

Journal für

Reproduktionsmedizin und Endokrinologie

– Journal of Reproductive Medicine and Endocrinology –

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



**XX. Jahrestreffen der Deutschen IVF-Zentren - 6.
Symposium für Gynäkologische Endokrinologie und
Fortpflanzungsmedizin. 23.-25. November 2006, Kieler
Schloß (Abstracts)**

J. Reproduktionsmed. Endokrinol 2006; 3 (5), 331-340

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



XX. JAHRESTREFFEN DER DEUTSCHEN IVF-ZENTREN

6. SYMPOSIUM FÜR GYNÄKOLOGISCHE ENDOKRINOLOGIE UND FORTPFLANZUNGSMEDIZIN

23.–25. NOVEMBER 2006, KIELER SCHLOSS

ABSTRACTS*

XX. JAHRESTREFFEN
DER DEUTSCHEN
IVF-ZENTREN

6. SYMPOSIUM FÜR
GYNÄKOLOGISCHE
ENDOKRINOLOGIE &
FORTPFLANZUNGS-
MEDIZIN

– ABSTRACTS

Endokrinologie

P1

EVALUATION FUNKTIONELLER POLYMORPHISMEN IM FSH-REZEPTORGEN VON FRAUEN MIT OVARIELLEM ÜBERSTIMULATIONSSYNDROM (OHSS)

H. Binder, I. Hager, O. Zaherddous, S. Cupist, P. L. Strissel, M. W. Beckmann, R. Strick
Labor für Molekulare Medizin, Frauenklinik, Universitätsklinikum Erlangen

Fragestellung: OHSS entsteht meist als Komplikation bei der ovariellen Stimulation zu Methoden der *In-vitro*-Fertilisation. Die Inzidenz wird mit 0,6–14 %, und das schwere OHSS mit 0,2–5 % angegeben. Die Symptome sind vergrößerte multizystische Ovarien, Ödeme, Aszites und eine deutlich erhöhte Inzidenz von thromboembolischen Ereignissen mit der Gefahr eines vitalen Ausgangs.

Follikelstimulierendes Hormon (FSH) stimuliert über einen Membran-assoziierten Rezeptor (FSHR) die Granulosazellen und ist grundlegend erforderlich für die Funktion der Gonaden. In bestimmten Familien kommt es zum spontanen OHSS während einer Schwangerschaft. Die Ursache sind Punktmutationen wie z. B. der T449I-Polymorphismus, der die Struktur und Funktion des FSHR verändert. Diese Veränderung des FSHR könnte eine erhöhte Sensibilität für hCG und ggf. auch andere Hormone bewirken. Ungeklärt ist bisher die Frage, inwieweit OHSS-Patientinnen unter Stimulation veränderte FSHR haben.

Methodik: In dieser Arbeit wurden die funktionellen Polymorphismen oder kodierende SNPs (cSNPs) des FSHR: A189V, T449I (refSNP ID: rs28928870) und N680S (refSNP ID: rs6166) in einer Kohorte von 93 OHSS-Patientinnen mit 88 IVF-Patientinnen, die kein OHSS entwickelten und 100 Frauen, die eine normale Schwangerschaft ausgetragen haben, verglichen. Dazu wurde aus den Blutproben die DNA isoliert, spektrophotometrisch quantifiziert und anschließend auf das Vorliegen der Polymorphismen mittels Realtime-PCR in einem ABI7000 analysiert.

* Begutachtet und zusammengestellt von der Kongreßleitung.

Tabelle 1: H. Binder et al. (P1)

	SNP	Homozygot – Wildtyp (%)	Heterozygot (%)	Homozygot – mutiert (%)
OHSS	N680S	15,1	50,5	34,4
	A189V	97,8	1,1	1,1
	T449I	100	0	0
Kontrolle IVF	N680S	17,4	46,6	36,0
	A189V	97,7	2,3	0
	T449I	100	0	0
Kontrolle SS	N680S	25,0	55,0	20,0
	A189V	97,0	2,0	0
	T449I	96,1	1,0	0

Ergebnisse: Siehe Tabelle 1

Die Polymorphismen A189V und T449I sind in den OHSS- und Kontrollgruppen gleich häufig vertreten. N680S ist mit 85 % (heterozygot und homozygot mutiert) etwa gleich häufig in der IVF-Kontrolle (82,6 %) und etwas häufiger als in der Schwangerenkontrollgruppe (75 %). Die homozygot mutierten sind fast nur halb so häufig in der Schwangerenkontrollgruppe vertreten.

Schlußfolgerung: Unsere Untersuchungen zeigen keine signifikanten Unterschiede der untersuchten Polymorphismen bei Frauen mit OHSS im Vergleich zu zwei unterschiedlichen Kontrollgruppen. Warum der SNP N680S homozygot fast doppelt so häufig in IVF-Frauen oder IVF-Patientinnen mit OHSS auftritt, ist noch nicht klar: Der Unterschied ist im Chi-Quadrat-Test hochsignifikant ($p < 0,001$).

P2

SPHINGOSIN-1-PHOSPHAT UND FOLLIKULÄRES HDL SIND NEUE MEDIATOREN DER OVARIALFUNKTION

S. von Otte¹, S. Becker¹, J. R. Nofer², A. Schultze-Mosgau¹, G. Griesinger¹, B. Sonntag³, K. Diedrich¹
¹Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Universitätsklinikum Schleswig Holstein, Campus Lübeck,
²Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin sowie Leibniz-Institut für Arterioskleroseforschung, ³Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Westfälische Wilhelms-Universität, Münster

Fragestellung: Die Formation des *Corpus luteum* ist ein komplexer Vorgang

der morphologischen, biochemischen und endokrinologischen Umstrukturierung des postovulatorischen Follikels zu einer temporären endokrinen Drüse. Zu wesentlichen zellbiologischen Prozessen der Luteogenese zählen Proliferation, Migration und Angiogenese von Endothel- und Granulosazellen. Vorarbeiten zeigten, daß sich follikuläres „High Density“-Lipoprotein (F-HDL) als Trägermolekül für den bioaktiven Sphingosinmetaboliten Sphingosin-1-Phosphat (S1P) darstellt, der ein neuer Mediator der ovariellen Angiogenese ist. Die hier vorgestellten Arbeiten untersuchen weitere Effekte auf Migration humaner Granulosa und Angiogenese von Endothelzellen.

Methodik: Primäre humane Granulosazellen (hGC) und Follikelflüssigkeit wurden im Rahmen von IVF-Behandlungen gewonnen. Humane Nabelschnurendothelzellen (HUVEC) wurden aus Nabelschnüren, F-HDL wurde durch Ultrazentrifugation aus Follikelaspiraten isoliert. Als weiteres *In-vitro*-System wurden immortalisierte HGL5-Zellen eingesetzt.

Auf einer Matrigelmatrix wurden Angiogenesemessungen durchgeführt, Proliferationsmessungen erfolgten im MTT-Test, die Migration wurde im modifizierten Boydenkammerassay quantifiziert.

Ergebnisse: hGC exprimieren alle bekannten S1P-Rezeptoren S1P₁₋₅ auf mRNA- und Proteinebene. F-HDL und S1P stimulieren dosisabhängig in physiologischen Konzentrationen die Angiogenese und Proliferation humaner Endothelzellen, nicht der Granulosazellen. Die hGC-Migration wird durch S1P und durch F-HDL über den S1P₃-Rezeptor

stimuliert. Involvierte Signalwege führen zur Phosphorylierung der AKT und p38MAPKinasen.

Schlussfolgerung: Dies ist die Erstbeschreibung von F-HDL-assoziiertem S1P in Follikelflüssigkeit und S1P-spezifischen Rezeptoren auf hGC. Deren Bedeutung für Follikelmaturation, Luteogenese und Oozytenreifung ist bisher nicht im Detail untersucht. Die erhobenen Daten demonstrieren, daß S1P wesentliche Effekte der ovariellen Zellfunktionen induzieren kann, und als ein neuer ovarieller Mediator der Follikel- und Lutealphase anzusehen ist.

P3

GLYCodelin IN HUMANEN KUMULUSZELLEN – DETEKTION UND QUANTIFIZIERUNG

N. Gneist, G. Keck, I. Trinkaus, B. Thieme, K. Hänseroth, N. Müller, W. Distler
Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Universitätsklinikum Carl Gustav Carus, Dresden

Fragestellung: Die immunmodulierenden Eigenschaften des Glykoproteins Glycodelin (Gd) bei der *In-vitro*-Fertilisierung sind isoform definiert. Je nach Glykosylierung sind immunsuppressive, kontrazeptive oder die Spermien-/Zona pellucida-Bindung nicht-inhibierende Eigenschaften beschrieben. Die Rolle von Gd in der assistierten Reproduktion ist bisher unklar, so daß sich unsere Untersuchungen auf den Glycodelin-gehalt von denudierten Kumuluszellen bei ICSI-Zyklen fokussierten.

Methodik: Es wurden Kumuluszellen von 17 Patientinnen der Kinderwunsch-sprechstunde des UKD (Durchschnittsalter 31,8 Jahre; mittlere Oozytenzahl 12,5) untersucht, die sich einer ICSI-Therapie unterzogen. Im langen Stimulationsprotokoll wurde als GnRH-Analogon Synarela® zur Down-Regulation verabreicht, die Stimulation des Follikelwachstums erfolgte mit rekombinantem FSH (Puregon®) und die Ovulationsinduktion durch Applikation von 10.000 i.E. HCG.

Nach enzymatischer Denudation (Hylase®, Dessau) der Oozyten wurden die Kumuluszellen via Zytospinzentrifugation konzentriert und Gd immunzyto-

chemisch unter Verwendung eines Gd-spezifischen monoklonalen Antikörpers Mf8 mit der LSAB-Methode und DAB als Chromogen nachgewiesen. Die Auswertung erfolgte mittels Imageanalyse, wobei der als Braunfärbung visualisierte Gd-Gehalt als Quotient zur Gesamtzellfläche erfaßt wurde ($Gd\%_{Zelle}$).

Ergebnisse: Gd wurde im Zytoplasma humaner Kumuluszellen immunzytochemisch nachgewiesen. Es war eine Koexistenz von Gd-positiven und Gd-negativen Kumuluszellen innerhalb der Proben der Patientinnen zu beobachten. Auffällig war das gehäufte Gd-Vorkommen in bestimmten Arealen der Zelle wie z. B. dem Randbereich. Bei keiner Probe waren alle Kumuluszellen vollständig Gd-frei.

Mittels einer neu etablierten Meßmethode konnte der Anteil Gd-positiver Areale an der Gesamtzellfläche quantifiziert werden, wobei der Flächenanteil ($Gd\%_{Zelle} = 2,8-63,8\%$) sowie die Intensität und damit die Konzentration von Gd individuell variierte.

Schlussfolgerung: Die Untersuchungen zeigten, daß Gd in humanen Kumuluszellen zu einem individuellen Anteil vorkommt. Der Einfluß von Gd auf den Fertilisierungserfolg ist zu diskutieren, besonders im Hinblick auf eine mögliche Aussage über den Reifegrad und die Qualität der Oozyten sowie die Förderung der Spermienadhäsion durch Gd-reiche Kumuluszellen bei IVF-Behandlungen.

P4

EINFLUSS VON HOMOCYSTEIN AUF DIE INHIBIN-A- UND -B-SEKRETION HUMANER GRANULOSAZELLEN

R. Pavlik¹, S. Hecht¹, K. Keck², U. Jeschke², I. Mylonas², U. Noss³, K. Friese^{1,2}, C. J. Thaler¹

¹Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe – Großhadern, ²Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe – Innenstadt, Kliniken der LMU München, ³Zentrum für Reproduktionsmedizin, München

Fragestellung: Wir konnten zeigen, daß die MTHFR-677C>T-Mutation das Risiko für spontan konzipierte dichoriale Gemi-

nigravditäten deutlich reduziert. Der biologische Hintergrund für diese Zusammenhänge war bisher unklar. Wesentliche Voraussetzung für die Entstehung dizygoter Gemini ist die Selektion und Ovulation von zwei dominanten Follikeln. Diese Prozesse werden entscheidend durch Inhibine reguliert. Inhibine sind heterodimere Glykoproteine, die in Granulosazellen (GZ) produziert werden. Da der Phänotyp der MTHFR-677C>T-Mutation durch eine reduzierte katalytische Aktivität des Enzyms MTHFR und einen konsekutiven Anstieg der plasmatischen Homocystein- (HCY-) Konzentration charakterisiert wird, haben wir untersucht, ob erhöhte HCY-Konzentrationen die Inhibin-Sekretion von GZ beeinflussen.

Methodik: Die GZ wurden aus Follikelpunktaten von 14 IVF/ICSI-Patientinnen isoliert und für insgesamt 5 Tage in FCS-haltigem Medium M-199 kultiviert. In den Versuchsgruppen wurde dem Medium zusätzlich 0, 25, 100 oder 200 mM D/L-HCY zugegeben. Die Inhibin-A- und -B-Konzentrationen im Überstand wurde mittels eines ELISA-Kits bestimmt. Die Vitalität der GZ wurde anhand eines ATP-Biolumineszenz-Assays gemessen. Die Inhibin/ATP-Ratio wurde nach den verschiedenen HCY-Konzentrationen stratifiziert und verglichen.

Ergebnisse: Die Inkubation von GZ mit 25 D/L-HCY steigerte signifikant sowohl die Inhibin-A-Produktion um $40 \pm 20\%$ ($p = 0,008$) als auch die Inhibin-B-Sekretion um $30 \pm 27\%$ ($p = 0,007$). Bei höheren HCY-Konzentrationen im Medium konnten wir dagegen eine dosisabhängige Reduktion der Inhibin-Produktion der GZ beobachten. Nach Inkubation mit 200 D/L-HCY unterschied sich die Inhibin-Syntheseleistung der GZ statistisch nicht mehr von der unbehandelten Kontrollgruppe. Dieser Effekt ist nicht durch Einfluß von HCY auf die Vitalität der GZ zurückzuführen, da die ATP-Konzentration durch HCY im Medium nicht signifikant verändert wurde.

Schlussfolgerung: Unsere Untersuchungen zeigen bisher völlig unbekannte Effekte von HCY auf die Inhibin-A- und -B-Sekretion humaner GZ. Besonders interessant scheint dabei, daß leicht erhöhte HCY-Konzentrationen, welche den durchschnittlichen Plasmakonzentrationen von Trägern der MTHFR-677C>T-Mutation entsprechen, die Inhibin-Sekretion

von GZ signifikant steigern. Demnach könnte sich *in vivo* die hypophysäre FSH-Sekretion betroffener Frauen reduzieren und damit die Inzidenz von Zyklen mit Selektion und Ovulation von zwei Follikeln minimieren.

P5

BEEINFLUSST DIE MTHFR-677C>T-MUTATION DIE ESTRADIOL-SYNTHESE INDIVIDUELLER FOLLIKEL?

S. Hecht¹, R. Pavlik¹, P. Lohse², U. Noss³, K. Friese¹, C. J. Thaler¹

¹Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, ²Institut für Klinische Chemie, Großhadern, Klinikum der Universität München, ³Zentrum für Reproduktionsmedizin, München

Fragestellung: Wir konnten zeigen, daß IVF- und ICSI-Patientinnen mit der MTHFR-677C>T-Mutation im Rahmen der kontrollierten ovariellen Hyperstimulation mit rekombinanten FSH (r-FSH) signifikant geringere maximale Serum-Estradiol- (E₂-) Konzentrationen aufweisen. Es war dabei unklar, ob das reduzierte Serum-E₂ der betroffenen Frauen ausschließlich auf die verminderte Anzahl an Gesamtfollikeln zurückzuführen ist, oder ob zusätzlich die Syntheseleistung der Granulosazellen jedes einzelnen Follikels beeinträchtigt ist. Um diesen Aspekt zu klären, untersuchten wir neben den E₂-Konzentrationen der Follikelflüssigkeiten (FF) von IVF- und ICSI-Patientinnen den direkten Einfluß der MTHFR-677C>T-Mutation auf die E₂-Sekretion kultivierter humaner Granulosazellen (GZ).

Methodik: Die FF wurden von 139 IVF/ICSI-Patientinnen gewonnen und anschließend E₂- und Proteingehalt in der FF bestimmt. Die GZ wurden aus Follikelpunktaten von 66 A.R.T.-Patientinnen isoliert und für insgesamt 5 Tage in FCS-haltigem Medium M-199 kultiviert. Nach 72 h wurde ein Teil der GZ entweder mit 80 IU/l r-FSH oder 80 IU/l r-LH für 48 h stimuliert. Die E₂-Konzentration im Überstand wurde mittels eines ELISA-Kits bestimmt. Nach Analyse des MTHFR-677C>T-Genotyps wurde die E₂/Protein-Ratio der FF und die E₂-Konzentration im Kulturüberstand der GZ nach den drei MTHFR-677C>T-Genotypen stratifiziert und verglichen.

Ergebnisse: Während sich die Protein-Konzentrationen der FF von Frauen mit den drei verschiedenen MTHFR-677C>T-Genotypen statistisch nicht unterscheiden, war die E₂/Protein-Ratio bei homozygoten TT-Patientinnen gegenüber der von Frauen mit dem normalen CC-Genotyp signifikant vermindert.

Außerdem war sowohl die basale als auch die mit r-FSH oder r-LH stimulierte E₂-Synthese von GZ bei homozygoten TT-Individuen signifikant geringer als bei normalen CC- oder heterozygoten CT-Patientinnen.

Schlußfolgerung: Unsere Untersuchungen zeigen erstmals, daß die E₂-Synthese in den Follikeln homozygoter Trägerinnen des T-Allels der MTHFR-677C>T-Mutation signifikant reduziert ist. Diese Ergebnisse decken sich mit unseren *In-vitro*-Experimenten, die klar zeigen, daß die MTHFR-677C>T-Mutation im Genom kultivierter humaner Granulosazellen einen direkten Einfluß auf die basale und FSH/LH-stimulierte E₂-Syntheseleistung ausübt. Diese Daten bestätigen und erweitern damit unsere publizierten klinischen Befunde, wonach die MTHFR-677C>T-Mutation signifikante Effekte auf Follikulogenese und ovarielle Steroidbiosynthese besitzt.

P6

EINFLUSS VON VERSCHIEDENEN PROSTAGLANDINEN AUF DIE UTERINE KONTRAKTILITÄT UND PERISTALTIK IM SCHWEINEUTERUS-MODELL

R. Dittrich, T. Maltaris, I. Hoffmann, M. W. Beckmann, A. Mueller
Frauenklinik des Universitätsklinikums Erlangen

Fragestellung: Prostaglandine sind im Seminalplasma enthalten, werden aber auch vom Myometrium bzw. Endometrium selber synthetisiert und können somit zum Zeitpunkt der Reproduktion wie auch in der Schwangerschaft an der Regulation der uterinen Kontraktilität beteiligt sein. Bisher sind wenig vergleichende Daten hinsichtlich der kontraktilen Wirkung verschiedener Prostaglandine am kompletten Uterus vorhanden.

Methodik: Ein extrakorporales Schweineuterus-Perfusionsmodell wurde zur Untersuchung physiologischer Organ-

funktionen etabliert und an diesem der Effekt von verschiedenen Prostaglandinen im Vergleich zu Oxytozin auf die uterine Kontraktilität und Peristaltik mit Hilfe intrauteriner Mikrochipkatheter untersucht.

Ergebnisse: Ein konzentrationsabhängiger Anstieg des intrauterinen Drucks im *Isthmus uteri* ($p < 0,001$) und *Corpus uteri* ($p < 0,001$) wurde nach Gabe von Prostaglandin F_{2α} (PGF_{2α}), Prostaglandin E₁ (PGE₁), Prostaglandin E₂ (PGE₂) und Oxytozin beobachtet. Nach Gabe von Prostaglandin E₁ (PGE₁) und Prostaglandin E₂ (PGE₂) zeigte sich ein Plateau des intrauterinen Druckanstieges im mittleren Konzentrationsbereich sowohl im *Isthmus uteri* als auch im *Corpus uteri*, gefolgt von einem Abfall des intrauterinen Drucks bei weiterer Stimulation.

Schlußfolgerung: Diese Ergebnisse zeigen, daß die getesteten Prostaglandine die uterine Kontraktilität und Peristaltik unterschiedlich beeinflussen und charakteristische Kontraktionsmuster hervorrufen können.

P7

EINFLUSS VON ESTROGEN UND PROGESTERON AUF DIE UTERINE KONTRAKTILITÄT UND PERISTALTIK IM SCHWEINEUTERUS-MODELL

A. Müller, T. Maltaris, I. Hoffmann, M. W. Beckmann, R. Dittrich
Frauenklinik des Universitätsklinikums Erlangen

Fragestellung: Estrogen und Progesteron zeigen einen charakteristischen Verlauf im Zyklus der Frau. Estrogene dominieren die periovulatorische Phase, während Progesteron sein Maximum in der zweiten Zyklushälfte erreicht. Uterus und Tuben realisieren während der Reproduktion entscheidende Transportfunktionen innerhalb des weiblichen Genitaltraktes. Es gibt klinische Hinweise, daß beide Hormone entscheidend an der Regulation dieser Transportfunktionen beteiligt sind. Ziel der Untersuchung war, Veränderungen im oxytozin-induzierten Kontraktionsverhalten durch Progesteron und Estradiol nachzuweisen.

Methodik: Ein extrakorporales Schweineuterus-Perfusionsmodell wurde zur

Untersuchung physiologischer Organfunktionen etabliert und der Effekt von Estrogen und Progesteron auf die durch Oxytozin induzierte Kontraktilität und Peristaltik mit Hilfe intrauteriner Mikrophosphat Katheter untersucht.

Ergebnisse: Die Perfusion mit Estrogen führte zu einem konzentrationsabhängigen Anstieg der intrauterinen Druckamplitude. Es zeigte sich eine signifikante Druckdifferenz zwischen Zervix und *Corpus uteri*, resultierend in einem zerviko-fundalen Druckgradienten. Unter Estrogenperfusion kam es zu signifikant mehr peristaltischen Kontraktionen, die im Bereich des *Isthmus uteri* begannen und Richtung *Corpus uteri* verliefen. Unter Progesteron zeigte sich keine signifikante Änderung der Kontraktilität und der Peristaltik. Wurden beide Hormone gemeinsam perfundiert, kam es zu einer Antagonisierung der zuvor bei alleiniger Perfusion mit Estrogenen gesehenen Wirkung.

Schlußfolgerung: Unsere Ergebnisse zeigen, daß die uterine Kontraktilität und Peristaltik durch Estrogene und Progesteron unterschiedlich beeinflusst wird. Estrogene scheinen die uterine Peristaltik zu stimulieren und führen zu einer zum Fundus gerichteten Peristaltik und einem entsprechenden Druckgradienten, während Progesteron die uterine Peristaltik und Kontraktilität eher reduziert. Estrogene scheinen für den gerichteten Transport im weiblichen Genitaltrakt verantwortlich zu sein.

Embryologie

P8

ERFAHRUNGEN MIT DER VITRIFIKATION VON EIZELLEN IM VORKERNSTADIUM

A. Schultze-Mosgau, B. Schöpfer, G. Griesinger, S. von Otte, P. Kreiselmaier, K. Diedrich, S. Al-Hasani
Bereich für Reproduktionsmedizin, Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Lübeck

Fragestellung: Seit kurzem wird weltweit von sehr guten Ergebnissen bei Kryo-Embryotransfers nach ultraschnellem Einfrieren, der sogenannten Vitri-

kation, berichtet. Im Rahmen unseres ICSI/IVF-Programms wurden die Überlebens- und Schwangerschaftsraten von überzähligen Eizellen im Vorkernstadium nach Vitrifikation mit denen nach konventioneller Kryokonservierung verglichen.

Methodik: Im Zeitraum von Januar 2000 bis November 2005 wurden von 752 Patientinnen im Rahmen von IVF- und ICSI-Behandlungen 3616 überzählige Eizellen im Vorkernstadium mit der langsamen Kryokonservierungsmethode eingefroren. Bei 138 weiteren Patientinnen wurden zwischen März 2005 und Juli 2006 insgesamt 663 überzählige Eizellen im Vorkernstadium unter Verwendung des Kryotops (nach Kuwayama, RBM-online, 2005, 608-700) vitrifiziert.

Insgesamt 1438 Eizellen im Vorkernstadium wurden entsprechend den Vorschriften des konventionellen Kryoprotokolls aufgetaut. Von den vitrifizierten Eizellen im Vorkernstadium wurden insgesamt 252 erwärmt: Das Kryotop wurde in Auftauflösung (1 M Saccharose, 37 °C) getaucht. Die abgelösten Eizellen im Vorkernstadium wurden nach 60 s in die Verdünnungslösung umgesetzt (0,5 M Saccharose) und wurden 3 Minuten bei RT inkubiert. Es folgte ein 5minütiger Waschschrift in Kulturmedium. Die vitalen Eizellen im Vorkernstadium wurden in beiden Fällen 24 h kultiviert und als Embryonen in den Uterus zurückgesetzt. Klinische Schwangerschaften pro Kryo-Embryotransfer wurden miteinander verglichen.

Ergebnisse: Nach dem Auftauen von 1438 Eizellen im Vorkernstadium, die nach der konventionellen langsamen Methode kryokonserviert worden waren, waren 848 vital (Überlebensrate: 59 %). Nach Erwärmung von 252 der vitrifizierten Eizellen im Vorkernstadium waren 187 vital (Überlebensrate: 78 %). Aufgrund der um 19 % höheren Überlebensrate wurde das Vitrifikationsprotokoll favorisiert.

583 Patientinnen erhielten einen Kryo-Embryotransfer nach Anwendung der langsamen Kryokonservierung. Die klinische Schwangerschaftsrate pro Kryo-Embryotransfer betrug 19 % (n = 111). 81 Patientinnen erhielten einen Kryo-Embryotransfer nach Vitrifikation der Eizellen im Vorkernstadium. Die Schwangerschaftsrate betrug 33 % (n = 27), es

wurden bereits 6 gesunde Babys geboren.

Schlußfolgerung: Mit der Vitrifikation von überzähligen Eizellen im Vorkernstadium unter Anwendung des Kryotops werden hohe Auftau-Überlebensraten und Schwangerschaftsraten erzielt, so daß diese Methode eine schnelle und einfach anzuwendende Alternative zur konventionellen Kryokonservierung darstellt.

P9

ZELLZYKLUS-BEDINGTER EINFLUSS DER EIZELLAKTIVIERUNG

M. Montag, M. Köster, T. Schimming, H. van der Ven
Abteilung für Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin, Universitätsklinikum Bonn

Fragestellung: Bei menschlichen Eizellen werden nach dem Abschnüren des 1. Polkörpers verschiedene Übergänge von der Telophase der Meiose I bis zum Erreichen des Metaphase-II-Stadiums durchlaufen. Mittels Polarisationsmikroskopie konnten wir zeigen, daß die verschiedenen Übergangsphasen anhand der Präsenz und Lokalisation der Spindel charakterisiert werden können und die auf Basis eines vorhandenen Polkörpers getroffene Klassifikation „Metaphase-II-Eizelle“ kein zuverlässiges Kriterium ist. In dieser Studie wurde untersucht, wie eine Aktivierung der Eizelle in der Übergangsphase die weitere Entwicklung beeinflusst.

Methodik: Menschliche Eizellen im Metaphase-I-Stadium wurden in Intervallen mit einem polarisationsmikroskopischen Verfahren (Octax ICSI Guard™) untersucht. Nach Abschnüren des 1. Polkörpers wurden zwei charakteristische Übergangsphasen definiert: Eizellen mit einer Spindelbrücke zwischen dem 1. Polkörper und dem Ooplasma (Phase 1) und Eizellen, bei denen die Spindel in Vorbereitung zur Bildung der Metaphase-II-Spindel kurzfristig dissoziiert vorlag (Phase 2). Eizellen der Phase 1 oder 2 wurden mit Kalzium-Ionophor aktiviert und für 16–20 h weiter inkubiert. Exemplarisch wurde der Verlauf der Entwicklung mit und ohne Aktivierung mittels Time-lapse-

Aufnahmen dokumentiert. Daten aus dem IVF-Programm, bei denen die Spindelbeurteilung erst nach der intrazytoplasmatischen Spermieninjektion (ICSI) erfolgte, wurden in die Auswertung mit einbezogen.

Ergebnisse: In Eizellen mit Spindelbrücke (Phase 1) formierten sich nach Aktivierung mit Ionophor zwei Vorkerne; die Bildung eines 2. Polkörpers unterblieb. Time-lapse-Aufnahmen zeigten, daß sich die Spindelbrücke ohne Aktivierung an der Verbindung Ooplasma/Polkörper auflöst. Nach Aktivierung wurde die Spindelbrücke im Polkörper aufgelöst und eine Neubildung im Ooplasma unterblieb. Eizellen der Phase 1 aus dem ICSI-Programm zeigten 3 Vorkerne bei ebenfalls fehlendem 2. Polkörper.

In Eizellen mit dissoziierter Spindel (Phase 2) wurde nach Aktivierung ein 2. Polkörper und ein Vorkern gebildet; bei Eizellen aus dem ICSI-Programm entsprechend zwei Vorkerne.

Schlußfolgerung: Unsere Ergebnisse zeigen, daß nach Aktivierung von Eizellen mit ausgeprägter Spindelbrücke zwischen dem 1. Polkörper und dem Ooplasma die Ausbildung einer Metaphase-II-Spindel nicht erfolgen kann. Die Durchführung der ICSI während dieser mit konventioneller Lichtmikroskopie nicht erkennbaren Phase führt zur Bildung von drei Vorkernen. Eine Spindeluntersuchung ist zur Bestimmung des optimalen ICSI-Zeitpunkts indiziert.

P10

PRÄDIKTIVER WERT DER ZONA-LICHTBRECHUNG ALS INDIKATOR FÜR CHROMOSOMEN-FEHLVERTEILUNGEN IN MENSCHLICHEN EIZELLEN

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

Fragestellung: Die Beurteilung der Lichtbrechungseigenschaften der Zona pellucida hat sich als ein verlässliches Kriterium zur Qualitätsbeurteilung menschlicher Eizellen erwiesen. In

zwei unabhängigen Studien wurde gezeigt, daß Patientinnen nach Transfer von zwei Embryonen aus Eizellen mit guter Zonabeurteilung gegenüber Eizellen mit schlechter Zonabeurteilung signifikant höhere Schwangerschaftsraten aufwiesen. In der vorliegenden Studie sollte untersucht werden, ob die Zonabeurteilung auch eine Korrelation mit möglichen Chromosomen-Fehlverteilungen in Eizellen von älteren Patientinnen aufzeigt.

Methodik: In die Studie wurden alle Patientinnen eingeschlossen, bei denen aufgrund erhöhten mütterlichen Alters (> 35 Jahre) eine Polkörperdiagnostik (PKD) durchgeführt wurde. Bei allen Eizellen mit einem erkennbaren ersten Polkörper wurde vor Durchführung der intrazytoplasmatischen Spermieninjektion (ICSI) mit einem polarisationsmikroskopischen Verfahren (Octax ICSI Guard™) die Lichtbrechungseigenschaft der Zona pellucida und die Präsenz einer Spindel dokumentiert. Die PKD wurde zum Nachweis der Chromosomen 13, 16, 18, 21, 22 und X durchgeführt. Für die vorliegende Auswertung wurde die chromosomale Konstitution der Eizelle mit den polarisationsmikroskopischen Daten korreliert.

Ergebnisse: Bei 30 Patientinnen mit einem mittleren Alter von $39,2 \pm 3,6$ Jahre wurden insgesamt 187 Eizellen untersucht. Bezüglich der sechs untersuchten Chromosomen waren 62 Eizellen euploid und 125 Eizellen zeigten eine Chromosomen-Fehlverteilung für ein oder mehrere Chromosomen. Von den 187 Eizellen wurde die Zona bei 42 als gut und bei 145 als schlecht beurteilt. 71,4 % der Eizellen mit guter Zona zeigten eine Chromosomen-Fehlverteilung gegenüber 65,5 % derer mit schlechter Zona. Dieser Unterschied war nicht signifikant. Eine Metaphase-spindel war in 95 Eizellen vorhanden, von denen 61 (64,2 %) eine Chromosomen-Fehlverteilung zeigten. Die Spindel fehlte in 92 Eizellen, von denen 64 (69,6 %) aneuploid waren.

Schlußfolgerung: Sowohl die Beurteilung der Zona pellucida als auch die Präsenz einer Spindel in menschlichen Metaphase-II-Eizellen vor ICSI und nachfolgender PKD steht in keinem Zusammenhang mit einer Fehlverteilung der Chromosomen 13, 16, 18, 21, 22 und X in der korrespondierenden Eizelle.

Aufgrund dieser fehlenden Korrelation kann bei Eizellen von Risikopatientinnen auch bei einer guten Zonabeurteilung und vorhandener Spindel auf eine Aneuploidie-Testung nicht verzichtet werden.

P11

VALIDIERUNG EINES AUTOMATISCHEN MODULS ZUR QUALITATIV-PROGNOSTISCHEN BEURTEILUNG DER ZONA-LICHTBRECHUNG IN MENSCHLICHEN EIZELLEN

M. Montag, T. Schimming, C. Zhou, H. van der Ven
Abteilung für Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin, Universitätsklinikum Bonn

Fragestellung: Die Lichtbrechungseigenschaft der Zona pellucida ermöglicht eine Beurteilung der Qualität menschlicher Eizellen und eignet sich nach den Daten von zwei unabhängigen Studien als Auswahlkriterium zur Verbesserung der Schwangerschaftschance bei Behandlungszyklen mit intrazytoplasmatischer Spermieninjektion (ICSI). In der vorliegenden Studie sollte untersucht werden, ob ein Softwaremodul zur automatischen, benutzerunabhängigen Beurteilung der Zona-Lichtbrechung eingesetzt werden kann.

Methodik: In die Studie wurden 113 Zyklen des ICSI-Programms aufgenommen. Denudierte Eizellen wurden individuell mit einem polarisationsmikroskopischen Verfahren (Octax ICSI Guard™) zur Darstellung der Zona-Doppelbrechung untersucht. Je nach Intensität und Uniformität der Doppelbrechung der inneren Zonaschicht wurde eine Eizelle subjektiv als qualitativ gut oder schlecht beurteilt. Im Unterschied zu der publizierten Messung der Zona-Doppelbrechung an 3–4 Stellen wurden mit einem Meßmodul mit automatischer Zona-Erkennung rund um die Zona 180 Meßwerte für Intensität und Breite der doppelbrechenden inneren Zona-Schicht automatisch erfaßt und als Mittelwert und Standardabweichung dargestellt und ausgewertet. Für die Korrelation der objektiven und subjektiven Beurteilung wurde ein mathematisches Modell erstellt. Die Auswahl der nach ICSI befruchteten Eizellen für die weitere Kul-

tur und den Embryotransfer basierte auf der subjektiven Zonabeurteilung und unabhängig vom Vorkernscore.

Ergebnisse: Die basierend auf den automatisch erfaßten Meßwerten berechnete mathematische (objektive) Klassifikation ergab eine Korrelation von 80 % mit der subjektiven Klassifikation, d. h. von 10 subjektiv beurteilten Eizellen wurden 8 von dem automatischen Verfahren genauso eingeschätzt und bei 2 ergaben sich Unterschiede. Nach Transfer von 2 Embryonen auf Basis der subjektiven Beurteilung betrug die klinische Schwangerschaftsrate bei Beteiligung mindestens einer guten Eizelle 52,5 % gegenüber 25,9 %, wenn keine gute Eizelle beteiligt war ($p < 0,01$).

Schlußfolgerung: Unsere Ergebnisse zeigen, daß die Automatisierung der Beurteilung der Eizellqualität auf Basis der Zona-Lichtbrechung möglich ist. Die Vorhersagedifferenz zwischen der subjektiven und der objektiven Einschätzung von 20 % beinhaltet auch die Option, daß eine Auswahl der weiter zu kultivierenden Eizellen allein auf Basis der objektiven Beurteilung zu noch besseren Schwangerschaftsraten führen kann. Dies soll in einer prospektiven Folgestudie untersucht werden.

P12

POLKÖRPERDIAGNOSTIK MONOGENER ERKRANKUNGEN

A. Hehr¹, C. Gross¹, M. Bals-Pratsch², B. Paulmann², B. Seifert², U. Hehr¹
¹Zentrum für Humangenetik, ²Zentrum für Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin, Regensburg

Fragestellung: Die Polkörperdiagnostik (PKD) ist aufgrund der gesetzlichen Regelungen des Embryonenschutzgesetzes in Deutschland gegenwärtig die einzige mögliche Methode zur Präimplantationsdiagnostik genetisch bedingter Erkrankungen. In unserem Zentrum wird diese Methode seit dem Jahr 2001 für die Diagnostik monogener Erkrankungen angewendet. Die bisher erzielten Ergebnisse werden vorgestellt und bewertet.

Methodik: Nach der Entnahme der Polkörper werden mittels Multiplex-Fluo-

reszenz-PCR die zu untersuchende familienspezifische Mutation und/oder eng benachbarte polymorphe und für die jeweilige Familie informative DNA-Marker amplifiziert. Die anschließende Analyse der resultierenden Amplifikationsprodukte ermöglicht eine Aussage zum genetischen Status der Polkörper. Mittels sequentieller Analyse des 1. und 2. Polkörpers ist es möglich, für die Eizelle eine genetische Diagnose für die zu untersuchende Mutation innerhalb des vom Embryonenschutzgesetz vorgegebenen Zeitrahmens zu erstellen.

Ergebnisse: An unserem Zentrum wurden bisher 18 Polkörperuntersuchungen zur Diagnostik monogener Erkrankungen (Chorea Huntington, Norrie-Syndrom, zystische Fibrose, myotone Dystrophie) durchgeführt und resultierten in 4 klinischen Schwangerschaften und der Geburt von 5 gesunden Kindern. Berücksichtigt man weiterhin, daß in 4 Zyklen kein Embryo für einen Transfer zur Verfügung stand, so ergibt sich eine Schwangerschaftsrate von 28 % pro Zyklus mit Embryotransfer, was dafür spricht, daß die Entnahme der Polkörper keinen negativen Effekt auf die Schwangerschaftsraten hat.

Aus humangenetischer Sicht ist die Polkörperdiagnostik eine indirekte Diagnostikmethode, die über die Analyse der Polkörper Rückschlüsse auf den genetischen Status der Eizelle erlaubt, ohne die Eizelle selbst zu analysieren. Demgegenüber erlaubt die Präimplantationsdiagnostik nach Blastomerbiopsie (PID) eine direkte Aussage zum genetischen Status des Embryos selbst. Ob die Polkörperdiagnostik gegenüber der Präimplantationsdiagnostik nach Blastomerbiopsie in Bezug auf die zu erzielenden Schwangerschaftsraten einen Vorteil aufweist, läßt sich gegenwärtig aufgrund der noch zu geringen Fallzahlen an unserem Zentrum nicht endgültig beurteilen.

Schlußfolgerung: Zusammenfassend kann man feststellen, daß die Polkörperanalyse zur Diagnostik monogener Erkrankungen geeignet ist. Aus reproduktionsmedizinischer Sicht sind derzeit keine Nachteile dieser Methode gegenüber der PID erkennbar. Vergleicht man PKD und PID aus genetischer Sicht, so ergeben sich bei der PKD methodisch bedingte Einschränkungen in Bezug auf die Anwendbarkeit und Aussagesicher-

heit, die aufgrund der gegenwärtigen Gesetzeslage in Deutschland in Kauf genommen werden müssen.

P13

ZONA PELLUCIDA AND ANEUPLOIDY IN HUMAN OOCYTES

B. Acar, J. Weimer, L. Mettler, N. Arnold, A. G. Schmutzler
University Women's Hospital, Christian-Albrechts-University, Kiel

Introduction: In our study, we analyzed the morphological and morphometrical parameters of oocytes. We were interested in a correlation with the euploidy of oocytes.

Materials and Methods: We examined a group of 20 patients with 176 oocytes who underwent PGD treatment after ICSI. We examined the following morphological parameters: regularity of oocyte shape, regularity of the polar body, granulation from 1–5 in the perivitellin space and cytoplasm quality. Images of the oocytes were taken and biopsy was performed by an air-oil system micromanipulator with a laser system and Octax Eyeware software. Genetic results from FISH with chromosomes 13, 16, 18, 21, 22 were analyzed with a fluorescence microscope. Diameters and thickness were taken in two dimensions and areas were calculated for statistical analyses. We analyzed the correlation of the morphological and morphometrical data with the genetic results.

Results: In general distribution, oocytes were usually regular in shape (93 %) and area values were between 22935–19407 μm^2 (74 %). Polar bodies were also generally regular in shape (40 %) and area values were between 339–189 μm^2 (76 %). Oocyte area and zona thickness distributions were between 10580–8365 μm^2 (79 %) and 17–22 μm^2 (70.1 %). Granulation in perivitellin space was usually between 2 and 3 (41–50 %). We found 43 euploid and 69 aneuploid oocytes.

Conclusion: There was one significant result: euploid oocytes have a significantly thicker zona pellucida than aneuploid oocytes ($p = 0,038$).

P14

BROAD INDICATIONS FOR PGS BY POLAR BODY BIOPSY

B. Acar, J. Weimer, A. Salmassi, L. Mettler, W. Jonat, N. Arnold, A. G. Schmutzler
University Women's Hospital, Christian-Albrechts-Universität, Kiel

Introduction: The primary aim of pre-implantation genetic screening (PGS) is to improve success rates in ART. In previous preclinical trials, we found that unfertilized oocytes also have high aneuploidy rates in young women. As we now got comparable success rates with PGS, we retrospectively analyzed the embryology and clinics of our success cascade in order to find hints for a change of management and wanted to know how the number of oocytes influences the success in PGS.

Material and Methods: After approval by the local ethics committee, we started a series of 100 cycles in our IVF unit. In 2004 and 2005, we performed 60 cycles to all patients with 6 or more oocytes. PGS was performed by laser biopsy of the first polar body on day 0, fixation for FISH and hybridization with chromosomes 13, 16, 18, 21, 22 (Vysis). Zygote selection was done on day 1 in accordance with the German embryo protection law, embryo transfer usually on day two, intended to have two embryos generated from proven "euploid" (for 5 chromosomes) oocytes. If two euploid oocytes were not available, one or two biopsied, but not detected oocytes were transferred.

Results: The average age of the women was 36 years (range 25–44 years). ET was performed in 57 cases (95 %), resulting in 14 (25 %) pregnancies, 5 deliveries (once twins), 4 abortions (29 %), and 5 ongoing pregnancies. 642 oocytes were retrieved, of these 584 (91 %) were mature, 498 (85 %) were biopsied (the rest was not biopsied and frozen when fertilized). 454 (91 %) survived, 365/498 (73 %) fertilized. 449/498 (90 %) could be fixed, 334 of these (74 %) got a genetic result, 129 of these (34 %) were euploid. 106 embryos (1.9 per transfer) were transferred, 66 of these (62 %) were generated from euploid oocytes. The implantation rate was 14 % (15/106). In 25 of 60 cycles, the intended "good"

ET from 2 proven euploid oocytes was done (42 %). If there were "fewer" (6–7) oocytes, 3/23 (13 %) got a good ET, if there were "more" (8 or more) oocytes, 22/37 (59 %) got a good ET, this difference is highly significant ($p < 0,001$).

Conclusions: Pregnancy and implantation rates (25 % and 14 %) were comparable with the German national averages (28 % and 16 %). The rate of embryo transfer (1.9) was lower than the German average (2.2). Improvements of the used technique, changing the genetic technique by analysing the second polar body as well, more chromosomes by FISH, or all by CGH and requirement of a minimum 8 oocytes are the possible improvements in PGS.

P15

ERSTE KLINISCHE ERFAHRUNGEN MIT GM 501 – EINEM NEUEN KSOM^{AA}-BASIERTEM EMBRYOKULTURMEDIUM

I. Eue, E. Schwahn, M. Merzenich
Kinderwunschzentrum Köln

Fragestellung: GM 501, ein von der Firma Gynemed neu entwickeltes KSOM^{AA}-basiertes Embryokulturmmedium, wurde im Vergleich zu IVF Universal und dem sequentiellen Medium ISM 1 (beide von Medicult) verwendet und hinsichtlich biochemischer und klinischer Schwangerschaftsrate (SSR), Fertilisationsrate (FR) sowie Embryoscore (ES) unter den standardisierten Bedingungen unseres IVF-Labors ausgewertet.

Methodik: In einem retrospektiven Studienansatz wurden insgesamt 129 IVF/ICSI-Zyklen verglichen, welche nach Standardstimulationsschemen und Standard-IVF-Prozeduren durchgeführt wurden. Die Patienten wurden in 3 Gruppen unterteilt: A: GM 501 ($n = 61$), B: ISM 1 ($n = 18$) und C: IVF Universal ($n = 50$).

Ergebnisse: Die Gruppen unterschieden sich weder signifikant hinsichtlich ihres Alters (A: $35,9 \pm 4,3$; B: $33,2 \pm 2,5$; C: $36,1 \pm 4,4$) noch hinsichtlich der Anzahl übertragener Embryonen (A: $2,6 \pm 0,7$; B: $2,1 \pm 0,6$; C: $2,0 \pm 0,7$). Die Indikationsverteilung war für alle Gruppen etwa gleich mit einem Schwerpunkt bei idiopathischer und andrologischer Diagnose. Die biochemische SSR betrug für

IVF/ICSI über alle Altersgruppen 50,8 % (A), 33,3 % (B) und 28 % (C). Die Abortraten betrugen 4,9 % (A), 33,3 % (B) und 35,7 % (C). Die biochemische (bzw. klinische) SSR nach ICSI in der Altersgruppe unter 35 Jahren betrug in A 61,9 % (61,9 %), in B 20,0 % (20,0 %) und in C 30,0 % (20,0 %), in der Altersgruppe über 35 in A 45 % (40 %), in B 37,5 % (25 %) und in C 25,7 % (17,1 %). Die FR nach ICSI unterschieden sich nicht zwischen den Gruppen (A: $81,8 \pm 16,8$ %; B: $84,6 \pm 16,3$ %; C: $84,4 \pm 18,3$ %). Auch der Vergleich der ES nach ICSI zwischen den Gruppen ergab keine signifikanten Unterschiede (A: $34,1 \pm 13,7$; B: $38,2 \pm 22,5$; C: $27,3 \pm 15,0$).

Schlußfolgerung: Mit Hilfe von GM 501 konnten in unserem Zentrum sehr gute klinische SSR erzielt werden. Nach bisherigen Erfahrungen kann dieses Medium demnach als potenter und vielversprechender Kandidat für die Kultivierung menschlicher Embryonen bis zum Tag 3 eingeschätzt werden. Die Tatsache, daß weder FR noch ES zwischen den Gruppen signifikant verschieden waren, spricht dafür, daß die Ursachen für eine erhöhte SSR mit GM 501 weniger in verbesserten metabolischen Eigenschaften des Embryos sondern vielmehr in einem verbesserten Implantationspotential und einem verbesserten Membrankontakt des Embryos zum Endometrium zu suchen sind. Von besonderer Bedeutung erscheint die in GM 501 im Gegensatz zu den verwendeten Vergleichsmidien deutlich gesenkte Abortrate. Die Ergebnisse dieser Studie sind vorläufiger Natur und müssen durch weitere Zyklen bestätigt werden.

P16

SHLA-G IN KULTURÜBERSTÄNDEN HUMNER EMBRYONEN NACH IVF/ICSI. VON DER PILOTSTUDIE ZUR DEUTSCHEN MULTICENTER-STUDIE

I. Eue¹, V. Rebmann², M. Switala², M. Merzenich¹, E. Schwahn¹, H. Grosse-Wilde²
¹Kinderwunschzentrum Köln, ²Institut für Immunologie, Universität Essen

Fragestellung: Die Frage, ob lösliches HLA-G in Embryonenkulturen (EK) nach IVF/ICSI eine Bedeutung als prognosti-

scher Marker für eine erfolgreiche Implantation und den Eintritt einer Schwangerschaft hat, wird in der aktuellen Literatur kontrovers diskutiert. Mit Hilfe einer neuartigen Technologie (Luminex®) sollten im Rahmen einer Pilotstudie folgende Fragen beantwortet werden: I.) Ist sHLA-G in EK 48 bzw. 72 Stunden nach Insemination reproduzierbar nachweisbar? II.) Korreliert die sHLA-G-Konzentration mit der Embryonenqualität? III.) Ist die Freisetzung von sHLA-G mit dem Eintritt einer klinischen Schwangerschaft assoziiert? IV.) Führen Embryonen mit sHLA-G-negativen Überständen häufiger zu einem Abort?

Methodik: Zum Nachweis von sHLA-G wurde ein Schnelltest entwickelt, mit dem es möglich ist, sHLA-G innerhalb von 1,5 Stunden in einem Probenvolumen von 10 µl zu bestimmen. Der Luminex®-Assay benutzt den monoklonalen Antikörper MEM G/9, welcher an fluorszenzmarkierte Mikropartikel gekoppelt wurde. Als Detektionsantikörper kommt ein polyklonaler β2-Mikroglobulin-Antikörper zum Einsatz. Die Messung erfolgt mit Hilfe eines Zyto-meters (Sysmex, Norderstedt).

Ergebnisse: Im Rahmen der Pilotstudie wurden 526 Kulturüberstände von Einzel-embryokultivierungen, 47 Überstände von 2-EK und 15 3-EK aus insgesamt 313 IVF/ICSI-Zyklen untersucht. 117 Überstände erwiesen sich als sHLA-G-positiv. In Einzelzellkulturen waren die sHLA-G-positiven Überstände mit der Embryonenqualität positiv korreliert ($p = 0,048$; $r = 0,2$). Die Anwesenheit von sHLA-G in Kulturüberständen war mit der Schwangerschaftsrate nach ICSI, insbesondere bei Paaren mit andrologischer Indikation, assoziiert ($p < 0,001$). Interessanterweise erwies sich die Abortrate bei sHLA-G-negativen Embryonen im Vergleich zur sHLA-G-positiven Embryonengruppe als 3fach erhöht ($p = 0,04$).

Schlußfolgerung: Die Ergebnisse der Pilotstudie unterstützen die Vermutung, daß sHLA-G als ein prognostischer Faktor für den Schwangerschaftsausgang nach einer künstlichen Befruchtung von Bedeutung sein könnte. Der entwickelte Schnelltest kann in den IVF-Ablauf integriert werden. Im Moment werden die Daten im Rahmen einer Multicenter-Studie validiert, an der 29 deutsche Zentren teilnehmen. Insgesamt wurden einschließlich Kontrollen 5545 Kultur-

überstände gesammelt und analysiert, die wahrscheinlich Anfang 2007 in einer Endauswertung vorliegen werden.

Reproduktionsmedizin

P17

TUBARE STERILITÄT – EIN RISIKOFAKTOR FÜR ZERVIKALE DYSPLASIEN?

A. N. Schüring, G. Loley, R. R. Greb, R. J. Lellé
Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Universitätsklinikum Münster

Fragestellung: Patientinnen in einer Kinderwunschprechstunde befinden sich in der Regel in fachärztlicher Betreuung, so daß sich die Frage stellt, ob ein zusätzliches Screening vor Maßnahmen der assistierten Reproduktion sinnvoll ist. Insbesondere war von Interesse, ob das Auftreten zervikaler Dysplasien bei Kinderwunschpatientinnen mit einer tubaren Sterilität assoziiert ist, da beide Ereignisse in einem pathogenetischen Zusammenhang stehen können („aszendierende Infektion“).

Methodik: Zwischen 1997 und 2000 sowie zwischen 2002 und 2004 wurde bei allen Patientinnen in der Sterilitätsprechstunde anlässlich der Erstvorstellung ein zytologischer Abstrich von der Portio entnommen. Ab 2002 wurde die „Thin Prep“-Methode verwendet. Bei auffälligem zytologischem Befund erfolgte in der Regel die histologische Abklärung durch kolposkopisch gesteuerte Biopsie. In einer Untergruppe laparoskopierter Patientinnen mit wurde untersucht, ob ein tubarer Sterilitätsfaktor einen Risikofaktor für Dysplasien darstellt.

Ergebnisse: Bei 88 von 2077 Sterilitätspatientinnen fand sich ein auffälliger PAP-Abstrich (4,24 %). Die auffälligen 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 %). Histologisch ergaben sich folgende Befunde: CIN 1: 5 (0,24 %); CIN 2: 4 (0,19 %); CIN 3: 6 (0,29 %) sowie ein Mikro Ca (0,05 %). 36 Patientinnen mit auffälligem PAP wurden im Rahmen der Sterilitätsdiagnostik laparoskopiert, davon wiesen 19 (52,8 %) einen

tubaren Faktor auf. In einer Kontrollgruppe aus 140 laparoskopierten Patientinnen mit unauffälligem PAP wurde ein tubarer Faktor lediglich in 38 Fällen (27,1 %) nachgewiesen ($p = 0,005$).

Schlußfolgerung: Die hohe Inzidenz von zervikalen Dysplasien in einem großen Kollektiv von Kinderwunschpatientinnen ist mit dem Vorhandensein eines tubaren Sterilitätsfaktors assoziiert. Wegen seiner möglichen therapeutischen Konsequenzen sollte ein zytologisches Screening integraler Bestandteil vorbereitender Maßnahmen vor Methoden der assistierten Reproduktion sein.

P18

DIE NORMOGONADOTROPE OVARIALINSUFFIZIENZ DER FRAU IN DER KINDERWUNSCHBEHANDLUNG – ZWEI FALLBERICHTE – IST EIN STANDARDISIERTES STIMULATIONS-PROTOKOLL MÖGLICH UND SINNVOLL?

S. Mayer, C. Kissel, H. P. Zahradnik
Department Universitätsfrauenklinik, Klinik für Endokrinologie und Reproduktionsmedizin, Freiburg

Fragestellung: Bislang gibt es keine standardisierten Stimulationsprotokolle für Patientinnen mit normogonadotroper Ovarialinsuffizienz, an denen sich der Reproduktionsmediziner bei einer Kinderwunschbehandlung orientieren kann. Wir stellen zwei Patientinnen mit Kinderwunsch und normogonadotroper Ovarialinsuffizienz vor. Anhand der Analyse der individuellen Stimulationsprotokolle soll diskutiert werden, ob eine Standardisierung der Protokolle möglich und sinnvoll ist.

Methodik: Retrospektive Dokumentation der Anamnese und der Basisuntersuchung (gynäkologische Untersuchung, Hormonanalyse) von zwei Patientinnen mit normogonadotroper Ovarialinsuffizienz.

Chronologische Dokumentation der Stimulationsprotokolle inklusive Ultraschall und Hormonanalyse und Ergebnis.

Ergebnisse: Die Stimulation wurde bei beiden Patientinnen mit der gleichen Dosis an unterschiedlichen Zyklustagen begonnen. Durch die notwendige An-

passung der Dosis der Gonadotropine auf die individuelle ovarielle Reaktion gestalten sich die Stimulationsprotokolle im Verlauf unterschiedlich. Die Reaktion der Ovarien ist in jedem stimulierten Zyklus bei der jeweils gleichen Patientin ebenfalls unterschiedlich.

Es trat bei beiden Patientinnen eine Schwangerschaft ein.

Patientin I wurde von einem SGA-Kind per Sectio in Terminnähe entbunden. Bei Patientin II wurde in der rechnerisch 8. SSW eine EUG links laparoskopisch entfernt.

Schlußfolgerung: Ein Standard-Stimulationsprotokoll kann aufgrund der retrospektiven Analyse dieser zwei Patientinnen nicht erstellt werden. Der Verlauf der Stimulation in jedem einzelnen Zyklus war unterschiedlich.

Individuell unterschiedliche Reaktionen der Ovarien nicht nur bei unterschiedlichen Patientinnen, sondern auch bei der gleichen Patientin in jedem stimulierten Zyklus können postuliert werden.

Eine höhere Patientinnenzahl, idealerweise mit mehreren Zyklen pro Patientin, bis eine Schwangerschaft eintritt, ist erforderlich, um umfangreicher die Reaktion der Ovarien bei normogonadotroper Ovarialinsuffizienz auf die Stimulation zu dokumentieren.

P19

NEBENWIRKUNGEN UND RISIKEN DER INTRAKUTANEN LYMPHOZYTEN-IMMUNISIERUNG

C. Kling¹, J. Steinmann¹, J. Magez¹, E. Westphal¹, B. Flesch², D. Kabelitz¹
¹Institut für Immunologie, ²Transfusionsmedizin, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel

Fragestellung: Die Immuntherapie mit allogenen Lymphozyten (LIT) wurde vor 20 Jahren für ausgewählte Frauen mit habituellen Aborten eingeführt. Weitere Indikationen werden bei der Behandlung der fetalen Rhesus-Erythroblastose, deren Verlauf abgeschwächt werden kann, und bei der Vorbeugung einer HIV-1-Infektion diskutiert. Anhand der Erfahrungen eines einzelnen Zentrums an einer großen Patientenzahl wird erst-

mals umfassend die Nebenwirkungsrate der intrakutanen Gabe von Partnerlymphozyten bei Infertilität dargestellt.

Methodik: Akute Nebenwirkungen wurden prospektiv vier Wochen nach LIT bei allen 3246 Behandlungen in den Jahren 2000–2003 erfragt (Rücklauf 2687 Paare; 83 %). Mögliche langfristige oder kindliche Risiken wurden retrospektiv bei 3041 IVF-Paaren, die 1996–2002 behandelt worden waren, 2–3 Jahre später erfaßt (1914 Rückmeldungen, 63 %).

Ergebnisse: Akute Nebenwirkungen entsprechen denen einer intrakutan verabreichten Impfung, die bekanntermaßen ausgeprägter ist als bei i. m. oder s. c. Impfstoffgabe. Örtliche Bläschenbildung ist charakteristisch für die LIT (6–13 %), aber unabhängig von der HLA-Differenz zwischen Zellspender und Empfängerin. Sie stellt keine „Graft-versus-host“-Reaktion dar, sondern entspricht einer Immunreaktion der Patientin („host versus graft“). Eine Anaphylaxie, Posttransfusions-Purpura und fetale/neonatale Alloimmunerkkrankung (Erythroblastose, Alloimmun-Thrombozytopenie, Alloimmun-Neutropenie) wurden als mögliche Risiken zwar vermutet, aber nicht beobachtet. Die jährliche Inzidenz für Malignome (n = 6; 0,2 %) und Autoimmunerkrankungen (n = 4; 0,15 %) entsprach dem spontanen Vorkommen. Die Bildung von zytotoxischen HLA-Antikörpern bei der Patientin ist signifikant (Serokonversion: 30 % nach der ersten, 65 % nach der zweiten LIT). Im späteren Leben könnte dadurch die Organauswahl im Falle einer Transplantation erschwert sein, wobei in der Praxis keine Fälle bekannt geworden sind. Schwangerschaften führen natürlicherweise zu HLA-Antikörpern, so daß dieses Risiko durch den Kinderwunsch impliziert wird. Die Übertragung von Infektionen wurde bis auf zwei fragliche Fälle von Mononukleose nicht beobachtet.

Schlußfolgerung: Die Risiken der i. c. LIT sind nach unserer Erfahrung gering und können durch entsprechende Diagnostik und Berücksichtigung der transfusionsmedizinischen Richtlinien minimiert werden. Die Anwendung in der Reproduktionsmedizin ist unter diesen Voraussetzungen vertretbar.

P20

ERFOLGSAUSSICHTEN NACH WIEDERHOLTEM IMPLANTATIONSVERSAGEN

C. Kling¹, G. Wilke², A. Schmutzler³, D. Kabelitz¹, J. Hedderich⁴
¹Institut für Immunologie, ²Kinderwunschzentrum Hildesheim, ³Universitäts-Frauenklinik, IVF-Abteilung, ⁴Institut für Medizinische Informatik und Statistik, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel

Fragestellung: Nach drei erfolglosen Punktionszyklen im IVF- bzw. ICSI-Programm stehen Paare und Reproduktionsmediziner vor der Frage, wie hoch die Chancen bei Fortsetzung der Therapie noch sind. Die kumulative Geburtenrate als notwendige Beratungsgrundlage ist bei Praxiswechsel oder Abbruch der Therapie schwer festzustellen. Alternativ wurden daher die Daten im Institut für Immunologie erhoben, an das Paare bundesweit überwiesen wurden.

Methodik: Alle 1700 Paare, die 1999–2002 nach mindestens drei Punktionszyklen adjuvant mittels Lymphozyten-Immunisierung (LIT) behandelt worden waren, erhielten 2 Jahre später ebenso wie die 47 überweisenden Fachpraxen einen Fragebogen, wobei 1435 Rückmeldungen (84,4 %) informativ waren.

Ergebnisse: Bei LIT bestand der Kinderwunsch seit $5,9 \pm 2,3$ Jahren (1–20). Von 1435 Paaren setzten 1256 (87,5 %) die IVF-Behandlung fort, während 179 (12,5 %) keinen weiteren Transfer durchführten. 369 Paare (26 %) bekamen nach ca. 2 weiteren Embryotransfers Kinder nach IVF, 87 Paare (6 %) nach spontaner Schwangerschaft, 20 Paare (1 %) nach alternativen ART und 67 Paare (5 %) nach Adoption. Nur 267 Paare (18,5 %) entschieden sich schließlich definitiv für ein Leben ohne gemeinsame Kinder, die übrigen 625 (43,5 %) waren noch in Behandlung oder unentschieden. Die Rate der IVF- und spontan konzipierten Geburten betrug bei den 21–29-jährigen Frauen (142 Paare) 34 % bzw. 15 %, im Alter von 30–34 Jahren (634 Paare) 27 % bzw. 6 %, bei 35–39 Jahren (575 Paare) 23 % bzw. 5 %, über 39 Jahre (84 Paare) 17 % bzw. 2 %. Praxiswechsel korrelierte mit der Dauer des Kinderwunsches, hatte aber keinen signifikanten Einfluß auf den Ausgang der IVF-Behandlung.

Von 1256 Paaren im IVF-Programm erhielten nur 296 Paare (24 %) neben der LIT keinerlei weitere Begleittherapien. Bei 533 (43 %) kamen parallel andere Maßnahmen zum Einsatz; die Dunkelziffer ist mit 418 (33 %) hoch.

Schlussfolgerung: Die Übersicht liefert eine Grundlage zur Beratung von Paaren mit wiederholtem Implantationsversagen und zeigt den starken Einfluß des weiblichen Alters. Die Indikation zum mehrfachen Einsatz zusätzlicher Therapien im IVF-Programm sollte auf der Basis einer Nutzen-Risiko-Abschätzung kritisch diskutiert werden, zumal die Evaluation einzelner Verfahren erschwert oder unmöglich wird. Die Notwendigkeit einer umfassenden Beratung und zum Aufzeigen von Alternativen zur Erfüllung des Kinderwunsches wird dadurch unterstrichen, daß für viele Paare die Therapie auch nach ca. 8 Jahren noch nicht abgeschlossen ist.

P21

CORRELATING GENE EXPRESSION LEVELS WITH A MORPHOLOGICAL SCORING SYSTEM OF HUMAN TESTICULAR BIOPSIES

C. Feig, C. Kirchhoff, W. Schulze, A.-N. Spiess
Department of Andrology, University Hospital Hamburg-Eppendorf

Introduction: A standardization of histological parameters derived from testicular biopsies according to WHO guidelines, as established for ejaculates, is still missing. The most reproducible results are obtained with the modified Johnsen Score, which categorizes the status of the germinal epithelium by ten different scores.

In this study, we investigated whether there are distinct gene expression profiles that correlate with this morphological scoring system.

Materials and Methods: The study population comprised 28 patients selected from a collective of 289 men presenting with azoospermia due to either obstruction of the sperm transporting ducts or defects in the spermatogenic tissue. Isolated RNA was hybridized to Codelink™ microarrays containing 19881 gene-specific probes.

Results: All samples clustered with high significance into the according preclassified score group, with score 2 being the class with the highest distance from the other groups. Scores 8 and 10 tended to cluster in near vicinity, which can be expected as these two groups differ only quantitatively in germ cell composition.

92 % of the known transcripts have a predominant expression in the male gonads. In clustering genes, we obtained 3 main groups. For the most prominent pre-meiotic group (score 2 → score 5) with 348 genes, this implies a drastic change in testicular expression when spermatogonia and spermatocytes appear. Similarly, we obtained a second postmeiotic group (score 5 → score 8) containing 81 genes and a third group (38 genes) for transcripts specifically expressed during the formation of elongated spermatids/testicular spermatozoa (score 8 → score 10).

Conclusions: With the analysis of testicular gene expression in different pathological states we observed a reduction in the number of scores in comparison to the morphological classification (i. e. no molecular scores 9, 7, 6, 4). We believe that by reduction on a molecular level this can serve as a more noise-free way of classification, which is less prone to subjective criteria from the investigator.

P22

GLYCODELINBINDUNG AN SPERMIIEN – EIN PRÄDIKTIVER FAKTOR DER EJAKULATANALYSE?

G. Keck, N. Gneist, I. Trinkaus, K. Hänseroth, B. Thieme, W. Distler
Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Universitätsklinikum Carl Gustav Carus, Dresden

Fragestellung: In der andrologischen Diagnostik gewinnen Ejakulatkonstituenten an Bedeutung. Das seit 30 Jahren bekannte Glycodelin (Gd) wird als immunkompetentes Protein im reproduktionsbiologischen Prozeß beschrieben. Die vorliegende Untersuchung soll klären, ob das aus dem Seminalplasma nach Ejakulation oberflächengebundene Gd an humanen Spermatozoen (GdO) ein prädiktiver andrologischer Fertilitätsfaktor ist.

Methodik: Zusätzlich zur WHO-Diagnostik erfolgte die immunzytochemische

Darstellung des GdO an 6180 Spermien von 48 Ejakulaten der Kinderwunschsprechstunde des UKD. Jedes Ejakulat wurde den nach WHO-Nomenklatur gebildeten Ejakulatklassen (EK) zugeordnet (Normozoospermie = N; Teratozoospermie = T; Asthenoteratozoospermie = AT; Oligozoospermie = O). Die mittels LSAB-Methode und DAB als Chromogen detektierte Braunfärbung stellt semiquantitativ den Wert des GdO dar. Pro Ejakulat wurde die Häufigkeit des GdO zellbezogen erfaßt. Die Quantifizierung des GdO erfolgte durch digitale Vermessung der braunen Fläche (Autmess, Carl Zeiss, Germany). Den Meßwerten sind Wertebereiche von 1 bis 3 zugeordnet und als Score-Wert (S) definiert worden. Das quantifizierte Gd (GdOS) wurde als mittlerer S pro Ejakulat ermittelt. Zusätzlich erfolgte eine Differenzierung des GdOS an pathomorphem (Sp_p) und normomorphem (Sp_n) Spermien. Die Bewertung der Verteilung der Häufigkeiten des GdO an Sp_p und Sp_n unter Berücksichtigung der EK erfolgte durch den Chi-Quadrat-Test. Die mittleren GdOS der Ejakulate untereinander und der in EK eingeordneten Ejakulate wurden mit dem Mann-Whitney-Test ausgewertet (SPSS, Chicago).

Ergebnisse: In jedem Ejakulat war GdO nachweisbar. Innerhalb und zwischen den EK unterschieden sich die mittleren GdOS und die Häufigkeiten des GdO nicht signifikant (GdOS_N = 0,75–2,57; GdOS_T = 0,34–2,56; GdOS_{AT} = 0,35–2,20; GdOS_O = 0,37–1,9). Die Korrelation zwischen sowohl der Zellmorphologie und GdOS als auch der Häufigkeit des GdO war innerhalb jeder EK signifikant (p < 0,05), wobei der mittlere GdOS und die Häufigkeit des GdO an Sp_p höher war als an Sp_n.

Schlussfolgerung: Die zellbezogene Darstellung zeigte, daß GdO in den individuellen Ejakulaten unterschiedlich häufig und in unterschiedlicher Menge adhären ist. Eine Zuordnung der Häufigkeit und der Menge des GdO zu den EK konnte nicht nachgewiesen werden. In allen EK war der mittlere Wert der Menge des adhärenen GdO an Sp_p höher als an Sp_n, ebenso wie GdO an Sp_p häufiger adhären war als an Sp_n. Die Ergebnisse deuten auf eine Rolle des GdO bei der differenzierten Auswahl der Spermien beim Fertilisierungsprozeß hin. Ein prädiktiver Wert für die andrologische Diagnostik konnte durch die vorliegenden Untersuchungen bisher nicht zugeordnet werden.

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