altershypogonadismus nicht geklärt.

Methoden: Bei 434 konsekutiven Patienten im Alter von 50–86 Jahren, die unser andrologisches Zentrum bei Verdacht auf Altershypogonadismus aufsuchten, evaluierten wir psychische Primärbeschwerden in Zusammenhang mit somatischen Parametern/Erkrankungen, Lebensgewohnheiten und Sexualhormonen.

Resultate: Drei unabhängige Symptomkomplexe wurden durch Cluster-Analyse beschrieben: a) psychosomatische Beschwerden, b) metabolische Störungen, c) Symptomatiken des Urogenitaltrakts. Die erektile Dysfunktion nimmt als Einzelsymptom eine Sonderstellung zwischen allen drei Clustern ein. Spiegel von Gesamttestosteron ($T < 12 \text{ nmol/l}$) fanden sich bei 48 % der Patienten. Regressionsanalysen zeigten eine Assoziation niedriger T-Konzentrationen mit psychischen Beschwerdebildern: Nie-

dergeschlagenheit ($p = 0,006$), Verlust an Libido ($p < 0,001$), Antriebskraft ($p < 0,001$) oder Konzentrationsfähigkeit ($p = 0,01$) sowie Hitzewallungen ($p = 0,004$). Ebenso fanden sich Übergewicht (Body-Mass-Index $\geq 30 \text{ kg/m}^2$; $p < 0,001$), Diabetes mellitus ($p = 0,001$) und arterielle Hypertonie ($p = 0,02$) häufiger bei niedrigen T-Spiegeln. Nicht-lineare Beziehungen der Beschwerde- oder Krankheitshäufigkeit zu T-Spiegeln führten zu spezifischen Cut-off-Werten (Plateaubildung der Prävalenz jeweils bei > 8 , > 10 oder $> 12 \text{ nmol/l}$).

Die Wahrscheinlichkeit eines Diabetes mellitus in der Subgruppe der Übergewichtigen wurde durch einen Hypogonadismus erhöht ($p = 0,02$). Die erektile Dysfunktion war mit Zigarettenkonsum und Alter assoziiert, nur innerhalb der Subgruppe der Nichtraucher auch mit niedrigen T-Konzentrationen ($p = 0,02$). Symptomatiken des Urogenitaltrakts waren assoziiert mit einer Interaktion von Prostatagröße ($p < 0,001$), fortgeschrittenem Alter ($p = 0,04$) und höheren T-Spiegeln ($p = 0,03$).

Schlussfolgerungen: Psychosomatische Beschwerdebilder und metabolische Risikofaktoren werden bei älteren Männern durch T beeinflusst. Ein Altershypogonadismus bestätigt sich nur in der Hälfte der Verdachtsfälle, jedoch existieren symptomspezifische Grenzwerte für T.

P 28

ALTERSABHÄNGIGER ANSTIEG DER PMN-ELASTASE IM SEMINALPLASMA BEI MÄNNERN MIT ASYMPTOMATISCHEN ENTZÜNDUNGSREAKTIONEN DES GENITALTRAKTES

H.-C. Schuppe¹, G. Maaß¹, A. Jung¹,
G. Haid², W.-B. Schill¹, R. Henke^{3, 4}
¹Zentrum für Dermatologie und Andrologie, Justus-Liebig-Universität, Gießen,
²Klinik und Poliklinik für Dermatologie, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität, Bonn, ³Klinik für Urologie, Friedrich-Schiller-Universität, Jena,
⁴Department of Medical Biosciences, University of the Western Cape, Bellville, Südafrika

Einleitung: Ein wichtiger Parameter in der andrologischen Entzündungsdi-

agnostik ist neben der Leukozytenkonzentration die Bestimmung der von polymorphkernigen Granulozyten stammenden Elastase (PMN-Elastase) im Ejakulat. Der Alterungsprozeß beim Mann ist nicht nur durch abnehmende Testosteronkonzentrationen, sondern auch durch Einschränkungen der Fertilität charakterisiert, die mit Samenwegsinfektionen in Zusammenhang gebracht wurden. Ziel dieser Untersuchung war es deshalb, die Altersabhängigkeit entzündlicher Prozesse im männlichen Genitaltrakt näher zu untersuchen.

Methoden: Bei insgesamt 4121 Patienten wurden Ejakulatvolumen, pH-Wert, Spermienkonzentration und -motilität, Konzentration der PMN-Elastase im Ejakulat, die Leukozytenzahl und der Fruktosegehalt bestimmt. Diese Parameter wurden miteinander sowie mit dem Alter der Patienten korreliert. Zur Untersuchung der Altersabhängigkeit der Parameter wurden die Patienten in 3 Gruppen (≤ 30 Jahre: 1; 31–45 Jahre: 2; > 45 Jahre: 3) eingeteilt.

Resultate: Während Ejakulatvolumen, Motilität und Fruktose negativ mit dem Alter der Patienten korreliert waren, zeigten sich positive Korrelationen für die Spermienkonzentration, PMN-Elastase und den pH-Wert. Grundsätzlich zeigte sich bei älteren Patienten eine signifikant höhere Prävalenz asymptomatischer Entzündungsreaktionen im Genitaltrakt (PMN-Elastase $> 250 \text{ ng/ml}$) sowie ein höherer Schweregrad. Allerdings korrelierte die PMN-Elastasekonzentration nicht mit der Motilität der Spermatozoen. Für die Fruktose als Marker der Bläschendrüsensfunktion waren signifikant negative Zusammenhänge mit der PMN-Elastasekonzentration, der Leukozytenkonzentration und der Motilität zu verzeichnen.

Schlussfolgerungen: Der altersabhängige Anstieg der PMN-Elastasekonzentration im Ejakulat als zuverlässiger Marker für Entzündungsreaktionen im männlichen Genitaltrakt weist auf mögliche altersabhängige Veränderungen der lokalen Immunregulation im Sinne der Immunoseneszenz hin. Da kein Zusammenhang zwischen der PMN-Elastase und der Spermienmotilität nachzuweisen war, ist ein direkter Effekt des Enzyms auf die Motilität unwahrscheinlich. Als Ursache für die abnehmende Spermienmotilität bei älteren Männern dürfte daher eher



ABSTRACTS

eine testosteronabhängige Dysfunktion des Nebenhodens anzusehen sein.

P 29

MOLEKULARE URSACHEN FÜR DIE ABNEHMENDE SPERMIIENMOTILITÄT BEI ÄLTEREN MÄNNERN

R. Henkel^{1,2}, H.-C. Schuppe³, G. Maaß³, A. Jung³, W.-B. Schill³
¹Klinik für Urologie, Friedrich-Schiller-Universität, Jena, ²Department of Medical Biosciences, University of the Western Cape, Bellville, Südafrika, ³Zentrum für Dermatologie und Andrologie, Justus-Liebig-Universität, Gießen

Einleitung: Im Gegensatz zur Menopause der Frau zeigen die männlichen reproduktiven Funktionen keine abrupten, altersabhängigen Veränderungen. Beim Mann ist stattdessen ein langsamer kontinuierlicher Abfall der Serumkonzentration des biologisch aktiven freien Testosterons sowie der Spermienmotilität festzustellen. Es war daher das Ziel dieser Studie, mögliche molekulare Ursachen für die abnehmende Motilität der männlichen Keimzellen bei alternden Männern zu untersuchen.

Methoden: Bei mehr als 3900 Patienten wurden Ejakulatvolumen, Spermienkonzentration, -motilität und -morphologie, der Anteil abnorm gefärbter Flagellen sowie die Konzentrationen von Testosteron, FSH und LH bestimmt. In einem zweiten Kollektiv wurde bei 90 Ejakulaten Spermienkonzentration, Motilität, verschiedene Geschwindigkeitsparameter, normale Morphologie sowie der Anteil abnorm gefärbter Flagellen untersucht. Darüber hinaus wurde bei diesen Patienten die Zinkkonzentration im Flagellum ermittelt.

Resultate: Das Alter war signifikant negativ mit dem Ejakulatvolumen, der Motilität, Morphologie sowie mit verschiedenen Geschwindigkeitsparametern und der Testosteronkonzentration im Serum korreliert. Die Spermienkonzentration, der Anteil abnorm gefärbter Flagellen, die Zinkkonzentration im Flagellum und der FSH-Spiegel im Serum zeigten einen positiven Zusammenhang. Signifikant negative Korrelationen wurden zwischen dem Anteil abnorm gefärbter Flagellen und der

Motilität ($p < 0,0001$) gefunden. Testosteron war ebenso positiv mit der Motilität ($p = 0,0123$) und der Spermienkonzentration ($p = 0,0033$) korreliert wie der Anteil abnorm gefärbter Flagellen mit der Zinkkonzentration. Im Gegensatz dazu zeigten der Anteil abnorm gefärbter Flagellen mit der Motilität ($p < 0,0004$) und den Geschwindigkeitsparametern ($p < 0,005$) negative Zusammenhänge.

Schlußfolgerungen: Weil die Zinkkonzentration im Flagellum positiv mit dem Alter, jedoch negativ mit der Motilität korreliert ist, ist dies ein deutlicher Hinweis auf die Reifung der Spermien im Nebenhoden sowie die Funktion der Mantelfasern. Während der Spermiogenese wird Zink aktiv in die Mantelfasern inkorporiert, um in der anschließenden Nebenhodenreifung wieder eliminiert zu werden. Da die Nebenhodenfunktion obligat testosteronabhängig ist, dürfte die Eliminierung des Elements Zink aus den Flagellen ebenfalls testosteronabhängig sein. Somit würde die abnehmende Motilität im Alter auf eine zunehmende Dysfunktion des Nebenhodens und entsprechend gestörte Reifung der Spermien zurückzuführen sein.

P 30

ENDOGENES PROGESTERON UND EIN EXOGENES GESTAGEN (NORETHISTERONENANTHAT) RUFEN EIN PROINFLAMMATORISCHES PROFIL BEI MÄNNERN HERVOR

M. Zitzmann¹, M. Erren², A. Kamischke¹, M. Simoni¹, E. Nieschlag¹
¹Institut für Reproduktionsmedizin, ²Institut für klinische Chemie und Leibniz-Institut für Atherosklерoseforschung, Universitätsklinikum Münster

Einleitung: Atherosklerose ist mit inflammatorischen Prozessen vergesellschaftet. Die Identifikation von Inflammationstriggern könnte neue Therapieoptionen eröffnen.

Methoden: Wir untersuchten die Effekte gestagener Aktivität bei Männern mittels zweier unabhängiger Ansätze. 1. Die Relation endogener Progesteronspiegel zu Inflammationsmarkern wurde bei 67 gesunden, nichtrauchenden Kaukasern im Alter von 20–50 Jahren in einer

Querschnittsstudie untersucht. 2. In einer longitudinalen, kontrollierten Studie (52 Wochen Dauer) bei 2×14 gesunden Männern untersuchten wir den Effekt des exogenen Gestagens Norethisteronenanthat 200 mg i. m. (4 Injektionen) in Kombination mit einem Testosterondepotpräparat (Testosteronundecanoat 1000 mg i. m., 4 Injektionen). Die Gabe des Androgens ist nötig, um einen gestageninduzierten Hypogonadismus zu vermeiden. Die Kontrollen erhielten Testosteron plus Placebo.

Resultate: In der Querschnittsstudie waren die Serum-Progesteronspiegel assoziiert mit Konzentrationen von Interleukin 6 (IL-6, $r = 0,41$; $p < 0,001$), C-reaktivem Protein ($r = 0,37$; $p = 0,007$), sVCAM-1 ($r = 0,28$; $p = 0,02$), e-Selectin ($r = 0,45$; $p < 0,001$), Leptin ($r = 0,42$; $p < 0,001$), neutrophilen Granulozyten ($r = 0,62$; $p < 0,001$) und den Serumproteinfraktionen alpha-1 ($r = 0,44$; $p < 0,001$) und alpha-2 ($r = 0,36$; $p = 0,002$). Spiegel von 17-Hydroxyprogesteron, das praktisch nicht an den Progesteronrezeptor bindet, zeigten keine unabhängige Beziehung zu Inflammationsmarkern. In der pharmakologischen Interventionsstudie zeigte sich in der Testosteron/Gestagen-Gruppe ein deutlicher Anstieg von IL-6-Spiegeln ($p < 0,001$), in der Testosteron/Placebo-Gruppe fielen die IL-6-Konzentrationen ab ($p = 0,03$). Spiegel des antiinflammatorischen Markers IL-10 sanken in der Gestagen-Verum-Gruppe ($p = 0,01$).

Schlußfolgerungen: Gestagene, ob endogen oder exogen, rufen ein proinflammatorisches Profil bei gesunden Männern hervor. Dies muß bei der Entwicklung einer hormonellen Kontrazeption für den Mann beachtet werden. Es kann spekuliert werden, daß eine exogene Testosteronzufuhr auch bei eugonadalen Männern durch eine Hemmung der testikulären Progesteronproduktion das Inflammationsprofil günstig beeinflusst.

**P 31****SITUATIVER STRESS UND SPERMATOZOEN-PARAMETER**

A. Kunstmann, E. Schlüter, U. A. Knuth, K. Christiansen
Abteilung für Humanbiologie, Universität Hamburg

Einleitung: Unerfüllter Kinderwunsch und die Infertilitätsbehandlung selbst sind mit vielfältigen Belastungen für das betroffene Paar verbunden. Die vorliegende Studie befaßte sich damit, wie Männer die Situation der ersten Samenabgabe in einer Fertilitätsklinik erleben und mit welchen Ängsten sie konfrontiert sind. Außerdem sollte untersucht werden, ob sich Zusammenhänge zwischen diesem situativen Streß und seminalen Parametern finden lassen.

Methoden: Die Erhebung der Spermatozoenparameter erfolgte im Rahmen der klinischen Routineuntersuchung von Paaren, die das erste Mal eine Fertilitätsklinik konsultierten. Die Streßbelastung während der Samenabgabe wurde mittels eines eigens entwickelten Fragebogens erhoben, der retrospektiv anhand vorgegebener Aussagen sowohl Emotionen als auch spezielle Ängste der betroffenen Männer erfaßte. Die Analyse beruht auf den Daten von 137 Männern.

Resultate: Die Männer nutzten zur Beschreibung ihrer Gefühlslage vor der Samenabgabe weitaus häufiger Emotionen des Wohlbefindens als solche Gefühle, die eine belastende Situation kennzeichnen. Am meisten Angst äußerten die Männer davor, die eigene Unfruchtbarkeit diagnostiziert zu bekommen und zu wenig Spermatozoen zu ejakulieren.

Die Intensität der Streßemotionen korrelierte negativ mit der Spermatozoenkonzentration ($\rho = -0,184$; $p = 0,031$) und positiv mit dem Auftreten von Kopfdefekten ($\rho = 0,188$; $p = 0,028$). Weitere signifikante Zusammenhänge ergaben sich zwischen seminalen Parametern und speziellen Ängsten, mit denen die Männer der Situation begegneten.

Schlußfolgerungen: Dem Selbstbericht der Männer zufolge wird die Situation der ersten Samenabgabe offensichtlich

als nicht besonders belastend empfunden. Allerdings kann über Abweichungen zwischen der tatsächlichen und der hier retrospektiv erfaßten Gefühlslage spekuliert werden.

Die Korrelationen zwischen Variablen des psychischen Erlebens und den Spermatozoenparametern lassen auf einen negativen Zusammenhang von situativer Streßbelastung durch die Samenabgabe und Spermaqualität schließen. Diese Beziehung wird in ihrer Kausalität und ihren Konsequenzen diskutiert.

Reproduktionsbiologie und -medizin**P 32****SUBOPTIMALE BERATUNG ZUR SCHWANGERSCHAFTSVORSORGE VOR EINER ICSI-THERAPIE IN DEUTSCHLAND – DATEN AUS EINER PROSPEKTIVEN, KONTROLLIERTEN BUNDESWEITEN KOHORTENSTUDIE**

A. K. Ludwig¹, A. Katalinic², V. Steinbicker³, K. Diedrich¹, M. Ludwig⁴
¹Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe, ²Institut für Sozialmedizin und Krebs Epidemiologie, Universität Lübeck, ³Fehlbildungsregister Sachsen-Anhalt, Medizinische Fakultät der Universität Magdeburg, ⁴Endokrinologikum Hamburg, Zentrum für Hormon- und Stoffwechselerkrankungen, Reproduktionsmedizin und gynäkologische Endokrinologie, Hamburg

Einleitung: Bisher existieren wenig valide Daten bezüglich der Schwangerschaftsvorsorge von ICSI-Schwangerschaften. Da diese Schwangerschaften nicht nur geplant sind, sondern mit nicht unerheblichem Aufwand erzielt werden, sollten diese Schwangerschaften bezüglich der perikonzeptionellen Folsäure-Supplementation, der Einnahme von Folsäure und Jod in der Schwangerschaft und eines maternalen Nikotin- und Alkoholverzichts ideal vorbereitet sein. Während der Schwangerschaft könnte die Angst der Sterilitätspatientinnen und häufig auch ihrer Ärzte zu einer unverhältnismäßig intensiven Schwangerschaftsvorsorge führen.

Methodik: Um die Schwangerschaftsvorsorge von Sterilitätspatientinnen mit einer Einlingsschwangerschaft nach ICSI im Vergleich zu Frauen mit spontan konzipierten Einlingsschwangerschaften untersuchen zu können, wurden die Daten einer prospektiven kontrollierten Multicenter-Studie aus Deutschland ausgewertet. Die Daten der ICSI-Kohorte wurden prospektiv erfaßt. Die prospektiv erfaßten Daten der Kontrollgruppe wurden für diese Analyse retrospektiv ausgewertet.

Resultate: Die ICSI-Patientinnen ($n = 2055$) waren signifikant älter (32,9 vs. 27,0 Jahre; $p < 0,019$) und häufiger adipös (Body-Mass-Index $\geq 30 \text{ kg/m}^2$: 13,9 % vs. 4,8 %; $p < 0,001$) als die Schwangeren nach Spontankonzeption ($n = 7861$). Die Kontrollen konsumierten signifikant häufiger Nikotin (19,2 %) oder Alkohol (23,5 %) während der Schwangerschaft als die ICSI-Schwangeren (7,4 % und 0,6 %), allerdings nahmen nur 38,1 % der ICSI-Patientinnen perikonzeptionell Folsäure. Mehr ICSI-Patientinnen ließen eine regelmäßige Vorsorge (100 % vs. 94,4 %; $p = 0,005$) und regelmäßige Ultraschalluntersuchungen (99,6 % vs. 95,0 %; $p = 0,036$) durchführen als die Kontrollen. Die Anzahl der pränatal durchgeführten Ultraschalluntersuchungen war in der ICSI-Gruppe signifikant höher als in der Kontrollgruppe ($13,6 \pm 6,0$ vs. $4,1 \pm 2,4$). 34,1 % der ICSI-Patientinnen wurden während der Schwangerschaft für durchschnittlich 15,3 Tage ($\pm 19,7$) hospitalisiert. Während der Schwangerschaft nahmen nur 61,7 % der ICSI-Schwangeren Jodid und 75,4 % Folsäure, hingegen nahmen 76,3 % Magnesium und 30,1 % Vitamine.

Schlußfolgerungen: Die ICSI-Patientinnen nutzen die technischen und ärztlichen Möglichkeiten der Schwangerschaftsvorsorge sehr intensiv. Ebenso ist die Bereitschaft zum Nikotin- und Alkoholverzicht in der Schwangerschaft bei diesen Patientinnen groß. Einfache Möglichkeiten wie die Supplementation mit Jod und Folsäure wurden allerdings nur wenig und vollkommen insuffizient genutzt. Die Beratung der Kinderwunschpatientinnen über perikonzeptionelle Folsäuresupplementation und die Supplementation von Folsäure und Jod in der Schwangerschaft scheint in Deutschland suboptimal zu sein, muß jedoch unbedingt essentieller Bestandteil der Beratung dieser Patientinnen sein.

**P 33****PSYCHOSOZIALE MERKMALE VON FRAUEN UND MÄNNERN IN PSYCHOLOGISCHER KINDERWUNSCHBERATUNG**

T. Wischmann¹, H. Stammer¹, H. Scherg¹, Th. Strowitzki², R. Verres¹

¹Zentrum für Psychosoziale Medizin, Institut für Medizinische Psychologie, ²Abteilung für Gynäkologische Endokrinologie und Fertilitätsstörungen, Universitätsfrauenklinik Heidelberg

Einleitung: 5–20 % ungewollt kinderloser Paare benötigen psychologische Beratung. Diese Studie beschreibt die Charakteristika von Frauen und Männern in psychologischer Kinderwunschberatung.

Methoden: 974 Frauen und 906 Männer der „Heidelberger Kinderwunschsprechstunde“ füllten Fragebögen zu soziodemographischen Daten, zur Kinderwunschmotivation (FKW), zur subjektiven Ursachenzuschreibung (SUTUK), zur Lebenszufriedenheit (FLZ) und eine Symptomcheckliste (SCL 90-R) aus. 314 Frauen und 296 Männer dieser Stichprobe nahmen die psychologische Kinderwunschberatung bzw. -Therapie wahr. Verglichen wurden die Antworten der zwei Gruppen „ohne Beratung“ und „mit Beratung/Therapie“. Die statistische Analyse umfaßte T-Tests, Berechnung von Effektstärken (ES) und eine schrittweise Diskriminanzanalyse.

Resultate: Die Frauen unserer Interventionsstudie litten im Durchschnitt stark unter erhöhter Depressivität (ES = 0,49) und unter dem unerfüllten Kinderwunsch, während ihre Partner sich etwas unzufriedener mit der Sexualität und der Partnerschaft zeigten. Beide Partner konnten sich eine mögliche psychosoziale Verursachung ihrer Fertilitätsstörung vorstellen: Frauen sahen diese eher in subjektiver Überforderung, wohingegen ihre Partner sie eher in Partnerschaftsproblemen und sexuellen Schwierigkeiten vermuteten (alle ES klein). Die Diskriminanzanalyse der Paardatensätze über die zwei Gruppen ergab, daß vorwiegend die Merkmale der Frauen, die auf ihre im Schnitt deutliche emotionale Belastung und die subjektive Überforderung als mögliche Verursachung hinweisen, maßgeblich

waren für die Inanspruchnahme von Beratung bzw. Psychotherapie.

Schlußfolgerungen: Paare mit unerfülltem Kinderwunsch, die eine psychologische Kinderwunschberatung aufsuchen, weisen ein hohes Niveau von psychologischem Streß auf, der insbesondere die Frauen betrifft. Die psychologischen Merkmale der Frau sind für die Inanspruchnahme von psychosozialer Hilfe weitaus bedeutsamer als die des Mannes.

P 34**EINSTELLUNGEN ZU EIZELLSPENDE, LEIH-MUTTERSCHAFT UND REPRODUKTIVEM KLO-NEN – ERGEBNISSE EINER BEFRAGUNG UNTER ÄRZTINNEN UND ÄRZTEN**

S. Wisch¹, L. Dye², Y. Stöbel-Richter³, A. Borkenhagen⁴, B. Strauß¹

¹Institut für Medizinische Psychologie, Universitätsklinikum Jena, ²Institute of Psychological Science, University of Leeds, UK, ³Selbst. Abteilung für Medizinische Psychologie und Medizinische Soziologie, Universitätsklinikum Leipzig, ⁴Fertility Center, DRK-Klinik Westend, Berlin

Einleitung: Es sollen die Ergebnisse einer Befragung dargestellt werden, die im Rahmen eines Projektes zum Thema „Einstellungen und Wissen in der Reproduktionsmedizin“ entstanden sind. Im Mittelpunkt stand die Frage, welchen Einfluß Betroffenheit und Wissen auf die Einstellungen zu Verfahren der Reproduktionsmedizin haben. Befragungen unter Reproduktionsmedizinern weisen bei dieser Berufsgruppe auf besonders liberale Haltungen hin, was mit dem hohen Wissensstand, aber auch mit stärkerer Involviertheit erklärt werden könnte. Hier wurden Mediziner befragt, die nicht im Bereich der Reproduktionsmedizin arbeiten, da auch hier von einem erhöhten Wissensstand ausgegangen werden kann, aber nicht von einer „arbeitsmäßigen“ Betroffenheit.

Methoden: Mediziner (n = 172; 58 % ♂; 42 % ♀) aus allen klinischen Bereichen eines Universitätsklinikums wurden schriftlich befragt. Erfaßt wurden – neben einigen Wissensaspekten (Erfolgsrate

IVF) – die persönliche Haltung und die Einstellung zur Legalisierung der Verfahren. Zum Vergleich wurde eine repräsentative Bevölkerungstichprobe (n = 685; 37 % ♂; 63 % ♀) herangezogen.

Resultate: Die Ergebnisse zeigen, daß die Mediziner – obwohl deutlich besser informiert – in vielen Bereichen konservativer entschieden als die Allgemeinbevölkerung. Das gilt v. a. für Ärztinnen. So würden nur 6 % der Ärztinnen und 17 % der Ärzte das Verfahren der Eizellspende nutzen, um ein eigenes Kind zu bekommen. Im Vergleich dazu bejahten die Befragten der Repräsentativerhebung diese Frage zu 30 % (♂) bzw. 20 % (♀). Ähnliche Diskrepanzen ergaben sich auch für die Aussagen zur Leihmutter-schaft als auch für die Aussagen, die die gesetzliche Regelung der Verfahren betreffen (50 %/33 % der ÄrztInnen sind für eine Legalisierung der Eizellspende/Leihmutter-schaft gegenüber 60 %/43 % der Allgemeinbevölkerung). Dieser Tendenz stehen die Ergebnisse zum reproduktiven Klonen entgegen. Hier sind 32 % der männlichen Ärzte für eine Legalisierung aber nur 21 % der männlichen Normalbevölkerung (13 % ♀). Ärztinnen sind analog zu den vorangegangenen Ergebnissen gegen eine Aufhebung des Klonverbots (89 %).

Schlußfolgerungen: Die Ergebnisse legen die Vermutung nahe, daß Betroffenheit und Wissen allein nicht ausreichen, um Einstellungen zu öffentlichen Themen zu erklären.

P 35**SEMINALPLASMA (SP) – IMMUNMODULATORISCHES POTENTIAL BEI FERTILEN UND INFERTILEN MÄNNERN**

O. Nowak, T. Strowitzki, M. von Wolff
Abteilung für Gynäkologische Endokrinologie und Fertilitätsstörungen, Universitätsfrauenklinik Heidelberg

Einleitung: SP führt im Mausmodell und in humanen endometrialen Epithelzellen *in vitro* zu einer Expressionszunahme endometrialer Implantationsfaktoren. Die sich daraus ableitende Hypothese, daß ein endometrialer Kontakt von SP zum Zeitpunkt der Ovulation die Implantationsrate bei assistierten Reproduktionstechniken erhöht, wird derzeit



in einer prospektiv randomisierten placebokontrollierten Doppelblindstudie überprüft. In diesem Zusammenhang war zu klären, ob das immunmodulatorische Potential von SP mit der Spermienqualität korreliert.

Methoden: SP von 34 freiwilligen Probanden mit einem normalen Spermogramm (≥ 50 Mio/ml und Progressivmotilität $\geq 25\%$) und von 27 Männern aus der Kinderwunsch-Sprechstunde mit einer ausgeprägten Oligozoospermie (Spermienzahl ≤ 10 Mio/ml) oder einer Asthenozoospermie (Progressivmotilität $\leq 20\%$) wurde mittels ELISA und einem eigens etablierten und validierten Bioassay untersucht. Per ELISA erfolgte eine Bestimmung der Konzentrationen von IL-6, IL-8, VEGF, TNF- α , IL1- β , TGF- β 1 und G-CSF. In den Bioassays, bestehend aus mononukleären Blutzellen, wurde nach deren Inkubation mit Seminalplasma die mononukleäre Sekretion von IL-6, IL-8 und TNF- α im ELISA bestimmt.

Resultate: Im Seminalplasma wurde IL-6, IL-8, VEGF, TNF- α , IL1- β , TGF- β 1 und G-CSF detektiert. Insbesondere die Konzentrationen von IL-8 und VEGF waren im Vergleich zum Serum deutlich erhöht (10^2 fach: IL-8; 10^3 fach: VEGF). Im Bioassay konnte eine zunehmende Stimulation der Freisetzung von IL-6 und IL-8 aus mononukleären Zellen durch die Inkubation mit steigenden SP-Konzentrationen ermittelt werden. Die Konzentrationen aller quantifizierten Zytokine war sowohl im Seminalplasma als auch im Bioassay bei Patienten mit einer Normozoospermie im Vergleich zu jenen mit einem pathologischen Spermogramm statistisch nicht unterschiedlich.

Schlußfolgerungen: Die Ergebnisse zeigen bei Patienten mit einer Normozoospermie und einem pathologischen Spermogramm ein ähnliches immunmodulatorisches Potential. Somit ist auch bei Patienten mit einem pathologischen Spermogramm von einem potentiell stimulierenden Effekt auf das Endometrium auszugehen.

P 36

DIE CHANCEN VON PATIENTEN MIT AZOOSPERMIE AUF VATERSCHAFT MITTELS ICSI AUS KRYOKONSERVIERTEN HODENBIOPSATEN

M. Zitzmann¹, V. Nordhoff¹, V. von Schönfeld¹, A. Nordsiek-Mengede¹, S. Kliesch², A. Schüring³, C. M. Luetjens¹, A. Kamischke¹, E. Nieschlag¹

¹Institut für Reproduktionsmedizin, ²Klinik und Poliklinik für Urologie, ³Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Universitätsklinikum Münster

Einleitung: Männer mit Azoospermie können eine Vaterschaft mittels testikulärer Spermienextraktion (TESE), gefolgt von intrazytoplasmatischer Spermieninjektion (ICSI) erzielen. Die individuellen Chancen auf ein lebendgeborenes Kind sind jedoch unklar.

Methoden: Bei 203 Männern wurden Hodenbiopsate gewonnen und 209 ICSI-Zyklen bei den 112 Patienten mit elongierten Spermatozoen durchgeführt. Mögliche Einflußfaktoren für die Chancen, elongierte Spermatozoen zu finden, eine Fertilisation zu erreichen und eine klinische Schwangerschaft/Lebendgeburt zu erzielen, wurden analysiert. Dabei wurde bewußt auf die klinisch-pathologisch ungenaue Unterscheidung zwischen „obstruktiver“ und „nicht-obstruktiver“ Azoospermie verzichtet, sondern es wurden kontinuierliche klinische und histologische Parameter für die Auswertung herangezogen.

Resultate: Hodenvolumen, FSH und Inhibin-B-Spiegel waren sehr gute Prädiktoren (alle $p < 0,001$) für das Auffinden von elongierten Spermatozoen. ICSI resultierte bei diesen 112 Patienten in 23 Schwangerschaften, die in 20 Lebendgeburten von 26 Kindern mündeten (6 Zwillingspaare). Keine Schwangerschaft resultierte bei präbiopsischen FSH-Spiegeln ≥ 20 IU/l (100 % Spezifität, Receiver Operating Characteristics, $p = 0,008$ und $p = 0,01$), obwohl elongierte Spermatozoen in diesen Fällen durchaus vorhanden waren (13/63 Männern) und ICSI 21mal durchgeführt wurde. Rauchen von seiten des Mannes beeinflusste den Behandlungserfolg negativ ($p = 0,02$). Die relative Anzahl von Hodentubuli mit elongierten Spermatozoen war signifikant mit Schwangerschaften und Geburten assoziiert

($p = 0,02$ und $p = 0,04$). Spermienkonzentration und -motilität im Frischbiopsat beeinflussten nicht den Behandlungserfolg, sondern lediglich die Fertilisierungsrate ($p = 0,009$; $p = 0,003$).

Schlußfolgerungen: Das Ausmaß einer intakten Spermatogenese reflektiert die Fähigkeiten von elongierten Spermatozoen aus kryokonserviertem Hodengewebe, mittels ICSI-Eizellen zu befruchten und eine intakte Schwangerschaft zu induzieren. Die Daten weisen darauf hin, daß ein FSH-Spiegel ≥ 20 IU/l als nichtinvasiver Parameter geeignet ist, bereits vor der Hodenbiopsie dem Paar eine zurückhaltende Prognose mitzuteilen und somit unnötige Risiken und Kosten zu vermeiden.

P 37

OVARIELLE FUNKTION ENTSCHEIDEND FÜR SCHWANGERSCHAFTSERFOLG BEI ICSI-KRYO-TESE-BEHANDLUNG

N. Klement¹, B. Seifert¹, D. Seifert¹, M. Straub², A. Steiner², W. Wieland², M. Bals-Pratsch¹

¹Zentrum für Gynäkologische Endokrinologie, Reproduktionsmedizin und Humangenetik, Regensburg, ²Klinik und Poliklinik für Urologie der Universität Regensburg am Caritas-Krankenhaus St. Josef, Regensburg

Einleitung: Mit der Methode der testikulären Spermienextraktion (TESE) nach operativer Gewinnung von Hodengewebe können die meisten Männer mit non-obstruktiver oder obstruktiver Azoospermie (AS) heutzutage Kinder bekommen. Die eigentliche Kinderwunsch-Behandlung mit der *In-vitro*-Fertilisation (IVF) und intrazytoplasmatischen Spermieninjektion (ICSI) von testikulären Spermatozoen/Spermatozoen ist eine Behandlung der Partnerin. Die Untersuchung wurde durchgeführt, um klinische, labormedizinische und biologische Prognosekriterien bei Mann und Frau für den Schwangerschafts- (SS) Erfolg als Grundlage für die Beratung von Paaren mit „AS“-Männern zu finden.

Methoden: Die von 6/1996–8/2004 durchgeführten Hodenbiopsien (HB) wurden ausgewertet. Es wurden 130 Männer mit einer AS nach klinisch-andrologischer, endokriner und gene-



ABSTRACTS

tischer Voruntersuchung biopsiert. In 65,4 % d. F. konnten im HB mindestens elongierte Spermatozoen (SpT) nachgewiesen werden, sodaß eine ICSI-Kryo-TESE- (IKT-) Behandlung durchgeführt werden konnte. Bei 85 Paaren erfolgten von 8/1997–10/2004 260 IKT-Zyklen. Die Partnerinnen waren 32,2 Jahre alt (Median; 19,9–42,3), die Männer 33,5 Jahre alt (Median; 25,1–56,8). Die Methoden bei der Vorbereitung und Durchführung der operativen Spermienentnahme mit Kryokonservierung der Biopsate und der Abläufe im IVF-Labor waren 10/2002 optimiert, sodaß die Daten ab diesem Zeitpunkt bis 10/2004 getrennt ausgewertet wurden.

Resultate: Die klinische Schwangerschaftsrate (SSR) lag bei 20,2 % pro Punkt. Paarbezogen betrug die SSR 45,9 % und die Geburtenrate 34,1 %. Ab 10/2002 konnte die SSR auf 43,8 % pro Punkt gesteigert werden. Die SSR betrug paarbezogen 59,5 % und die Geburtenrate 47,6 %. Die Mehrlingsrate lag bei 22,6 % (3,2 % für Drillinge [n = 1]; 19,4 % für Zwillinge). Weder die klinisch-andrologischen noch die endokrinen, genetischen oder pathomorphologischen Befunde bei den Männern waren entscheidend für den SS-Erfolg, sondern die Zahl der reifen und injizierten Eizellen (EZ) ($p < 0,0001$) sowie die Zahl der gewonnenen EZ ($p = 0,0067$) und der Vorkernstadien ($p = 0,003$).

Schlußfolgerungen: Der entscheidende Prognosefaktor für den SS-Erfolg einer IKT-Behandlung ist die intakte Ovarfunktion. Diese ist vor allem vom Alter der Frau abhängig. Können zumindest elongierte SpT im Hodenbiopsat nachgewiesen werden und kommt es zu einer Fertilisierung der EZ nach ICSI, scheinen die zusätzlichen klinischen, endokrinen und genetischen Faktoren beim Mann nur einen geringen Vorhersagewert zu haben.

P 38

BEEINFLUSSEN ALTER, STÄRKE UND DAUER DES KINDERWUNSCHES DIE EINSTELLUNGEN VON KINDERWUNSCHPAAREN ZU PRÄIMPLANTATIONS-DIAGNOSTIK UND ANEUPLOIDIE-SCREENING?

A. Borkenhagen, A. Tandler-Schneider, H. Kentenich
Fertility Center, DRK-Klinik Westend, Berlin

Einleitung: In Deutschland gibt es eine kontroverse Diskussion um die Präimplantationsdiagnostik (PID). Bisher liegen nur vereinzelt Studien zur Einstellung der PID an potentiellen Nutzergruppen vor. Im Sinne einer kontextsensitiven Ethik wurden die Einstellungen von 265 Kinderwunschpaaren zur PID erhoben: Einsatz der PID bei krankheitsbezogenen vs. sozial erwünschten Merkmalen, prospektive Inanspruchnahme, Nutzergruppen und Anwendungsfelder der PID, ethische Bewertung und Folge-Nutzen-Einschätzung. Der Einfluß von Alter, Kinderwunschstärke bzw. -dauer wurde geprüft.

Methoden: Informationsgestützte Fragebogenuntersuchung an 265 Kinderwunschpaaren. Auswertung mittels deskriptiver Statistik und ANOVA.

Resultate: Die Mehrzahl der Kinderwunschpaare spricht sich für eine krankheitsbezogene Zulassung der PID aus und würde eine krankheitsbezogene Inanspruchnahme der PID erwägen, wobei die Zustimmungsraten entsprechend des Schweregrades der vorgegebenen Krankheitsbilder variiert. Alter und Kinderwunschstärke bzw. -dauer haben keinen signifikanten Einfluß auf die Einstellung zur krankheitsbezogenen Zulassung oder Inanspruchnahme der PID. Die Zulassung wie auch die prospektive Inanspruchnahme der PID bei sozial erwünschten Merkmalen wird von der Mehrzahl der Kinderwunschpaare abgelehnt. Eine Zustimmung und prospektive Inanspruchnahme bei sozial erwünschten Merkmalen ist von Alter und Stärke des Kinderwunsches abhängig.

62 % sprechen sich für eine Zulassung der PID zum Aneuploidiescreening aus, wobei das Alter der Befragten einen

signifikanten Einfluß auf die Einstellung zum Aneuploidiescreening hat.

64 % der Kinderwunschpaare bewerten den Nutzen der PID positiv, während 7 % den Nutzen der PID negativ bewerten. Alter, Kinderwunschstärke und -dauer beeinflussen die Folge-Nutzen-Einschätzung nicht. 60 % der Kinderwunschpaare halten die PID für ethisch unbedenklich, während 20 % sie als ethisch fragwürdig einschätzen, wobei sich ein signifikanter Einfluß der Kinderwunschdauer zeigt.

Schlußfolgerung: Die Ergebnisse unterstreichen die Notwendigkeit einer erneuten gesellschaftlichen Diskussion über die Zulassung der PID, in der die Einstellung von Kinderwunschpaaren im Sinne einer Betroffenenethik Gehör finden sollten.

P 39

SCHWANGERSCHAFTSERFOLGE MIT ANWENDUNG KRYOKONSERVIERTER, AUS EINER HODENBIOPSIE GEWONNENER SPERMIIEN

K. Rajczy¹, S. Mátyás¹, G. Papp², I. Balogh³, A. Bernard¹

¹Kaali-Institut, ²OGYK-Klinik für Urologie, Andrologie, ³Kryoinstitut, Budapest, Ungarn

Einleitung: Die Autoren berichten über ihre bei 75 IVF-Eingriffen gewonnenen Erfahrungen mit Benutzung kryokonservierter und aufgetauter Spermien, die aus einer Hodenbiopsie gewonnen wurden, für die ICSI.

Es konnten in 66 Fällen bewegliche, in 9 Fällen unbewegliche Spermien im aufgearbeiteten Biopsat gefunden werden.

Methode: In 32 von 66 Fällen konnte die Fertilisation mit Anwendung spontan beweglicher, in 34 Fällen erst nach Vorbehandlung mit Pentoxifyllin beweglich gewordener Spermien durchgeführt werden.

In 9 Fällen blieben die Spermien sogar nach Durchführung des hyposmotischen Swelling-Tests unbeweglich.

Resultate: Die mit beweglichen und unbeweglichen Spermien erzielte Fertilisa-



tionsrate ergab keinen signifikanten Unterschied (66,1 % vs. 52,3 %).

Schwangerschaften entstanden ausschließlich nur in solchen Behandlungszyklen, bei denen man bewegliche Spermien verwendet hatte. Die Schwangerschaftsrate pro Embryotransfer betrug 21,87 %; vergleichbar mit früheren, bei Anwendung von nicht kryokonservierten TESE-Spermien erzielten Ergebnissen (27,7 %).

Schlussfolgerungen: Die Schwangerschaftsrate wurde am ehesten durch die Qualität der transferierten Präembryonen beeinflusst.

P 40

PROGNOSTISCHE WERTIGKEIT VORAUSGEHENDER SCHWANGERSCHAFTEN AUF DEN AUSGANG EINER IVF/ICSI-THERAPIE – ERFAHRUNGEN AUS 175.000 ZYKLEN IN DEUTSCHLAND

M. Kupka
Universitätsfrauenklinik München

Einleitung: Ziel der Untersuchung ist 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 (KRYO) analysiert.

Methoden: Es wurden Daten von 103 deutschen IVF-Zentren im Zeitraum Januar 1998 bis Dezember 2000 ausgewertet. Insgesamt wurden 174.909 Behandlungszyklen analysiert. Angaben zu 102.119 vorausgehenden Schwangerschaften wurden dazu berücksichtigt.

Die Daten wurden anonymisiert vom Deutschen IVF-Register zur Verfügung gestellt. Analysen ähnlicher Art sind bisher weltweit in diesem Umfang nicht durchgeführt worden.

In Ergänzung zur Cochran-Mantel-Haenszel-Statistik wurde ein multiples logistisches Regressionsmodell zur sta-

tistischen Auswertung eingesetzt. Untersucht wurden Kenngrößen wie Art der vorherigen Konzeption (mit oder ohne vorheriger reproduktionsmedizinischer Behandlung), Ausgang der Schwangerschaft, Dauer der Subfertilität, Alter der Frau und klinische Schwangerschaftsrate pro Punkt.

Resultate: Mehr als eine vorausgehende Schwangerschaft war zur Erfolgsrate einer IVF-Behandlung negativ korreliert. Bei Patientinnen unter 35 Jahren verschwand diese Korrelation wieder. Eine Schwangerschaft durch eine IVF-/ICSI-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. Interruptio. Bereits ab einem Alter von 35 Jahren war eine statistisch signifikante Zunahme der Abortwahrscheinlichkeit festzustellen.

Schlussfolgerungen: Für die Beratung von Paaren in der neuen Situation der Kostenerstattung gewinnen Aussagen zur prognostischen Wertigkeit in bezug auf Angaben zur reproduktiven Anamnese immer größere Bedeutung. Die präsentierte Datenanalyse stellt dabei eine Hilfestellung zur objektiven Einschätzung der Erfolgchancen dar und verbessert die individuelle Aussagefähigkeit zum positiven Behandlungsausgang.

P 41

EINE EFFEKTIVE METHODE DER *IN-VITRO*-KULTUR VON OVARIALGEWEBE NACH VITRIFIKATION

V. Isachenko, M. Montag, E. Isachenko, H. van der Ven
Abteilung für Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin/
Kryobank, Universitätsklinikum Bonn

Einleitung: Die Kryokonservierung von Eierstockgewebe zur Fertilitätsprophylaxe bei onkologischen Patientinnen ist ein noch relativ junges Feld. Bei den

wenigen, bisher erfolgreich durchgeführten Therapien wurde das Eierstockgewebe nach zum Teil mehrjähriger Lagerung wieder retransplantiert. Eine prognostische Aussage hinsichtlich des Potentials des Ovarialgewebes nach Transplantation kann zum Zeitpunkt der Kryokonservierung nur eingeschränkt getroffen werden. Ein gängiges Vorgehen ist es, nach erfolgter Kryokonservierung eine kleine Gewebeprobe aufzutauen und *in vitro* zu kultivieren. In der vorliegenden Studie haben wir verschiedene Kulturmethoden hinsichtlich der Vitalität und Rekrutierung von Follikeln in zuvor vitrifiziertem Gewebe untersucht.

Methoden: Nach laparoskopischer Entnahme von ovariellm Kortex wurde das Biopsat in Fragmente von 5 × 2 × 2 mm Kantenlänge geteilt, und anschließend vitrifiziert. Nach 1–2 Wochen wurden die eingefrorenen Proben wieder erwärmt und die Kryoprotektoren stufenweise entfernt. Danach wurden die Stücke 3 Versuchsgruppen zugeteilt und für 2 Wochen kultiviert. Gruppe 1 wurde in 2 ml Kulturmedium inkubiert, welches ständig erneuert wurde; Gruppe 2 wurde in 30 ml Kulturmedium ohne Mediumwechsel inkubiert; Gruppe 3 wurde ebenfalls in 30 ml Kulturmedium ohne Mediumwechsel, aber unter konstanter Bewegung inkubiert. Die Zahl und Vitalität der Follikel in dem Gewebe wurde mit einem Vitalfarbstoff und histologisch untersucht.

Resultate: Nach zwei Wochen der Kultur war die durchschnittliche Zahl der lebenden Follikel in Gruppe 1 (2 ml, Mediumwechsel) 1,5 Follikel/mm²; in Gruppe 2 (30 ml, kein Mediumwechsel) 1,7 Follikel/mm² und in Gruppe 3 (kein Mediumwechsel, Schüttelinkubation) 4,5 Follikel/mm² (P1, 2–3 < 0,05).

Schlussfolgerungen: Die *In-vitro*-Kultur von Ovargewebe nach Vitrifikation und Auftauen in einem gleichbleibendem Volumen und unter konstanter Bewegung resultiert in einer signifikant höheren Überlebens- und Wachstumsrate von Follikeln im Vergleich zu Standard-Kulturmethoden. Diese Methode erlaubt eine optimierte *In-vitro*-Kultur und ermöglicht damit auch die Etablierung weiterer wissenschaftlicher Untersuchungen zur Prognostik von Ovarialgewebe vor *In-vitro*-Maturation oder Autotransplantation.

**P 42****KLINISCHE ANWENDUNG DER KÜNSTLICHEN EIZELL-AKTIVIERUNG**

M. Montag, E. Isachenko, K. van der Ven, C. Dorn, H. van der Ven
Abteilung für Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin, Universitätsklinikum Bonn

Einleitung: Bei einigen wenigen Paaren werden in wiederholten ICSI-Versuchen geringgradige oder ausbleibende Befruchtungsraten konstatiert. Dies kann Ausdruck einer verminderten Befruchtungskompetenz der Eizelle bzw. des Spermiums sein. Spermatozoen besitzen einen eizellaktivierenden Spermienfaktor, der in der Eizelle Kalziumoszillationen initiiert. Funktionelle Störungen dieses Faktors könnten einen Einfluß auf die Befruchtungsrate haben. Um diese Hypothese zu testen, wurden Eizellen von Paaren mit niedriger Befruchtungsrate künstlich aktiviert.

Methoden: 17 Patienten zeigten in 21 ICSI-Zyklen eine geringgradige ($n = 10$) oder ausbleibende ($n = 11$) Befruchtung. Im folgenden Behandlungszyklus wurde die künstliche Eizellaktivierung angeboten. Dazu wurden die Eizellen nach ICSI für 15 Min. in $10\text{--}20\text{ }\mu\text{M}$ Kalziumionophor inkubiert, gewaschen und kultiviert. Die Rate an Eizellen mit 1 oder 2 Vorkernen (VK) wurde nach 16–18 h untersucht. Der Embryotransfer erfolgte am Tag 3. Bei 3 Patienten wurde ein patientenspezifischer Spermienextrakt in Mäuseeizellen injiziert und die Kalziumoszillationen wurden gemessen.

Resultate: Im Vergleich zu den Vorzyklen wurden in 20 Folgezyklen mit künstlicher Eizellaktivierung signifikant höhere Befruchtungsraten für Eizellen mit 2 VK (22,4 % vs. 13,1 %; $p < 0,005$) und 1 VK (16,8 % vs. 3,6 %; $p < 0,001$) erzielt. Die Zahl der Embryotransfers war signifikant höher (80 % vs. 50 %; $p = 0,004$). Nach Transfer resultierten 6 klinische Schwangerschaften. Bei 2 der 3 untersuchten Spermienextrakte fanden sich aberrante Kalziumoszillationen. Beide Paare wurden mit der künstlichen Aktivierung schwanger.

Schlußfolgerungen: In dieser Studie haben wir den Einsatz der künstlichen Eizellaktivierung bei Patienten mit uner-

klärter geringgradiger oder ausbleibender Befruchtung untersucht. Der Vorteil der künstlichen Befruchtung zeigte sich an Hand höherer Befruchtungs- und Transferraten sowie in bisher 6 fortlaufenden klinischen Schwangerschaften. Unsere Untersuchungen mit Kalziumimaging deuten darauf hin, daß bei einem Teil dieser Patienten die Befruchtungskaskade durch einen dysfunktionalen Spermienfaktor von Anbeginn an gestört scheint. In diesen Fällen ermöglicht die künstliche Eizellaktivierung eine effizientere Behandlung.

P 43**EMBRYONALENTWICKLUNG NACH SELEKTION VON EIZELLEN IM PRONUCLEUSSTADIUM**

U. Weißenborn, J. Neulen
Universitätsfrauenklinik für Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin, Universität Ulm

Einleitung: Da nach dem Deutschen Embryonenschutzgesetz nur eine Selektion von Eizellen im Pronucleus- (PN) Stadium durchgeführt werden darf, wird ein Scoring-System benötigt, das eine Identifikation von Zygoten mit hohem Implantationspotential ermöglicht. Wegen des auf das PN-Stadium limitierten Selektionszeitraumes ist es möglich, das Schicksal von nicht ideal entwickelten Embryonen zu beobachten, die unter anderen Bedingungen nicht für den Transfer ausgewählt worden wären.

In dieser Studie werden die Entwicklung der selektierten Zygoten, die Morphologie der resultierenden Embryonen und die Schwangerschaftsraten in bezug auf die Behandlungsmethode, die Stimulations-„Response“, die Fertilisationsraten und das Alter der Patientinnen analysiert.

Methoden: Diese retrospektive Studie erfaßt 724 Patientinnen mit jeweils einem Behandlungszyklus (IVF oder ICSI). Es wurden ausschließlich Embryonen der Klassen A + B oder C + D [Steer et al., 1992] am Tag 2 oder Tag 3 transferiert. Ovarielle Stimulation, Eizellgewinnung und Kultivierung von Eizellen und Embryonen erfolgten nach Standardprotokollen. Zur Bewertung der Eizellen im PN-Stadium wurde das Scoring-System von Scott und Smith (1998) angewen-

det. Ein positiver hCG-Test, bestimmt ab dem 11. Tag nach Transfer, wurde als positives Behandlungsergebnis gewertet. Für statistische Analysen wurden zweiseitige t-Tests, Fishers-Exakter-Test oder Regressionsanalysen durchgeführt.

Resultate: Die Qualität von Zygoten und Embryonen war unabhängig von der Art der Behandlung, der Zahl der gewonnenen Eizellen, der Fertilisationsrate und vom Durchschnittsalter der Patientinnen. Während nur eine Tendenz zu steigenden Schwangerschaftsraten mit zunehmendem PN-Score beobachtet wurde (13–34 %), nahmen die Schwangerschaftsraten mit steigendem Embryo-Score signifikant zu (18–43 %). Extrem schnell wachsende Embryonen mit einer geringen Fragmentierung führten jedoch nur selten zu Schwangerschaften (9 %). Ein direkter Zusammenhang zwischen der Qualität der Zygoten und den sich daraus entwickelnden Embryonen konnte nicht gefunden werden.

Das Eintreten einer Schwangerschaft wurde negativ vom Alter der Patientin beeinflusst; einen positiven Einfluß hatten PN-Score, Embryo-Score und die Selektion von Zygoten.

Schlußfolgerungen: Die alleinige morphologische Analyse stellt nur eine limitierte Möglichkeit zur Selektion entwicklungscompetenter Zygoten und Embryonen dar. Nach unseren Beobachtungen können schlecht entwickelte Embryonen zu Schwangerschaften führen, während sich schnell entwickelnde Embryonen von hoher Qualität nicht lebensfähig sind. Zusätzliche nichtinvasive Parameter wie die Analyse des Stoffwechsels, die Integrität und Position der Meiosespindel, der Aufbau der *Zona pellucida* etc. sind notwendig für eine verbesserte Selektion von lebensfähigen Zygoten.

P 44**EIZELLSPENDE FÜR PATIENTINNEN MIT VORZEITIGER OVARIALINSUFFIZIENZ**

D. Bodri, R. Vidal, V. Vernaevae, J. Guillén, A. Pujol, O. Coll
Clínica EUGEN, Barcelona, Spanien

Einleitung: Die möglichen Unterschiede in der Erfolgsrate der Eizellspende für



Patientinnen mit vorzeitiger Ovarialinsuffizienz (POF – premature ovarian failure) und anderen Empfängerinnen sind nicht genau bekannt.

Methoden: Wir haben eine retrospektive Analyse in unserem anonymen Eizellspendeprogramm durchgeführt, um die Ergebnisse von POF-Patientinnen im Vergleich zu unserer gewöhnlichen Empfängerinnenpopulation auszuwerten. Zwischen Januar 2000 und Mai 2005 wurden insgesamt 1750 mit frischem Embryonentransfer ausgeführte Behandlungszyklen ausgewertet. Von diesen Behandlungszyklen waren 206 (11,8 %) bei 142 POF-Patientinnen ausgeführt. Die Ätiologie des POFs war bei 85 Patientinnen (60 %) idiopathisch, bei 30 (21 %) chromosomal/genetisch und bei 27 (19 %) iatrogen. Die Eizellen stammten von jungen, freiwilligen Spenderinnen, der Regelung der spanischen Gesetzgebung entsprechend. Für die hormonelle Vorbereitung der Gebärmutterschleimhaut wurde Estradiol in konstanter Dosierung oral verwendet.

Resultate: Tabelle 2 zeigt die Charakteristiken und die reproduktiven Ergebnisse beider Studiengruppen.

P 45

INHIBIN B ALS FRÜHMARKER DER OVARIELLEN STIMULATION

R. Seufert, M. Schaffrath, F. Fischl, K. Pollow, H. Kölbl
Universitätsfrauenklinik Mainz und Abteilung Experimentelle Endokrinologie, Johannes-Gutenberg-Universität, Mainz

Einleitung: Die Rekrutierung von Follikeln und der Erfolg der ovariellen Stimulation mittels FSH wird wesentlich in der frühen Stimulationsphase entschieden. Die klinisch etablierten Marker wie 17 β -Estradiol oder der sonographische

Befund erlauben die Beurteilung aber erst in späteren Stimulationsphasen und werden durchaus unterschiedlich bewertet. Ein idealer Marker für die Follikelreifung stammt aus dem Follikel selbst und ist reproduzierbar meßbar. Dies trifft in hohem Maße auf die Inhibine zu, die als ovarielle Proteohormone außerhalb der Schwangerschaft ausschließlich in Granulosazellen synthetisiert werden und mit den aktuellen Enzymimmunoassays zuverlässig gemessen werden können.

Methode: In einem Kollektiv von 91 Patientinnen, die wir mittels des Agonistenprotokolls mit High-dose-r-FSH stimulierten, wurden alle 2 Tage die Serumkonzentrationen von Inhibin A, Inhibin B, Activin A und Prä- α -C bestimmt und mit den Konzentrationen von 17 β -Estradiol und dem sonographischen Wachstum verglichen. Die statistischen Vergleiche erfolgten mittels Wilcoxon-Test und Bonferroni-Holm-Prozedur. Ebenfalls konnten die Verläufe von 3 Patientinnen mit einem Überstimulationssyndrom verfolgt werden. Die EIAs stammten von der Firma Biotec, Oxford.

Resultate: Bereits am 4. Tag der Stimulation stiegen die Konzentrationen von Inhibin B hochsignifikant um 80 ng/dl an, während sämtliche anderen Parameter noch keine eindeutigen Veränderungen zeigten. Die Höhe des Anstiegs von Inhibin B korrelierte signifikant mit der später gefundenen Zahl von Eizellen. Am Ende der Stimulation verhielten sich Inhibin A, 17 β -Estradiol und der sonographische Befund sehr ähnlich, während Inhibin B nur noch schwach anstieg. Hier scheinen die Inhibine und das Aktivin A keinen zusätzlichen Informationsgewinn gegenüber den bekannten Parametern zu besitzen.

4 Patientinnen, deren Stimulation als Non-Responder abgebrochen wurde, zeigten den Inhibin-B-Anstieg am Tag 4 nicht.

3 Patientinnen, die später ein Überstimulationssyndrom entwickelten, zeigten einen weiteren Anstieg der Serumkonzentration von Inhibin B am Tag 4, der bei 192 ng/dl lag und damit deutlich über den der erfolgreich stimulierten Patientinnen hinausging.

Schlußfolgerungen: Die Serumkonzentration von Inhibin B am Tag 4 der ovariellen High-dose-FSH-Stimulation stellt einen sehr interessanten und aufschlußreichen Frühparameter dar, der hohe prognostische Information besitzt und möglicherweise hilfreich zur Vermeidung ovarieller Überstimulationssyndrome eingesetzt werden kann.

Ob er darüber hinaus zusätzliche Informationen über die Eizellqualität oder die erzielten Schwangerschaftsraten besitzt, müssen größere Studien in Kürze zeigen. Bei Patientinnen, die zu Überstimulationssyndromen neigen, ist durch Inhibin B eine deutlich sichere Stimulation zu erwarten.

P 46

BEEINFLUSST GLYKODELIN DAS IVF-OUTCOME?

G. Keck, N. Reichel, I. Trinkaus, A. Schultz, W. Distler
Frauenklinik des Universitätsklinikums Carl Gustav Carus der TU Dresden

Einleitung: Das seit 25 Jahren bekannte Glykoprotein Glykodelin (Gd) wird als immunkompetentes Protein mit hohem Stellenwert im reproduktionsbiologischen Prozeß beschrieben. Gd kommt in verschiedenen Glykosilierungsformen im Endometrium, in der Amnionflüssigkeit (GdA), im Seminalplasma (GdS) und in der Follikelflüssigkeit (GdF) vor. Während die Isoformen A und F als Inhibitoren der Spermien-Oozyten-Bindung beschrieben werden, hemmt GdS diese im Hemizona-Binding-Assay nicht. In der vorliegenden Studie werden die Glykodelinwerte in Kulturüberständen nach konventioneller *In-vitro*-Fertilisation untersucht und mit dem Ergebnis der IVF verglichen.

Methoden: Die Untersuchungen umfaßten 11 Paare der Kinderwunschsprechstunde der Universitätsfrauenklinik Dresden. Dabei wurde der Glykodelin- und Gesamtproteingehalt (TP)

Tabelle 2: D. Bodri et al. (P 44)

	POF-Gruppe (n = 206)	Nicht-POF (n = 1544)	OR (95%-KI)
Durchschnittsalter (Jahre)	34 (22–46)	41 (25–50)	
Klinische Schwangerschaften	86 (41,8 %)	682 (44,2 %)	0,91 (0,67–1,23) – n.s.
Frühaborte	9/86 (10,5 %)	110/682 (16,1 %)	0,61 (0,28–1,30) – n.s.



ABSTRACTS

von zentrifugierten Überständen aus 107 Eizellkulturen mittels ELISA untersucht, welche einzeln mit 100.000 progressivmotilen Spermien über 18 h inkubiert worden sind. Als Kontrolle dienten unter parallelen Bedingungen ohne Oozyten inkubierte Kulturen von Spermien. Die Gd-Konzentrationen wurden mit der durch PN-Scoring als Parameter ermittelten Fertilisationsrate korreliert. Weiterhin analysierten wir den Gd-Gehalt nach der PN-Kontrolle in 21 Zellkulturüberständen von Eizellen nach ICSI.

Resultate: Die durchschnittlichen Gd-Werte differierten zwischen den Patienten interindividuell in einem großen Bereich sowohl in den Eizellkulturüberständen (4,9–69,2 ng/ml bzw. 0,1–3,0 % Gd/TP) wie auch in den Kontrollen (2,0–59,5 ng/ml bzw. 0,1–4,5 % Gd/TP). Die Ratio zwischen dem Gd-Gehalt der individuellen Eizellkulturüberstände und der Kontrollen war sowohl ≥ 1 als auch ≤ 1 . Unsere Untersuchungen zeigten, daß Gd-Werte zwischen 10,0–60,0 ng/ml mit einer hohen Fertilisationsrate (88 %) assoziiert waren. Bei einer Gd-Konzentration unter diesem Bereich wie auch bei einer Konzentration von $> 60,0$ ng/ml wurde eine erniedrigte Fertilisationsrate (25 %) beobachtet. Alle Überstände nach ICSI (n = 21) waren unabhängig vom Outcome Gd-frei.

Schlußfolgerung: Der Gd-Gehalt der ohne Oozyte inkubierten Spermatozoensuspensionen und der Eizellkulturen schwankte inter- und intraindividuell. In Kulturen denudierter Eizellen nach ICSI wurde kein Gd nachgewiesen. Gd wird vermeintlich nicht nur durch die Spermien in die Kultur eingetragen, sondern scheint ebenso durch die Interaktion der männlichen Gameten mit dem Eizell-Kumuluskomplex beeinflusst zu sein. Weitere Untersuchungen sind nötig, um die Frage zu klären, ob die Gd-Konzen-

tration des den Eizell-Kumuluskomplex umgebenden Mediums neben anderen Faktoren ein die Fertilisation beeinflussender Parameter ist.

P 47

UNTERSCHIEDLICHE STRATEGIEN ZUR OVULATIONSDUKTION IM MONOFOLLIKULÄREN ZYKLUS

W. Starker, I. Hoppe, A. Börner, C. Ebertus
Universitätsfrauenklinik Jena, Institut für Klinische Chemie am Universitätsklinikum Jena

Einleitung: Zur Ovulationsauslösung sind im mono- und polyfollikulären Zyklus HCG, LH und GnRH-Analoga beschrieben. Ziel der Ovulationsauslösung sind im monofollikulären Zyklus ein adäquater LH-Anstieg und die Ausbildung eines funktionellen *Corpus luteum* für eine ausreichende Lutealphase. Daneben spielen gerade im monofollikulären Zyklus zunehmend zeitliche Wünsche der Patientinnen und organisatorische Bedingungen eine Rolle in der Sprechstunde. Durch den Einsatz von GnRH-Analoga für die Ovulationsinduktion ist aufgrund des Flare-up-Effekts ein schnellerer Wirkungseintritt möglich und darüber eine bessere Planung der Weiterbehandlung.

Methoden: In 77 Zyklen mit nachgewiesenem LH-Anstieg wurde die bisherige Strategie zur Ovulationsauslösung überprüft. Voraussetzung für die Ovulationsinduktion war ein Leitfollikel über 18 mm und ein ausreichender Estradiol-Wert. Ausgelöst wurde mit 5000 HCG (47), 0,1–0,5 mg Decapeptyl® (20) oder 0,1–0,5 mg Decapeptyl® kombiniert mit 5000 IE HCG (10). Die Parameter Estradiol, LH, FSH und Progesteron wurden

am Tag der Ovulationsauslösung, am Tag des LH-Anstiegs und in der mittleren Lutealphase analysiert.

Resultate: Nach Ovulationsinduktion mit Decapeptyl® allein wurde nach 24 h ein mittlerer LH-Wert von 74,1 IU/l erreicht, nach Decapeptyl® in Kombination mit HCG von 70,6 IU/l und nach alleiniger HCG-Gabe 42,9 IU/l. Die Gabe von HCG allein oder in Kombination mit Decapeptyl® führte in 55 der 57 untersuchten Zyklen zu einem ausreichenden Progesteronanstieg, während Decapeptyl® allein in 18 von 20 Zyklen keinen Progesteronanstieg auslöste (Tabelle 3).

Schlußfolgerungen: Eine Ovulationsauslösung mit einem GnRH-Analogen allein führt zwar durch den Flare-up-Effekt zu einer ausreichenden LH-Ausschüttung, allerdings nicht zur Ausbildung eines funktionellen *Corpus luteum*. Deshalb sollte die Ovulationsinduktion mit HCG oder in Kombination mit einem GnRH-Analogen erfolgen. Die Kombination von GnRH-Analoga mit HCG zur Ovulationsauslösung im monofollikulären Zyklus soll aufgrund der ersten Ergebnisse in einer laufenden Studie weiter überprüft werden.

P 48

EIN SCHNELLTEST ZUR BESTIMMUNG VON LÖSLICHEM HLA-G IN KULTURÜBERSTÄNDEN VON EMBRYONEN

V. Rebmann¹, M. Switala¹, I. Eue², E. Schwahn², M. Merzenich², H. Grosse-Wilde¹
¹Institut für Immunologie, Universitätsklinikum Essen, ²Kinderwunschzentrum Köln

Einleitung: Ziel jeder Kinderwunschbehandlung ist der Eintritt einer Schwangerschaft mit möglichst hoher Wahrscheinlichkeit und geringem Mehrlingsrisiko. Dafür ist jedoch ein prognostischer Parameter für eine erfolgreiche Implantation humaner Embryonen nach *In-vitro*-Fertilisation (IVF) notwendig. Neuere Untersuchungen geben Hinweise, daß lösliches HLA-G (sHLA-G) in Embryonenkulturen (EK) von prognostischer Relevanz für den IVF-Erfolg bieten kann. Dabei wurden allerdings die sHLA-G-Moleküle nach dem Embryo-

Tabelle 3: W. Starker et al. (P 47)

	n	LH (IU/l)	ohne Progesteronanstieg		mit Progesteronanstieg	
			n	P (nmol/l)	n	P (nmol/l)
Decapeptyl®	20	74,1	18	2,4	2	27,7
Decapeptyl®/HCG	10	70,6	1	3,1	9	38,1
HCG	47	42,9	1	2,8	46	45,4



transfer im ELISA nachgewiesen. Diese Methodik ist langwierig ($\geq 3,5$ h), benötigt ein Probenvolumen von 100 μ l und ist somit nicht in den Ablauf einer IVF integrierbar. Unsere Ziele waren daher, (i) einen Schnelltest zur Bestimmung von sHLA-G zu etablieren, (ii) sHLA-G in EK zu quantifizieren und (iii) die Ergebnisse mit den IVF-Daten zu korrelieren.

Methodik: Zur Bestimmung von sHLA-G wurde ein Test entwickelt, der auf der Luminex[®]-x-MAP[®]-Technologie basiert. Dabei wurden HLA-G-spezifische Antikörper MEM-G/9 und gereinigtes HLA-G als Standardprotein verwendet. Insgesamt wurden sHLA-G-Konzentrationen (ng/ml) von 142 EK (125 1-EK, 10 2-EK und 7 3-EK) bestimmt.

Ergebnisse: Mit diesem Test können sHLA-G-Konzentrationen in einem Volumen von nur 10 μ l innerhalb von 2 h bestimmt werden. In einer Pilotstudie wurden sHLA-G-Moleküle in 30 (24 %), 2 (20 %) und 2 (28 %) der 1-, 2- und 3-EK mit Konzentrationen (Mittel $\pm$ SEM) von $1,8 \pm 0,4$, $1,0 \pm 0,6$ bzw. $0,3 \pm 0,0$ nachgewiesen. Die sHLA-G-Konzentrationen in 1-EK mit Embryonen von Score A ($2,8 \pm 0,6$; n = 14) waren 3fach erhöht (p = 0,005) im Vergleich zu Embryonen von Score B oder C ($0,9 \pm 0,2$; n = 16). Der Nachweis von sHLA-G war signifikant (p = 0,013) mit dem Reproduktionserfolg assoziiert: 35 % (12 von 34) der sHLA-G-positiven und nur 16 % (12 von 74) der sHLA-G-negativen Embryonen führten zum Reproduktionserfolg.

Schlußfolgerung: Mit der Entwicklung des neuen Schnelltests kann sHLA-G in EK reproduzierbar gemessen werden. So ist die technische Voraussetzung geschaffen, den sHLA-G-Nachweis in den Ablauf einer IVF zu integrieren. In unserer Studie konnte ein Zusammenhang zwischen sHLA-G und Embryonenqualität bzw. Reproduktionserfolg erstellt werden. Ob sHLA-G jedoch als diagnostischer Marker für eine erfolgreiche Schwangerschaft nach IVF dienen kann, muß eine multizentrische Studie klären.

Förderung: Teilweise gefördert von Bmt GmbH Labor-Produkte.

P 49

CHARAKTERISIERUNG UND SPEZIFIZIERUNG DER KONZENTRATION ENDOMETRIALER IMMUNZELLEN BEI PATIENTINNEN MIT IDIOPATHISCHEN HABITUellen ABORTEN

M. K. Bohlmann, J. Jauckus, C. Deckner, T. Strowitzki, M. von Wolff
Abteilung für Gynäkologische Endokrinologie und Fertilitätsstörungen, Universitätsfrauenklinik Heidelberg

Einleitung: Klinisch diagnostizierte Schwangerschaften enden zu etwa 10–15 % in einer Fehlgeburt. Ca. 1–2 % aller Partnerschaften sind vom Krankheitsbild des habituellen Spontanabortes (recurrent spontaneous abortion = RSA), also drei und mehr Fehlgeburten vor der 12. SSW, betroffen. Bei einem Teil der Paare findet sich keine Ursache der habituellen Aborte. Bei diesen Frauen wird u. a. eine immunologische Abortgenese postuliert, die bereits im Endometrium ihren Ursprung findet. In wenigen Studien wurden die Konzentrationen endometrialer Immunzellen bei Patientinnen mit RSA-Problematik untersucht. Allerdings sind die Ergebnisse z. T. widersprüchlich, die Biopsien nicht LH-datiert oder die Paare nicht systematisch bzgl. anderer RSA-Ursachen abgeklärt worden. Ziel der Arbeit war eine systematische Charakterisierung des LH-datierten Immunzellprofils endometrialer Biopsien mit Hilfe molekularbiologischer und immunhistochemischer Techniken bei RSA-Patientinnen im Vergleich zu einem Kontrollkollektiv.

Methoden: Mittels semiquantitativer RNase Protection Assays (RPA) und Immunhistochemie wurden in LH-datierten endometrialen Biopsien (LH+7 bis LH+9) bei idiopathischen RSA-Patientinnen (n = 25) und gesunden Kontrollen (n = 10) die Konzentrationen an CD45 (Human Leukocyte Antigen), CD3 (T-Lymphozyten), CD14 (Monozyten/Makrophagen), CD19 (B-Lymphozyten), CD56 (Natural Killer Cells) sowie CD4 (T-Lymphozyten) ermittelt.

Resultate: Sowohl per RPA als auch immunhistochemisch fanden sich keine signifikanten Konzentrationsunterschiede der Immunzellen.

Schlußfolgerung: Im sekretorisch umgewandelten Endometrium lassen sich im Implantationsfenster spezifische Immunzellen in unterschiedlichen Konzentrationen nachweisen. Die Konzentration der untersuchten Immunzellen ist bei RSA-Patientinnen im Vergleich zu Kontrollen nicht verändert. Somit sind widersprüchliche Ergebnisse anderer Studien mit begrenzt abgeklärten Patientinnen und nicht exakt datierten Biopsien bzgl. einer veränderten Immunzellen-Konzentration bei RSA-Patientinnen in Frage zu stellen. Eine immunologische Dysfunktion als RSA-Ursache kann anhand der Konzentrationen der untersuchten endometrialen Immunzellen nicht erkannt werden.

P 50

MORPHOLOGISCHE CHARAKTERISIERUNG VON EIZELLEN, VORKERNSTADIEN UND EMBRYONEN BEI PATIENTINNEN MIT PCOS

I. Hoppe, W. Starker, C. Ebertus
Universitätsfrauenklinik Jena

Einleitung: Patientinnen mit PCOS zeigen aufgrund ihrer gestörten endokrinen Situation erhebliche Unterschiede in Follikel- und Eizellreifung und in ihrer ovariellen Reaktion auf eine Stimulationsbehandlung für IVF/ICSI. Von Interesse ist daher, ob sich diese Störungen auch in der morphologischen Einschätzung von Eizellen, Vorkernstadien und Embryonen widerspiegeln.

Methoden: Bei 45 Patientinnen mit PCOS und 34 Patientinnen einer Kontrollgruppe wurden 52 bzw. 49 IVF-/ICSI-Zyklen durchgeführt. Insgesamt konnten 886 Eizellen gewonnen werden, die mit IVF oder ICSI behandelt wurden. Eine morphologische Eizellbeurteilung erfolgte nur vor ICSI (461 Eizellen). Befruchtungskontrolle und morphologische Charakterisierung der Vorkernstadien wurde für IVF- und ICSI-Eizellen nach dem Scott-Score vorgenommen. Die Embryonenbeurteilung (232) erfolgte am Tag 2 oder 3. In den einzelnen Entwicklungsstadien wurden verschiedene morphologische Kriterien erfaßt und in Abhängigkeit von der basalen Ausgangssituation der Patientin verglichen.

Resultate: Zwischen der Kontrollgruppe und Patientinnen mit PCOS bestanden



ABSTRACTS

mit einem Anteil an MII-Eizellen von 90,4 % bzw. 75,7 % Unterschiede im Reifegrad der gewonnenen Eizellen. Dagegen konnten für die morphologischen Kriterien Polkörperchen, perivitelliner Raum und Zytoplasma keine Unterschiede registriert werden. Die Fertilisationsrate nach IVF/ICSI war bei Patientinnen mit PCOS mit 49,8 % deutlich niedriger als in der Kontrollgruppe (63,9 %). Im Vorkern-Scoring nach Scott wurden im Vergleich der beiden Patientinnengruppen Unterschiede in der prozentualen Verteilung der Scoring-Grade gesehen. In der Kontrollgruppe wurden 66,9 % der PN-Stadien Z1/Z2 zugeordnet, bei Patientinnen mit PCOS nur 46,3 %. Die Unterschiede wurden nicht in Größe oder Zahl der Nukleoli, sondern im Verteilungsmuster gefunden. In der Embryonenmorphologie konnten keine Unterschiede zwischen beiden Patientinnengruppen erfaßt werden.

Schlußfolgerung: Reife und Entwicklungsfähigkeit von Eizellen und der folgenden Entwicklungsstadien (PN-Stadien, Embryonen) sind abhängig von einer ungestörten ovariellen Regulation und einem kontinuierlichen Follikelwachstum, die Voraussetzungen für eine optimale zytoplasmatische und meiotische Reifung der Eizelle sind. Bei Patientinnen mit PCOS deuten erhebliche Unterschiede im Reifegrad der Eizellen und im morphologischen Scoring der PN-Stadien auf eine ungenügende Eizellreifung hin. Kausale Zusammenhänge mit der intraovariellen Regulation sollen in weiteren Untersuchungen gesucht werden.

P 51

PRAXIS DER MORPHOLOGISCHEN BEURTEILUNG VON EIZELLEN, VORKERNSTADIEN UND EMBRYONEN IN DEUTSCHEN IVF-LABOREN

I. Hoppe, M. Greuner
AGRBM; Universitätsfrauenklinik Jena,
GMP Drs. Thaele, Happel, Giebel,
Saarbrücken

Einleitung: International ist die Embryo-identifikation eine anerkannte Methode, um über SET oder DET die Schwangerschaftsraten zu erhöhen und das Mehrlingsrisiko zu senken. Obwohl diese Möglichkeit in Deutschland nicht besteht, ist eine standardisierte Beurteilung

von Eizellen, Vorkernstadien und Embryonen aus klinischer und wissenschaftlicher Sicht und im Rahmen des Qualitätsmanagements notwendig. Über die Erfassung morphologischer Parameter in den einzelnen IVF-Laboren ist bisher allerdings nichts bekannt.

Methoden: In einem Fragebogen wurden die Mitglieder der AGRBM nach ihrer Praxis der Beurteilung von Eizellen, Vorkernstadien und Embryonen anonym befragt. Dabei wurden sowohl verschiedene Scoring-Systeme als auch einzelne morphologische Kriterien berücksichtigt.

Resultate: Von 141 Vollmitgliedern der AGRBM beteiligten sich 65 (46,1 %) an der Umfrage. Für die einzelnen Stadien wird ein Scoring-System in unterschiedlicher Häufigkeit verwendet: Eizellen (81,5 %), Vorkernstadien (96,9 %), Embryonen am Tag 2 (75,3 %) und am Tag 3 (80,8 %). Bei der Eizelle werden Polkörperchen (81,5 %) und Zytoplasma (64,6 %) am häufigsten beurteilt, während perivitelliner Raum (49,2 %) und *Zona pellucida* (49,2 %) eine untergeordnete Rolle spielen. Für Vorkernstadien werden die Position (73,8 %) und Größe (78,5 %) der Vorkerne bevorzugt beurteilt. Auch Zahl (67,7 %), Größe (60,0 %) und Verteilung (60,0 %) der Nukleoli und Halo-Effekt (60,0 %) werden häufig ermittelt. Dagegen werden Zytoplasma (57,0 %), Polkörperchen (55,4 %) und perivitelliner Raum (41,5 %) seltener beurteilt. Bei der Embryonenbeurteilung am Tag 2/3 werden Fragmentierungen zu 63,8 % und Blastomerenzahl zu 63,0 % erfaßt. Geringer berücksichtigt werden Größe (54,6 %) und Mehrkernigkeit (29,9 %) der Blastomeren.

Schlußfolgerung: Die Erfassung morphologischer Parameter und ihre Nutzung als Scoring-Systeme ist während der IVF/ICSI für Eizellen, Vorkernstadien und Embryonen möglich. In Deutschland ist das Vorkernstadium das entscheidende Stadium zur prognostischen Beurteilung. Deshalb wird auf dieser Ebene die intensivste morphologische Beurteilung durchgeführt. Zwischen den IVF-Laboren bestehen Unterschiede in der Erfassung und Wertigkeit einzelner morphologischer Parameter. Eine standardisierte Vorgabe der morphologischen Beurteilung wird deshalb angestrebt. Die AGRBM sieht ihre Aufgabe in der Schulung der Reproduktionsbiologen und in

der Etablierung von Ringversuchen zur Identifikation von Gameten und Embryonen.

P 52

KOMBINIERTE ANEUPLOIDIE- UND TRANSLOKATIONS-DIAGNOSTIK AN POLKÖRPERN

A. Clement-Sengewald^{1,2}, U. Vogt¹,
F. D. Berg², E. Kreuzer³, H. Lacher³,
T. Buchholz¹

¹Zentrum für Polkörperdiagnostik,

²GMP Prof. Berg/Dr. Lesoine, ³Hormon-Centrum München

Einleitung: Immer wieder werden bei Fehlgeburten von Translokationsträgerinnen trotz balancierter Translokation zusätzliche Aneuploidien im Abortmaterial diagnostiziert. Ob Fehlverteilungen gehäuft bei Translokationsträgerinnen auftreten, wird weiterhin kontrovers diskutiert. Unsere Absicht ist es, durch Anwendung der Polkörperdiagnostik sowohl die Imbalancen als auch die Aneuploidien von Eizellen zu erkennen.

Methoden: Nach Follikelpunktion wurden jeweils die ersten Polkörper gereifter Eizellen nach Eröffnung der *Zona pellucida* (saure Tyrode-Lösung oder Diodenlaser) abgesaugt und auf Objektträgern fixiert. Zwei aufeinander folgende Runden Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung (FISH) dienten zum einen dem Erkennen von balancierten Abschnitten der in die Translokation involvierten Chromosomen und zum anderen dem Erkennen von Fehlverteilungen der Chromosomen 13, 16, 18, 21 und 22 (MultiVision PB, Abbott).

Resultate: Beide FISH-Runden ließen sich mit jeweils 4 h bzw. 12 h unproblematisch aneinanderreihen. Alle Polkörper konnten nach der Rehybridisierung wieder identifiziert werden. Das Ergebnis beider FISH-Runden lag ca. 20 h nach der intrazytoplasmatischen Spermieninjektion vor. Insgesamt zeigte sich, daß nur etwa ein Drittel aller untersuchten Eizellen in bezug auf die jeweilige Translokation balanciert war. Über ein Drittel der balancierten Eizellen erwies sich jedoch als aneuploid. Insgesamt stand somit nur jede fünfte Eizelle, sowohl balanciert als auch euploid, zur weiteren Kultivierung zur Verfügung.



Schlußfolgerung: Da balancierte Eizellen auch Fehlverteilungen ihrer Chromosomen tragen können, stellt neben der Translokationsdiagnostik die zusätzliche Untersuchung auf Aneuploidien eine erhöhte diagnostische Aussage dar. Als Konsequenz unserer Ergebnisse wären für die kombinierte Translokations- und Aneuploidiediagnostik mindestens zehn gereifte Eizellen pro Zyklus und Patientin wünschenswert, sodaß mindestens zwei Embryonen weiterkultiviert und übertragen werden können.

P 53

DIE *IN-VITRO*-MATURATION (IVM) ALS NEUE OPTION DER KINDERWUNSCHBEHANDLUNG – ERFAHRUNGEN AUS DER ETABLIERUNG EINES IVM-PROGRAMMS

S. von Otte, B. Schöpfer, A. Schultze-Mosgau, G. Griesinger, S. Al Hasani, K. Diedrich
Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe, Universität Lübeck

Hintergrund: Die Entwicklung neuer Methoden zur Gewinnung unreifer Oozyten in Kombination mit neuen Kulturtechniken zur *In-vitro*-Maturation (IVM) eröffnen neue therapeutische Perspektiven für die assistierte Reproduktion. Ziel des Verfahrens ist die Nachreifung von Oozyten vom GV- bzw. MI-Stadium zur Metaphase 2 der zweiten meiotischen Reifungsteilung *in vitro*.

Material und Methode: Im Rahmen einer Studie zur Prüfung von Machbarkeit und Effizienz eines IVM-Programms wurde dieses neue Verfahren an der Universitätsfrauenklinik in Lübeck in verschiedenen Protokollmodifikationen etabliert. Nach niedrigdosiertem FSH-Priming (Menogon® HP; 75 IE für drei Tage) erfolgte die Ovulationsinduktion mit 10.000 IE hCG. Zwischen Zyklustag 8 und 10 wurden kleinantrale Follikel (5–12 mm Durchmesser) unter hochauflösendem Ultraschall mittels eines speziellen Punktionssystems (Cook) aspiriert, gewonnene Oozyten wurden für 30 h kultiviert (IVM-Medium, Medicult), denudiert und alle MII-Oozyten wurden durch ICSI fertilisiert. Falls vorhanden, wurden 3 Embryonen unter einer speziellen Lutealphasensubstitution transferriert. Der hCG-Nachweis im Serum er-

folgte nach 2 Wochen. Für die durch IVM gezeugten Kinder ist ein neuropädiatrisches Follow-up vorgesehen.

Ergebnisse: Bis zum Eintritt der ersten bundesweiten Schwangerschaft behandelten wir insgesamt 31 Patientinnen. Dabei handelte es sich um 29 normo-ovulatorische Frauen und 2 PCO-Patientinnen (Rotterdam-Kriterien) mit erhöhtem Risiko für ein OHSS. Das Durchschnittsalter dieses Kollektivs betrug $33,4 \pm 4,3$ Jahre. Nach initial niedriger Eizellgewinnungsrate stieg diese auf über 10 Oozyten pro Punktion (MW $6,0 \pm 4,5$). Insgesamt wurden 214 Oozyten gewonnen, davon reiften 119 Eizellen zum MII-Stadium (55,6 %). Die Fertilisationsrate durch ICSI betrug 47 %. In 71 % der Zyklen erfolgte ein Embryotransfer. Wir erreichten 1 klinisch intakte Einlingsschwangerschaft (aktuell 10. SSW), in 2 Zyklen war eine Kryokonservierung von insgesamt 6 Pronuclei möglich. Nebenwirkungen traten nicht auf.

Diskussion: Das in Lübeck jetzt etablierte IVM-Programm führte zur bundesweit ersten Schwangerschaft nach IVM. Dieses Resultat und Daten aus international vorliegenden Studien beweisen die Machbarkeit der IVM-Technologie. Deren Effizienz kann aufgrund der Größe des behandelten Kollektivs noch nicht bemessen werden. Mit weiter zunehmender Erfahrung der letzten Jahre zeichnet sich ab, daß die IVM bei weiterer klinischer Optimierung das Potential erreicht, um die konventionelle assistierte Reproduktion nach hochdosierter nebenwirkungsreicher und kostenintensiver ovarieller Stimulation zu ersetzen.

P 54

POLKÖRPERBIOPSIE MIT ANSCHLIESSENDER FLUORESCENZBASIERTER ANEUPLOIDIE-TESTUNG DURCH SIMULTANE DETEKTION VON 6 CHROMOSOMEN

M. Montag, E. Isachenko, N. Limbach, K. van der Ven, C. Dorn, H. van der Ven
Abteilung für Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin, Universitätsklinikum Bonn

Einleitung: Die Polkörperbiopsie wird in spezialisierten Zentren zur Aneuploidie-

Testung durch die Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung (FISH) indikationsbezogen eingesetzt. In der Regel wird im Rahmen des zeitlich verfügbaren Untersuchungszeitfensters eine Hybridisierungsrunde durchgeführt. Hierbei wird ein kommerzieller FISH-Sonden-Kit zum Nachweis von 5 Chromosomen eingesetzt. In dieser Studie haben wir die Möglichkeit einer simultanen Detektion von 6 Chromosomen durch Modifikation des bestehenden Kits untersucht.

Methoden: Ein kommerziell erhältlicher 5-Sonden-FISH-Kit (Chromosom 13-red, 16-aqua, 18-blue, 21-green, 22-yellow) wurde durch Zusatz einer gemischtfarbigen Sonde für Chromosom X (red + green) modifiziert. Mit einem Rot/Grün-Doppelbandpaßfilter wurde das gelbe Mischsignal für Chromosom X von den im gleichen Filter sichtbaren Signalen für die Chromosomen 13 (red) und 21 (green) unterschieden. Die modifizierte Sonde wurde zuerst an Lymphozytenpräparaten getestet und dann klinisch in 75 Zyklen bei Patientinnen älter als 35 Jahre und mit mindestens 2 Vorversuchen eingesetzt. Die Behandlungserfolge wurden mit einer in Recdate generierten Kontrollgruppe (n = 126) verglichen.

Resultate: Alle 6 Chromosomen konnten bei der FISH-Auswertung simultan detektiert und unterschieden werden. Die biochemische Schwangerschaftsrate nach Aneuploidie-Testung war signifikant höher im Vergleich zur Kontrollgruppe (37,1 % vs. 22,9 %; $p < 0,05$). Für die klinische Schwangerschaftsrate (24,2 % vs. 14,4 %) und die Implantationsrate (18,6 % vs. 10,8 %) wurde ein positiver Trend zugunsten der Aneuploidie-Testung beobachtet.

Schlußfolgerungen: Die simultane Detektion von 6 Chromosomen in einer einzigen FISH-Runde ist möglich. Die damit erzielten Erfolgsraten halten auch dem internationalen Vergleich nach Aneuploidie-Testung an Blastomeren und Untersuchung von 8 Chromosomen stand. Anstatt der hier verwendeten Rot/Grün-Sonden für Chromosom X können auch Sonden für andere Chromosomen nach demselben Prinzip eingesetzt werden.



ABSTRACTS

P 55

EINSATZ DER NICHTINVASIVEN LIVE-DARSTELLUNG DER SPINDEL BEI DER POLKÖRPERBIOPSIE

M. Montag¹, T. Schimming²,
P. Gassner³, H. van der Ven¹

¹Abteilung für Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin, Universitätsklinikum Bonn, ²OCTAX Microscience GmbH, Herborn, ³MTG Vertriebs-GmbH, Altdorf

Einleitung: Die Durchführung der Polkörperbiopsie mit anschließender Aneuploidie-Testung muß im Rahmen des deutschen Embryonenschutzgesetzes noch vor dem Verschmelzen der Vorkerne abgeschlossen sein. Das zur Verfügung stehende Zeitfenster von circa 18–20 h, gerechnet ab dem Zeitpunkt der intrazytoplasmatischen Spermieninjektion (ICSI), reicht in der Regel aus, um die Untersuchung am 1. Polkörper durchzuführen. Auch die Entnahme des 2. Polkörpers ist 5–7 h nach ICSI möglich. Viele Eizellen haben dann jedoch die zweite meiotische Teilung noch nicht abgeschlossen und befinden sich in der Telophase II. Über die sogenannte Interzellularbrücke ragen noch Spindelfasern mit beiderseits angehefteten Chromatiden von der Eizelle in den 2. Polkörper. Dieser Befund ist mit konventioneller Mikroskopie nicht erkennbar, sodaß eine gewaltsame Biopsie das Risiko einer (partiellen) Eukleation der Eizelle birgt. Um dieses Risiko zu minimieren und bereits vor Biopsie Eizellen in der Telophase zu identifizieren, wurden die Einsatzmöglichkeiten eines neuen Systems zur nichtinvasiven Spindeldarstellung bei der Polkörperbiopsie untersucht.

Methoden: Sowohl die Durchführung der ICSI als auch die Biopsie des 1. und 2. Polkörpers erfolgte mit speziellen Glasbodenschalen an einem inversen Mikroskop. Ein softwareunterstütztes polarisationsmikroskopisches Verfahren (OCTAX ICSI GuardTM) ermöglichte die Live-Darstellung des Spindelapparates der Metaphase-II-Eizelle bzw. später der Restspindel zwischen 2. Polkörper und dem Ooplasm.

Resultate: Die Darstellung des Spindelapparates während der ICSI erlaubte eine zuverlässige Injektion der Meta-

phase-II-Eizellen bei minimalem Risiko einer Spindelverletzung. Es wurden Eizellen identifiziert, die den morphologischen Kriterien einer Metaphase-II-Eizelle mit ausgestoßenem 1. Polkörper entsprachen, bei denen jedoch zwischen dem 1. Polkörper und der Eizelle eine ausgeprägte Spindel bestand, die auf das Telophase-I-Stadium hindeutete. Bei der Biopsie des 1. und 2. Polkörpers konnten Eizellen mit ausgeprägt starkem Spindelapparat zwischen dem 2. Polkörper und dem Ooplasm (Telophase II) zuverlässig identifiziert werden. In diesen Fällen wurde von einer traumatischen Entnahme des 2. Polkörpers abgesehen.

Schlußfolgerungen: Die Darstellung einer bestehenden Restspindel zwischen dem 2. Polkörper und der Eizelle kann simultan während des Biopsievorgangs durchgeführt werden. Dies minimiert das Risiko einer unbeabsichtigten Mitentnahme von an vorhandene Spindelreste fixierten Eizell-Chromatiden, da Zellen mit stark ausgeprägter Restspindel bereits vor der eigentlichen Biopsie identifiziert werden können. Im Unterschied zum konventionellen Vorgehen kann damit auf eine „Probe“-Biopsie mit möglicherweise traumatischen Begleiterscheinungen verzichtet werden.

P 56

PUBLIKATIONSHÄUFIGKEIT DER DEUTSCHEN REPRODUKTIONS BIOLOGIE UND -MEDIZIN VON 1998–2004 IM INTERNATIONALEN VERGLEICH

I. Hoppe, J. Rostek
Universitätsfrauenklinik Jena, Praxis
Tobler, Göttingen

Einleitung: Eine geeignete Methode, die Forschungsleistungen eines Landes zu bewerten, ist die Analyse der biomedizinischen Publikationshäufigkeit. Die Reproduktionsbiologie und -medizin ist klinisch, methodisch und im Grundlagentbereich ein dynamisches Fachgebiet mit den beiden international führenden Zeitschriften „Human Reproduction“ und „Fertility and Sterility“ mit einem Impactfactor von 3,365 bzw. 3,170.

Methoden: Beide Zeitschriften wurden für die Jahrgänge 1998–2004 auf ihre geographische Verteilung der Publikationen und Human Reproduction zusätzlich auf ihre thematische Einordnung untersucht. Für die geographische Zuordnung war die entsprechende Korrespondenzadresse entscheidend. Die absoluten Publikationsdaten wurden berechnet auf Bevölkerungsgröße, Brutto-sozialprodukt und durchgeführte ART-Behandlungen der jeweiligen Länder.

Resultate: In „Human Reproduction“ wurden im untersuchten Zeitraum 3847 Arbeiten publiziert. Davon kommen 16,5 % aus Großbritannien, während die BRD mit 4,7 % nach USA (12,7 %), Italien (6,6 %), Frankreich (6,0 %), Niederlande (5,5 %) und Japan (5,3 %) die 7. Stelle einnimmt. Die Themenbereiche Reproduktionsgenetik, Andrologie und Psychologie liegen dabei über der Gesamthäufigkeit von 4,7 %, während z. B. Embryologie, Endokrinologie und Reproduktionsbiologie geringer vertreten sind.

1998–2004 wurden in „Fertility and Sterility“ 2871 Beiträge publiziert. Davon kommen 38,6 % aus den USA. Die BRD liegt mit 3,0 % an 9. Stelle der Publikationshäufigkeit.

Schlußfolgerung: Zu diskutieren sind finanzielle und personelle Ausstattung der Forschung in der deutschen Reproduktionsbiologie und -medizin und strukturelle Bedingungen. Die nationale Anerkennung und die Situation für Förderleistungen des Fachgebietes sind unbefriedigend. Aufgrund der gesetzlichen Vorgaben in Deutschland sind aktuelle Forschungsbereiche im Fachgebiet nicht zu bearbeiten. Auswirkungen ergeben sich auch auf die internationale Anerkennung der deutschen Reproduktionsbiologie und -medizin. Lösungsmöglichkeiten könnten über ein nationales organisatorisches und Kompetenznetzwerk (Vernetzung mit theoretischen Instituten, gemeinsame Projektarbeit der Fachkommissionen des DVR, gemeinsame Projekte von universitären und privaten Einrichtungen) und mit der Etablierung eines Mentorensystems gefunden werden.



Gynäkologie

P 57

SCHWANGERSCHAFT NACH PULSATILER GnRH-STIMULATION BEI KALLMANN-SYNDROM

S. C. Friess, C. Gründger, B. Hinney, G. Emons
Universitätsfrauenklinik Göttingen

Einleitung: Das Kallmann-Syndrom ist durch eine primäre, hypogonadotrope Amenorrhö und Anosmie gekennzeichnet, zusätzlich können diverse Stigmata auftreten. Bei Frauen ist es mit einer Häufigkeit von ca. 1 zu 50.000 extrem selten. Bei einigen Patienten wurde das KAL-Gen nachgewiesen.

Material und Methoden: 1988 und 2003 stellten sich zwei jeweils 15jährige Patientinnen mit primärer hypogonadotroper Amenorrhö und Anosmie in unserer Sprechstunde vor. Bei der ersten Patientin bestand zusätzlich eine Spaltbildung im Kieferbereich. Nach Diagnosestellung wurde die bis dahin nicht eingetretene Pubertät bei beiden Patientinnen durch eine zunächst niedrig dosierte Estrogen- und nachfolgend durch eine kombinierte Estrogen-Gestagen-Therapie eingeleitet. Im Jahr 2003 stellte sich die inzwischen 30jährige Patientin mit Kinderwunsch vor. Die Ovulationsauslösung erfolgte durch eine pulsatile GnRH-Therapie (6 µg GnRH alle 90 Minuten). Eine molekulargenetische Diagnostik wurde eingeleitet.

Ergebnisse: Unter zyklischer Estrogen-/Gestagen-Therapie kam es bei beiden Patientinnen zu regelmäßigen Abbruchblutungen und zur bis dahin ausgebliebenen Pubertätsentwicklung. Die pulsatile GnRH-Therapie führte bei der 30jährigen Patientin zu ovulatorischen Zyklen. Im zweiten Zyklus kam es zu einer biochemischen Gravidität, im dritten Zyklus zum Eintritt einer Einlingsgravidität mit Geburt eines gesunden Knaben in der 40. SSW. Die molekulargenetische Diagnostik war bisher bezüglich des KAL-Gens ohne Ergebnis.

Diskussion: Bei primärer, hypogonadotroper Amenorrhö sollte auch an das seltene Kallmann-Syndrom gedacht werden.

den. Die Einleitung der Pubertät gelingt problemlos mit einer zyklischen Estrogen-Gestagen-Therapie. Der Kinderwunsch kann durch FSH-Stimulation oder durch pulsatile GnRH-Therapie erfüllt werden. Eine Literatursuche (PubMed) ergab lediglich 10 Schwangerschaften bei Frauen mit Kallmann-Syndrom, nur 2 davon waren unter pulsativer GnRH-Therapie entstanden.

P 58

PRIMÄRE AMENORRHÖ (SWYER-SYNDROM) – EIN FALLBERICHT

K. Plaul, W. Starker, I. Schreyer, A. Börner
Abteilung für Endokrinologie, Universitätsfrauenklinik Jena

Genetische Veränderungen sind in 50 % Ursache einer primären Amenorrhö. Die reine Gonadendysgenese 46 XY, auch als Swyer-Syndrom bekannt, ist eine dieser Störungen. Es handelt sich um eine Abnormalität der sexuellen Differenzierung. Bei derartigen Patientinnen findet sich häufig ein phänotypisch weibliches äußeres Genitale mit einem XY-Karyotyp und hypoplastischen Gonaden. Oft werden diese Patientinnen erst durch eine primäre Amenorrhö auffällig. Im Chromosomensatz können sich Deletionen des SRY-Gens oder des HY-Gens finden.

Diese Fallvorstellung berichtet von einer 18jährigen Patientin mit einer primären Amenorrhö, die jedoch e. m. zunächst nicht abgeklärt wurde, sondern ohne weitere Ursachenforschung mit einem oralen Kontrazeptivum behandelt wurde.

Nach 4 Jahren erfolgte die Vorstellung der Patientin in unserer Abteilung. Wir diagnostizierten einen hypergonadotropen Hypogonadismus sowie leicht erhöhte periphere Androgenwerte. Äußerlich zeigte sich ein unauffälliges weibliches Genitale mit geringer Klitoris hypertrophie.

Wir veranlaßten zunächst eine Karyotypisierung aus dem peripheren Blut. Hierbei wurde ein männlicher Chromosomensatz, 46 XY, diagnostiziert. Sonographisch zeigten sich echodichte Ovarien.

Darauf hin wurde die laparoskopische Gonadenentfernung geplant. Intraoperativ stellte sich ein weibliches inneres Genitale dar.

Histologisch fanden sich rechts Ähnlichkeiten mit dysplastischem Ovargewebe, links unreife Keimzellen, die weder typischem Ovargewebe noch Hodengewebe zugeordnet werden konnten.

In der Chromosomenanalyse der Gonaden zeigte sich erneut ein männlicher Karyotyp, 46 XY, ohne weitere Auffälligkeiten, speziell keine Mutationen im SRY-Gen.

Somit ist als endgültige Diagnose ein modifiziertes Swyer-Syndrom (reine Gonadendysgenese, 46 XY) am wahrscheinlichsten.

Die primär insuffiziente Diagnostik e. m. verzögert bei derartigen Patientinnen das Einleiten einer komplexen Therapie, bestehend aus Operation und folgender Hormonsubstitution. Aus diesem Grund muß bei jeder Frau mit einer primären Amenorrhö immer eine genetische Abklärung erfolgen.

P 59

FLUORESCENZDIAGNOSTIK DER ENDOMETRIOSE: MÖGLICHKEITEN UND GRENZEN

O. Buchweitz¹, R. Mangold², H. Younes-Kressin³, A. Nugent⁴, P. Moubayed⁵, E. Malik⁶

¹Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Universitätsklinikum Münster, ²Gynäkologische Tagesklinik Laupheim, ³Frauenklinik AK Bambek, Hamburg, ⁴Tagesklinik Altonaer Straße, Hamburg, ⁵Institut für Allgemeine Pathologie, Universität Lübeck, ⁶Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Krankenhaus St. Josef, Universitätsklinikum Regensburg

Einleitung: Mit der Fluoreszenzdiagnostik steht ein neues endoskopisches Verfahren zur Verfügung, welches die Detektion nichtpigmentierter und okkult Endometrioseherde verbessern kann. Ziel der Studie ist die Überprüfung der Durchführbarkeit der Fluoreszenzdiagnostik in unterschiedlichen Kliniken und die Ermittlung des diagnostischen Zugewinns.



ABSTRACTS

Methoden: 50 Patientinnen mit dem klinischen Verdacht auf minimale und milde Endometriose wurden unter Zuhilfenahme der Fluoreszenzdiagnostik in einem Universitätsklinikum, einer städtischen Klinik und einer Tagesklinik laparoskopiert. Alle Patientinnen erhielten 10–14 Stunden vor der geplanten Laparoskopie 5-Aminolävulinsäure (30 mg/kg KG) in oraler Form. Zur Induktion der Fluoreszenz wurde das D-Light-System (Storz) eingesetzt. Intraoperativ erfolgte zunächst eine lupenoptische Betrachtung des Situs unter Weißlicht und anschließend im Fluoreszenzmodus. Sämtliche Endometriose verdächtige oder fluoreszierende Areale wurden gemäß der ASRM klassifiziert und extirpiert. Der histologische Nachweis der Endometriose war Referenzstandard. Die statistische Auswertung erfolgte mittels Chi-Quadrat- und McNemar-Test.

Resultate: Die Fluoreszenzdiagnostik hat sich in allen Kliniken als praktikabel erwiesen. Insgesamt wurden 234 Biopsien unter dem visuellen oder fluoreszenzoptischen Verdacht auf eine Endometriose sowie 124 Kontrollbiopsien entnommen. Der zusätzliche Einsatz der Fluoreszenzdiagnostik führte zu einem signifikanten Zugewinn an histologisch gesicherten, nicht pigmentierten Endometrioseherden ($p < 0,001$) mit einem signifikanten Zugewinn der Sensitivität von bis zu 40 % in allen Kliniken. Die Sensitivität der Fluoreszenzdiagnostik lag bei durchschnittlich 89 % bei einer gleichzeitigen Spezifität von 71 %. Durch den zusätzlichen Einsatz der Fluoreszenzdiagnostik erhöhte sich die Anzahl der Patientinnen mit histologisch bestätigter Endometriose von 28 auf 40.

Schlußfolgerung: Die Ergebnisse der Fluoreszenzdiagnostik sind reproduzierbar. Die Fluoreszenzdiagnostik stellt, aufgrund ihrer hohen Sensitivität bei der Diagnose nichtpigmentierter Endometrioseherde, eine ideale Ergänzung zur konventionellen Weißlichtdiagnostik bei ausgewählten Patientinnen dar. Die eingeschränkte Spezifität und die Notwendigkeit eines vorübergehenden Lichtschutzes für 36 Stunden lassen sie jedoch nicht für ein generelles laparoskopisches Screening-Verfahren geeignet erscheinen.

P 60

EIN MOSAIK 47,XX,+R(Y)(P?11.1q11.2)/46,XX KARYOTYP EINER PATIENTIN IM RAHMEN EINER ZYTOGENETISCHEN DIAGNOSTIK BEI UNERFÜLLTEM KINDERWUNSCH

F. Dechend¹, B. Pabst², K. Miller², S. Schubert², G. Wilke¹, N. Graf¹
¹Gemeinschaftspraxis Algermissen, Justus, Wilke, Graf, Hildesheim, ²Institut für Humangenetik, Medizinische Hochschule Hannover

Einleitung: Im Rahmen einer Kinderwunschbehandlung stellte sich eine 27jährige Nullipara mit ihrem 25jährigen Partner zur genetischen Abklärung bei unerfülltem Kinderwunsch vor. Gynäkologisch lagen außer einer Endometriosis uteri externa keine auffälligen Befunde vor. Ihr 25jähriger Partner weist ein OAT-Syndrom auf.

Methoden: Chromosomenanalyse, Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH), Polymeraseketten-Reaktion (PCR) und Sequenzierung.

Resultate: Während die Chromosomenanalyse beim Mann einen unauffälligen männlichen Karyotyp 46,XY ergab, wurde bei der Patientin ein chromosomales Mosaik aus Zellen mit einem unauffälligen weiblichen Karyotyp 46,XX (60 %) festgestellt, und 40 % der Zellen wiesen ein zusätzliches Ringchromosom Y auf. Wir konnten dieses Ergebnis auch in Fibroblasten anderer Gewebe bestätigen (Ovar, Haut und Mundschleimhaut). Durch FISH- und PCR-Analysen konnte gezeigt werden, daß die Bruchpunkte des Ringchromosoms mit höchster Wahrscheinlichkeit in Yp11.1, wobei der größte Teil des kurzen Armes des Y-Chromosoms (einschließlich SRY und TSPY) deletiert ist, und in Yq11.2 zwischen der AZFb- und AZFc-Region liegen. Obwohl die TSPY-Cluster deletiert sind, konnten wir mittels PCR und Sequenzierung mindestens eine funktionelle Kopie nachweisen.

Schlußfolgerung: Obwohl die Region für die Entwicklung eines Gonadoblastoms deletiert ist, bleibt es durch den positiven Befund von mindestens einer funktionellen TSPY-Kopie fraglich, ob die Patientin nicht doch ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung eines Gona-

doblastoms aufweist. Nach unserem Kenntnisstand ist dies der erste Fall eines chromosomalen Mosaiks mit zwei X Chromosomen und einem Ringchromosom Y.

Weitere Studien werden durchgeführt, um den Ursprung des Ringchromosoms Y zu ermitteln.

P 61

DER NUTZEN EINES TRH-TESTS BEI KINDERWUNSCHPATIENTINNEN

M. Ludwig¹, C. Banz¹, J. Jacobeit¹, M. Epe¹, A. K. Ludwig², H. M. Schulte¹
¹Endokrinologikum Hamburg, Zentrum für Hormon- und Stoffwechselerkrankungen, Reproduktionsmedizin und Gynäkologische Endokrinologie, Hamburg, ²Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe, Universität Lübeck

Einleitung: Zur Beurteilung der Schilddrüsenfunktion und zum Erkennen einer subklinischen Hypothyreose ist der TRH-Test bei Kinderwunschpatientinnen weit verbreitet. Die Validität dieses Tests wurde bisher nur unzureichend untersucht. Kürzlich wurde ein neuer oberer Referenzwert für das basale (b)TSH von 2,5 mU/l postuliert. Zur Validierung des TRH-Tests unter Berücksichtigung dieses oberen Referenzwertes führten wir die hier vorgestellte retrospektive Datenanalyse durch.

Methoden: In der Sprechstunde eines Kollegen des Kinderwunschbereiches am Endokrinologikum Hamburg wird bei allen Kinderwunschpatientinnen seit Jahren ein TRH-Test durchgeführt. Patientinnen, die sich bei diesem Kollegen zwischen 10/99 und 10/04 vorgestellt haben, wurden in die vorliegende retrospektive Analyse eingeschlossen. Ausgeschlossen von dem Screening waren solche Patientinnen, die bereits eine vorbestehende Schilddrüsenerkrankung aufwiesen oder Schilddrüsenmedikamente einnahmen. Ausgeschlossen wurden außerdem Patientinnen mit einem bTSH von $< 1,5$ mU/l sowie mit positivem Nachweis von TPO-Antikörpern. Es gingen 373 Patientinnen in die Analyse ein.



Resultate: Bei einem bTSH von $> 1,5$ mU/l wiesen noch immer 26,3 % der Patientinnen ein ÄTSH von > 15 mU/l im TRH-Test auf. Diese Rate steigerte sich auf 50,9 % bei einem bTSH von $> 2,5$ mU/l. Wurde ein ÄTSH > 20 mU/l als Cut-off gewählt, so betrug die Rate eines positiven TRH-Tests bei einem TSH $> 1,5$, $> 2,0$, $> 2,5$ bzw. $> 3,0$ mU/l nur 0,8 %, 2,1 %, 5,4 % bzw. 12,5 %. Ferner lag bei einem bTSH $\leq 2,5$ mU/l bei einem Cut-off von 15 mU/l bzw. 20 mU/l für das ÄTSH die Rate auffälliger Tests bei 23,9 % bzw. 0 %. Andererseits zeigten nur 50 % der Patientinnen mit einem bTSH $> 4,0$ mU/l einen positiven TRH-Test.

Schlußfolgerung: Ein ÄTSH von 15 mU/l im TRH-Test spiegelt die Prävalenz einer subklinischen Hypothyreose offenbar nicht wieder, wenn man den neu gesetzten oberen Referenzwert von 2,5 mU/l für TSH akzeptiert. Ein ÄTSH von 20 mU/l ist bei Werten von $< 2,5$ mU/l der valide Parameter – allerdings finden sich auffällig wenige Pathologien mit überschießendem Anstieg im TRH-Test bei einem bTSH $> 2,5$ mU/l. Insofern scheint es uns bei einem Kollektiv anamnestisch schilddrüsengesunder Patienten sehr viel plausibler, unabhängig vom TRH-Test über die Sinnhaftigkeit einer L-Thyroxin-Therapie (kombiniert mit Jod) bei Kinderwunschpatientinnen zu entscheiden, und bei einem TSH $> 2,5$ mU/l eine solche Therapie im Falle des unerfüllten Kinderwunsches zu initiieren.

P 62

ANDROGENSPIEGEL BEI PATIENTINNEN MIT PREMATURE OVARIAN FAILURE

M. Ludwig, U. Wolters, C. Grave
Endokrinologikum Hamburg, Zentrum für Hormon- und Stoffwechselerkrankungen, Reproduktionsmedizin und Gynäkologische Endokrinologie, Hamburg

Einleitung: Der Estrogenmangel ist bei Patientinnen mit Premature Ovarian Failure (POF) wohl bekannt. Nur wenige – zumeist retrospektive, kleine Studien ($n < 40$) – berichten über Androgenspiegel bei Patientinnen mit POF. Wir haben in dieser Arbeit die Androgenspiegel bei solchen Patientinnen untersucht.

Methoden: Aus unserer Datenbank MOLIS, in der Daten aller Blutproben gespeichert sind, die von etwa 2000 Gynäkologen in unser Labor eingesendet werden, haben wir alle Patientinnen zwischen Oktober 1999 und April 2005 identifiziert, bei denen im Alter < 40 Jahre ein FSH > 20 mIU/ml und gleichzeitig ein Estradiol < 50 pg/ml gemessen wurde. Bei diesen Patientinnen haben wir ein POF angenommen ($n = 3461$).

Resultate: Die mittleren Spiegel für Testosteron ($0,53 \pm 0,61$ ng/ml), Androstendion ($1,26 \pm 0,64$ ng/ml) und DHEAS ($1,57 \pm 0,78$ µg/l) waren unauffällig. FSH war erhöht ($64,16 \pm 31,32$ mIU/ml) bei niedrigem Estradiol ($28,71 \pm 13,77$ pg/ml). Interessanterweise fand sich aber auch in einer nicht geringen Zahl von Fällen eine Hyperandrogenämie mit erhöhten Spiegeln für Testosteron ($416/1819$; 22,87 %). Bei einem Subkollektiv von 20–30 Jahre alten Patientinnen mit einem FSH ≥ 50 und einem Estradiol < 20 pg/ml ($n = 241$) bzw. < 10 Tpg/ml ($n = 186$) betrug die Wahrscheinlichkeit einer Hyperandrogenämie allerdings unter 2 %.

Schlußfolgerung: Grundsätzlich finden sich die Androgenspiegel bei der von uns definierten Gruppe von Patientinnen mit POF im Referenzbereich. Allerdings existieren durchaus auch Fälle mit einer Hyperandrogenämie. Inwieweit diese klinisch relevant war, können wir aufgrund der fehlenden klinischen Daten nicht beurteilen. Es ist nicht auszuschließen, daß präferentiell gerade in denjenigen Fällen, in denen klinisch eine Hyperandrogenämie vorlag, die Androgene bestimmt worden waren. Ferner hatten wir keine Daten bzgl. der genauen Ursache der hypergonadotropen Situation (z. B. Chromosomenanalyse, vorangehende Chemotherapie/Radiatio, Ovariectomie), so daß wir auch diesbezüglich keine Differenzierung vornehmen konnten. Schließlich spricht die Subgruppenanalyse dafür, daß mit zunehmendem Erlöschen der Ovarfunktion die Wahrscheinlichkeit einer Hyperandrogenämie zurückgeht. Wir werden für die weiteren Analysen noch zwei Kontrollgruppen (Patientinnen mit ovulatorischen Zyklen, Blutproben vom 2. bis 7. Zyklustag bzw. postmenopausale Patientinnen) einschließen und prüfen, inwieweit die Androgenspiegel von diesen Patientinnen abweichen.

P 63

SCHWANGERSCHAFT BEI AKROMEGALIE UNTER THERAPIE MIT SANDOSTATIN LAR®

C. Grave, S. Müller, J.-W. Jacobeit, S. Curschmann, M. Ludwig, H. M. Schulte
Endokrinologikum Hamburg, Zentrum für Hormon- und Stoffwechselerkrankungen, Reproduktionsmedizin und Gynäkologische Endokrinologie, Hamburg

Einleitung: Die Akromegalie hat eine Inzidenz von etwa 3–4/1 Million/Jahr. Wir betreuen interdisziplinär insgesamt 82 Akromegalie-Patienten am Endokrinologikum Hamburg. Diese Patientinnen müssen im Falle eines Kinderwunsches hinsichtlich Risiken in der Schwangerschaft, wie z. B. eines Gestationsdiabetes, eines Hypertonus bzw. anderer kardiovaskulärer Erkrankungen, beraten werden.

Methoden: Wir berichten über den Fall einer 29jährigen Patientin mit individualisierter Somatostatintherapie (Sandostatin LAR® Monatsdepot 20 mg, Novartis, Nürnberg) bei bekannter Akromegalie.

Resultate: Die Patientin stellte sich erstmalig in 03/2004 bei uns mit Amenorrhö, Libidomangel und Kopfschmerzen bei einer massiven Hyperprolaktinämie (562 ng/ml; norm: < 18 ng/ml) und kaum nachweisbaren Gonadotropinen vor. Bei auffälliger Physiognomie erfolgte zusätzlich eine IGF-1-Bestimmung, welche einen Wert von 818 ng/ml zeigte. Per MRT der Hypophyse wurde ein Makroadenom ($2,7 \times 2,0$ cm) diagnostiziert. Aufgrund des erhöhten IGF-1 und der Hyperprolaktinämie war von einem somatotrop und laktotrop sezernierenden Prozeß der Hypophyse auszugehen. Die Diagnose der Akromegalie wurde durch einen Glukosesuppressionstest bestätigt. In Absprache mit dem Neurochirurgen wurde eine präoperative Somatostatintherapie als Depotpräparat (20 mg; 05/2004) mit dem Ziel einer präoperativen Tumorreduktion begonnen. Parallel erfolgte die Therapie mit Cabergolin. Die Operation fand in 07/2004 statt. Postoperativ lag das IGF-1 bei 536 ng/ml und zeigte den nicht ausreichend kurativen Effekt der Operation, die Somatostatintherapie wurde fortgeführt. Eine erste vaginale Blutung trat bei einem Prolaktin im Referenzbereich und



ABSTRACTS

einem IGF-1 von 379 ng/ml in 09/2004 auf, sodaß bei jetzt unauffälligen Gonadotropinen von einer intakten Hypophysen-Gonaden-Achse ausgegangen werden konnte. Unter Weiterführung der Somatostatintherapie war das IGF-1 in den oberen Referenzbereich suppressierbar, von einer kontrollierten Situation war auszugehen. Die Menstruationszyklen wurden zunehmend regelmäßig und ovulatorisch. Die Patientin konzipierte dann nach Ovulationsinduktion und Zyklusmonitoring in 06/2005.

Schlußfolgerung: Eine unter Somatostatintherapie kontrollierte Akromegalie spricht nicht gegen eine Konzeption bzw. eine Schwangerschaft. Etwa 100 Schwangerschaften mit Akromegalie sind in der Literatur berichtet. Die IGF-1-Spiegel, die Grunderkrankung sowie ggf. mögliche Komplikationen müssen engmaschig überwacht werden.

P 64

EIN ZUSÄTZLICHES ZYTOLOGISCHES SCREENING IDENTIFIZIERT ZERVIKALE DYSPLASIEN IN EINER STERILITÄTSSPRECHSTUNDE

G. Loley¹, A. N. Schüring¹, C. Nöldechen², R. R. Greb¹, R. J. Lellé¹
¹Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Universitätsklinikum Münster, ²Kinderwunsch-Zentrum Göttingen

Einleitung: Patientinnen, die sich in einer Sterilitätssprechstunde vorstellen, befinden sich in der Regel in fachärztlicher Betreuung. Wir untersuchten die Frage, ob ein zusätzliches zytologisches Screening zu Beginn einer Kinderwunschbehandlung sinnvoll ist.

Methoden: Zwischen 04/1997 und 12/2000 sowie zwischen 08/2002 und 02/2004 wurde bei allen Patientinnen in der Sterilitätssprechstunde bei Erstvorstellung ein zytologischer Abstrich von der Portio entnommen. Ab 2002 wurde die ThinPrep®-Methode verwendet. Bei auffälligem zytologischem Befund erfolgte in der Regel die histologische Abklärung durch eine kolposkopisch gesteuerte Biopsie. In einer Untergruppe laparoskopierter Patientinnen wurde untersucht, ob ein tubarer Sterilitätsfaktor als Risikofaktor für auffällige Zytologie wirken kann.

Resultate: Von 2077 zytologischen Abstrichen ergaben 88 einen auffälligen Befund (4,24 %). Die PAP-Gruppen verteilten sich folgendermaßen: PAP III 12 (0,58 %), PAP IIID 64 (3,08 %), PAP IVA 10 (0,48 %), PAP IVB 2 (0,10 %).

Die histologische Abklärung ergab 5 × CIN I (0,24 %), 4 × CIN II (0,19 %), 6 × CIN III (0,29 %) und in einem Fall (0,05 %) ein Mikrokarzinom (FIGO IA1).

In einer Kontrollgruppe laparoskopierter Patientinnen mit unauffälliger PAP-Zytologie wurde in 38 von 140 Fällen (27,14 %) ein postentzündlicher Tubenfaktor nachgewiesen, dagegen war dies bei 19 von 36 laparoskopierten Patientinnen mit auffälliger Zytologie der Fall (52,78 %), $p < 0,005$.

Schlußfolgerung: Bei einem gescreenten Kollektiv können durch eine zusätzliche zervikale Abstrichentnahme im Rahmen der Sterilitätssprechstunde bisher nicht bekannte Zervixdysplasien und eventuell Karzinome diagnostiziert werden. Bei Sterilitätspatientinnen mit auffälliger PAP-Zytologie wurde ein tubarer Faktor häufiger nachgewiesen als bei Patientinnen mit unauffälliger Portiozytologie.

P 65

REGULATION DER GnRH-GENEXPRESSION IN LUTEINISIERTEN GRANULOSAZELLEN

B. Krause
IVF-Zentrum Münster

Einleitung: GnRH und GnRH-Rezeptoren sind vielfach außerhalb der hypothalamo-hypophysären Achse gefunden worden; so u. a. auch in menschlichem Ovargewebe. Dies belegt eine Sekretion des GnRH im Ovar sowie eine direkte und damit parakrine Wirkung von GnRH im Ovar. Im Gegensatz zum Hypothalamus ist für dieses „periphere“ GnRH nur wenig bekannt über die Regulationsmechanismen der GnRH-Genexpression. Im Hypothalamus sind endogene Opioide und GABA 2 bekannte und potente Modulatoren der GnRH-Sekretion.

Wir untersuchten, ob es in luteinisierten Granulosazellen vergleichbare Muster einer Regulation der GnRH-Genexpression durch diese Neurotransmitter gibt.

Methoden: Im Rahmen eines IVF-Programmes wurde nach der Follikelpunktion die Follikelflüssigkeit separiert und die enthaltenen Granulosazellen wurden durch einen Percoll-Dichtegradienten abgetrennt und in verschiedenen Kulturschalen für 3 Tage kultiviert und danach mit β -Endorphin, Naloxon, Baclofen, Muscimol bzw. Bicucullin für 24 Stunden behandelt.

Danach erfolgte eine RNA-Extraktion und die Bestimmung der GnRH-Genexpression durch Messung der GnRH-mRNA mittels semiquantitativer RT-PCR.

Resultate: Weder die Behandlung der Granulosazellen mit einem Opioid-Agonisten bzw. -Antagonisten noch einem GABA-Agonisten oder -Antagonisten allein führte zu einer signifikanten Veränderung der GnRH-mRNA. Nur eine Kombination aus Naloxon und Baclofen bewirkte eine dosisabhängige Steigerung der GnRH-Genexpression.

Schlußfolgerungen: Die Regulation der GnRH-Genexpression in luteinisierten Granulosazellen unterscheidet sich wesentlich von den bekannten Mechanismen im mediobasalen Hypothalamus. Allerdings scheinen endogene Opioide und GABA zumindest einen schwachen Einfluß auf die GnRH-Genexpression zu besitzen, welcher durch eine Kombinationstherapie eine meßbare Evidenz erreicht.

P 66

DER CAG-REPEAT-POLYMORPHISMUS IM ANDROGENREZEPTOR-GEN BEEINFLUSST DEN PHÄNOTYP DES POLYZYSTISCHEN OVARY-SYNDROMS (PCOS)

A. N. Schüring¹, A. Jürgens¹, J. Gromoll², B. Sonntag¹, M. Zitzmann², E. Nieschlag², L. Kiesel¹, R. R. Greb¹
¹Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe und ²Institut für Reproduktionsmedizin, Universitätsklinikum Münster

Einleitung: Die Ätiologie des heterogenen Polyzystischen Ovar-Syndroms (PCOS) ist ungeklärt. Es besteht aber Konsens, daß hyperandrogenämische



Effekte den charakteristischen Phänotyp mit Akne oder Hirsutismus, Zyklusstörung und ovarieller Morphologie verursachen können. Obwohl eine familiäre Häufung des PCOS beschrieben ist, konnte bisher kein einzelner verantwortlicher Gendefekt identifiziert werden. Wir untersuchten die Rolle des CAG-Repeat-Polymorphismus im Androgenrezeptor-Gen bei Frauen mit PCOS.

Methoden: In der Kinderwunschprechstunde einer Universitätsfrauenklinik wurden 135 Patientinnen mit PCOS identifiziert (Rotterdam-Kriterien), 176 Patientinnen dienten als Kontrollen. EDTA-Blut wurde zur Gewinnung von DNA aus Lymphozyten verwendet. Die Länge des mittels PCR und PAGE bestimmten CAG-Repeat-Polymorphismus wurde zwischen beiden Gruppen verglichen, mit der Zykluslänge korreliert und in einer Multifaktorenanalyse auf seine Bedeutung als Risikofaktor für PCOS getestet.

Resultate: Im Vergleich zu Kontrollen wiesen PCOS-Patientinnen eine geringere CAG-Länge auf: 23,03 vs. 23,76 ($p = 0,009$), dieser Unterschied zeigte sich für das jeweils längere CAG-Allel. Im nichtparametrischen Test war Oligomenorrhö, ein typisches phänotypisches Merkmal des PCOS, negativ mit der CAG-Repeat-Länge des längeren Allels ($p = 0,005$) korreliert. In einer Multivarianzanalyse konnte die CAG-Länge als unabhängiger Risikofaktor für PCOS identifiziert werden ($p = 0,008$).

Schlußfolgerung: Ein genetischer Polymorphismus im Androgenrezeptor-Gen beeinflusst den Phänotyp des PCOS. Möglicherweise schützen lange CAG-Allele vor PCOS, während kurze CAG-Allele dafür prädisponieren. Entsprechend war die Zykluslänge, eines der Hauptmerkmale von PCOS, negativ mit der CAG-Länge korreliert. In einer Multivarianzanalyse war die CAG-Länge ein unabhängiger Risikofaktor für PCOS. Diese Ergebnisse können dabei helfen, den variablen Phänotyp des ungeklärten Syndroms besser zu charakterisieren und Unterschiede androgener Effekte bei PCOS-Patientinnen zu erklären.

P 67

OVARIELLER UND ADRENALER ANTEIL BEI DER FUNKTIONELLEN ANDROGENISIERUNG DER FRAU

F. Botsch¹, A. Wacker¹, A. Maechtel¹, A. Ochsner¹, B. Babbel¹, E. Schulze², F. Geithövel¹

¹Zentrum für Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin Freiburg (CERF), Freiburg i. Br., ²Gemeinschaftspraxis Raue und Partner, Heidelberg

Einleitung: Kürzlich wurde anstelle der Begriffe „PCOS“ und „late onset AGS“ eine eindeutigere Klassifikation der Funktionellen Androgenisierung (FA) vorgeschlagen: „Funktionell Kutane Androgenisierung (FKA)“ und das „Funktionell Androgenisierende Syndrom (FAS) I–IV“ [1]. In der vorliegenden Studie wird der Frage nachgegangen, ob weitere Testverfahren zur Ätiologie der FA die Logistik dieser Klassifikation unterstützen.

Material: 139 Patientinnen ($25,9 \pm 5,4$ J.; BMI $26,7 \pm 6,2$ kg/m²) mit kutaner androgenisierender Symptomatik und/oder Hyperandrogenämie, Hyperinsulinämie und Adipositas wurden, wie bereits beschrieben [1], in 5 Gruppen unterteilt: FKA: Haut; FAS I: Ovar; FAS II: Nebennierenrinde; FAS III: Ovar, Fettgewebe, Pankreas; FAS IV: nicht klassifizierbar (Daten nicht gezeigt). In der vorliegenden Arbeit wurden die Ergebnisse der 17-OH-Progesteron (17-OHP)-Werte im kombinierten ACTH/Dexamethason (DEX)/GnRHA-Test und der CYP21B-Analyse dargestellt. Ziel war es, das spezifische Profil der Gruppen genauer zu charakterisieren. Für die Hormontests dienten 8 Probandinnen ($29,7 \pm 4,8$ J.; BMI $20,8 \pm 1,7$ kg/m²) und für die Genanalyse 35 Probandinnen ($26,7 \pm 5,1$ J.; BMI $21,4 \pm 1,6$ kg/m²) als Kontrolle (C).

Ergebnisse: Die 17-OHP-Werte waren in den Gruppen FAS I–III vs. C erhöht ($p < 0,0001$ – $0,03$). Im DEX-Test (adrenale Suppression) kam es gegenüber den Basiswerten zu einem Abfall von 59, 33, 93 und 33 % in den Gruppen FKA, FAS I–III (FAS I und FAS III vs. FKA und C; $p = < 0,0001$ – $0,003$) und im anschließenden DEX/GnRHA-Test (ovarielle Stimulation unter adrener Suppression) zu einem Anstieg von 59, 110 und 165 % in den Gruppen FKA, FAS I und FAS III,

während sich in der Gruppe FAS II nach wie vor ein Abfall von 84 % zeigte (FAS I und III vs. FKA, FAS II und C; $p = 0,001$ – $0,01$). Daraus ergibt sich, daß die basale 17-OHP-Erhöhung von FAS I und III ovarieller und jener von FAS II adrener Genese ist. 16 verschiedene Formen von CYP21B-Mutation/-Deletionen wurden gefunden, wovon DelCyp21B mit 18 % (C: 10 %) am häufigsten war, gefolgt von Val281Leu mit 8 % (C: 4,5 %). Der prozentuale Anteil der CYP21B-Mutation/-Deletionen in FKA, FAS I–III und in C war 22, 36, 71, 21 und 23 % (FAS II vs. FAS III und C; $p = 0,01$ – $0,02$; FAS I vs. FAS III; $p = 0,04$). In einer Multivariatanalyse ergab sich, daß basales und im ACTH-Test stimuliertes 17-OHP eine CYP21B-Mutation/-Deletion voraussagen kann ($p < 0,0001$).

Schlußfolgerungen: Die Rationale der FA-Klassifikation [1] wurde durch die Differenzierung zwischen ovarieller und adrener Genese der 17-OHP-Sekretion mittels DEX/GnRHA-Test unterstützt. CYP21B-Mutationen/-Deletionen finden sich am häufigsten in der adrener Gruppe FAS II, aber wegen der nahezu ubiquitären Verteilung dient diese Untersuchung nicht als spezifischer Klassifikationsmarker. Eine gewisse Prädiktion von Sero- zu Genotyp ergibt sich aber mit der 17-OHP-Bestimmung im ACTH-Test.

Literatur:

1. Geithövel et al. Hum Reprod 2005; 20 (Suppl 1).

P 68

INTEGRATIVER ENDOKRINOLOGISCHER UND REPRODUKTIONSMEDIZINISCHER STELLENWERT DES FUNKTIONELL-SONOGRAPHISCHEN OVAR-SCORE

A. Maechtel, F. Botsch, A. Wacker, A. Ochsner, B. Wetzka, F. Geithövel
Zentrum für Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin Freiburg (CERF), Freiburg i. Br.

Einleitung: Kürzlich wurde im Rahmen endokrinologischer und reproduktionsmedizinischer Studien [1, 2] ein neu entwickelter Ovar-Score (OS) vorgestellt. In der vorliegenden Arbeit wird



ABSTRACTS

der integrative Stellenwert des OS für die Klassifikation der Funktionellen Androgenisierung (FA) und für die Prädiktion des IVF-Outcome erläutert.

Material: 139 Patientinnen (Pat.) ($25,9 \pm 5,4$ J.; BMI $26,7 \pm 6,2$ kg/m²) mit FA wurden wie bereits zuvor beschrieben untersucht und klassifiziert [1]. Die FA wurde in 5 Gruppen unterteilt: Funktionell Kutane Androgenisierung (FKA): Haut; Funktionelles Androgenisierendes Syndrom (FAS) I: Ovar; FAS II: Nebennierenrinde; FAS III: Ovar, Fettgewebe, Pankreas; FAS IV: nicht klassifizierbar (Daten nicht gezeigt). Der mittlere OS (beider Ovarien) lag zwischen 2 und -2 (z. B. OS 2: maximaler ovarieller Durchmesser [MOD] > 30 mm; Anzahl der Follikel [AF] ≥ 8 ; zentrale Echodensität > 1/3 der maximalen ovariellen Schnittfläche; OS -2: MOD < 20 mm, AF < 3) [2]. Für jede Gruppe wurde der OS ermittelt. 8 Probandinnen ($29,7 \pm 4,8$ J.; BMI $20,8 \pm 1,7$ kg/m²) dienten als Kontrolle (C). Parallel wurde bei 61 Patientinnen ($33,2 \pm 5$ J.; BMI $23,7 \pm 4,4$ kg/m²) vor dem 1. IVF-Verfahren ein OS zur Prädiktion des IVF-Outcome und zur Festlegung der FSH-Dosis erfasst und mit verschiedenen Parametern korreliert [2], dabei wurden Pat. mit 2-Ovarien als „very high responder (VHR)“ und Pat. mit -2-Ovarien als „very poor responder (VPR)“ bezüglich einer FSH-Therapie eingeschätzt.

Ergebnisse: Der OS betrug $0,75 \pm 1,06$; $1,68 \pm 0,73$; $-0,04 \pm 1,09$, $1,33 \pm 0,85$ in den Gruppen FKA und FAS I-III (C: $0,28 \pm 0,97$); der OS-Wert von FAS I war am höchsten vs. jenem aller Gruppen und der Kontrolle ($p = 0,0058$ bis $p < 0,0001$), der OS-Wert von FAS III war signifikant höher vs. jenem von FAS II und der Kontrolle ($p = 0,002$ bis $p = 0,0006$). Der prätherapeutische OS der IVF-Pat. korrelierte negativ mit dem Alter der Pat., mit dem FSH/LH-Quotienten, und mit der FSH-Gesamtdosis und positiv mit der Anzahl der Follikel am 6. Therapietag, der Anzahl der gewonnenen Oozyten und dem Ovardurchmesser am 10 Tag nach hCG-Gabe ($p = 0,01$ bis $p < 0,0001$). Die fortlaufende Schwangerschaft/ET betrug 24 (39,3 %), es kam außerdem zu 2 Aborten, 1mal mußte der Zyklus abgebrochen werden; ein oHSS trat nicht auf.

Schlußfolgerung: 1,5/2-OS-Werte bei FAS I und III bedeuten eine hohe ovari-

elle Funktionsreserve (oFR) mit VHR, während -1/-2-OS-Werte auf eine niedrige oFR mit VPR hinweisen, typisch für die ältere Patientin mit angehobenem FSH/LH-Quotienten. Der Ovarstatus der FAS-I-Pat. bildet gewissermaßen den Gegenpol zu jenem der VPR-IVF-Pat., die sich bereits in der „menopausal transition“ befindet. Insgesamt hat sich der OS als einfaches, zuverlässiges und wichtiges diagnostisches wie auch prädiktives Mittel für die FA-Klassifikation und die Erfassung der oFR bei endokrinologischen und reproduktionsmedizinischen Fragen erwiesen.

Literatur:

1. Geithövel et al. Hum Reprod 2005; 20 (Suppl 1).
2. Wetzka et al. Hum Reprod 2005; 20 (Suppl 1).

P 69

ORALER GLUKOSETOLERANZTEST (oGTT) BEIM FUNKTIONELL ANDROGENISIERENDEN SYNDROM III DER FRAU

A. Wacker, F. Botsch, A. Maechtel, A. Ochsner, F. Geithövel
Zentrum für Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin Freiburg (CERF), Freiburg i. Br.

Einleitung: Kürzlich wurde anstelle des Begriffes „PCOS“ eine differenzierende Klassifikation vorgeschlagen: die „Funktionelle Androgenisierung (FA)“, die in die „Funktionell Kutane Androgenisierung (FKA)“ und das „Funktionell Androgenisierende Syndrom (FAS) I-IV“ [1] unterteilt wird. Die Klassifikation basiert auf einer kompakten laborchemischen Diagnostik und einem neu entwickelten funktionell-sonographischen Ovar-Score (OS) [2]. In der vorliegenden Untersuchung werden die Befunde des oGTT in den FA-Gruppen, besonders in der Gruppe FAS III detailliert analysiert.

Methoden: 139 Patientinnen (Pat.) ($25,9 \pm 5,4$ J.; BMI $26,7 \pm 6,2$ kg/m²) mit kutaner androgenisierender Symptomatik und/oder Hyperandrogenämie, Hyperinsulinämie und Adipositas wurden wie bereits beschrieben untersucht [1]. In Kürze: OS, LH/FSH, Testosteron (T, nmol/l), Glukose (Glu, mmol/l) und Insulin (Ins, pmol/l) vor (0) und 60 Min.

nach (60) einem oGTT wurden nach 12stündiger Nüchternphase bestimmt. Der OS lag zwischen 2 und -2 (z. B. OS +2: maximaler ovarieller Durchmesser [MOD] > 30 mm; Anzahl der Follikel [AF] ≥ 8 ; zentrale Echodensität > 1/3 der maximalen ovariellen Schnittfläche; OS -2: MOD < 20 mm, AF < 3) [2]. Die FA wurde in 5 Gruppen unterteilt: FKA: Haut; FAS I: Ovar; FAS II: Nebennierenrinde; FAS III: Ovar, Fettgewebe, Pankreas; FAS IV: nicht klassifizierbar (Daten nicht gezeigt). Ziel war es, das spezifische Glu-/Ins-Profil der einzelnen Gruppen und besonders der definitionsgemäß am stärksten von Störungen des Ins- und Glu-Stoffwechsels betroffenen Gruppe FAS III zu charakterisieren. 8 Probandinnen ($29,7 \pm 4,8$ J.; BMI $20,8 \pm 1,7$ kg/m²) dienten als Kontrolle (C).

Resultate: Ins-0 und Ins-60 waren in der Gruppe FAS III im Vergleich zu allen Gruppen und vs. C signifikant erhöht ($p = 0,003$ bis $p < 0,0001$). Glu-60 war in der Gruppe FAS III signifikant erhöht vs. FKA, FAS I und C ($p = 0,009$ bis $p < 0,0001$). FAS I zeigte ein signifikant erhöhtes Ins-0 und Ins-60 vs. C ($p < 0,05$). In der Gruppe FAS III ($n = 62$) fand sich am häufigsten eine Hyperinsulinämie mit normalen Glu-Werten (30/62 Pat.; 48,4 %). Eine gestörte Glu-Homöostase und/oder eine gestörte Glu-Toleranz ohne erhöhte Ins-Werte zeigten 7 FAS-III-Pat. (11,3 %). Bei 11 FAS-III-Pat. (18 %) wurden erhöhte Glukose- und Insulinwerte unterschiedlicher Konstellation gemessen. Bei 9 FAS-III-Pat. (14,5 %) lag ein manifester Diabetes mellitus Typ 2 vor. Unauffällige Glu- und Ins-Werte zeigten 5 dieser Pat. (8 %).

Schlußfolgerung: Die detaillierte Untersuchung der Störungen im Glu-/Ins-Haushalt bei der FA, insbesondere bei FAS III, weist auf die breite Varianz hin, die von einer leichten postprandialen Hyperinsulinämie bis hin zum manifesten Diabetes mellitus Typ 2 reicht. Dabei ist zu beachten, daß es hier zu Neudiagnosen im Rahmen einer subtilen Diagnostik einer FA gekommen ist, ein Ergebnis, das um so mehr darauf hinweist, wie hilfreich eine spezifische Klassifikation der FA für das therapeutische Procedere ist.

Literatur:

1. Geithövel et al. Hum. Reprod 2005; 20 (Suppl 1).
2. Wetzka et al. Hum Reprod 2005; 20 (Suppl 1).

**P 70****PHYSIOLOGISCHE ROLLE VON IONENKANÄLEN IN HUMANEN GRANULOSAZELLEN VON IVF-PATIENTINNEN**

L. Kunz¹, A. Bulling¹, M. Traut¹, J. Richter¹, D. Berg², U. Berg², A. Mayerhofer¹
¹Anatomisches Institut am Biederstein, Ludwig-Maximilians-Universität, München, ²A.R.T. Bogenhausen, München

Einleitung: Granulosazellen (GZ) sind eine wesentliche Komponente bei der Produktion von Sexualsteroiden im Verlauf des weiblichen Zyklus. Wir haben in diesen Zellen verschiedene Typen von Ionenkanälen identifiziert und es zeigt sich immer mehr, daß diese Kanäle im Zusammenspiel mit lokalen ovariellen Signalmolekülen an der Regulation der Progesteronproduktion beteiligt sind.

Methoden: GZ von IVF-Patientinnen wurden in Primärkultur gehalten und mit immunzytochemischen, molekularbiologischen und elektrophysiologischen Methoden untersucht. Zusätzlich wurden gleichartige Experimente mit GZ von PCOS-Patientinnen (PCOS-GZ) durchgeführt. Die Regulation der Progesteronproduktion der GZ durch verschiedene Stimulationsbedingungen wurde mittels ELISA ermittelt. Paraffinschnitte aus ovariellen Gewebe wurden immunhistochemisch analysiert.

Resultate: Die Existenz der Ionenkanaltypen $\text{Na}_v1.7$, BK_{Ca} und $\text{K}_v4.2$ konnte immunzytochemisch und mittels RT-PCR gezeigt werden. Wie durch Patch-Clamp-Messungen nachgewiesen wurde, sind diese Kanäle in GZ funktionell und werden direkt durch hCG und GABA ($\text{Na}_v1.7$) bzw. Sexualsteroiden ($\text{K}_v4.2$) beeinflusst. Zusätzlich wird durch eine hCG-Behandlung über 24 h die mRNA-Menge für $\text{Na}_v1.7$ und BK_{Ca} vermindert. Vergleichende Studien an PCOS-GZ ergaben viele Übereinstimmungen mit normalen GZ, z. B. läßt sich auch in PCOS-GZ die Progesteronproduktion durch hCG stimulieren und es sind die gleichen Ionenkanaltypen aktiv. Wir haben jedoch auch deutliche Unterschiede gefunden: die Expression des BK_{Ca} -Kanals wird beispielsweise in PCOS-GZ im Gegensatz zu normalen GZ nicht durch hCG reguliert.

Schlußfolgerung: Der Einfluß des Gonadotropins hCG auf Funktion und Trans-

kription einiger in GZ nachgewiesener Ionenkanäle einerseits und die Auswirkung von Modulatoren der Kanalaktivität auf die Progesteronproduktion andererseits legen nahe, daß diese Kanäle eine wichtige Rolle bei der Regulation der Hauptfunktion der GZ spielen. Ob dies über die Veränderung intrazellulärer Ionenkonzentrationen oder des Membranpotentials gesteuert wird, muß noch untersucht werden. Die gefundenen Unterschiede zwischen PCOS-GZ und normalen GZ könnten Hinweise auf GZ-bedingte Ursachen des PCOS liefern.

Förderung: DFG (Graduiertenkolleg 333)

P 71**HCG REGULIERT IGFBP-1 UND PROLAKTIN IN DEZIDUALISIERTEN HUMANEN ENDOMETRIALEN STROMAZELLEN**

H. Fluhr, S. Krenzer, M. Deperschmidt, M. Zwirner, D. Wallwiener, P. Licht
Universitätsfrauenklinik Tübingen

Einleitung: Eines der ersten embryonalen Signale während der Implantation ist das Choriongonadotropin des Menschen (hCG). Die Expression von LH/hCG-Rezeptoren im humanen Endometrium ist nachgewiesen und deutet auf eine lokale parakrine Funktion von hCG in der frühen Implantationsphase hin. Insulinlike growth factor binding protein-1 (IGFBP-1) und Prolaktin (PRL) spielen bei der endometrialen Differenzierung sowie bei der Regulation der Rezeptivität des Endometriums eine entscheidende Rolle. Mit dieser Studie wurde der Einfluß von hCG auf die Expression von IGFBP-1 und PRL in dezidualisierten humanen endometrialen Stromazellen *in vitro* untersucht.

Methoden: Endometriale Stromazellen wurden aus Hysterektomie-Präparaten von Patientinnen in der Lutealphase isoliert. Nach Überprüfung der Reinheit der Zellkultur mittels Durchflußzytometrie erfolgte die Dezidualisierung *in vitro* durch die Zugabe von $1 \mu\text{M}$ Progesteron und 30 nM Estradiol über neun Tage. Am Tag 9 wurden die Zellen für 24 h und 48 h mit rekombinantem hCG ($0,01$ – 100 IU/ml) inkubiert. Die Messung der Expression von IGFBP-1 und PRL auf mRNA-Ebene erfolgte mittels

semiquantitativer Real-time-RT-PCR. Die Proteinsekretion wurde anhand eines ELISA für IGFBP-1 und eines IRMA für PRL bestimmt.

Resultate: Durch die Dezidualisierung *in vitro* erfolgte ein regelrechter Anstieg der Expression und Sekretion von IGFBP-1 und PRL innerhalb von 9 Tagen. Die Inkubation mit hCG für 24 und 48 Stunden am Tag 9 bewirkte eine dosis- und zeitabhängige signifikante Reduktion von IGFBP-1-mRNA (48 h 100 IU : $22 \pm 10 \%$; $p < 0,01$) und Protein (48 h 100 IU : $11 \pm 2 \%$; $p < 0,01$). Die Expression und Sekretion von Prolaktin wurde ebenfalls durch hCG ($1, 10, 100 \text{ IU/ml}$) signifikant reduziert.

Schlußfolgerung: Diese Ergebnisse zeigen, daß hCG die Expression von IGFBP-1 und PRL – zwei bekannten Dezidualisierungsmarkern – in endometrialen Stromazellen dosis- und zeitabhängig senken kann. HCG als eines der ersten Signale des Embryos scheint folglich an der Regulation der endometrialen Rezeptivität und Differenzierung während der Implantation beteiligt zu sein. Insbesondere durch den Einfluß von hCG auf IGFBP-1 könnte der Embryo den Schluß seines eigenen Implantationsfensters verzögern.

P 72**TIMP-1, -2 UND -3 IN ENDOMETRIALEN STROMAZELLEN WÄHREND DER DEZIDUALISIERUNG UND UNTER DEM EINFLUSS VON HCG**

S. Krenzer, H. Fluhr, M. Deperschmidt, D. Wallwiener, P. Licht
Universitätsfrauenklinik Tübingen

Einleitung: Tissue inhibitors of matrix metalloproteinases (TIMPs) modulieren spezifisch die Aktivität von Matrixmetalloproteinasen (MMPs). Bei der Implantation des Embryos sind vom Trophoblasten sezernierte MMPs für die Invasion in das Endometrium entscheidend. Endometriale TIMPs wirken als regulierende Gegenspieler der embryonalen MMPs in der frühen Implantationsphase. Die Rezeptivität des Endometriums in der Lutealphase wird wesentlich durch die Dezidualisierung endometrialer Stromazellen (ESC) bestimmt. Das Choriongonadotropin des Menschen (hCG) spielt bei der embryo-maternalen Kontaktauf-



ABSTRACTS

nahme als eines der ersten embryonalen Signale eine wesentliche Rolle. In diesem Projekt wurde die Expression von TIMP-1, -2 und -3 in humanen ESC während der Dezidualisierung *in vitro* sowie unter dem Einfluß von hCG untersucht.

Methoden: ESC wurden aus Hysterektomie-Präparaten von Patientinnen in der Lutealphase isoliert. Nach Überprüfung der Reinheit der Zellkultur mittels Immunfluoreszenzfärbung erfolgte die Dezidualisierung *in vitro* durch die Zugabe von 1 µM Progesteron und 30 nM Estradiol über neun Tage. Am Tag 9 wurden die Zellen für 24 h mit rekombinantem hCG (0,01–100 IU/ml) inkubiert. Die mRNA-Expression von TIMP-1, -2 und -3 wurde mittels semi-quantitativer Real-time-PCR bestimmt.

Resultate: Im Verlauf der Dezidualisierung zeigte sich ein rascher Anstieg der Expression von TIMP-3, beginnend am Tag 3, kulminierend am Tag 6 ($1041 \pm 116\%$; $p < 0,01$ vs. Tag 0) und wieder abfallend am Tag 9. Die Expression von TIMP-2 war an den Tagen 3 und 6 signifikant reduziert und am Tag 9 wieder unverändert. Nach einer Reduktion von TIMP-1 am Tag 3 erfolgte zum Tag 9 hin ein signifikanter Anstieg ($p < 0,01$ vs. Tag 0). HCG in den Konzentrationen 0,1, 1, 10 und 100 IU/ml für 24 h am Tag 9 reduzierte signifikant die Expression von TIMP-3 (1 IU/ml : $49,8 \pm 5,2\%$; $p < 0,01$). Demgegenüber zeigte sich bei TIMP-2 und -1 eine Reduktion nach Inkubation mit 0,01 und 0,1 IU/ml hCG, während höhere Konzentrationen keinen Einfluß hatten.

Schlußfolgerung: Die unterschiedlichen Expressionsmuster von TIMP-1 und -2 sowie insbesondere von TIMP-3 im Verlauf der Dezidualisierung *in vitro*, die der Lutealphase *in vivo* entspricht, unterstreichen ihre regulatorische Bedeutung für die Implantation. Der Einfluß von hCG auf die Expression von TIMP-1, -2 und -3 deutet darauf hin, daß der Embryo durch dieses frühe hormonelle Signal eine Einflußmöglichkeit auf das Milieu an seinem Implantationsort hat.

P 73

SYNDEKANE – ADHÄSIONSPROTEINE MIT MAXIMALER EXPRESSION IN DER SEKRETIONS-PHASE DES MENSCHLICHEN ENDOMETRIUMS

A. Germeyer, M. Klinkert, A. Huppertz, R. Popovici, T. Strowitzki, M. von Wolff
Abteilung für Gynäkologische Endokrinologie und Fertilitätsstörungen, Universitätsfrauenklinik Heidelberg

Einleitung: Syndekane sind multifunktionelle Adhäsionsproteine mit einem Funktionsspektrum, welches auch eine Bedeutung dieser Proteine in der Regulation des humanen Endometriums nahe legt. So spielen Syndekane eine Rolle in der Angiogenese, der Zell-Zell-Interaktion sowie der Migration u. a. von Immunzellen. Dennoch ist bisher kaum etwas über die Expression von Syndekanen im menschlichen Endometrium bekannt. Ziel der Studie war deshalb, erstmals die Expression der ganzen Syndekangefamilie systematisch unter Anwendung verschiedener Techniken im Endometrium zu untersuchen.

Material und Methoden: Von 29 gesunden, regelmäßig menstruiierenden Frauen wurden endometriale Biopsien in der mittleren bis späten proliferativen bzw. mittleren sekretorischen Phase, nach Einverständniserklärung der Frauen, gewonnen. Alle vier Syndekane wurden mittels Real-time-PCR im Gesamtendometrium untersucht, gefolgt von RNase-Protection-Assays von Syndekan-1 und Syndekan-4 in Fraktionen endometrialer Epithelzellen, Stromazellen, CD45-positiven Immunzellen und CD31-positiven Endothelzellen. Immunhistochemische Untersuchungen von Syndekan-1 und -4 mittels kommerziell erhältlicher Antikörper dienten der Lokalisationsanalyse der Syndekane.

Resultate: Alle vier Syndekane konnten in Gesamtendometrium nachgewiesen werden. Die höchste Konzentration fand sich vom Syndekan-2. Syndekan-1 und -4 wurden zyklusabhängig exprimiert, weswegen diese Syndekane systematisch weiteranalysiert wurden: In allen untersuchten Zellfraktionen, bestehend aus Stromazellen, Epithelzellen und CD45-positiven Immunzellen konnten Syndekan-1 und Syndekan-4 gefunden werden. Dabei zeigte sich in Epithelzellen eine ansteigende Expression sowohl von

Syndekan-1, als auch Syndekan-4 in der sekretorischen Phase. Die starke epitheliale Expression von Syndekan-1 und -4 in der Sekretionsphase wurde immunhistochemisch bestätigt.

Schlußfolgerung: Die gesamte Syndekangefamilie wird im humanen Endometrium in unterschiedlichen Konzentrationen exprimiert. Die Expressionszunahme von Syndekan-1 und Syndekan-4 in endometrialen Epithelzellen der Sekretionsphase deutet auf eine Bedeutung dieser Adhäsionsproteine bei der Regulation des sekretorisch transformierten Endometrium hin.

P 74

GALEKTIN-9: EIN NEUER ENDOMETRIALER EPITHELIALER MARKER FÜR DIE MITTLERE UND SPÄTE SEKRETORISCHE PHASE UND FÜR DIE DEZIDUA

R. M. Popovici, M. S. Krause, A. Germeyer, T. Strowitzki, M. von Wolff
Abteilung für Gynäkologische Endokrinologie und Fertilitätsstörungen, Universitätsfrauenklinik Heidelberg

Einleitung: Die Galektin-Familie spielt eine wichtige Rolle bei der Regulation von Zellwachstum, Zelladhäsion, Apoptose, Entzündung und Immunmodulation. Diese Funktionen sind alle für die zyklische Veränderung des Endometriums sowie für die Implantation notwendig. Wir untersuchten die Expression und Regulation von Galektin-9, einem β -Galaktosid-bindendem Lektin im menschlichen Endometrium.

Methoden: Galektin-9-mRNA und -Protein wurde in Biopsien von exakt datierten Proben zu verschiedenen Zeitpunkten des Menstruationszyklus und in der Dezidua der Frühschwangerschaft, wie auch in den unterschiedlichen Zellkompartimenten des Endometriums untersucht.

Resultate: Wir konnten erstmalig zeigen, daß Galektin-9-mRNA in menschlichen endometrialen Epithelzellen exprimiert wird und die Expression in der Sekretionsphase vs. der Proliferationsphase sowie in der Dezidua signifikant ansteigt.

Die Produktion des Galektin-9-Proteins steigt ebenfalls in menschlichen endo-



metrialen Epithelzellen in Sekretionsphase und Dezidua im Vergleich zur Proliferationsphase signifikant an.

Schlußfolgerungen: Interessanterweise gleicht das Expressionsmuster von Galektin-9 dem von Placental Protein 14 (PP14), welches einen etablierten Marker für die endometriale Aktivität darstellt. Aufgrund unserer Ergebnisse und der bisher untersuchten Funktionen von Galektinen schlagen wir Galektin-9 als neuen endometrialen Marker für das Implantationsfenster im menschlichen Organismus vor.

P 75

RETROSPEKTIVE KONTROLLIERTE UNTERSUCHUNG ZUR KOINZIDENZ VON ENDOMETRIOSE UND UTERUS SEPTUS

F. Nawroth¹, G. Rahimi², C. Nawroth², D. Foth², M. Ludwig¹, T. Schmidt²

¹Endokrinologikum Hamburg, Zentrum für Hormon- und Stoffwechselerkrankungen, Reproduktionsmedizin und Gynäkologische Endokrinologie, Hamburg, ²Universitätsfrauenklinik am Klinikum der Universität zu Köln

Einleitung: Seit längerem ist bekannt, daß ein Zusammenhang zwischen Fehlbildungen des Müllerschen Gangsystems und der Endometriose besteht. Während dies für obstruktive Formen unumstritten ist und auf die vermehrte retrograde Menstruation zurückgeführt wird, wird eine Assoziation mit nichtobstruktiven uterinen Fehlbildungen kontrovers diskutiert. Das Ziel dieser Untersuchung bestand in der Klärung einer möglichen erhöhten Inzidenz der Endometriose bei Patientinnen mit einem *Uterus septus/subseptus*.

Methoden: Wir werteten retrospektiv 120 Patientinnen (29,4 ± 4,7 Jahre; Median ± SD) mit einem *Uterus septus/subseptus* aus. Als Kontrollen dienten 486 konsekutive Patientinnen mit unerfülltem Kinderwunsch (30,8 ± 6,3 Jahre) ohne uterine Fehlbildung (unauffällige Hysteroskopie und Laparoskopie).

Resultate: Bei vergleichbarer Inzidenz der Dysmenorrhö in beiden Gruppen war die Inzidenz der Endometriose bei den Patientinnen mit einem septierten Uterus signifikant höher (25,5 % vs. 15,2 %; p = 0,006).

Schlußfolgerung: Unsere Studie beschreibt eine erhöhte Endometriose-Inzidenz beim *Uterus septus/subseptus*. Bei Bestätigung dieses Phänomens in weiteren Untersuchungen könnte dies ein zusätzlicher Grund für die Indikationsstellung zur Hysteroskopie/Laparoskopie bei septiertem Uterus sein.

P 76

EINE HEMMUNG DER PHOSPHORYLIERUNG DES EGF-REZEPTORS UND DER AKTIVITÄT DER PHOSPHATIDYLINOSITOL-3-KINASE FÜHRT ZUR INHIBIERUNG DER ENDOZYTÖSE DES DERMATANSULFAT-PROTEOGLYKANS DECORIN IN HUMANEN FIBROBLASTEN

M. Götte, D. D. Sofeu Feugaing, A. N. Schüring, L. Kiesel, R. R. Greb
Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Universitätsklinikum Münster

Einleitung: Das Dermatansulfat-Proteoglykan Decorin wird von Stromazellen des humanen Endometriums in großer Menge exprimiert. Eine E2-Behandlung führt zu einer weiteren Expressionssteigerung. Die E2-abhängige Regulation der Decorin-Expression könnte eine wichtige Rolle bei der Regeneration des Endometriums im Verlauf des Menstruationszyklus spielen [Yanaihara, Fertil Steril 2005]. Darüber hinaus trägt eine erhöhte Decorin-Expression zu Veränderungen der extrazellulären Matrix im Kontext der Aktivierung des Myometriums bei [Wu, Am J Physiol 2000]. Vor kurzem wurde gezeigt, daß Decorin die Signaltransduktion durch den EGF-Rezeptor (EGFR) und den IGF-Rezeptor moduliert [Schönherr, J Biol Chem 2005].

Methoden: Da die extrazelluläre Konzentration von Decorin sowohl von der Synthese als auch von dessen Abbau bestimmt ist, untersuchten wir die Endozytose von Decorin in Kulturen humaner Fibroblasten in einem *In-vitro*-System und mittels konfokaler Immunfluoreszenzmikroskopie.

Resultate: Tyrphostin AG1478, ein spezifischer Inhibitor der EGFR-Phosphorylierung, verringerte die Decorin-Endozytose um 50 %, während ein Inhibitor der IGF-Phosphorylierung keinen Effekt hervorrief. Wortmannin, ein Inhibitor

der Phosphatidylinositol-3-Kinase, hemmte die Decorin-Endozytose zu 75 %. Die Überexpression des Clathrin-bindenden Hrs-Proteins führt zu einer Blockierung des EGFR in frühen Endosomen. Hrs-überexprimierende Zellen zeigten einen stark verzögerten Decorin-Abbau und akkumulierten Decorin in Vesikelclustern. Mittels konfokaler Lasermikroskopie konnte gezeigt werden, daß nach 10minütiger Internalisierung in humanen Fibroblasten 10 % des Decorins mit dem EGFR kolokalisierte. Diese Kolo-kalisation nahm nach Tyrphostin-Behandlung um 50 % ab. Eine Zerstörung von „Lipid Rafts“ durch Filipin-Behandlung führte zu einer 90%igen Verminderung der Kolo-kalisation.

Schlußfolgerungen: Ein großer Teil des extrazellulären Decorins wird über einen Endozytoseweg internalisiert, der durch EGFR- und PI3-Kinase-vermittelte Signaltransduktion, nicht aber durch den IGF-EGFR beeinflusst wird. Die Decorin-Endozytose könnte hierbei einen Mechanismus zur negativen Regulation der EGF-Rezeptordichte darstellen. Unsere Ergebnisse sind für das mechanistische Verständnis physiologischer und pathophysiologischer Prozesse im Kontext steroidabhängiger Funktionen des Uterus, wie der Regeneration des Endometriums während des Menstruationszyklus und der Stimulation der Kontraktilität des Myometriums, von Bedeutung.

P 77

DIE KLEINEN LEUCINREICHEN PROTEOGLYKANE BIGLYCAN UND DECORIN NUTZEN DIVERGIERENDE ENDOZYTÖSEWEGE IN HUMANEN FIBROBLASTEN

M. Götte, D. D. Sofeu Feugaing, J. Steinhard, A. N. Schüring, L. Kiesel, R. R. Greb
Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Universitätsklinikum Münster

Einleitung: Während der Implantation von Mäuseembryonen ist die Expression der Dermatansulfat-Proteoglykane Biglycan und Decorin unterschiedlich reguliert. Während Biglycan in Regionen des dezidualisierten Endometriums mit dicken Kollegenfibrillen assoziiert ist, tritt Decorin in nichtdezidualisierten



ABSTRACTS

Bereichen in Assoziation mit dünnen Kollagenfibrillen auf [San Martin, Cell Mol Biol 2003; San Martin, Reproduction 2003]. In humanen extravillösen Trophoblasten kontrolliert Decorin Proliferation, Migration und Invasivität und trägt damit zu zentralen Prozessen der Frühschwangerschaft bei [Xu, Biol Reprod 2002].

Methoden: Endozytose ist ein wichtiger Mechanismus zur Kontrolle extrazellulärer Ligandenkonzentrationen. Wir untersuchten die Endozytose von [³⁵S]-Sulfat-markiertem, HPLC-gereinigtem Biglycan und Decorin in humanen Fibroblasten in einem *In-vitro*-System. Mechanismen der Endozytose von Biglycan und Decorin sollten durch den Einsatz pharmakologischer Inhibitoren spezifischer Endozytosewege aufgeklärt werden.

Resultate: Chlorpromazin, ein Inhibitor der Clathrin-vermittelten Endozytose, hemmte die Internalisierung von Biglycan zu 40 %. Filipin, ein Inhibitor der Caveolae-vermittelten Endozytose, und Tyrphostin AG1478, ein spezifischer Inhibitor der EGF-Rezeptorphosphorylierung, hatten keinen Einfluß auf die Endozytose von Biglycan. Im Gegensatz dazu hemmte Filipin die Decorin-Endozytose zu 30 %, während sowohl Chlorpromazin als auch Tyrphostin diese zu 50 % inhibierten. Eine Kombination von Chlorpromazin und Filipin führte zu einem additiven Effekt in der Hemmung der Decorin-Endozytose, nicht aber der Biglycan-Internalisierung. Eine gleichzeitige Behandlung mit Chlorpromazin und Tyrphostin führte für keines der Proteoglykane zu einem additiven Effekt.

Schlußfolgerungen: Aus der unterschiedlichen Suszeptibilität gegenüber pharmakologischer Hemmung folgern wir, daß sich die Endozytosemechanismen von Biglycan und Decorin unterscheiden. Die Endozytose dieser Proteoglykane scheint ein weiterer Mechanismus zu sein, durch den Stromazellen die extrazelluläre Konzentration von Biglycan und Decorin regulieren. Zukünftig ist die Rolle dieser Ergebnisse bei der Umstrukturierung der extrazellulären Matrix im Rahmen der Implantation aufzuklären.

P 78

TESTOSTERONUNDECANOAT (NEBIDO®) IN DER BEHANDLUNG VON FRAU-ZU-MANN-TRANSGENDER

J. W. Jacobeit, M. Epe, U. Hugo, M. Ludwig, H. M. Schulte
Endokrinologikum Hamburg, Zentrum für Hormon- und Stoffwechselerkrankungen, Reproduktionsmedizin und Gynäkologische Endokrinologie, Hamburg

Einleitung: Testosteronundecanoat (Nebido®, Jenapharm) – ein Ester des natürlichen Testosterons in 17β-Position – ist in Deutschland seit Ende 2004 für die Behandlung des Hypogonadismus des Mannes zugelassen. Eine kontinuierliche physiologische Hormonsubstitution ist bei Transgendern sowohl vor der geschlechtsangleichenden Operation als auch lebenslang danach nötig. Es war daher naheliegend, Testosteronundecanoat (TU) bei der gegengeschlechtlichen Hormontherapie von Frau-zu-Mann-Transgendern anzuwenden. Eine Anwendung bei transsexuellen Patienten ist bisher noch nicht in Studien untersucht.

Methoden: Seit November 2004 wurden insgesamt 13 transsexuelle Patienten (mittleres Alter 33 Jahre, ± 6) mit TU behandelt. Die Diagnose wurde entsprechend den geltenden Standards in enger Kooperation mit dem Sexualtherapeuten gestellt. Entsprechend den Empfehlungen zur Behandlung und zum Monitoring unter einer Substitutionstherapie wurden engmaschige Laborkontrollen (Hb, HK, Gesamttestosteron, SHBG, Dihydrotestosteron, LH, FSH, Estriol, Estradiol) vor und während der Therapie durchgeführt.

Resultate: Von 13 Patienten führen 12 Patienten die Therapie bis jetzt weiter. Bei einem Patienten führte eine ausgeprägte Spritzenphobie zum Abbruch der Behandlung mit TU.

Vor Beginn der gegengeschlechtlichen Therapie betrugen die gemittelten Testosteronwerte $0,5 \pm 0,2$ ng/l (Gesamttestosteron $< 0,6$ ng/l).

Unter der Therapie erreichten die Testosteronspiegel 6 Wochen nach der Erstinjektion ($4,5 \pm 1$ ng/l) und 12 Wochen ($6,5 \pm 1,2$ ng/l) nach Gabe der Loadingdosis von je 1000 mg TU i. m. den

männlichen Referenzbereich (Gesamttestosteron 2,4–8,3 ng/l). Unerwünschte Nebenwirkungen wurden nicht beobachtet. Der Applikationszeitraum konnte bei bisher einem Patienten um 2 Wochen auf 14 Wochen verlängert werden.

Schlußfolgerungen: TU ist eine sichere und effektive Therapie bei Transgendern. Die dreimonatliche Injektionstherapie ist für den Patienten eine bequeme Therapiemöglichkeit einer Testosteronsubstitution im Rahmen einer gegengeschlechtlichen Hormontherapie.

Die Ergebnisse bestätigen ausnahmslos die positiven Erfahrungen, die bisher in der Anwendung gesammelt werden konnten. Ein Monitoring und Anpassungen des Applikationsintervalls unter der Therapie sind nötig.

P 79

GLYKOSAMINOGLYKANE BEEINFLUSSEN DIE VEGF-SEKRETION IN MENSCHLICHEN GRANULOSAZELLEN

J. Neulen¹, H. Bakera¹, R. Grümmer², K. Motejlek¹
¹Gynäkologische Endokrinologie, Universitätsklinikum Aachen, ²Institut für Anatomie, Universitätsklinikum Essen

Einleitung: VEGF (vascular endothelial growth factor) spielt bei der Ausbildung von Blutgefäßen sowohl bei der Wundheilung als auch beim Tumorwachstum und beim Menstruationszyklus der Frau eine zentrale Rolle. Bei letzterem fördern Granulosazellen durch die Produktion von VEGF das Wachstum von Blutgefäßen im reifenden Follikel und späteren Corpus luteum. Von den Glykosaminoglykanen Hyaluronsäure und Chondroitin-4-Sulfat, welche in der follikulären Basallamina und zwischen den Follikelzellen präsent sind, wird vermutet, daß sie Granulosazellfunktionen, wie Proliferation und Steroidbildung während der Follikelentwicklung regulieren können. Das Ziel unserer Forschung war herauszufinden, ob und wie diese Substanzen die VEGF-Sekretion in humanen Granulosazellen beeinflussen können.

Methoden: Granulosazellen wurden von Patientinnen, die sich einer *In-vitro*-Fertilisation unterzogen, während der Oo-

zytenentnahme gewonnen und aufgereinigt. Die Zellen wurden in Kulturschalen, die mit Hyaluronsäure oder Chondroitin-4-Sulfat in unterschiedlichen Konzentrationen beschichtet waren, bis zu 17 Tagen kultiviert. Kontrollschalen verwendete man unbeschichtet. 24 Stunden nach der Zellpräparation erneuerte man das Kulturmedium. Danach wurde jeden vierten Tag im konditionierten Medium der VEGF-Gehalt über ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) ermittelt.

Resultate: Granulosazellen, welche mit 30, 100 oder 500 µg/ml Hyaluronsäure

gezüchtet worden waren, weisen im Vergleich zu den Kontrollzellen eine ausgeprägt dosisabhängige und signifikante Reduktion von circa 60 % in der VEGF-Sekretion auf. Die Wirkung der Hyaluronsäure ist spezifisch, da durch eine Vorbehandlung der Substanz mit Hyaluronidase dieser Effekt nicht erzielt wird und sich die Granulosazellen den VEGF-Konzentrationen der Kontrollen angleichen. Auf 30, 100 oder 500 µg/ml Chondroitin-4-Sulfat gewachsene Granulosazellen produzieren im Gegensatz zur Hyaluronsäure signifikant 1,8mal mehr VEGF als die Kontrollzellen. Auch hier handelt es sich um eine spezifische

Reaktion, die bei einer Vorbehandlung der Substanz mit Chondroitinase verschwindet.

Schlußfolgerungen: Hyaluronsäure senkt die VEGF-Produktion in Granulosazellen konzentrationsabhängig während Chondroitin-4-Sulfat diese erhöht. Beide Glykosaminoglykane wirken spezifisch und beeinflussen somit die VEGF-Sekretion in Granulosazellen.

Unterstützt von: DFG GR1138/8-1.



1. DVR-KONGRESS – ABSTRACTS

VERZEICHNIS DER ERSTAUTOREN

Albrecht M.	297	Iosub R.	305	Paul K.	323
Becker M.	305	Isachenko V.	315	Popovici R. M.	330
Behre H. M.	307	Jacobeit J. W.	332	Pühse G.	306
Bodri D.	316	Keck G.	317	Rajczyk K.	314
Bohlmann M. K.	319	Klement N.	313	Rebmann V.	318
Borkenhagen A.	314	Kliesch S.	306, 307	Schuppe H.-C.	299, 309
Botsch F.	327	Krause B.	326	Schüring A. N.	326
Buchweitz O.	323	Krenzer S.	329	Seufert R.	317
Clement-Sengewald A.	320	Kunstmann A.	311	Starker W.	318
Dechend F.	324	Kunz L.	329	Tüttelmann F.	300
Ditzel N.	298	Kupka M.	315	Vogt P. H.	298
Endo F.	305	Loley G.	326	Von Otte S.	321
Ehmcke J.	297	Ludwig A. K.	311	Wacker A.	328
Fetic S.	301	Ludwig M.	301	Weidinger S.	303
Finas D.	308	Ludwig M.	324, 325	Weißborn U.	316
Fluhr H.	329	Luetjens C. M.	299	Wember F.	304
Friess S. C.	323	Maechtel A.	327	Wisch S.	312
Gassei K.	297	Menzel V. A.	302	Wischmann T.	312
Germeyer A.	330	Montag M.	316, 321, 322	Zitta K.	300
Götte M.	331(2)	Nawroth F.	331	Zitzmann M.	308, 309, 310, 313
Grave C.	325	Neulen J.	332		
Henkel R.	310	Nowak O.	312		
Hipler U.	302	Paasch U.	304		
Hoppe I.	319, 320, 322	Pesch S.	303		

1. DVR Kongress Münster 2005 - Programmübersicht

Mittwoch, 07.12.2005

Begrüßungsabend im historischen Rathaus des Westfälischen Friedens

Donnerstag, 08.12.2005

Plenarvortrag E. Schwinger, Lübeck Präimplantationsdiagnostik (PID) - Medizinische Indikation oder unzulässige Selektion ?

Genetische Diagnostik Y. Stöbel-Richter, Leipzig Reproduktionsmedizin und PID - Einstellung und Wissen in der deutschen Bevölkerung
H. Van der Ven, Bonn Polkörperdiagnostik - Stand der deutschen Studie und aktuelle Ergebnisse
A. Geipel, Bonn Pränataldiagnostik nach Assistierter Reproduktion

Testis und Spermien H. Hatt, Bochum Olfaktorische Rezeptoren auf Spermatozoen
M. Simoni, Münster Genetik des Hypogonadotropen Hypogonadismus
F.M. Köhn, München Sperma-Unverträglichkeiten – echte Allergie oder psychosomatisches Krankheitsbild ?

Qualitätsmanagement und Standards T.C. Cooper, Münster Andrology - Update to QuaDeGA and WHO Manual
F. Gagsteiger, Ulm Stimulationsprotokolle für die Frau
Serono Symposium V. Baukloh, Hamburg Qualitätsmanagement im reproduktionsbiologischen Labor und neue EU-Richtlinien

Plenarvortrag H. Hepp, München Neue Richtlinien der Bundesärztekammer zur Assistierten Reproduktion

Fertilitätsreserve F. Nawroth, Hamburg Kryokonservierung von Ovargewebe- Technik zwischen Fertilitäts-erhaltung und life style
C. Andersen, Kopenhagen Pregnancies after re-transplantation of cryopreserved ovaries in cancer patients
W. Krause, Marburg Spermien-Kryokonservierung - notwendige oder übertriebene Vorsorge?

Sexualität O. Hiort, Lübeck Intersexualität - Biologische Störungen der Geschlechtsdetermination
K.M. Beier, Berlin Sexualität und Partnerschaft bei ausgewählten Erkrankungen
A. Rhode, Bonn Assistierte Reproduktion bei Patienten mit psychiatrischer Diagnose

Fertilitätschirurgie H.-W. Schlößer, Hannover Mikrochirurgische Operationen im Zeitalter der ART
J. Keckstein, Villach Laparoskopische Sanierung der Endometriose bei Sterilität
W. Weidner, Giessen Fertilisierende und refertilisierende Operationen in der Andrologie

Plenarvortrag H. Hermann, Münster Soziologie des Frau-Seins und des Mann-Seins

Posterausstellung und Posterparty in der Halle Münsterland

Freitag, 09.12.2005

Plenarvortrag J. Gerris, Antwerpen Single embryo transfer in Europe

Innovative Techniken der ART K. Lundin, Göteborg Early cleavage vs. embryo culture - Theory and practice
R. Herwig, Innsbruck Laserdoppler gesteuerte TESE
Ferring Symposium R.C. Chian, Montreal The oocyte meiotic arrest - In vitro maturation, state of the art

Stammzellen W. Engel, Göttingen Stammzellen für die Reproduktionsmedizin
L. Siep, Münster Das deutsche Stammzellgesetz
Ch. Kopetzki, Wien Die Regelungen zur Stammzellforschung in Österreich
Organon Symposium R. Schweizer, St.Gallen Die Regelungen zur Stammzellforschung in der Schweiz

Probleme der ART M. Bonduelle, Brüssel ICSI/TESE and offspring follow-up
B. Horsthemke, Essen Imprinting-Störungen bei Assistierter Reproduktion
T. Haaf, Mainz Genomprogrammierung in frühen Embryonen

Plenarvortrag F. Geisthövel, Freiburg DVR - Standortbestimmung und Ausblick

Gametenspende H. Kentenich, Berlin Eizellspende - Ist ein Verbot sinnvoll ?
B.-R. Kern, Leipzig Rechtliche Fragen der heterologen Insemination
K. Seikowski, Leipzig Psychologische Aspekte bei donogener Insemination

Plenarvortrag M. Milinski, MPI, Plön Evolution in Reproduktionsbiologie und -medizin – Zukunft der Grundlagenforschung

Festabend im Zwei-Löwen-Klub zu Münster

Samstag, 10.12.2005

Endokrinologie A. Schüring, Münster PCOS / Funktionelle Androgenisierung - Strategie für einen DVR-Konsensus
K. Diedrich, Lübeck Hormonelle Stimulation bei Assistierter Reproduktion und Einsatz von GnRH-Analoga
T. Rabe, Heidelberg Neuentwicklungen im Bereich der Kontrazeption

Erektile Dysfunktion H. Sperling, Essen Erektile Dysfunktion - Therapie bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung
D. Tschöpe, W. Quester Erektile Dysfunktion - Therapie bei Patienten mit Diabetes mellitus
H. Behre, Halle Erektile Dysfunktion - Testosteron und PDE 5-Hemmer

Berichte M. Thaele, Saarbrücken Lagebericht zur Berufspolitik
K. Zerres, Aachen Sinn und Unsinn der Chiptechnologie
R. Felberbaum, Kempten Bericht vom DIR - Veränderte Kostenübernahme und Behandlungsergebnisse

Mitteilungen aus der Redaktion

Besuchen Sie unsere Rubrik

☒ Medizintechnik-Produkte



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



Artis pheno
Siemens Healthcare Diagnostics GmbH



Philips Azurion:
Innovative Bildgebungslösung

Aspirator 3
Labotect GmbH



InControl 1050
Labotect GmbH

e-Journal-Abo

Beziehen Sie die elektronischen Ausgaben dieser Zeitschrift hier.

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

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

☒ Bestellung e-Journal-Abo

Haftungsausschluss

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

Bitte beachten Sie auch diese Seiten:

Impressum

Disclaimers & Copyright

Datenschutzerklärung