

Journal für

Reproduktionsmedizin und Endokrinologie

– Journal of Reproductive Medicine and Endocrinology –

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

**2. DVR-Kongreß 28.11.-1.12.2007, Bonn-Bad Godesberg
(Abstracts)**

J. Reproduktionsmed. Endokrinol 2007; 4 (5), 251-286

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 –



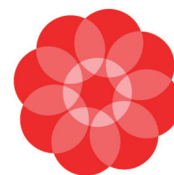
Freuen Sie sich auf spannende Vorträge und den lebendigen Austausch mit Kolleg:innen und Expert:innen aus Klinik und Praxis. Freitagabend laden wir Sie herzlich zu einem entspannten Empfang ein – eine perfekte Gelegenheit, Kontakte zu knüpfen und den Tag genussvoll ausklingen zu lassen.

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





2 DVR-Kongress

● Bonn - Bad Godesberg · 28. 11. – 1. 12. 2007

Dachverband Reproduktionsbiologie und -medizin e.V.

19. AGRBM Jahreskongress
19. DGA Jahreskongress
13. DGGEF Jahreskongress
27. DGRM Kongress
21. 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. G. Haidl
Prof. Dr. H. van der Ven

Kontakt und Information

DVR-Kongress-Sekretariat
Priv. Doz. Dr. M. Montag/
Priv. Doz. Dr. C. Dorn
Gynäkologische Endokrinologie und
Reproduktionsmedizin
Universitätsklinikum Bonn
Sigmund-Freud-Str. 25
53105 Bonn
Tel. +49 228-287 1-9186/7
Fax: +49 228-287 1-5584
email: DVR-2007@ukb.uni-bonn.de

www.dvr-kongress.de

2. DVR-KONGRESS 28.11.–1.12.2007, BONN-BAD GODESBERG ABSTRACTS*



ABSTRACTS

Allgemeine Gynäkologie

P 01

ENDOMETRIALE EXPRESSION DES ADULTEN STAMMZELLMARKERS MUSASHI-1: RELEVANZ IM KONTEXT VON ENDOMETRIOSE UND ENDOMETRIUMKARZINOM

M. Götte¹, M. Wolf¹, A. Staebler², O. Buchweitz¹, A. N. Schüring¹, L. Kiesel¹
¹Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Universitätsklinikum Münster, ²Gerhard-Domagk-Institut für Pathologie, Universitätsklinikum Münster

Einleitung: Während des Menstruationszyklus laufen im humanen Endometrium zyklische Prozesse der Regeneration, Zelldifferenzierung und Desquamation ab. Als Grundlage dieser hohen regenerativen Kapazität wird eine Beteiligung von Stammzellen angenommen. Darüber hinaus wird eine Beteiligung endometrialer Stammzellen an der Pathogenese der Endometriose und des Endometriumkarzinoms diskutiert. Bislang sind endometriale Stammzellpopulationen nur unzureichend charakterisiert, woraus die Notwendigkeit resultiert, molekulare Marker endometrialer Progenitorzellen zu identifizieren. Einen möglichen Kandidaten stellt hierbei das RNA-bindende Protein Musashi-1 (Msi1) dar, welches die Pluripotenz neuronaler und epithelialer Progenitorzellen aufrecht hält. In dieser Studie sollte die Expression von Msi1 im humanen Endometrium, in Endometriose- und Endometriumkarzinomgewebe vergleichend charakterisiert werden.

Methoden: Mittels Immunhistochemie, quantitativer real-time PCR und Immunfluoreszenzmikroskopie wurde die Expression und Lokalisation von Msi1 in Endometrium-, Endometriose- und Endometriumkarzinomgewebe von 46 Patientinnen untersucht.

Resultate: Die Expression von Msi1 mRNA wurde im humanen Endometrium nachgewiesen. Im Vergleich zum Myometrium war die endometriale Msi1-Expression signifikant erhöht. Immunfluoreszenzmikroskopisch wurde eine Kolo-kalisation von Msi1 mit seinem funktionellen Partner Notch-1 und Telomerase nachgewiesen. Die Zahl Msi1-exprimierender Zellgruppen/Gesichtsfeld war im proliferativen Endometrium gegenüber dem sekretorischen Endometrium um den Faktor 4 signifikant erhöht. Die Zahl Msi1-exprimierender Stromazellen/Gesichtsfeld war in Endometriumkarzinomgewebe und in Endometrioseläsionen im Vergleich zu sekretorischem Endometrium signifikant um den Faktor 5 erhöht.

Schlußfolgerung: Die Existenz eines endometrialen Zellpools der Msi1, Notch-1 und Telomerase exprimiert, weist auf das Vorkommen adulter Stammzellen im Endometrium hin. Der im Vergleich zu sekretorischem Endometrium signifikant erhöhte Anteil Msi1-positiver Zellen in proliferativem Endometrium, in Endometriose- und Endometriumkarzinomgewebe unterstreicht den proliferativen Charakter dieser Zellen und stützt aktuelle Hypothesen über stammzellvermittelte Pathogenesemechanismen endometrialer Erkrankungen.

* Begutachtet und zusammengestellt vom Programmkomitee:

V. Baukloh, Hamburg	A. Meinhardt, Gießen
H. Behre, Halle	M. Montag, Bonn
M. Bergmann, Gießen	T. Rabe, Heidelberg
K. Bühler, Langenhagen	G. Schreiber, Jena
R. Fischer, Hamburg	H.-C. Schuppe, Gießen
F. Geithövel, Freiburg	M. Simoni, Münster

Ein alphabetisches Verzeichnis der Erstautoren finden Sie auf Seite 286.

Psychologie

P 02

EFFEKTIVITÄT PSYCHOSOZIALER HILFE BEI FERTILITÄTSSTÖRUNGEN — EINE KRITISCHE BESTANDSAUFNAHME

T. Wischmann
Institut für Medizinische Psychologie, Zentrum für Psychosoziale Medizin, Universitätsklinikum Heidelberg

Einleitung: Eine Reihe psychosozialer Interventionen wird beim Vorliegen von Fertilitätsstörungen für die Betroffenen empfohlen, aber es ist immer noch unklar, was ihre Effekte sind.

Material und Methode: Es wurde eine Literaturrecherche in PubMed, Medline, PsycINFO und Scopus mit den Schlüsselwörtern „infertility“ und „Internet“ oder „counseling“ oder „group work“ oder „psychotherapy“ oder „coping“ durchgeführt. Die aufgefundenen Zitationen wurden vom Autor danach durchgesehen, ob sie der Zielsetzung dieser Übersichtsarbeit entsprachen.

Ergebnisse und Schlußfolgerungen: Psychosoziale Interventionen bei Fertilitätsstörungen werden überwiegend von Personen in Anspruch genommen, denen ihre Fruchtbarkeitsstörungen bewußt sind und die sich selber bereits als Patienten definieren, hierbei insbesondere von Frauen. Dabei werden in der Regel meist eher informelle Strategien (wie das Sprechen mit Freunden oder mit der Familie) verfolgt als formellere, wie das Aufsuchen professioneller Kinderwunschberatung. Das Angebot von technischen Informationen (in Form von Broschüren oder Videos) über Fertilitätsstörungen und zur assistierten Reproduktion (ART) erleichtert sehr wahrscheinlich den Umgang mit der ungewollten Kinderlosigkeit und mit ART. Die Nutzung des Internets zur Informations- und Unterstützungssuche kann nur für vertrauenswürdige Websites empfohlen werden, da sonst das Risiko falscher oder irreführender Informationen zu hoch ist. Chatrooms werden nur selten genutzt, ihre Effekte sind bisher nicht evaluiert worden. Wenn das Internet als einzige Möglichkeit der



ABSTRACTS

(virtuellen) Kommunikation genutzt wird, scheint es eine negative Problemverarbeitung eher zu fördern. Telefonische Beratung kann hilfreich sein, wenn es um die Bereitstellung spezifischer Sachinformationen zur ART geht, sie kann aber eine „Face-to-face“-Beratung zu möglicherweise belastenden psychosozialen Belangen nicht ersetzen. Die Teilnahme an Selbsthilfegruppen hilft in der Regel, die Bewältigungsmöglichkeiten zu verbessern, insbesondere bei „third-party reproduction“. Bei der Verabschiedung des Kinderwunsches ist deren hilfreicher Wert dagegen kritischer einzuschätzen. Die Effekte von Gesprächsgruppen bei ungewollter Kinderlosigkeit sollten aber insgesamt noch systematischer evaluiert werden.

Psychosoziale Beratung und Psychotherapie reduzieren „negative“ Gefühle erwiesenermaßen effektiv und dies bereits meist nach wenigen Sitzungen. Psychoedukativ ausgerichtete Interventionen, welche Informationen und neue Fertigkeiten vermitteln, erscheinen hierbei effektiver als Beratungsgespräche mit der ausschließlichen Diskussion infertilitätsbezogener Gedanken und Gefühle. Die allermeisten systematischen Studien konnten keinerlei Verbindung zwischen psychosozialen Interventionen und erhöhten Schwangerschaftsraten nachweisen.

Psychosoziale Kinderwunschberatung sollte betroffenen Frauen und Männern zu allen Zeitpunkten der ART kostenfrei und auch unabhängig von der medizinischen Therapie zur Verfügung stehen. Zur Verringerung der Schwellenangst und zum Abbau von Vorurteilen ist es sicherlich sinnvoll, Verlauf, Inhalte und Ziele dieser Beratungen frühzeitig transparent zu machen, und die Beratung bezüglich der Beendigung der ART sollte deren integraler Bestandteil sein. Hilfreich können hierfür auch schriftliche Informationen oder Videopräsentationen zu den üblichen emotionalen und psychosozialen Auswirkungen ungewollter Kinderlosigkeit und von ART auf Frauen und Männer sein.

Eine Reihe von methodischen Problemen (wie die Frage der Kontrollgruppen und die der hohen Drop-out-Raten) in der Evaluation psychosozialer Interventionen bei Fertilitätsstörungen muß noch gelöst werden, bevor ihre unterschiedlichen Effekte nicht nur beschrieben, son-

dern auch systematisch bezüglich ihres „Impacts“ in zufriedenstellender Weise eingeschätzt werden können.

P 03

KRYOKONSERVIERUNG VON OVARGEWEBE ALS EINE MÖGLICHKEIT DES FERTILITÄTSPATIENTIN – EIN GEWINN FÜR DIE PSYCHE?

M. Wollenschein¹, M. Montag², K. van der Ven², A. Rohde¹

¹Gynäkologische Psychosomatik, Zentrum für Geburtshilfe und Frauenheilkunde, ²Abteilung für Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin, Universitäts-Frauenklinik, Universitätsklinikum Bonn

Fragestellung: Die Therapie von onkologischen Erkrankungen kann die Fertilität von Patienten beeinträchtigen. Insbesondere die Fertilitätsprotektion von Frauen ist medizinisch oftmals problematisch und für die Frauen z. T. mit zusätzlichen Belastungen verbunden. Nicht selten werden Krebspatientinnen nicht ausreichend über die bestehenden Optionen informiert, möglicherweise auch aus Sorge der Behandler, die Patientin in dieser ohnehin schwierigen Zeit rund um die Diagnose mit diesem Thema zusätzlich psychisch zu überfordern. In der Literatur ist bislang nur wenig über die psychischen Aspekte von fertilitätserhaltenden Maßnahmen bekannt. In der hier vorgestellten Studie wurde diese Thematik untersucht.

Methode: In einer offenen Pilotstudie wurden Frauen, die eine Kryokonservierung von Ovargewebe in der Kryobank am Universitätsklinikum Bonn haben vornehmen lassen, etwa 6 Monate nach der Kryokonservierung schriftlich kontaktiert und um Beantwortung eines selbst entwickelten Fragebogens gebeten. Krebspatientinnen wurden nach ihren Motiven, Erfahrungen und Verbesserungsvorschlägen bezüglich der Kryokonservierung von Ovargewebe gefragt. Von 45 Frauen konnten bislang 30 Frauen für die Teilnahme rekrutiert werden.

Ergebnisse: Die befragten Frauen waren hauptsächlich am Mammakarzinom, Hodgkin-Lymphom oder an Darmkrebs erkrankt. Die Stichprobe war charakteri-

siert durch einen hohen Bildungsstand (50 % Hochschulstudium). Die Frauen äußerten sich vorwiegend zufrieden mit der medizinischen Aufklärung zur Kryokonservierung, jedoch hielten sie den Informationsstand vorbehandelnder Gynäkologen bzw. Onkologen hinsichtlich Fertilitätsprotektion für deutlich verbesserungsbedürftig. Alle Frauen hatten zumindest einen theoretischen Kinderwunsch, der sie zur Inanspruchnahme der Kryokonservierung bewegt hatte. Das Gefühl, „jede Möglichkeit ausgeschöpft zu haben“, um einer drohenden Kinderlosigkeit durch aktive Maßnahmen zu begegnen, vermittelte ihnen einen positiven Einfluß auf das Krankheitserleben.

Schlußfolgerung: Die mögliche Sorge von Gynäkologen und Onkologen, Krebspatientinnen im reproduktiven Alter durch ein Gespräch über die Gefahr des Fertilitätsverlustes und zur Verfügung stehenden Optionen des Fertilitätserhaltes psychisch zu überfordern, zeigte sich anhand der hier befragten Stichprobe als unbegründet. Im Gegenteil: Krebspatientinnen beschreiben einen positiven Einfluß der fertilitätsprotektiven Maßnahmen auf ihre Krankheitsbewältigung. In einer Zeit von körperlicher und psychischer Belastung kann der Blick auf eine mögliche „normale“ Zukunft nach der Krebserkrankung einen wichtigen Beitrag zur psychischen Stabilisierung leisten. Der Einsatz der Kryokonservierung ist aus psychoonkologischer Sicht positiv zu bewerten – auch wenn die Methode aufgrund der Schwangerschaftsraten noch als experimentell betrachtet wird.



Fertilitätschirurgie

P 04

DAS SEHR GROSSE, REIFE, ZYSTISCHE TERATOM (DERMOID) DES OVARS – OPERATIVES MANAGEMENT IM HINBLICK AUF DIE FERTILITÄT – EIN CASE REPORT MIT LITERATURANALYSE

C. Kissel, J. Seldte, J. Schuster
Frauenklinik Stuttgart, Krankenhaus Bad Cannstatt

Fragestellung: 15–20 % aller Ovarialtumoren sind Keimzelltumoren. Dermoiden sind gutartige Keimzelltumoren (Teratome) mit zystischem Anteil und die am häufigsten vorkommenden gutartigen Veränderungen am Ovar bei Frauen im reproduktiven Alter.

Die Dermoiden können zum Teil sehr groß werden und so das funktionelle Ovargewebe verdrängen. Der Fokus des chirurgischen Managements liegt deshalb auf der Erhaltung des Ovarialgewebes. Je nach Größe des Dermoids wird per Laparoskopie oder Laparotomie operiert.

Methoden und Ergebnisse: In diesem Case Report wird die Diagnostik und operative Therapie (mit Photodokumentation) eines großen Dermoids bei einer 16jährigen Patientin beschrieben.

In der Diskussion wird auf die verschiedenen Möglichkeiten der operativen Therapie eingegangen (Laparoskopie vs. Laparotomie), auf das intraoperative Rupturrisiko und die möglichen Folgen sowie auf das postoperative Adhäsionsrisiko. Das Rezidivrisiko wird ebenfalls diskutiert, wie auch das Risiko der malignen Entartung.

Ein besonderer Schwerpunkt liegt auf der Fragestellung: Wieviel Ovargewebe muß erhalten sein für die normale Funktion? Gibt es Daten zur späteren Fruchtbarkeit bei Patientinnen, die an großen Dermoiden operiert wurden?

Eine aktuelle Literaturanalyse ergänzt den Case Report.

Schlußfolgerung: Hier wird eine Empfehlung, basierend auf der Literaturanalyse, zur Therapie von großen und sehr großen Dermoiden bei Frauen im reproduktionsfähigen Alter gegeben.

Endokrinologie

P 05

PCO-SYNDROM – GENETISCHE POLYMORPHISMEN UND KLINISCHE BEFUNDE

M. Bals-Pratsch¹, N. Geneidy¹, R. Gruber², C. Aslanidis², G. Schmitz², B. Seifert¹
¹Kinderwunschzentrum Regensburg,
²Institut für Klinische Chemie, Universität Regensburg

Einleitung: Wahrscheinlich lösen genetische Veränderungen im Zusammenwirken mit äußeren Faktoren das Polyzystische Ovarsyndrom (PCOS) aus. Es gibt bisher keine eindeutigen und reproduzierbaren genetischen Befunde, die eine Prädisposition für ein PCOS darstellen. Ebenso ist unklar, nach welchem Modus das Syndrom vererbt wird. Viele Kandidatengene sind untersucht worden. Bei der Suche nach Kandidatengenomen stehen vor allem Gene im Mittelpunkt, die für Veränderungen in der Steroidogenese, in der Follikelreifung und im Glukosestoffwechsel verantwortlich sind.

Methoden: Bei 340 zwischen Juli 2000 und März 2007 im Kinderwunschzentrum Regensburg behandelten Patientinnen wurde ein PCOS diagnostiziert (Rotterdam-Kriterien). Bei 242 von diesen Patientinnen sowie bei 161 gesunden weiblichen Kontrollpersonen wurde eine DNA-Präparation mit anschließender genetischer Analyse von 3 Polymorphismen durchgeführt, die bisher als Kandidatengene beim PCOS bereits an kleinen Kollektiven untersucht wurden: (1) R653Q-Polymorphismus des Methylentetrahydrofolatdehydrogenase-(MTHFD-) 1-Gens (Follikelreifung), (2) Apa1-Variante des Insulin-like growth factor- (IGF-) 2-Gens (Glukosestoffwechsel), (3) 4G5G-Polymorphismus in der Promotor-Region des Plasminogenaktivatorinhibitor- (PAI-) 1-Gens (Gerinnung).

Resultate: MTHFD-1-Gen: Von 242 PCOS-Patientinnen hatten 55 (22,7 %) einen homozygoten A/A-Genotyp. Bei 118 (48,8 %) lag ein heterozygoter Genotyp vor, 69 (28,5 %) waren homozygot für die G/G-Variante.

Von den 161 Kontrollpersonen wiesen 31 (19,3 %) einen homozygoten A/A-Genotyp auf, 76 (47,2 %) waren heterozygot, bei 54 (33,5 %) fand sich eine Homozygotie für das G-Allel. Sowohl hinsichtlich der Genomverteilung als auch zusätzlich der Allelverteilung fand sich kein signifikanter Unterschied zwischen PCOS-Patientinnen und den Kontrollen.

IGF-2-Gen: 116 (53 %) von 219 PCOS-Frauen hatten einen homozygoten G/G-Genotyp, 81 (37 %) waren heterozygot. Bei 22 (10 %) lag ein homozygoter Genotyp des A-Allels vor. 71 (46,7 %) der 152 Kontrollpersonen wiesen eine G/G-Variante auf, 66 (43,4 %) hatten einen heterozygoten Genotyp. 15 (9,9 %) waren homozygot bezüglich des A-Typs. Im Gegensatz zur Literatur fanden sich im IGF-2-Gen sowohl für die Genomverteilung als auch für die Allelverteilung keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Gruppen.

PAI-1-Gen: 65 (27,1 %) von 240 PCOS-Patientinnen wiesen einen homozygoten Genotyp der 4G-Variante auf. 56 (23,3 %) waren für den 5G-Genotyp homozygot. 119 (49,6 %) hatten einen 4G/5G-Typ. Es fanden sich keine signifikanten Unterschiede in der Genotypverteilung von PCOS-Patientinnen und Kontrollpersonen. Bei der Allelverteilung zwischen PCOS-Patientinnen und den Kontrollen waren die Ergebnisse signifikant unterschiedlich ($p < 0,01$). Von 480 Allelen bei 240 PCOS-Patientinnen waren 249 (51,9 %) 4G-Allele (231 [48,1 %] 5G-Allele). Bei den Kontrollen fanden sich bei insgesamt 304 Allelen 182 (59,9 %) 4G-Typen und 122 (40,1 %) 5G-Varianten. Diese Ergebnisse sind in der Literatur kontrovers.

Eine Korrelation zwischen den untersuchten Polymorphismen und BMI bzw. Androgenisierung konnte nicht festgestellt werden. Andere klinische Parameter wie Hyperandrogenämie, Dyslipidämie, Gestationsdiabetes und erhöhte Abortneigung waren mit unterschiedlichen Polymorphismen assoziiert.



ABSTRACTS

Schlußfolgerung: Die Ergebnisse für einige der untersuchten Polymorphismen stimmen mit den Befunden in der Literatur überein und sprechen für den Zusammenhang zwischen PCOS und metabolischen Veränderungen. Es sind umfangreiche Studien mit hoher Fallzahl unter strikter Einhaltung der Diagnosekriterien für ein PCOS notwendig, um die Bedeutung der Genetik bei der Entstehung eines PCOS zu klären.

P 06

IDENTIFIZIERUNG UND FUNKTIONELLE CHARAKTERISIERUNG DENDRITISCHER ZELLEN IM NORMALEN UND CHRONISCH ENTZÜNDETEN HODEN DER RATTE

M. Fijak¹, V. Guazzone², W. von Wulffen³, H. Hackstein⁴, E. Schneider¹, C. Riva², A. Meinhardt¹

¹Institut für Anatomie und Zellbiologie, Justus-Liebig-Universität, Gießen, ²Center for Research in Reproduction, University of Buenos Aires, Argentinien, ³Institut für Pneumologie und Intensivmedizin, University of Gießen Lung Center (UGLC), ⁴Institut für Klinische Immunologie und Transfusionsmedizin, Justus-Liebig-Universität, Gießen

Einleitung: Ziel unserer Studie war die Untersuchung der Rolle dendritischer Zellen (DC) in der Pathogenese der experimentellen Autoimmun-Orchitis (EAO) der Ratte. Die EAO dient als Modell zur Untersuchung immunologisch bedingter Infertilität des Mannes (ca. 13–15 % aller Fälle). DC sind die wichtigsten antigenpräsentierenden Zellen und sind durch die Präsentation von Autoantigenen oft entscheidend in die Initiation von Autoimmunerkrankungen eingebunden. Im Krankheitsfall migrieren antigenbeladene DC in regionale Lymphknoten und stimulieren antigenspezifische T-Zellen zur Autoreaktion. Der Aktivierungs- und Migrationsstatus läßt wichtige Rückschlüsse auf die Rolle von DC im Krankheitsverlauf zu. Die Identifikation von Hsp70 als pathologisch relevantem Autoantigen und eine siebenfach erhöhte Anzahl von DC in EAO-Hoden deuten auf eine DC-gesteuerte antigenabhängige Antwort von T-Lymphozyten gegen testikuläre Antigene hin. Um den Phänotyp der DC zu bestimmen, wurde in testiku-

lären DC zunächst eine detaillierte Analyse von Reifungsmarkern (kostimulatorische Moleküle CD80, CD86, MHC Klasse-II-Molekülen, Zytokine IL-10, IL-12p70) und Migrationsmarkern (Chemokin-Rezeptoren CCR2, CCR7) durchgeführt. Anschließend wurde die Fähigkeit von testikulären DC zur Stimulation von naiven T-Zellen in einem funktionellen In-vitro-Assay analysiert. In weiteren Vorversuchen wurde der Einfluß von in vitro mit Autoantigenen beladenen DC auf den Krankheitsverlauf der EAO getestet.

Methoden: Die EAO wurde in Wistar-Ratten durch Injektion von syngenen Hodenhomogenat unter Zusatz von Adjuvans durchgeführt. Kontrollratten wurden nur mit Adjuvans immunisiert. Die Hoden wurden 30 bzw. 50 Tage nach der ersten Immunisierung entnommen. Die phänotypischen DC-Marker CD80, CD86 und MHC II wurden mittels Durchflußzytometrie in einer testikulären Einzelzellsuspension gemessen. Mit Hilfe von Ox-62-beschichteten Magnetpartikeln und FACS-Sorting gelang es, testikuläre DC mit einer Reinheit von > 94 % zu isolieren. Die isolierten DC wurden auf die Expression von IL-10, IL-12p70 sowie der Chemokin-Rezeptoren CCR2 und CCR7 mit Hilfe der quantitativen real-time RT-PCR untersucht. Zusätzlich wurden testikuläre DC mit T-Zellen kokultiviert und deren Proliferation mit Hilfe von [³H]-Thymidin-Inkorporation bestimmt. Zur Untersuchung des therapeutischen Potentials wurden DC aus dem Knochenmark von syngenen Ratten gewonnen und in vitro mit Autoantigenen gepulst (Hsp70 oder Hodenextrakt). Die Tiere wurden 4 Wochen vor der EAO-Induktion mit antigenbeladenen oder ungeladenen DC behandelt.

Resultate: Im Hoden normaler und EAO-Ratten existiert eine DC-Population, die neben Ox-62 sowohl MHC II als auch kostimulatorische Moleküle exprimiert. In 95–100 % der testikulären DC von Normal-, Kontroll- und EAO-Ratten werden diese Moleküle 30 oder 50 Tage nach der ersten Immunisierung synthetisiert. Allerdings ist die mRNA-Expression von CCR2 als Marker unreifer DC in der 50 Tage Orchitis-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant niedriger. Dagegen ist die relative mRNA-Expression des Migrationsmarkers CCR7 in der experimentellen

Gruppe, beginnend 30 Tage nach der ersten Immunisierung, signifikant und kontinuierlich gestiegen. Weiterhin ist die Expression der Reifungsmarker IL-10 und der IL-12-Untereinheit p35 ausschließlich in der 50-Tage-EAO-Gruppe nachweisbar. In Kultur zeigten isolierte DC aus EAO-Hoden eine wesentlich stärkere Fähigkeit zur Induktion der Proliferation von T-Lymphozyten als Kontroll-DC. In vivo hatte die Injektion von ungeladenen unreifen DC vor der EAO-Induktion eine hemmende, antigenspezifische Wirkung auf den Krankheitsverlauf gezeigt. Nur 20 % der Tiere, die mit den ungeladenen DC behandelt wurden, entwickelten eine EAO. Die Injektion von Hsp70-beladenen DC vor der EAO-Induktion zeigte nur bei 33 % der Ratten eine EAO, wohingegen Kontrolltiere ohne Injektion von DC zu 87,5 % eine EAO entwickelten.

Schlußfolgerung: Unsere Ergebnisse zeigen, daß die testikulären DCs eine wichtige Rolle in der Pathogenese der EAO spielen. Im normalen Hoden befinden sich die DC in einem reifen und funktionell tolerogenen Zustand, wogegen die Produktion von IL-12, CCR7 und die Stimulation der Proliferation von naiven T-Zellen auf einen reifen immunogenen und migrationsbereiten Zustand der DC im EAO-Hoden hinweist. Die In-vivo-Versuche deuten auf eine mögliche Therapieoption der DC bei der Autoimmun-Orchitis hin.

P 07

PARAKRINER EFFEKT UTERINER KILLERZELLEN AUF DIE GENEXPRESSION ENDOMETRIALER STROMAZELLEN

A. Germeyer¹, A. Sharkey², M. Prasadajudho¹, R. Sherwin², K. Biback³, S. Clausmeyer⁴, R. Popovici¹, A. Moffett², T. Strowitzki¹, M. von Wolff¹

¹Abteilung für Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin, Universitäts-Frauenklinik Heidelberg, ²Pathologisches Institut, Universität Cambridge, England, ³Blutspendezentrale, Universität Mannheim, ⁴Endokrinologisches Labor Heidelberg

Fragestellung: Das hochspezialisierte endometriale Immunsystem erlaubt die Einnistung des semiallogenen Tropho-



blasten trotz erhaltener Abwehrfunktion gegen pathogene Keime. 80 % der uterinen Immunzellen sind CD56+/CD16-uterine Killerzellen (uKZ), die nur selten im peripheren Blut anzutreffen sind und überwiegend Zytokine produzieren. Zyklische Schwankungen der Zahl uKZ u. a. durch IL-15-vermittelte Migration und Proliferation im Endometrium legen einen Einfluß auf das lokale endometriale Milieu nahe. Ziel dieser Studie ist es, den parakrinen Effekt der uKZ auf die globale Genexpression der stationären endometrialen Stromazellen mittels Mikroarrays zu beleuchten.

Material und Methoden: Nach Einverständniserklärung der Patientinnen erfolgte die Isolierung von endometrialen Immunzellen aus Ersttrimester-Dezidua und endometrialen Stromazellen von gesunden, regelmäßig menstruierenden Frauen ohne Hormoneinnahme. Immunzellüberstand von 20 h mit IL-15-inkubierten uKZ wurde für 6 h auf konfluente, endometriale Stromazellen gegeben. Nach RNA-Isolierung dieser Stromazellen und Hybridisierung auf cDNA-Chips erfolgte die Verifizierung der Ergebnisse mittels real-time PCR und ELISA.

Ergebnis: Durch die Behandlung mit Immunzellüberstand fanden sich 54 statistisch signifikant, mindestens 2fach regulierte Gene. Unter den 45 hochregulierten Genen fanden sich zahlreiche immunmodulatorisch wirksame Gene, wie u. a. Interleukin 8 (IL-8), Chemokine ligand-8 (CCL-8), Interleukin 15 (IL-15), Chemokine ligand-1 (CXCL-1), aber auch Zytokinrezeptoren. Auch Adhäsionsmoleküle wie Interleukin adhesion molecule 1 (ICAM-1), Signaltransduktionsgene wie Leukemia-inducing factor (LIF) sowie verschiedene Enzyme, wie z. B. Nicotinamide N-methyltransferase (NNMT) waren hochreguliert. Unter den lediglich 9 herunterregulierten Genen fand sich u. a. Solute carrier family 11 member 3 (SLC11A3), ein Regulator des intrazellulären Eisenhaushaltes, neben zahlreichen in der Funktion bisher nicht identifizierten Genen. Die Verifizierung erfolgte mittels real-time PCR für IL-8, CXCL-1, ICAM-1, LIF, NNMT und SLC11A3, sowie durch ELISA für IL-8 im Überstand.

Schlußfolgerung: Wir konnten zum ersten Mal einen parakrinen Effekt uKZ auf die Genexpression endometrialer

Stromazellen zeigen. Durch die Regulierung von IL-8, CXCL-1 und CCL-8, u. a. ebenfalls durch Trophoblast-regulierte endometriale Gene (s. Literatur), vermuten wir eine für die Implantation erfolgende endometriale Vorbereitung durch endometriale Immunzellen. Des weiteren spricht die zusätzliche Hochregulation von IL-15, einem entscheidenden Faktor für die Migration endometrialer KZ, für einen sich selbst verstärkenden migratorischen Effekt der uKZ im Endometrium.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß uKZ einen deutlichen parakrinen Effekt auf endometriale Stromazellen ausüben.

P 08

EXPRESSION DES INTERLEUKIN-1-SYSTEMS IM MENSCHLICHEN EILEITER: VERHINDERT IL-1RA DIE IMPLANTATION IN DER TUBE?

A. Hess¹, D. Baston-Büst¹, A. Schanz¹, P. Bielfeld², J. Krüssel¹
¹Unikid-Universitäts-Frauenklinik, Düsseldorf, ²Novum – Zentrum für Reproduktionsmedizin, Essen

Einleitung: Der menschliche Eileiter stellt die Umgebung für die ersten 5 Tage der embryonalen Entwicklung in vivo dar. Die Interleukin-1-Familie (IL-1 β , IL-1ra [IL-1-Rezeptor-Antagonist] und IL-1R Typ I [IL-1-Rezeptor Typ I]) scheint bei der Implantation und Etablierung einer Schwangerschaft eine bedeutende Rolle zu spielen. In den vergangenen Jahren konnten alle Komponenten des IL-1-Systems immunhistochemisch in Präimplantationsembryonen nachgewiesen werden. Hohe Konzentrationen an IL-1 β in Kulturmedien von in vitro fertilisierten humanen Embryonen konnten mit erfolgreichen Implantationen korreliert werden. Bei Mäusen verhindert die Gabe des Rezeptor-Antagonisten eine erfolgreiche Implantation des Embryos. Ebenso konnten wir zeigen, daß murine Präimplantationsembryonen unterschiedliche mRNA-Expressionsniveaus für die Mitglieder der IL-1-Familie aufweisen.

Fragestellung: Exprimieren menschliche Eileiter IL-1 β , IL-1ra und IL-1R Typ I und existieren räumliche (Fimbrien, ampullä-

rer und isthmischer Abschnitt) und hormonell bedingte zyklische Unterschiede?

Methoden: Isolation von Gesamt-RNA aus Tuben (follikuläre Phase, Lutealphase, post-menopausal, extrauterine Schwangerschaften und intrauterine Schwangerschaft).

Reverse Transkription mit anschließender PCR für IL-1 β , IL-1ra und IL-1R Typ I. Immunhistochemie repräsentativer Proben der follikulären und Lutealphase.

Ergebnisse: IL-1 β mRNA konnte in allen Proben mit Ausnahme der postmenopausalen detektiert werden, wohingegen die IL-1-Rezeptor mRNA in allen Proben nachgewiesen werden konnte. Die IL-1ra mRNA-Expression konnte nur in Proben aus sekretorischen Phasen und in der intrauterinen Schwangerschaft gezeigt werden.

Immunhistochemisch konnten IL-1 β und sein Rezeptor mit höherer Intensität in der sekretorischen Phase visualisiert werden. Für den Rezeptor-Antagonisten konnten wir die Ergebnisse der PCR bestätigen, da auch auf Proteinebene der Nachweis nur in der sekretorischen Phase erfolgte.

Schlußfolgerung: Die Expression des Rezeptor-Antagonisten IL-1ra allein in der sekretorischen Phase des menschlichen Zyklus erlaubt den Schluß, daß IL-1ra aktiv in den Prozeß der Verhinderung extrauteriner tubarer Schwangerschaften involviert ist.

P 09

TIMP-1 REGULIERT DIE SEKRETION DES LÖSLICHEN VEGFR-1-REZEPTORS IN MENSCHLICHEN ENDOTHELZELLEN

J. Neulen, K. Motejlek
Abteilung für Gynäkologische Endokrinologie, Universitätsklinikum Aachen

Fragestellung: VEGF („vascular endothelial growth factor“) und sein löslicher Rezeptor sVEGFR-1 nehmen Schlüsselpositionen in der Regulierung der ovariellen Angiogenese ein. Beim Menstruationszyklus der Frau fördern Granulosa-zellen durch die Produktion von VEGF das Wachstum von Blutgefäßen im rei-



ABSTRACTS

fenden Follikel. Als ein vielversprechender Kandidat in der Regulation der sVEGFR-1-Sekretion in Endothelzellen gilt TIMP-1 („tissue inhibitor of metalloproteinases 1“), der am Ab- und Umbau der extrazellulären Matrix beteiligt ist. Das Ziel unserer Forschung war, herauszufinden, ob TIMP-1 die Produktion von sVEGFR-1 in humanen Endothelzellen beeinflussen kann.

Methoden: Gepoolte Endothelzellen aus der Nabelschnurvene wurden in 24-Well-Zellkulturschalen ausgesät. Zum einen wurde den Zellen TIMP-1 in steigenden Konzentrationen zugesetzt und der sVEGFR-1-Gehalt nach 4 Tagen Inkubation im Kulturüberstand durch ELISA („enzyme-linked immunosorbent assay“) bestimmt. Des weiteren wurde TIMP-1 mit Hilfe von RNA-Interferenz herunterreguliert und die TIMP-1- und sVEGFR-1-Konzentration nach 4 Tagen im Kulturüberstand durch ELISA quantifiziert. Für den Knock-down wurden 4 TIMP-1-siRNAs („small interfering“ RNAs) und 2 unspezifische siRNAs verwendet. Als Kontrollen für beide Experimente dienten Endothelzellen, die ohne zusätzliche Behandlung kultiviert worden waren.

Ergebnisse: Endothelzellen, welche mit 50, 125, 400, 1000, 4000 oder 10.000 pg/ml TIMP-1 kultiviert worden waren, zeigten im Vergleich zu Kontrollzellen bei 125 pg/ml eine signifikante Erhöhung des sVEGFR-1-Gehalts von 35 %, während bei 10.000 pg/ml eine signifikante Reduktion von 20 % zu erkennen war. Beim TIMP-1-Knock-down in den Endothelzellen konnte durch die 4 spezifischen siRNAs der TIMP-1-Gehalt im Kulturüberstand signifikant um 65–78 % im Vergleich zu unbehandelten Kontrollen gesenkt werden. Ein entsprechendes Ergebnis wurde bezüglich des sVEGFR-1-Gehalts im Kulturüberstand beobachtet. Durch die 4 TIMP-1-spezifischen siRNAs wurde die sVEGFR-1-Konzentration, verglichen mit unbehandelten Kontrollzellen, um 39–69 % signifikant reduziert. Die mit den unspezifischen siRNAs transfizierten Zellen zeigten sowohl einen ähnlichen TIMP-1- als auch sVEGFR-1-Gehalt wie die unbehandelten Kontrollen.

Schlußfolgerung: TIMP-1 erhöht bei niedriger Dosis die endotheliale sVEGFR-1-Produktion, während höhere Konzentrationen diese hemmen. Zudem wurde

beim TIMP-1-Knock-down auch der Gehalt an sVEGFR-1 herunterreguliert. Folglich kann TIMP-1 die sVEGFR-1-Sekretion in Endothelzellen regulieren.

P 10

IST DER SPIEGEL DES GRANULOZYTENKOLONIE-STIMULIERENDEN-FAKTORS (G-CSF) EIN PRÄDIKTIVER FAKTOR FÜR DEN IVF-ERFOLG?

A. Salmassi, K. Koch, A. Schmutzler, F. Püngel, L. Mettler
Universitäts-Frauenklinik, Christian-Albrechts-Universität, Kiel

Fragestellung: G-CSF wird primär in hämatopoetischen Zellen produziert, interessanterweise aber auch in nicht-hämatopoetischen Zelltypen, wie Osteoblasten, Endothelzellen, Epithelzellen, Zellen des Ovars, des Endometriums und auch im Hoden. Ziel der vorliegenden Arbeit war, die Rolle von G-CSF bei der induzierten Ovulation zu untersuchen.

Material und Methoden: Serum und Follikelflüssigkeit (FF) von 82 IVF/ICSI/ET-Patienten (mittleres Alter = 33,8 Jahre) wurden am Tag der Follikelpunktion gewonnen.

In Response zur ovariellen Stimulations-therapie wurden die Patientinnen in eine schlechte (n = 11), eine normale (n = 53) und eine gute (n = 18) Gruppe eingeteilt.

Zusätzlich wurde der G-CSF-Spiegel im Serum von Schwangeren und Nichtschwangeren verglichen. Bei 23/53 Patientinnen mit normaler Response auf die ovarielle Stimulation (davon 11 Schwangere) wurde Serum in allen Zyklusphasen bis zur Frühschwangerschaftsphase (4 Wochen nach dem Tag des Embryotransfers) gesammelt.

Die Höhe des G-CSF im Serum und in der FF bestimmten wir mit der ELISA-Technik.

Ergebnisse: Der G-CSF-Spiegel im Serum bei Patientinnen mit guter Response (G-CSF = $72,4 \pm 16,4$ pg/ml) war deutlich höher als bei Patientinnen mit normaler (G-CSF = $59,3 \pm 19,3$ pg/ml) bzw. schlechter Response (G-CSF = $40,74 \pm 14,3$ pg/ml; $p < 0,001$). Daraus

ergab sich ein eindeutiger Zusammenhang zwischen der ovariellen Stimulation und dem G-CSF-Spiegel im Serum. Ebenfalls gab es eine positive Korrelation zwischen der G-CSF-Konzentration und der Schwangerschaftsrate.

Der G-CSF-Spiegel stieg im Serum während der ovariellen Stimulation an und erreichte einen maximalen Wert am Tag der Injektion von humanem Choriongonadotropin (hCG) ($p = 0,01$). Nach dem Beenden der ovariellen Stimulation mit FSH und Injektion von hCG fiel der G-CSF-Spiegel vom Tag der hCG-Gabe bis zum Tag des Embryotransfers (ET) deutlich ab ($p = 0,001$).

Der G-CSF-Spiegel stieg nur bei schwangeren Patientinnen vom ET bis zum Tag der Implantation (ET + 1 Woche) und weiter in der Frühschwangerschaft (ET + 3–4 Wochen) an ($p = 0,005$).

Schlußfolgerung: Die Ergebnisse zeigen, daß G-CSF an der Follikelentwicklung, den Mechanismen der Ovulation, der Implantation des Embryos und an der Aufrechterhaltung der Schwangerschaft beteiligt ist.

P 11

PRÄVENTION EINES HYPERSTIMULATIONS-SYNDROMS (OHSS) BEI EIZELLSPENDERINNEN MIT GnRH-ANTAGONISTEN-PROTOKOLL

K. Schwenn, D. Bodri, J. Guillen, A. Galindo, R. Vidal, M. Durban, O. Coll
Clínica Eugén, Barcelona, Spanien

Einführung: Das Risiko eines ovariellen Hyperstimulationssyndroms als Folge einer Stimulationsbehandlung bei Eizellspenderinnen, die aus altruistischen Gründen eine solche Behandlung auf sich nehmen, macht die Entwicklung eines sicheren und effektiven Behandlungsprotokolls erforderlich.

Über die Inzidenz des OHSS bei Eizellspenderinnen, die eine Stimulation mit einem Antagonisten-Protokoll erhalten, liegen nur wenige Daten vor. Der Einfluß des Ovulationsauslösers auf das Risiko eines OHSS ist bekannt. In dieser retrospektiven Studie wurde das Auftreten eines OHSS nach Gabe eines rekombinanten hCG im Vergleich zu einem



GnRH-Agonisten als Trigger der Ovulation analysiert. Die Stimulation wurde mit einem GnRH-Antagonisten durchgeführt. Gleichzeitig wurde der prädiktive Wert der Estradiolwerte und der Anzahl der Follikel untersucht.

Patienten und Methoden: Alle Behandlungszyklen erfolgten zwischen November 2003 und März 2007 in einer Privatklinik für Reproduktionsmedizin. Insgesamt wurden 2076 Stimulationszyklen zur Eizellspende untersucht.

Die Stimulation erfolgte mit rFSH (Gonal-F, Serono oder Puregon, Organon) oder hMG (Menopur, Ferring) ab Zyklustag 2 mit einer mittleren Initialdosis von 225 IU. Das Monitoring erfolgte durch Vaginalultraschall und Serum-Estradiolwerte, die erste Kontrolle am 5. Stimulationstag. Abhängig von den Meßdaten der Ovarantwort wurde die weitere Dosierung angepaßt. Ab einer Größe des dominanten Follikels von 14 mm oder Estradiolwert ≥ 400 pg/ml wurde die Gabe des Antagonisten (Cetrotide, Serono) initiiert (0,25 mg/die).

Die Ovulationsauslösung erfolgte bei Nachweis von mindestens 3 Follikeln ≥ 18 mm, bei 1030 Zyklen mit rhHC (Ovitrelle, Serono) bzw. bei 1046 Zyklen mit 0,2 mg s.c. Triptorelin (Decapeptyl, Ipsen Pharma). Der Trigger wurde gewählt nach Auswertung der Follikelzahl und/oder des Estradiolwertes im Serum.

Die letzte Gabe des Antagonisten erfolgte innerhalb von 24 Stunden vor der Triggerung, die Ovarpunktion 36 Stunden nach Ovulationsauslösung.

Das Follow-up der Patientinnen erfolgte durch telefonische Befragung, im Falle von Beschwerden wurden sie in auswärtigen Kliniken behandelt. Die OHSS-Klassifikation erfolgte entsprechend den Navot-Kriterien [Navot et al., 1992].

Untersucht wurde die Inzidenz eines moderaten/schweren OHSS. Außerdem wurde der prädiktive Wert des höchsten Serum-Estradiolwertes und der Follikelzahl von > 10 hinsichtlich des Auftretens eines schweren bzw. moderaten OHSS analysiert.

Ergebnisse: Die mittlere Stimulationsdauer lag bei $10 \pm 1,6$ Tagen, mittlere FSH/hMG-Dosis bei 2200 ± 569 UI.

Der mittlere Estradiol-Peak lag bei 2790 ± 1406 pg/ml, die mittlere Zahl der rekrutierten Eizellen bei $11,8 \pm 6,7$.

Im Fall von 1030 Zyklen erfolgte die Ovulationsauslösung mittels rhCG, bei 1046 Zyklen mit GnRH-Agonist. Die Monitorwerte für Serum-Estradiol und die Follikelzahl lagen signifikant höher in der Gruppe, die mit GnRH-Agonist behandelt wurde.

Ein moderates bzw. schweres Hyperstimulationssyndrom wurde bei 13 Patientinnen ausschließlich der Gruppe mit hCG-Triggerung beobachtet. Dies entspricht einer Inzidenz von 1,26 % (95 %-CI: 0,74–2,15). In der Gruppe mit Ovulationsauslösung durch GnRH-Agonisten trat kein solcher Fall auf. Bei allen Eizellspenderinnen kam es zum passageren Auftreten von sonographisch oder klinisch nachweisbarem Aszites. Eine Hämokonzentration mit Hkt > 45 wurde in 6, eine Erhöhung der Leberenzyme in 5 Fällen beobachtet. 26 Spenderinnen wurden mit leichteren Symptomen eines OHSS behandelt (abdominales Spannungsgefühl, Schmerzen, Übelkeit), in all diesen Fällen erfolgte die Triggerung ebenfalls mit hCG.

Die weitere Analyse zeigte, daß die sonographisch gemessene Follikelzahl der signifikant bessere Prädiktor eines OHSS ist als der Estradiolwert (Grenzwert von 17 Follikeln > 10 mm beim letzten Monitoring vor Triggerung, 100 % Sensitivität, 69,1 % Spezifität).

Schlußfolgerung: Der Einsatz von GnRH-Agonisten zur Ovulationsauslösung vermindert signifikant das Risiko des Auftretens eines moderaten und schweren Hyperstimulationssyndroms bei Eizellspenderinnen, insbesondere bei Patientinnen mit einem höheren OHSS-Risiko. Daher sollte der standardisierte Einsatz bei Spenderinnen der Hochrisikogruppe diskutiert werden.

P 12

INHIBINE UND AKTIVIN A BEIM PCO-SYNDROM

R. Seufert¹, T. Maltaris¹, V. Passuello¹, M. Schaffrath², B. Pfister², F. Fischl², K. Pollow²

¹Universitäts-Frauenklinik Mainz, ²Abteilung für Experimentelle Endokrinologie, Johannes-Gutenberg-Universität, Mainz

Das PCO-Syndrom stellt eines der häufigsten endokrinen Krankheitsbilder der jungen Frau mit einer komplexen und unverständlichen Pathophysiologie dar, wobei eine bestehende Insulinresistenz, Veränderungen der Sekretion der Gonadotropine und erhöhte ovarielle Androgensynthesen eine besondere Bedeutung besitzen. Die Rolle der Inhibine – als ovarielle Proteohormone aus den Granulosazellen, die FSH stark supprimieren, und die des Aktivin A sind völlig unklar.

Fragestellung: Sind Inhibine und Aktivin A bei PCOS verändert und welche Bedeutung könnte sie erlangen?

Methoden: Bei 21 Patientinnen mit PCOS und 19 gesunden Patientinnen wurden die Serumkonzentrationen von Inhibin A, Inhibin B, Pro-Alpha-C und Aktivin A zu verschiedenen Zykluszeitpunkten mittels ELA der Firma Serotec bestimmt und die Ergebnisse durch den Wilcoxon-Test statistisch verglichen. Ebenfalls wurden Korrelationen bestimmt. Zusätzlich wurden bei je 8 Patientinnen Tagesprofile gemessen.

Ergebnisse: Sowohl die Konzentrationen an Inhibin B, Inhibin A und Pro-alpha-C waren statistisch auffällig bei Patientinnen mit PCOS erhöht, während sich Veränderungen für das Aktivin A nicht finden ließen.

Während gesunde Patientinnen morgens um 9.00 Uhr ein Maximum und abends um 21.00 Uhr ein Minimum der Inhibin-B-Konzentrationen zeigten, ließen sich bei PCO-Patientinnen keine eindeutigen tageszeitabhängigen Veränderungen mehr finden. Es fand sich nur in der PCOS-Gruppe eine positive Korrelation zwischen der Inhibin-B-Konzentration und dem Serumtestosteron, während das Inhibin A deutlich negativ



ABSTRACTS

mit der FSH-Konzentration korreliert war.

Eine anschließende Therapie mit 30 µg EE und 2 mg CPA unterdrückte die Sekretion der Inhibine fast vollständig, während Aktivin A nicht beeinflusst wurde.

Schlußfolgerungen: Inhibin A, Inhibin B und Pro-alpha-C werden bei PCOS vermehrt synthetisiert und deuten auf eine erhöhte endokrine Aktivität der Granulosazellen. Offenbar sind die feineren Regulationsmechanismen der Synthese der ovariellen Proteohormone aufgehoben, was sich an dem Wegfall der zirkadianen Rhythmik zeigt. Die erhöhten Inhibin-Serumkonzentrationen könnten damit zu einer weiteren Verfestigung der PCOS-Veränderungen beitragen, indem sie die FSH-Sekretion hemmen und damit zusätzlich die Follikelreifung negativ beeinträchtigen.

Die Bestimmung der Inhibine bei PCOS erlaubt tiefere Einblicke in die Fehlsteuerung des Ovars – unter klinischen Bedingungen – und könnte darüber hinaus – als zusätzlicher Marker – das Ausmaß der ovariellen Fehlregulation aufzeigen.

P 13

BEURTEILUNG DER OVARIELLEN FUNKTIONSRESERVE VON PATIENTINNEN UNTER CHEMOTHERAPIE WEGEN KREBS- UND AUTOIMMUNERKRANKUNGEN: DIE ROLLE VON AMH UND INHIBIN B

I. Zervomanolakis, V. Mattle, S. Hofer, K. F. Murach, I. Berger, L. Wildt
Klinische Abteilung für Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin, Universitätsklinik für Frauenheilkunde, Medizinische Universität Innsbruck

Einleitung: Die Überlebensrate der Patientinnen, die sich wegen Krebs- und Autoimmunerkrankungen einer Chemotherapie unterziehen, nimmt durch die Optimierung der Chemotherapieschemata ständig zu. Als Langzeitkomplikation wird die vorzeitige Menopause beobachtet, an der ca. 30–70 % der betroffenen Patientinnen aufgrund der Gonadotoxizität der Chemotherapeutika leiden. In der vorliegenden Studie werden das Anti-Müller-Hormon (AMH)

und das Inhibin B als Marker der ovariellen Funktionsreserve untersucht.

Methoden: Die Normwerte für AMH im Serum einer prämenopausalen Patientin betragen 1–10 µg/l, während ein Inhibin-B-Wert < 45 ng/l eine eingeschränkte ovarielle Funktion zeigt. Seit März 2005 werden das AMH sowie das Inhibin B im Serum in unserer Abteilung mittels der ELISA-Kits DSL-10-14400 bzw. DSL-10-84100 (Firma DSL, Texas, USA) bestimmt. 21 Patientinnen, die eine Chemotherapie zum Teil seit Juli 2003 erhielten, wurden nach Abschluß der Chemotherapie zur Hormonbestimmung rekrutiert. Anamnestisch wurden bei 4 der Patientinnen diverse Malignitätserkrankungen diagnostiziert, während 2 an Autoimmunerkrankungen und 15 an hämatologischen Erkrankungen litten. Der Altersmittelwert bei Diagnosestellung lag bei 24,0 Jahren. Nachdem die Patientinnen eine laparoskopische Ovarialprobeentnahme zur Kryokonservierung des Gewebes vor der Chemotherapie bzw. spätestens nach dem ersten Zyklus bekamen, erhielten sie während der Chemotherapie zum Ovarschutz einmal monatlich GnRH-Analoga. Mindestens 6 Monate nach Abschluß der Chemotherapie wurden zur Beurteilung der ovariellen Funktionsreserve eine Hormondiagnostik sowie Bestimmung des AMH und des Inhibins B durchgeführt.

Resultate: Bis auf eine normogonadotrope Patientin nach Chemotherapie wegen Non-Hodgkin-Lymphoms, bei der das Inhibin B und das AMH 11 Monate nach der Chemotherapie mit 8 Zyklen nach dem R-CHOP-Schema nachgewiesen wurden (Inhibin B 41 ng/l, AMH 0,48 µg/l), liegt das Inhibin B bei allen anderen Patientinnen nach Chemotherapie aufgrund hämatologischer bzw. diverser Malignitätserkrankungen unter der nachweisbaren Grenze (Inhibin B < 7 ng/l). Während das AMH bei 13 hypergonadotropen Patientinnen unter der nachweisbaren Grenze liegt (AMH < 0,017 µg/l), variiert der Wert bei den restlichen 5 hypergonadotropen Patientinnen zwischen 0,179 und 0,760 µg/l. Bei den 2 Patientinnen mit Autoimmunerkrankungen, die ihre Chemotherapie mit Zyklophosphamid wegen systemischem Lupus erythematodes bzw. Goodpasture-Syndroms bereits vor 17 bzw. 6 Monaten abgeschlossen haben, zeigte sich ein normogonadotroper Hor-

monstatus mit grenzwertig erniedrigten AMH- und Inhibin-B-Werten als Zeichen ihrer Ovarfunktion (Inhibin B 36 bzw. 24 ng/l, AMH 0,89 bzw. 1,03 µg/l).

Schlußfolgerung: Nach den vorliegenden Daten wird eine Schädigung der ovariellen Funktion nach Chemotherapie beobachtet, die vom Alter der Patientin, Wirkstoff und kumulativer Dosis abhängig ist. Dies deutet auf die Notwendigkeit eines vielfältigen Versuchs zum Ovarschutz hin, denn die aktuellen Möglichkeiten (Verabreichung GnRH-Analoga, Kryokonservierung Ovargewebe) sind nicht voll etabliert. Es zeigt sich trotzdem, daß die Anwendung von Inhibin B und AMH als Marker der ovariellen Funktionsreserve zur Optimierung der Methoden des Fertilitätsersatzs beitragen wird.

Genetik

P 14

ERSTE FORTLAUFENDE SCHWANGERSCHAFT NACH POLKÖRPERDIAGNOSTIK FÜR MONOGENE ERKRANKUNG NACH M-II-EIZELL-VITRIFIKATION

M. Bals-Pratsch¹, A. Hehr², U. Hehr², B. Seifert¹, D. Seifert¹
¹Kinderwunschzentrum Regensburg,
²Zentrum für Humangenetik, Regensburg

Einleitung: Die Polkörperdiagnostik (PKD) ist eine Methode zur Präimplantationsdiagnostik genetisch bedingter Erkrankungen. In unserem Zentrum wird diese Methode seit dem Jahr 2001 für die Diagnostik monogener Erkrankungen angewendet. Nach der Entnahme der Polkörper werden mittels Multiplex-Fluoreszenz-PCR die zu untersuchende familien-spezifische 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. Bisher wurde



diese Eizelldiagnostik jeweils am Tag der Follikelpunktion durchgeführt. Mit der Vitrifikation ist es jetzt erfolgreich möglich, auch Metaphase-II- (M-II-) Eizellen einzufrieren und die PKD an Eizellen nach dem Auftauen im Rahmen eines Kryoauftauzyklus durchzuführen.

Methode: Bei einer 33jährigen Trägerin der CFTR-Mutation Delta F508 im heterozygoten Zustand wurde eine Ovarstimulation im langen Protokoll mit recFSH/hMG für die Polkörperdiagnostik durchgeführt. Der Partner ist ebenfalls heterozygoter Träger einer CFTR-Mutation (R553X) und das Risiko für ein Kind mit Zystischer Fibrose beträgt 25 %. Die gemeinsame 6jährige Tochter ist an Zystischer Fibrose erkrankt („compound heterozygot“ für Delta F508 und R553X). Es wurden 19 Eizellen gewonnen, davon 11 M-II-Eizellen. Diese wurden vitrifiziert (Vitasep Vitrification Kit, MTG Medical Technology, Altdorf, Deutschland), da unerwartet technische Probleme mit dem Testsystem für die Polkörperdiagnostik auftraten. In einem künstlichen Zyklus (Estradiolvalerat 3 x 2 mg kontinuierlich, Progesteron 90 mg vaginal beginnend 3 Tage vor Embryotransfer) wurden die vitrifizierten Eizellen zyklusphasengerecht aufgetaut und mit der intrazytoplasmatischen Spermieninjektion (ICSI) behandelt. Die Polkörperbiopsie mit nachfolgender genetischer Diagnostik der familienspezifischen Mutation erfolgte sequentiell für das 1. und 2. Polkörperchen.

Resultate: 8 Eizellen waren nach dem Auftauen vital, davon waren nach ICSI 5 Eizellen im Vorkernstadium. 2 imprägnierte Eizellen wurden wegen Mutationsnachweis und 1 Eizelle wegen Verlust des 2. Polkörperchens verworfen, so daß 2 Eizellen mit mütterlichem Wildtyp-Allel weiterkultiviert und transferiert wurden. 11 Tage später war der Schwangerschaftstest mit 176 IU Choriongonadotropin (hCG) positiv. In der 6. Schwangerschaftswoche (SSW) konnte zeitgerecht intrauterin eine Einlingschwangerschaft mit Herzaktion diagnostiziert werden. Aktuell ist die Patientin in der 18. SSW intakt schwanger.

Schlußfolgerungen: Erstmals konnte gezeigt werden, daß nach Vitrifikation von M-II-Eizellen auch die Polkörperdiagnostik für monogene Erkrankungen erfolgreich mit nachfolgender intakter Schwan-

gerschaft möglich ist. Eventuell ist auch mit der wiederholten Vitrifikation von M-II-Eizellen in mehreren stimulierten Zyklen die Polkörperdiagnostik bei Patientinnen mit reduzierter ovarieller Reserve erfolgreich möglich, bei denen in einem Zyklus nicht ausreichend Eizellen für eine PKD gewonnen werden können.

P 15

SCHWANGERSCHAFTSVERLÄUFE BEI TRANSLOKATIONSTRÄGERINNEN – SINNVOLLER EINSATZ DER PKD

T. Buchholz, M. Klehr-Martinelli,
A. Clement-Sengewald
Zentrum für Polkörperdiagnostik,
Gyn-Gen-Lehel, München

Einleitung: Translokationsträger tragen durch eine unbalancierte Fehlverteilung der translozierten Chromosomen ein höheres Risiko für rezidivierende Fehlgeburten. Manche Fehlgeburten zeigen jedoch einen balancierten Karyotyp in bezug auf die translozierten Chromosomen, aber eine zusätzliche Fehlverteilung eines anderen Chromosoms.

Ziel: Das Ziel unserer retrospektiven Untersuchung ist, die Rate der zusätzlichen Chromosomenfehlverteilungen in Schwangerschaften von Translokationsträgern zu ermitteln.

Ergebnisse: In unserem Zentrum für Polkörperdiagnostik haben sich 55 Patientinnen mit einer balancierten Translokation vorgestellt (48 mit reziproker Translokation und 7 mit Robertson-Translokation). Von insgesamt 145 registrierten Schwangerschaften wurden nur 17 Kinder geboren (11,5 %); 10 Kinder waren gesund mit einem unauffälligen oder balancierten Karyotyp, 6 trugen einen unbalancierten und eines trägt einen 47,t(4;18),+XXY Karyotyp. Von 128 Fehlgeburten wurden 87 nicht-chromosomal untersucht. Von den 44 untersuchten Fehlgeburten zeigten 9 einen unauffälligen Chromosomensatz, 27 einen unbalancierten Chromosomensatz in bezug auf die translozierten Chromosomen. Die verbleibenden 5 Fehlgeburten zeigten einen balancierten Chromosomensatz mit einer zusätzlichen Fehlverteilung. Von den insgesamt 58 karyotypisierten Schwangerschaften hatten

33 (57 %) einen unbalancierten und 19 (33 %) einen balancierten Chromosomensatz. In 6 Schwangerschaften zeigte sich eine zusätzliche Chromosomenfehlverteilung, in 5 Fällen eine Aneuploidie eines einzelnen Chromosoms, in einem Fall eine Triploidie.

Schlußfolgerung: Unsere Ergebnisse bestätigen die erwartete hohe Rate einer unbalancierten Verteilung der translozierten Chromosomen in Schwangerschaften. Sie lassen auch vermuten, daß die Rate von Aneuploidien unter Translokationsträgern sehr viel höher ist als unter Patienten mit unauffälligem Chromosomensatz. Es kann spekuliert werden, daß der Teilungsablauf zum Beispiel durch die Quadrupletformation der translozierten Chromosomen auch für die übrigen Chromosomen gestört wird. Um das Risiko für weitere Fehlgeburten durch Fehlverteilungen von Chromosomenabschnitten oder ganzen Chromosomen zu reduzieren, kann für Translokationsträgerinnen die PKD angeboten werden. Dabei werden die translozierten und zumindest die häufigsten bei Fehlverteilungen vorkommenden Chromosomen untersucht.

P 16

CHROMOSOMENBEFUNDE NACH IVF/ICSI-THERAPIE

D. Hansmann¹, H. Weiß¹, A. Geipel²,
U. Gembruch²

¹Pränatalmedizin und Genetik, Bonn-Meckenheim, ²Abteilung Geburtshilfe und Pränatalmedizin, Universitätsklinikum Bonn

Einleitung: Im Zeitraum vom 01.01.2002 bis 31.12.2006 wurden bei 228 Schwangerschaften nach IVF/ICSI-Therapie 325 pränatale Chromosomenanalysen durchgeführt. Nicht in allen Fällen lagen Chromosomenbefunde der Eltern nach Lymphozytenkultur vor.

Bei 307 Feten fand sich ein normaler Chromosomensatz (Karyotyp: 46,XY bzw. 46,XX), in 15 Fällen lag eine numerische Chromosomenaberration und in 3 Fällen ein unbalancierter Strukturumbau vor. Bei den untersuchten Schwangerschaften war erwartungsgemäß die Anzahl der Mehrlinge erhöht.



ABSTRACTS

Es handelte sich dabei um 57 Zwillinge, 17 Drillinge und 2 Vierlinge.

Im Rahmen einer genetischen Beratung wurden alle auffälligen Pränatalbefunde mit den betroffenen Eltern ausführlich besprochen. Die fetalen Chromosomenstrukturauffälligkeiten waren alle *de novo* entstanden.

Beispielhaft wird eine Familie mit Zwillingen dargestellt, bei denen ein Junge eine strukturelle Chromosomenaberration *de novo* aufweist (Duplikation 15q12), während der zweite Junge bei normalem Karyotyp eine Entwicklungsverzögerung nach Multiorganversagen und Atemwegsinfektion in der 4. Lebenswoche zeigt.

Die Entwicklung der Kinder bei gezielter Förderung konnte über einen Zeitraum von 5 Jahren verfolgt werden.

Methoden: Es erfolgten diagnostische Ultraschalluntersuchungen in SSW 12, 16 und 20.

Die Chromosomenanalysen nach Lymphozytenkultur, Chorionbiopsie und Amniozentese wurden nach Standardänderungsverfahren durchgeführt (GTG, CBG, NOR). Ergänzend wurden Mikrodissektion und reverse FISH-Techniken eingesetzt.

Resultate: Das gehäufte Auftreten von Mehrlingsschwangerschaften und die vermehrt vorliegenden fetalen Chromosomenaberrationen nach Infertilitätstherapie stellen für den Schwangerschaftsverlauf eine Komplikation dar, die eine detaillierte genetische Beratung und eine intensive Schwangerschaftsbetreuung erfordern.

P 17

POLKÖRPERDIAGNOSTIK (PKD) FÜR MONOGENE ERKRANKUNGEN IN REGENSBURG – SECHS JAHRE IM ÜBERBLICK

A. Hehr¹, B. Paulmann², M. Bals-Pratsch², B. Seifert², U. Hehr¹

¹Zentrum für Humangenetik, Regensburg,
²Kinderwunschzentrum Regensburg

Einleitung: Die Polkörperdiagnostik ist unter den Bedingungen des Embryonenschutzgesetzes (EschG) in Deutschland

derzeit die einzige zulässige Form der Präimplantationsdiagnostik. Unser Regensburger Zentrum führt seit 6 Jahren für ausgewählte monogene Erkrankungen eine Polkörperdiagnostik durch, unsere bisherigen Ergebnisse sollen hier zusammenfassend dargestellt werden.

Methode: Vor Beginn des ICSI-Zyklus wird zunächst ein familienspezifisches Testsystem etabliert und hinsichtlich Reproduzierbarkeit und Allel-drop-out-Rate (ADO) getestet. Im Behandlungszyklus werden dann der 1. und 2. Polkörper eine bzw. 9 Stunden nach ICSI entnommen und unmittelbar im Anschluß PCR-Produkte für flankierende informative Marker und, falls möglich, auch die familienspezifische Mutation mittels einer Multiplex-Fluoreszenz-PCR amplifiziert. Nach Auftrennung der entstandenen PCR-Produkte mittels Kapillarelektrophorese wird auf Basis der bekannten Segregation der verschiedenen Allele innerhalb der Familie die genetische Konstitution der Eizelle bestimmt. Die Erstellung eines abschließenden humangenetischen Befundes mit Empfehlung für Weiterkultur/Transfer jener Eizellen, die die jeweilige familienspezifische Mutation nicht aufweisen, erfolgt bis spätestens 21 Stunden nach ICSI und damit noch im Vorkernstadium.

Resultate: Bisher wurden an unserem Zentrum in 26 PKD-Zyklen 167 Eizellen entnommen (durchschnittlich 6,42 Eizellen pro Zyklus). Für 26 Eizellen konnte nachgewiesen werden, daß sie die Mutation nicht tragen, diese wurden in 17 Zyklen transferiert (durchschnittlich 65 % Zyklen mit Transfer, durchschnittlicher Transfer von 1,5 Embryonen pro Zyklus mit Transfer). Daraus resultierten 6 klinische Schwangerschaften (klinische Schwangerschaftsrate 35,29 % pro Transferzyklus). Bislang wurden 7 gesunde Kinder geboren (2 × Zwillinge), gegenwärtig besteht eine Schwangerschaft in der 16. SSW.

Schlußfolgerungen: Die Polkörperdiagnostik kann nach unserer Erfahrung auch unter den Bedingungen des deutschen Embryonenschutzgesetzes bei Vorliegen einer genetischen Prädisposition für eine monogene Erkrankung erfolgreich eingesetzt werden. Voraussetzung ist eine umfassende interdisziplinäre Beratung und Betreuung der ratsuchenden Paare. Die im Vergleich zur PID relativ hohe Schwangerschaftsrate von mehr als 35 % für unsere zunächst kleinen Fallzahlen

deutet darauf hin, daß die Entnahme der Polkörper möglicherweise weniger negative Auswirkungen auf das Entwicklungspotential der Eizellen hat als die weltweit derzeit überwiegend eingesetzte Blastomerendiagnostik.

P 18

MÄNNLICHE MÄUSE MIT EINEM ÜBERZÄHLIGEN X-CHROMOSOM (41, XX^Y) ZEIGEN KOGNITIVE EINSCHRÄNKUNGEN BEI DER OBJEKTERKENNUNG

J. Wistuba¹, O. Damm¹, C. Luetjens¹, M. Simoni¹, E. Nieschlag¹, L. Lewejohann²
¹Institut für Reproduktionsmedizin, Universitätsklinikum Münster, ²Abteilung für Verhaltensbiologie und Otto Creutzfeldt Center, Universität Münster

Fragestellung: Unter den numerischen Chromosomenaberrationen, die bei Männern auftreten, ist der Karyotyp 47,XXY (Klinefelter-Syndrom, KS) der am häufigsten auftretende mit einer Prävalenz von einem unter 500 männlichen Neugeborenen. Das KS ist durch Hypogonadismus und weitere physische und kognitive Störungen gekennzeichnet. Ein überzähliges X-Chromosom wird zudem zumeist von Infertilität begleitet, so daß die Erzeugung geeigneter Tiermodelle schwierig ist.

Methoden: In der vorliegenden Studie wurden phänotypisch männliche Mäuse, die über zwei X-Chromosomen und einen Teil des Y-Chromosoms verfügen (41, XX^Y) durch Zucht mit mutanten männlichen Tieren mit einem strukturell reorganisierten Y-Chromosom (Y*) generiert. Ein Teil der Gameten solcher Väter erhält in der Meiose die Geschlechtschromosomen X^Y. Ein Teil des Y-Chromosoms bleibt an das X-Chromosom gebunden. Daraus resultieren männlichen Nachkommen mit einem zweiten X-Chromosom (41, XX^Y, in etwa 25 %). Diese Tiere zeigen viele physiologische Eigenschaften, die denen von KS-Patienten ähneln.

Wir charakterisierten das Verhalten solcher XX^Y-Männchen. Hierzu wurden 15 XX^Y-Männchen und 15 XY*-Wurfgeschwister (Kontrollen) einer Reihe von Verhaltensexperimenten unterzogen. Neben einer allgemeinen Prüfung



des Gesundheitszustandes wurden Spontanexploration (Barriere-Test), lokomotorische Aktivität (Open Field-Test), angsthähnliches Verhalten (Elevated Plus Maze) und Lernen (Novel Object-Test) analysiert.

Ergebnisse und Schlußfolgerung: Alle Tiere waren gesund. Die XX^{*Y} -Männchen unterschieden sich nicht von den Kontrollen bezüglich Spontanexploration, lokomotorischer Aktivität und im angsthähnlichen Verhalten, zeigten aber im Gegensatz zu ihren XY^{*} -Wurfgeschwistern kein signifikantes Lernverhalten bezüglich der nicht-konditionalen Objekterkennung. Diese Ergebnisse unterstützen die Hypothese, daß die Anwesenheit eines überzähligen X-Chromosoms die kognitiven Fähigkeiten von männlichen Mäusen beeinflusst.

P 19

MÄNNLICHE MÄUSE MIT EINEM ÜBERZÄHLIGEN X-CHROMOSOM ($41, XX^{*Y}$): EIN MODELL FÜR XX-MÄNNER?

J. Wistuba¹, J. Gromoll¹, J. Stukernborg¹, O. Damm¹, T. Hämäläinen², M. Simoni¹, E. Nieschlag¹, C. Luetjens¹

¹Institut für Reproduktionsmedizin, Universitätsklinikum Münster, ²Biomedizinisches Institut, Abteilung für Physiologie, Universität Turku, Finnland

Fragestellung: Numerische Aberrationen der Geschlechtschromosomen, wie sie bei Klinefelter-Patienten oder bei XX-Männern gefunden werden, sind die häufigste genetische Ursache von Hypogonadismus und Infertilität des Mannes. Die aberranten, von einem zusätzlichen X-Chromosom geprägten Karyotypen werden phänotypisch von reproduktiven, kognitiven und endokrinologischen Störungen begleitet. Dies weist auf eine geschlechtschromosomale Ursache für den frühen Verlust der männlichen Keimbahn, für den Androgenmangel und die Infertilität hin. Tiermodelle für derartige geschlechtschromosomale Aberrationen – insbesondere für XX-Männer, die kein vollständiges Y-Chromosom haben – sind kaum vorhanden, obwohl sie eine unerläßliche Voraussetzung für die experimentelle Untersuchung der Folgen hiermit verbundener Defekte darstellen.

Methoden: Wir konnten phänotypisch männliche Mäuse generieren, die über zwei X-Chromosomen und einen kleinen Teil des Y-Chromosoms verfügen ($41, XX^{*Y}$). Diese Tiere wurden detailliert analysiert und ihr Phänotyp mit publizierten Daten anderer Mausmodelle und von Männern mit überzähligen X-Chromosomen verglichen.

Ergebnisse und Schlußfolgerungen: Die histologische und stereologische Untersuchung sowie die Analyse des endokrinen Status und der Expression von Leydig-Zell-Markergenen und -Funktionen zeigten erhebliche Unterschiede zum normalen männlichen Phänotyp. Bei Tieren mit einem überzähligen X-Chromosom waren zwar die Körperproportionen unverändert, jedoch sind postpubertär keine Keimzellen mehr vorhanden, Hoden- und Nebenhodengewicht sind erheblich reduziert und die Gonadotropinkonzentrationen im Serum signifikant erhöht. Die stereologische Auswertung bestätigte eine Hyperplasie der Leydig-Zellen bei einer erhöhten Expressionsrate Leydig-Zell-spezifischer Gene (est, *tsp2*, *LHR* und *rlf*). Darüber hinaus zeigten aus den Hoden von XX^{*Y} -Tieren isolierte Leydig-Zellen im Vergleich zu aus Kontrolltieren isolierten Zellen eine verstärkte sekretorische Antwort auf hCG-Stimulation in vitro.

Die Charakterisierung dieses Tiermodells ergab zahlreiche Ähnlichkeiten zu Männern mit überzähligem X-Chromosom. Die erhaltenen Resultate lassen demnach den Schluß zu, daß sich männliche Mäuse mit dem Karyotyp $41, XX^{*Y}$ als ein neues experimentelles Tiermodell zur Analyse gestörter geschlechtschromosomaler Balance im Mann nutzen lassen.

Reproduktionsmedizin

P 20

EINSATZ DES GnRH-ANTAGONISTEN GANIRELIX BEI KONTROLLIERTER OVARIELLER HYPERSTIMULATION – EINE ONLINE-ANWENDUNGSBEOBACHTUNG

T. Frambach, S. Blissing
Abteilung für Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin, Universitäts-Frauenklinik Würzburg

Einführung: Gonadotropin-Releasing Hormon- (GnRH-) Antagonisten wurden im Bereich der IVF eingeführt, um bei Durchführung von kontrollierten ovariellen Stimulationen einen vorzeitigen LH-Anstieg zu vermeiden. Die GnRH-Antagonisten binden kompetitiv an die GnRH-Rezeptoren der Hypophyse und vermeiden so eine Beeinflussung durch endogenes GnRH. Innerhalb von wenigen Stunden kommt es zu einer Suppression der Gonadotropinausschüttung ohne initialen „Flare up“. Im Vergleich zu den heute als „Goldstandard“ verwendeten GnRH-Agonisten werden GnRH-Antagonisten häufig als zweite Wahl eingesetzt. Breite Erfahrungen in der klinischen Anwendung fehlen. Aus diesem Grund wurde im Rahmen einer Anwendungsbeobachtung die Handhabung in der täglichen Praxis dokumentiert und die Ergebnisse daraus analysiert.

Methoden: Ziel der vorliegenden Studie war die Überprüfung der Wirksamkeit, Effizienz und Verträglichkeit einer Therapie mit dem GnRH-Antagonisten Ganirelix bei Patientinnen, die sich einer kontrollierten ovariellen Stimulation zur intrauterinen Insemination (IUI) und kontrollierten ovariellen Hyperstimulation (COH) unterzogen. Es handelt sich um eine offene, prospektive Anwendungsbeobachtung. Die Datenerhebung erfolgte elektronisch über Eingabemaschinen. Innerhalb der Anwendungsbeobachtung wurden die Art der Stimulation, die einzelnen Ganirelix-Gaben, die Ovulationsauslösung, Labordaten und Ultraschallkontrollen erfaßt. Die Anwendungsbeobachtung wurde von 6 deutschen IVF-Zentren im Zeitraum Januar 2005–Januar 2006 durchgeführt. Es wurden



ABSTRACTS

Daten von Patientinnen ≥ 18 Jahren und < 45 Jahren erhoben.

Ergebnisse: Insgesamt wurden bei 120 Patientinnen 136 Stimulationszyklen dokumentiert. Das durchschnittliche Alter der Patientinnen betrug $32,8 \pm 4,6$ (21–41) Jahre. Die durchschnittliche Dauer des Kinderwunsches betrug $3,8 \pm 2,5$ (0,6–12) Jahre. Im Rahmen der 136 Behandlungszyklen wurde 14mal eine IUI-, 53mal eine IVF- und 69mal eine ICSI-Therapie durchgeführt. In 118 Zyklen wurde mit rFSH, in 12 Zyklen mit HMG und in 6 Zyklen mit rFSH und HMG stimuliert. Die mittlere Stimulationsdauer bis zur Ovulationsinduktion betrug $10,6 \pm 2,8$ (6–20) Tage. Im Durchschnitt wurden pro Patientin 2041 I.E. appliziert. Die tägliche Ganirelix-Injektion begann im Durchschnitt $6,7 \pm 2$ Tage nach Stimulationsbeginn und dauerte $5,4 \pm 2,3$ (1–18) Tage. Unter Therapie kam es in keinem dokumentierten Fall ($n = 49$) zu einem frühzeitigen LH-Anstieg. Die Ovulationsinduktion fand durchschnittlich $11 \pm 2,5$ Tage nach Stimulationsbeginn mit HCG statt. Die Östrogenspiegel lagen am Tag der Ovulationsinduktion bei den IVF- und ICSI-Zyklen bei durchschnittlich 3391 pg/ml ($n = 41$), bei den IUI-Zyklen bei durchschnittlich 749 pg/ml ($n = 8$). Durch 119 Punktionen konnten in 116 Fällen im Durchschnitt $10,4 \pm 5,6$ Eizellen gewonnen werden, von denen $8,6 \pm 5,1$ Eizellen als reif eingestuft wurden. In 115 Zyklen wurden durchschnittlich $2,2 \pm 0,6$ Embryonen transferiert. Daraus resultierte in 41 Zyklen eine Schwangerschaft, die durch Sonographie mit positiver Herzaktion ($n = 24$) oder positivem Dottersack ($n = 17$) nachgewiesen wurde. Dies entspricht einer klinischen Schwangerschaftsrate von 35,6 %. Die Mehrlingsrate betrug 19,5 %, dabei handelte es sich um 6 Zwillings- und 2 Drillingsgraviditäten. In 40 % ($n = 46$) der Zyklen wurden durchschnittlich $5 \pm 2,3$ Vorkernstadien kryokonserviert. Die Handhabbarkeit und die Akzeptanz gegenüber der Therapie wurden in 98 % der Fälle von den Patientinnen mit „gut“ bis „sehr gut“ beschrieben.

Schlußfolgerung: Die Auswertung der Anwendungsbeobachtung zeigt, daß eine sehr gute Schwangerschaftsrate mit dem GnRH-Antagonisten-Protokoll erzielt werden konnte. Die Schwangerschaftsrate in den 119 IVF/ICSI-Zyklen betrug 35,6 %. Vergleichbare Werte wurden auch in Studien von Obruc

(35,5 % SS-Rate), Ludwig (36 % SS-Rate) und Villars-Pelzer (36 % SS-Rate) unter Verwendung eines Antagonisten-Protokolls dokumentiert. Die Gesamtbehandlungsdauer ist deutlich kürzer und der durchschnittliche Gonadotropinverbrauch niedriger als unter Verwendung eines langen Agonisten-Protokolls. Ein vorzeitiger LH-Anstieg konnte durch die Gabe von Ganirelix zuverlässig unterdrückt werden. Die Verwendung von GnRH-Antagonisten in Stimulationsprotokollen offeriert eine Möglichkeit der ovariellen Stimulation mit guter Verträglichkeit, einfacher Handhabung und wenig Nebenwirkungen. Durch die vorgelegte Anwendungsbeobachtung kann die Wertigkeit der GnRH-Antagonisten im Bereich der IVF-Behandlung unterstrichen werden.

P 21

STÄRKERE REDUKTION DER IVF-ZYKLENZAHL NACH GMG 2004 IN ÖKONOMISCH SCHWÄCHEREN BUNDESLÄNDERN

G. Griesinger, K. Diedrich, C. Altgassen
Abteilung für Gynäkologie und Geburtshilfe, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein – Campus Lübeck

Fragestellung: Die Gesetzesänderung im Gesundheitsmodernisierungsgesetz (GMG) zum § 27a SGB V, welche am 01. Januar 2004 in Kraft getreten ist, bedeutet für deutsche Kinderwunschpaare einen 50 %-Eigenteil an den finanziellen Kosten der Maßnahmen der künstlichen Befruchtung. Darüber hinaus ist eine Kostenerstattung durch die gesetzliche Kasse nur innerhalb der Altersgrenzen von 25–40 Jahren, bzw. ≤ 50 Jahren für Frauen bzw. Männer gewährleistet. Die Folgewirkungen des GMG mit Hinblick auf das IVF-Behandlungsvolumen in Deutschland (DIR 2005) sowie die Zahl der geborenen Kinder nach IVF (Thaete und Uszkoreit, 2007) sind in der Literatur ausführlich diskutiert worden. Bisher ungeklärt ist, ob sich die Auswirkungen des GMG, gemessen an der IVF-Zyklenzahl, in unterschiedlichen deutschen Bundesländern in Abhängigkeit des Bruttoinlandsprodukts (BIP) *per capita* des jeweiligen Bundeslandes unterscheiden.

Methoden: Es handelte sich um eine retrospektive Datenexploration. Es wurden die Datenbanken des deutschen IVF-Registers sowie die Datenbank des statistischen Bundesamtes verwendet. Der primäre Ergebnisparameter war die relative Reduktion der IVF-Zyklenzahl, stratifiziert nach Bundesländern. Zu Vergleichszwecken wurden die Bundesländer nach Tukey-Hinges-Perzentilen des BIP pro Einwohner (BIP *per capita per annum*) gruppiert. Der Zeitraum der Auswertung bezieht sich auf einen Vergleich der Jahre 2002–2003 und 2004–2005.

Ergebnisse: Die relative Reduktion der IVF-Zyklenzahl war in der niedrigsten BIP-Perzentilengruppe der Bundesländer am stärksten ausgeprägt. Die durchschnittliche relative Reduktion an durchgeführten IVF-Zyklen war 51,5 %, 35,7 % bzw. 38,8 % in der 0–25, 25–75 bzw. 75–100 BIP-pc-Perzentilengruppe.

Diskussion: Die vorliegenden Daten zeigen, daß Einwohner finanziell schwächerer Bundesländer überproportional durch das GMG 2004 betroffen sind. Die Vermutung liegt nahe, daß Paare mit Kinderwunsch durch die 50 %-Eigenbeteiligung an der IVF-Behandlung finanziell überfordert werden, mit besonderer Ausprägung in geographischen Regionen mit geringem BIP *per capita*.

P 22

GIBT ES PROGNOSEPARAMETER FÜR DIE FERTILITÄT BEIM KLINEFELTER-SYNDROM?

S. Kemper¹, G. Pühse¹, M. Bergmann², E. Nieschlag³, S. Kliesch¹
¹Klinik und Poliklinik für Urologie, Universitätsklinikum Münster, ²Institut für Veterinär Anatomie, Justus-Liebig-Universität Gießen, ³Institut für Reproduktionsmedizin, Universitätsklinikum Münster

Ziele: Die häufigste genetische Ursache der männlichen Infertilität ist das Klinefelter-Syndrom (KS). Lt. Literaturangaben findet sich bei bis zu 50 % der Patienten eine Restspermatogenese als Voraussetzung für eine Therapie, wobei Schwangerschaften noch sehr selten sind. Als einziger signifikanter Prognoseparameter wird in der Literatur das Alter < 30 Jah-



ren diskutiert. Wir evaluierten prospektiv die interdisziplinär behandelten KS-Patienten hinsichtlich möglicher Prognoseparameter für eine Restspermatogenese.

Material und Methoden: 54 Biopsien von 27 Infertilitätspatienten mit nachgewiesenem KS (47, XXY) wurden evaluiert. Zur Korrelation wurden folgende klinische Parameter erfaßt: Alter, Hodenvolumen (Sonographie 12,5 MHz) sowie LH, FSH und Testosteron.

Ergebnisse: Das Durchschnittsalter lag bei $27,4 \pm 1,2$ Jahren (Mittelwert $\pm$ SD). 7 Patienten (26 %) waren ≤ 20 (Gruppe I), 9 (33 %) 21–30 (Gruppe II) und 11 (41 %) > 30 Jahre (Gruppe III) alt. In 15 Biopsien (28 %) bei 13 Patienten fanden sich unterschiedliche Stadien der Spermatogenese (I: 58 %, II: 33 %, III: 55 %). Alle anderen boten eine vollständige Atrophie. 7 Patienten hatten eine Spermatogenese bis zu den elongierten Spermatozyten (I: 29 %, II: 22 %, III: 27 %). Das Alter zwischen den Patienten mit und ohne Spermatogenese unterschied sich nicht signifikant. FSH betrug $31,3 \pm 10,4$ U/l, LH $17,9 \pm 6,4$ U/l und Testosteron $10,66 \pm 3,3$ nmol/l und zeigte keine signifikanten Unterschiede mit und ohne Spermatogenese (FSH bei Patienten mit elongierten Spermatozyten tendenziell niedriger und Testosteron noch normal). Das Einzelhodenvolumen lag bei $2,8 \pm 1,2$ ml.

Schlußfolgerung: Anhand unserer Daten lassen sich prädiktive Prognoseparameter für die Fertilität bei KS-Patienten wie Alter, Hodenvolumen oder Hormonparameter nicht ableiten.

P 23

GEBURTENRATE NACH WIEDERHOLTEM IMPLANTATIONSVERSAGEN

C. Kling¹, A. Schmutzler², D. Kabelitz³
¹Institut für Immunologie, ²Frauenklinik, Abteilung Reproduktionsmedizin, ³Institut für Immunologie, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein – Campus Kiel

Fragestellung: Die Geburtenraten, die nach 3 und mehr erfolglosen Punktionszyklen im IVF-Programm erreicht werden, sind wegen der Fluktuation der Paare von einzelnen Zentren nur schwer zu ermitteln. Hier werden die Daten einer

überregional tätigen Einrichtung vorgestellt, die im Anschluß an eine Lymphozyten-Immuntherapie (LIT) wegen wiederholten Implantationsversagens aus deutschen IVF-Zentren erhoben wurden.

Methoden: Prospektive Multicenter-Beobachtungsstudie. Zwischen 1999 und 2002 wurden 1700 Paare aus 47 bundesdeutschen Zentren nach 3–21 erfolglosen Punktionszyklen an das Institut für Immunologie zur begleitenden Lymphozyten-Immuntherapie (LIT) überwiesen und 2 Jahre später ebenso wie die überweisenden Zentren zum weiteren Verlauf befragt. Bei 1174 Paaren konnte die Geburtenrate pro Zyklus ermittelt werden. Der Ausgang von Schwangerschaften wurde im Sommer 2005 erfaßt. Nicht berücksichtigt wurden die Transfers mit kryokonservierten Embryonen, die unmittelbar nach LIT vor einer weiteren Punktionsbehandlung, sowie im Ausland durchgeführte Behandlungen. Der Einfluß der Immuntherapie kann hier mangels geeigneten Vergleichskollektivs nicht beurteilt werden.

Ergebnisse: Von 1700 Paaren hatten 183 (10,8 %) die IVF-Behandlung aufgegeben und 78 Paare (4,6 %) lediglich noch Transfers mit kryokonservierten Embryonen durchgeführt. 265 Paare (15,6 %) blieben ohne Rückmeldung.

Insgesamt 1174 Paare setzten die IVF- oder ICSI-Behandlung mit durchschnittlich weiteren 1,5 Punktionszyklen und 1,7 Embryotransfers in der BRD fort. Das Alter der Frau bei LIT betrug $34,2 \pm 2,9$ Jahre (21–43 Jahre). 333 Geburten wurden verzeichnet: 310 nach frischem Embryotransfer und 23 nach Kryotransfer. Es wurde eine Geburtenrate von 17,3 % pro frischem Transfer und von 18,6 % pro Punktionszyklus (inkl. der erzielten Kryotransfers) erreicht. Die Geburtenrate pro frischem Transfer betrug ab dem 4.–8. Punktionszyklus 17,4 % (701 Paare), 18,3 % (306 Paare), 15,0 % (92 Paare), 12,9 % (42 Paare), 12,9 % (17 Paare), ab dem 9.–22. Zyklus 28,0 % (17 Paare). Das durchschnittliche Alter der Frau stieg dabei kontinuierlich von 33,7 Jahre auf 37,3 Jahre an.

Wenn in den vorangegangenen Zyklen Kryotransfers durchgeführt worden waren, wurde eine signifikant höhere Geburtenrate beobachtet als bei Paaren ohne Kryokonservierung (pro frischem Transfer 20,4 % vs. 16,1 %; $p < 0,05$,

pro Punktionszyklus 22,9 % vs. 16,9 %; $p < 0,005$, Gesamtgruppe 346 vs. 828 Paare). Der Trend war in den Untergruppen auch nach höhergradigem Implantationsversagen erkennbar.

Die hier für die BRD festgestellten Raten waren den Ergebnissen aus 8 internationalen zwischen 1994 und 2005 publizierten Studien vergleichbar.

Schlußfolgerung: Erstmals werden in der BRD erzielte Geburtenraten nach wiederholtem Implantationsversagen vorgestellt. Die Abnahme der Chancen ab der 6. Punktionszyklus ist teilweise durch das höhere weibliche Alter erklärt.

Die ovarielle Reserve spielt auch in dieser Patientengruppe eine signifikante Rolle. Wenn zusätzlich zu den frischen Embryotransfers in der Vergangenheit eine Kryokonservierung möglich gewesen war, spiegelt dies eine bessere Chance bei weiteren Behandlungen wider.

P 24

SCHWANGERSCHAFTEN NACH SPONTANER KONZEPTION UND NACH EMBRYOTRANSFER IM IVF-PROGRAMM

C. Kling, F. Weißenborn, D. Kabelitz
Institut für Immunologie, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein – Campus Kiel

Fragestellung: Durch Vergleich von Einlingsgeburten nach Embryotransfer (ET) mit spontanen Schwangerschaften im IVF-Programm gingen wir der Frage nach, welche Risiken maternalen Faktoren oder der IVF-Technik zugeschrieben werden müssen. Die Prognose des weiteren Kinderwunsches wurde ebenfalls beschrieben.

Methoden: Nach wiederholtem Implantationsversagen im IVF-Programm und Lymphozyten-Immuntherapie in den Jahren 1999–2002 wurden Angaben zu 513 konsekutiven Einlingsgeburten ermittelt. Im Jahre 2006 folgte eine Erhebung zu weiteren Schwangerschaften per Fragebogen.

Ergebnisse: Die Dauer des Kinderwunsches betrug 6,6 Jahre (2–17), das mütterliche Alter bei Geburt 34 Jahre (22–43 Jahre). Nach ET wurden 409 Kinder



ABSTRACTS

geboren, nach spontaner Konzeption 104 Kinder; das Gestationsgewicht lag jeweils leicht unterhalb der 5er und der 50er Perzentile. Die Frühgeborenrate (< 37 . SSW) betrug nach spontaner Konzeption 6 % (bis 32. SSW), nach ET 13 % (bis 24. SSW), wobei keine signifikanten Unterschiede zwischen ET mit frischen oder kryokonservierten Embryonen sowie zwischen konventioneller IVF und ICSI bestanden. Schwangerschaftskomplikationen nach ET waren mit denen nach Spontankonzeption vergleichbar: Spätgestose (EPH, HELLP: 7,6 % vs. 10,6 %), Gestationsdiabetes (5,4 % vs. 7,7 %), mütterliche Blutungen im 3. Trimenon (7,8 % vs. 2,9 %), Sectio (45,0 % vs. 42,3 %). Allerdings kam es nach ET signifikant häufiger zum Abortus imminens im 1. Trimenon (23,2 % vs. 8,7 %; $p < 0,001$), wobei die Rate nach ICSI geringer war als nach konventioneller IVF (20,1 % vs. 29,8 %; $p < 0,05$). Blutungen im ersten Trimenon waren ein Indikator für Frühgeburtslichkeit (22,1 % bei vorangegangenen Abortus imminens vs. 10,8 % ohne Abortus imminens; $p < 0,005$). Eine Mehrlingsanlage („vanishing twin“) wurde nur nach ET beobachtet.

Binnen 4 Jahren (1–7 Jahre) nach Geburt des 1. Kindes bekamen 80/409 Paare (16 %) nach IVF-Geburt weitere Kinder, davon 52 durch erneuten Embryotransfer und 28 durch spontane Schwangerschaft. Nach Spontankonzeption wurden dagegen 36/104 (35 %; $p < 0,002$) Frauen ein zweites Mal entbunden; und zwar überwiegend (32) nach weiterer Spontankonzeption und selten (4) nach ET. Von 513 Paaren wurden 16 (3 %) bereits zum dritten Mal Eltern.

Schlußfolgerung: Extreme Frühgeburtslichkeit ist ein spezifisches Schwangerschaftsrisiko für Einlinge nach Embryotransfer. Ein Abortus imminens im ersten Trimenon tritt dreimal häufiger auf als nach spontaner Konzeption und ist mit einer Verdoppelung des Frühgeborenenrisikos verbunden. Ein Zusammenhang mit dem Transfer mehrerer Embryonen muß vermutet werden, für einen Einfluß der kontrollierten Überstimulation auf die Frühgeburtslichkeit bestand kein Anhalt. Zusätzliche mütterliche Faktoren sind nicht auszuschließen. Rund ein Drittel der Frauen, die ein Kind nach spontaner Schwangerschaft bekommen haben, können binnen 4 Jahren mit

weiteren spontanen Schwangerschaften rechnen.

P 25

KRYOKONSERVIERUNG VON EIZELLEN IM VORKERNSTADIUM NACH POLKÖRPERBIOPSIE: VERGLEICH UNTERSCHIEDLICHER METHODEN UND BERICHT DER ERSTEN GEBURT

M. Montag, M. Köster, V. Isachenko, B. Kolzen, K. van der Ven, H. van der Ven
Abteilung für Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin, Universitäts-Frauenklinik, Universitätsklinikum Bonn

Fragestellung: Das sogenannte langsame Einfrierprotokoll wird seit mehr als 20 Jahren erfolgreich zum Einfrieren von Eizellen im Vorkernstadium (2PN) eingesetzt. Seit der Einführung der Polkörperbiopsie (PKB) wurden mit diesem Einfrierprotokoll auch 2PN-Eizellen nach PKB kryokonserviert. Bedingt durch die damit verbundenen schlechten Erfolgsraten nach dem Auftauen und Transfer, wurden alternative Einfriermethoden, z. B. die Vitrifikation, eingesetzt. In dieser Arbeit stellen wir unsere Ergebnisse aus 5 Jahren klinischer Anwendung der Kryokonservierung von 2PN-Eizellen nach PKB vor.

Methoden: Nach erfolgter PKB wurden alle chromosomal unauffälligen 2PN-Eizellen (FISH 13,16,18,21,22,X), die nicht für einen Embryotransfer genutzt wurden, eingefroren. Von Juni 2001 bis November 2003 wurde das konventionelle langsame Einfrierprotokoll eingesetzt (1,5 M Propandiol [PrOH], 0,1 M Sukrose). Von Dezember 2003 bis Dezember 2005 wurde alternativ die Vitrifikation (15 % Ethylenglykol, 15 % DMSO) verwendet. Seit Januar 2006 kam dann ein modifiziertes langsames Einfrierprotokoll zum Einsatz (1,5 M PrOH und 0,2 M Sukrose).

Ergebnisse: Nach Kryokonservierung von zuvor biopsierten 2PN-Eizellen mit der langsamen Einfriermethode wurden 105 Eizellen in 60 Zyklen aufgetaut. 81 Eizellen überlebten (77,1 %) und 76 entwickelten sich zu Embryonen (93,8 %). Durchschnittlich wurden 1,4 Embryonen in 54 Transferzyklen übertragen. Daraus resultierten 6 biochemi-

sche Schwangerschaften. Nach Vitrifikation wurden in 38 Zyklen 69 Eizellen erwärmt, von denen 59 überlebten (85,5 %). Signifikant weniger Eizellen entwickelten sich zum Embryo nach Vitrifikation/Erwärmung (79,7 %; $p < 0,025$) im Vergleich zum langsamen Einfrieren/Auftauen. Nach dem Transfer von durchschnittlich 1,3 Embryonen in 34 Transferzyklen resultierten 4 biochemische Schwangerschaften. Das modifizierte langsame Einfrierprotokoll wurde bisher bei 20 Eizellen aus 14 Behandlungszyklen nach PKB eingesetzt. Bei 5 Patientinnen wurden insgesamt 10 Eizellen aufgetaut und transferiert. Bisher wurde eine Patientin schwanger und hat ein gesundes Mädchen geboren.

Schlußfolgerungen: Offensichtlich beeinflusst die dauerhafte Öffnung in der Zona pellucida nach PKB die Bedingungen der Kryokonservierung und das Implantationsverhalten der resultierenden Embryonen. Die Einführung eines modifizierten Einfrierprotokolls läßt im Vergleich zu den herkömmlichen Einfrierverfahren trotz bisher geringer Fallzahlen einen Trend zu besseren Überlebens- und Entwicklungsraten erkennen. Mit diesem Protokoll konnte eine erste klinische Schwangerschaft und nachfolgende Geburt eines Kindes nach Kryokonservierung von zuvor biopsierten 2PN-Eizellen erzielt werden.

P 26

UNTERSUCHUNGEN ZUM EINFLUSS DES MEDIUMS AUF DEN TRANSPORT VON OVARIALGEWEBE IM RAHMEN DER FERTILITÄTS-PROTEKTION

M. Montag¹, R. Tolba², M. Schulz², F. Sadek¹, H. van der Ven¹

¹Abteilung für Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin, Universitäts-Frauenklinik, ²Haus für Experimentelle Therapie, Universitätsklinikum Bonn

Fragestellung: Im Rahmen der Fertilitätsprotektion wird bei Frauen unter anderem die Kryokonservierung von Ovarialgewebe durchgeführt. Der experimentelle Charakter und die technischen Anforderungen des Transplantationsgesetzes legen eine Ansiedlung der Ovar-Kryokonservierung an spezialisiert-



ten Zentren nahe. In diesem Zusammenhang stellt sich die Frage nach einer Optimierung des Transports von entnommenem Ovarialgewebe aus einem operativen Zentrum zu einer auf das Einfrieren von Ovarialgewebe spezialisierten Gewebereinrichtung. Im Rahmen einer Transportsimulation haben wir den Einfluß des Transportmediums untersucht.

Methoden: Ovarialgewebe wurde nach Entnahme unter Narkose in gleich große Gewebestücke geteilt. Ein Teil wurde für 24 h bei 4 °C in HTK-Lösung (Custodiol, Köhler) inkubiert. HTK-Lösung ist ein zugelassenes Produkt für den Langzeittransport von Organen (z. B. Herz: 36 h) in der Transplantationschirurgie. Ein weiterer Gewebeteil wurde in einem kommerziellen Ovarialgewebe-Transportmedium (OTM; Brahma I, Consarctic) inkubiert. Nach Ende der Inkubationszeit wurde im Medium Malondialdehyd (MDA) als Parameter für die Lipid-Peroxidation gemessen. Zusätzlich wurde jedes Gewebestück histologisch beurteilt.

Ergebnisse: Nach 24 h Inkubation konnte histologisch in beiden Lösungen eine gute Überlebensrate der Primordialfollikel festgestellt werden. Generell zeigte der histologische Befund für die HTK-Lösung einen besseren Geweberhalt im Vergleich zum kommerziellen OTM. Die MDA-Messung zeigte deutlich niedrigere Werte für HTK-Lösung im Vergleich zu OTM ($2,56 \pm 0,01$ nmol/ml vs. $10,88 \pm 0,02$ nmol/ml; $p < 0,001$). Der MDA-Meßwert der HTK-Lösung liegt innerhalb der Toleranzgrenze für den Organtransport und ist vernachlässigbar. Ausführlichere Daten zur Transportlogistik werden auf dem Poster präsentiert.

Schlußfolgerungen: Die Überführung von Ovarialgewebe von einem operativen Zentrum zu einer Gewebereinrichtung für die anschließende Bearbeitung, Kryokonservierung und wissenschaftliche Nachuntersuchung ist mit optimierten Transportbedingungen auch über längere Zeiträume durchführbar. Neben der damit verbundenen Transportlogistik kommt dem verwendeten Medium eine wesentliche Rolle zu.

Unsere Untersuchungen belegen, daß hierzu eine kommerzielle, für Transplantationszwecke zugelassene Organ-

transportlösung mit sehr gutem Erfolg verwendet werden kann. Damit können die bisher bereits mit einem ausgewiesenen OTM erzielten Ergebnisse noch weiter verbessert und optimiert werden.

P 27

HIV-INFEKTION HAT EINEN NEGATIVEN EINFLUSS AUF DIE SCHWANGERSCHAFTSRATE BEI IVF MIT EIZELLENSPENDE

M. Nitzschke, M. Lopez, K. Schwenn, D. Mataró, S. Casadesús, O. Coll
Kinderwunschabteilung, Clínica Eugén, Barcelona, Spanien

Einleitung: HIV-positive Frauen, die mit Hilfe eines klassischen IVF-Zyklus behandelt werden, weisen eine geringere Schwangerschaftsrate auf als nichtinfizierte Patientinnen [1]. Dafür werden vor allem eine vorzeitige Ovarialinsuffizienz und Mitochondrien-Depletion in den Eizellen verantwortlich gemacht. In der Literatur findet sich jedoch bisher keine Information über den spezifischen Einfluß einer HIV-Infektion auf die Implantation des Embryos.

Methoden: Im Rahmen einer Fall-Kontroll-Studie wurden zwischen Juni 2000 und Dezember 2006 90 IVF-Zyklen mit Eizellspende bei HIV-infizierten Frauen durchgeführt. Diesem Kollektiv wurden 270 IVF-Zyklen mit Eizellspende bei HIV-negativen Frauen gegenübergestellt (Verhältnis Studiengruppe zu Kontrollgruppe 1:3). Die zu vergleichenden Patientinnen aus beiden Gruppen waren jeweils etwa gleich alt (± 6 Monate) und es wurde darauf geachtet, daß die betreffenden Kontrollzyklen zur gleichen Zeit wie die Studienzyklen durchgeführt wurden.

Bei der Eizellspende wurde streng nach dem spanischen Gesetz für Reproduktionsmedizin vorgegangen. Mit Hilfe einer univariaten Analyse wurden die epidemiologischen Daten ausgewertet und die klinischen Schwangerschaftsraten verglichen.

Ergebnisse: Das durchschnittliche Alter der Frauen betrug 40 Jahre. Die klinische Schwangerschaftsrate bei den HIV-infizierten Frauen war signifikant geringer als bei der gesunden Kontrollgruppe

(30,0 %, 24/90 zu 43,0 %, 117/270; OR = 0,48; 95 %-CI: 0,27–0,83).

Schlußfolgerung: Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, daß, obwohl die für die IVF-Zyklen verwendeten Eizellen ursprünglich keiner HIV-Infektion oder antiretroviralen Therapie ausgesetzt waren, HIV-positive Frauen trotzdem eine geringere Implantationsrate aufweisen als nichtinfizierte Frauen. Die hierfür verantwortlichen Mechanismen sind noch nicht vollständig geklärt.

Literatur:

1. Coll O, Suy A, Figueras F, Vernaev V, Martínez E, Mataró D, Durban M, Lonca M, Vidal R, Gatell JM. Decreased pregnancy rate after in-vitro fertilization in HIV-infected women receiving HAART. AIDS 2006; 20: 121–3.

P 28

DAS LANGE PENTRAXIN PTX3 IM HUMANEN ENDOMETRIUM: REGULATION DURCH STEROIDE UND TROPHOBLAST

R. Popovici

Abteilung für Gynäkologische Endokrinologie und Fertilitätsstörungen, Universitäts-Frauenklinik Heidelberg

Einleitung: Die humane Implantation ist durch die Adhäsion der Blastozyste an endometriale Stromazellen, gefolgt durch die Invasion von Trophoblastzellen in die maternale Dezidua charakterisiert. Zunehmend wird PTX3, ein langes Pentraxin, mit der Embryoimplantation in Verbindung gebracht. PTX3 ist erhöht im Serum von Patientinnen mit Präeklampsie und intrauteriner Wachstumsretardierung, beides Erkrankungen, die auf eine insuffiziente Implantation zurückzuführen sind. PTX3-Knock-out-Mäuse weisen zum einen eine reduzierte Fertilität aufgrund einer Cumulus oophorus-Malformation auf, zum anderen zeigen sie ein Implantationsversagen. In einem In-vitro-Modell haben wir gezeigt, daß Trophoblast eine PTX3-mRNA-Induktion in endometrialen Stromazellen bewirkt.

Methoden: In dieser Studie haben wir die PTX3-Expression während des Menstruationszyklus untersucht sowie die Regulation von PTX3-mRNA und Protein durch Faktoren analysiert, die bei



ABSTRACTS

der Implantation eine Rolle spielen. Auch wurde die PTX3-mRNA-Expression und Proteinproduktion in endometrialen Stromazellen durch direkten Trophoblastkontakt vs. Trophoblastüberstand verglichen.

Ergebnisse: PTX3-mRNA wird in endometrialen Stromazellen durch Progesteron, Östrogen sowie durch IL-1 reguliert. HCG hat keinen Einfluß auf die PTX3-Expression. Sowohl Trophoblastzellen als auch Trophoblastüberstand erhöhen die PTX3-Produktion signifikant. Wie wir durch Western Blot zeigen konnten, erfolgt die PTX3-Proteinproduktion und -regulation parallel zur mRNA-Expression.

Schlußfolgerung: Östrogen und Progesteron spielen in der PTX3-Induktion und -regulation während der Implantation eine Rolle. IL-1, als ein vom Trophoblasten sezernierter Faktor, reguliert die PTX3-Produktion in endometrialen Stromazellen.

P 29

GONADOTROPINAUSSCHÜTTUNG BEI FRAUEN MIT EPILEPSIE UND NERVUS VAGUS-STIMULATION

B. Rösing¹, J. Bauer², H. van der Ven¹
¹Abteilung für Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin, ²Klinik für Epileptologie, Universitätsklinikum Bonn

Fragestellung: Das reproduktive Endokrinium ist bei Frauen mit Epilepsie beeinträchtigt, ihre Schwangerschaftsrate ist bis zu 30 % erniedrigt. Dabei kann die Therapie der Epilepsie eine Quelle der endokrinen Störung sein. Die Vagusnervstimulation (VNS) ist eine neue Therapieform für Patienten mit medikamentös therapierefraktärer Epilepsie. Der implantierte Stimulator wird mit dem Nervus vagus verbunden und erzeugt alle 2–5 Minuten elektrische Impulse für eine Dauer von 20 Sekunden. Die Impulse propagieren über die Medulla oblongata in die Temporallappen. Die Fragestellung der Studie war, ob die Gonadotropinausschüttung durch eine mögliche Kostimulation des Hypothalamus bei dieser Form der Epilepsiebehandlung verändert ist.

Methode: Bei 10 Patientinnen im reproduktionsfähigen Alter wurden am selben Tag einmal unter aktiviertem Stimulator (Bedingung „ON“) und einmal unter deaktiviertem Stimulator (Bedingung „OFF“) je 4 Serumproben im Abstand von 15 Minuten entnommen. Eine Bestimmung erfolgte für LH, FSH, PRL, TSH und SHBG (Kontrolle). Die Deaktivierung des Stimulators dauerte etwa 3 Stunden.

Ergebnisse: Unter „ON“-Bedingung ist ein signifikanter ($p = 0,006$) LH-Anstieg gegenüber der „OFF“-Bedingung zu verzeichnen („ON“ 1,8–18,2 IE/ml, Median 7,7 IE/ml; „OFF“ 0,9–8,9 IE/ml, Median 5,4 IE/ml). Bei 8 der Patientinnen stellt sich ein individueller „Cut off“-Wert zwischen den beiden Aktivierungsbedingungen der VNS dar. Die übrigen gemessenen Parameter (FSH, PRL, TSH, SHBG) zeigten keine signifikanten Unterschiede.

Schlußfolgerung: Offensichtlich haben die VNS-Impulse einen Einfluß auf die LH-Ausschüttung. Ob eine dauerhafte LH-Erhöhung zu einer Endokrinopathie, z. B. einer Hyperandrogenämie, oder einem polyzystischen Ovarsyndrom führt, ist durch eine Longitudinalstudie zu überprüfen.

P 30

HOHE ANEUPLOIDIERATEN BEI MENSCHLICHEN EIZELLEN

A. Schmutzler, B. Acar, J. Weimer, A. Salmassi, N. Arnold, L. Mettler, W. Jonat
Universitäts-Frauenklinik, Christian-Albrechts-Universität, Kiel

Einleitung: Es ist Ziel der PGS, die Erfolgsraten der artifiziellen reproduktiven Techniken (ART) zu verbessern. Eine hohe Aneuploidierate, auch bei jungen Frauen, rechtfertigt eine weite Indikation. Da wir nunmehr vergleichbare Erfolgsraten mit und ohne PGS haben, analysierten wir retrospektiv die Embryologie und Klinik unserer Erfolgskaskade, um ggf. Hinweise für eine Änderung des Vorgehens zu erhalten.

Material und Methoden: Nach Genehmigung der Ethikkommission führten wir insgesamt 60 Zyklen durch. PGS wurde

allen Patienten mit mehr als 5 Eizellen angeboten, unabhängig vom Alter oder anderen Indikationen, durchgeführt durch Laserbiopsie des ersten Polkörpers am Tag 0, Fixierung durch FISH und Hybridisierung der Chromosomen 13, 16, 18, 21, 22. Zygotenselektion wurde am Tag 1 durchgeführt, der Embryotransfer normalerweise am Tag 2, mit einem angestrebten elektiven Doppelembryotransfer nachweisbar „euploider“ (für 5 Chromosomen) Eizellen. Wenn keine 2 euploiden Eizellen verfügbar waren, wurden 1 oder 2 nicht detektierte Eizellen transferiert.

Ergebnisse: Das Durchschnittsalter der Frauen war 36 Jahre (Range 25–44 Jahre). Embryotransfers wurden in 57 Fällen durchgeführt (95 %), resultierend in 14 (25 %) Schwangerschaften, 8 Geburten und 6 Aborten. 584 reife Eizellen wurden gewonnen, 489 (85 %) biopsiert, 454 (91 %) überlebten, 365 (73 %) wurden befruchtet. 449 (90 %) konnten fixiert, 334 (74 %) genetisch analysiert werden; 129 (39 %) waren euploid, 205 (61 %) aneuploid. 106 Embryos wurden transferiert, 66 (62 %) wurden durch euploide Eizellen generiert. Die Implantationsrate betrug 14 %. In 47 Fällen (77 %) mit einem Durchschnittsalter von 35 Jahren waren 50–100 % der biopsierten Eizellen aneuploid.

Schlußfolgerungen: PGS ist sicher in dem Sinne, daß die Schwangerschaftsrate pro Embryotransfer (25 %) vergleichbar ist mit dem deutschen Durchschnitt (28 %). Die Aneuploidierate pro Patientin ist hoch, auch bei einer weiten, nicht altersabhängigen Indikation. Ferner gibt es eine große Rate von Patientinnen, bei denen die Mehrzahl der Eizellen aneuploid ist. Um die angestrebten Vorteile der PGS zu finden, sollten die Indikationen embryologisch (Morphologie der Eizellen), nicht nur klinisch (Alter der Patientin) definiert werden. Die Vorteile der Methodik (Selektion) scheinen mit ihren Nachteilen (Entwicklung nach der Biopsie) zu konkurrieren.

**P 31****HÖHERE ÜBERLEBENS-RATEN VON ZYGOTEN UND HÖHERE LEBENDGEBURTS-RATE PRO PATIENTIN NACH VITRIFIKATION IM VERGLEICH ZUR SLOW-COOLING-KRYOKONSERVIERUNG**

A. Schultze-Mosgau
Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein – Campus Lübeck

Fragestellung: Seit kurzem wird weltweit von sehr guten Ergebnissen bei Kryoembryotransfer nach ultrarapidem Einfrieren, der sogenannten Vitrifikation, berichtet. Im Rahmen unseres ICSI/IVF-Programmes wurden die Überlebensraten von überzähligen Eizellen im Vorkernstadium und die Lebendgeburtsraten pro Patientin nach Vitrifikation (V) mit denen nach konventioneller Slow-cooling-Kryokonservierung (SC) verglichen.

Methodik: Zwischen 7/2004 und 12/2006 kamen insgesamt 113 Auftauzyklen (88 Patientinnen) nach Vitrifikation zur Auswertung. 185 Auftauzyklen nach klassischer Slow-cooling-Kryokonservierung (8/2002–12/2004) wurden evaluiert (157 Patientinnen). Die Vitrifikation erfolgte unter Verwendung des Kryotops [Kuwayama M et al., Repromed Biomed Online 2005; 11: 608–700].

Die Eizellen im Vorkernstadium wurden hierbei in Äquilibrationslösung (7,5 % Ethylenglykol, 7,5 % DMSO) 5–10 min bei Raumtemperatur (RT) inkubiert. Anschließend wurden die Zellen in Vitrifikationslösung (15 % Ethylenglykol, 15 % DMSO) gegeben. Nach 45–60 s bei RT wurden die Zellen auf das Kryotop überführt, überschüssiges Medium abgesaugt und das Kryotop sofort in flüssigen Stickstoff getaucht. Im Rahmen des Auftauvorganges nach Vitrifikation wurde das Kryotop in Auftaulösung (1 M Saccharose, 37 °C) getaucht. Die abgelösten Eizellen im Vorkernstadium wurden nach 60 s in die Verdünnungslösung (0,5 M Saccharose) umgesetzt und 3 min 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. Die Überlebensraten der Zygoten nach dem Auftauen

und die Lebendgeburtsraten pro Patientin sowie die Abortraten pro Transferzyklus wurden für die beiden Kryokonservierungsmethoden verglichen.

Ergebnisse: Die Überlebensrate der Zygoten nach Auftauen lag nach Vitrifikation bei $89,5\% \pm 18,91$ vs. $62,1\% \pm 26,7$ bei Slow-cooling ($p \leq 0,01$). Der mittlere Embryoscore unterschied sich ebenfalls signifikant ($p \leq 0,01$) zugunsten der Vitrifikation ($11,35 \pm 5,2$ vs. $8,93 \pm 3,36$). Ebenso war die Implantationsrate mit $16,5\% \pm 31,0$ vs. $9,7\% \pm 21,2$ ($p \leq 0,04$) höher bei der V im Gegensatz zur SC. Die Lebendgeburtsrate pro Patientin unterschied sich signifikant ($p \leq 0,02$) zwischen den beiden Methoden (V vs. SC): $24/88$ (27,3 %) (95 %-CI: 19,1–37,4) vs. $23/157$ (14,6 %) (95 %-CI: 10,0–21,0). Die Abortraten pro Transferzyklus unterschieden sich nicht ($p = 0,71$): $18/113$ (15,9 %) (95 %-CI: 10,3–23,8) vs. $25/183$ (13,7 %) (95 %-CI: 9,4–19,4).

Schlußfolgerung: Mit der Vitrifikation von überzähligen Eizellen im Vorkernstadium unter Anwendung des Kryotops werden hohe Auftauüberlebensraten der Zygoten und Lebendgeburtsraten pro Patientin erzielt, so daß diese Methode eine schnelle und einfach anzuwendende Alternative zur konventionellen Kryokonservierung darstellt.

P 32**MÖGLICHE ROLLE DES LHRINS19LQ-POLYMORPHISMUS BEIM PCOS**

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

Einleitung: Das PCOS ist eine heterogene Erkrankung mit genetischem Hintergrund. Im Zentrum stehen die Effekte von Androgenen, die in ovariellen Thekazellen unter dem Einfluß von hypophysärem LH produziert werden. Die Wirkung von LH wird über den LH-Rezeptor (LHR) vermittelt, der einen genetischen Polymorphismus in Exon 1 aufweisen kann (LHRins19LQ) und pro Allel in 2 Varianten vorkommt: +LQ

und –LQ. Obwohl vermutet wird, daß der Polymorphismus funktionelle Bedeutung hat, wurde seine Wirkung auf den Phänotyp häufiger Erkrankungen bisher unzureichend untersucht. Aufgrund der zentralen Bedeutung von LH für die Regulation der ovariellen Androgenbiosynthese untersuchten wir die Rolle des LHRins18LQ-Polymorphismus in Exon 1 des LHR beim PCOS.

Methoden: Sterilitätspatientinnen einer Universitäts-Frauenklinik, die sich diagnostischen Maßnahmen vor ART unterzogen, wurden nach Zykluslänge, endokrinen Parametern, klinischen Zeichen der Hyperandrogenämie und sonomorphologischen Kriterien des PCOS charakterisiert. Genomische DNA wurde aus peripheren Lymphozyten isoliert. Nach PCR erfolgte der Nachweis des Insertionspolymorphismus mit Hilfe einer Gel-Elektrophorese. Der Vergleich der beiden Gruppen erfolgte mittels T-Test, ein $p < 0,05$ galt als statistisch signifikant.

Ergebnisse: 134 Patientinnen erfüllten die Kriterien des PCOS, 176 Patientinnen ohne PCOS dienten als Kontrollen. Im Vergleich von PCOS-Gruppe vs. Kontrollgruppe verteilte sich der Polymorphismus folgendermaßen: Homozygote Insertion (LQ+/LQ+) 9,7 % vs. 9,7 %; heterozygote Insertion (LQ+/LQ–) 40,3 % vs. 45,5 % und Fehlen der Insertion (LQ–/LQ–) 50,0 % vs. 40,9 %. Keine der Verteilungen unterschied sich signifikant zwischen den untersuchten Gruppen.

Schlußfolgerung: Der LHRins19LQ-Polymorphismus unterschied sich im untersuchten Kollektiv mit 134 PCOS-Patientinnen nicht signifikant von der Verteilung bei den Kontrollen. Es ist allerdings denkbar, daß der Polymorphismus in bestimmten Subgruppen des heterogenen PCOS eine Rolle spielt, dies wäre an großen Fallzahlen gut charakterisierter Patientinnen zu überprüfen.



P 33

DEUTSCHE SAMENSPENDER – LIBERALER ALS DIE VORGABEN DES BERUFSRECHTS?

P. Thorn¹, T. Katzorke², K. Werdehausen², K. Daniels³

¹Evangelische Fachhochschule Darmstadt, ²Novum – Zentrum für Reproduktionsmedizin, Essen, ³University of Canterbury, Christchurch, Neuseeland

Fragestellung: Im Gegensatz zu einigen angelsächsischen Ländern soll die Behandlung mit Spendersamen für lesbische und alleinstehende Frauen gemäß der Bundesärztekammer in Deutschland nicht zulässig sein. Darüber hinaus besteht für Spender die Gefahr, daß Kinder Unterhalts- und Erbschaftsansprüche einklagen. Die folgende Studie untersuchte in Deutschland lebende Samenspender bezüglich ihrer Bereitschaft, für unterschiedliche Gruppen zu spenden, ihre Haltung gegenüber den Kindern und ihr Wissen über die juristischen Implikationen.

Methoden: Alle 15 deutschen Samenbanken wurden über die Studie informiert. 13 signalisierten Bereitschaft zur Mitarbeit und erhielten Fragebögen für die Männer, die während des Untersuchungszeitraums (August 2006–Juni 2007) aktiv Samen spendeten. Die anonymisierten Fragebögen enthielten 22 überwiegend geschlossene Fragen und wurden von den Samenbanken an die Spender verteilt. Von 153 ausgeteilten Fragebögen wurden insgesamt 63 von 8 Samenbanken zurückgeschickt; die Rücklaufquote beträgt somit 41 %.

Resultate: Das Durchschnittsalter der Spender betrug 29 Jahre; 76 % hatten die deutsche Staatsangehörigkeit; 68 % hatten einen hohen, 34 % einen mittleren und 8 % einen niedrigen Bildungsabschluß. 54 % waren verheiratet bzw. in einer festen Beziehung; 25 % hatten bereits eigene Kinder und 68 % äußerten (weiteren) Kinderwunsch. Die Bereitschaft der Männer, unterschiedlichen Gruppen Samen zu spenden, ist in **Tabelle 1** zusammengefaßt.

57 (90 %) der Samenspender erklärten, daß sie vom Arzt bzw. vom Personal der Samenbank über ihre juristischen Rechte und Pflichten aufgeklärt wurden. Ein

Tabelle 1: P. Thorn et al. (P 33)

Bereitschaft, für die folgende Gruppe zu spenden*	Ja	Unsicher	Nein
Verheiratetes Paar	62 (98 %)	0	1 (2 %)
Paar in fester Beziehung	57 (90 %)	5 (8 %)	1 (2 %)
Lesbisches Paar	42 (67 %)	7 (11 %)	13 (21 %)
Verwitwete Frau	36 (57 %)	11 (17 %)	14 (22 %)
Alleinstehende Frau	34 (54 %)	9 (14 %)	18 (29 %)
Geschiedene Frau	33 (52 %)	12 (19 %)	16 (25 %)

* nicht alle Samenspender beantworteten alle Fragen

Tabelle 2: P. Thorn et al. (P 33)

Haltung gegenüber dem Kind	Ja	Unsicher	Nein
Die Eltern sollten das Kind über seine Zeugungsart aufklären	23 (37 %)	21 (33 %)	18 (29 %)
Der Arzt darf dem Kind Informationen über mich mitteilen	25 (41 %)	16 (25 %)	22 (35 %)
Ich wäre bereit, mit einem volljährigen Kind in Kontakt zu treten	27 (43 %)	14 (22 %)	22 (35 %)

Spender (2 %) wurde von einem Juristen informiert und 19 (30 %) Spender recherchierten zusätzlich im Internet. Acht (13 %) gingen davon aus, daß Pflichten auf sie zukommen könnten, 17 (27 %) waren sich diesbezüglich unsicher. 38 (60 %) vermuteten, von rechtlichen Verpflichtungen dem Kind gegenüber freigestellt zu sein.

Tabelle 2 faßt die Haltung der Spender gegenüber dem Kind zusammen.

Schlußfolgerung: Aufgrund des anhaltenden Tabus der Spendersamenbehandlung ist die niedrige Rücklaufquote nicht überraschend. Interessant ist jedoch, daß über die Hälfte der untersuchten Spender bereit ist, auch für Gruppen zu spenden, die in Deutschland derzeit von der Behandlung ausgeschlossen werden. Offensichtlich haben Samenspender diesbezüglich eine liberale Haltung, die sich nicht mit den Vorgaben der Bundesärztekammer deckt. Darüber hinaus ist es aufschlußreich, daß nur weniger als ein Drittel der Spender eine Aufklärung des Kindes, einen Kontakt zu ihm oder die Informationsweitergabe durch den Arzt ablehnt. Besorgniserregend ist die Tatsache, daß die Mehrzahl der Spender vermutet, von Vaterschaftsverpflichtungen freigestellt zu sein, unabhängig davon, wer mit ihrem Samen inseminiert wird. Ob die liberale Haltung der Spender auf einer fälschlichen juristischen Annahme beruht oder ob die Spenderbereitschaft für alleinstehen-

de und lesbische Frauen trotz des juristischen Risikos besteht, wird nicht deutlich. Die Studie zeigt jedoch auf, daß die juristische Beratung der Spender verbessert werden muß. Diese Ergebnisse legen nahe, die berufsrechtlichen und juristischen Vorgaben kritisch zu hinterfragen, zumal erste Untersuchungen aufzeigen, daß die Entwicklung von Kindern in Familien mit lesbischen und alleinstehenden Müttern keinen Anlaß zur Besorgnis gibt.

Wir danken Ferring GmbH, Merck-Serono GmbH und Organon GmbH für die finanzielle Unterstützung.

P 34

FERTILITÄTSERHALT BEI MAMMAKARZINOM: ERSTE ERFAHRUNGEN BEI KOMBINATION VON IN-VITRO-MATURATION MIT OVARKORTEKASSERVIERUNG SOWIE MODIFIZIERTER OVARSTIMULATION MIT VITRIFIKATION

S. von Otte, G. Griesinger, A. Schultze-Mosgau, B. Schöpfer, S. Al-Hassani, K. Diedrich
Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein – Campus Lübeck

Hintergrund: Verbesserte Behandlungsmöglichkeiten bei Patientinnen mit prämenopausalem Mammakarzinom führen



zu einer Steigerung der Langzeitüberlebensraten. Die in der prämenopausalen Situation indizierte Chemotherapie schädigt die ovarielle Reserve und führt zu einem hohen Prozentsatz zu einem transienten oder permanenten Ovarialversagen. Um jungen Patientinnen nach Therapieabschluß die Perspektive einer Familiengründung zu erhalten, werden in jüngster Zeit zunehmend ovarprotektive, d. h. fertilitätserhaltende Verfahren untersucht.

Material und Methode: Bei 6 prämenopausalen Patientinnen (mittleres Alter $28,8 \pm 3$ Jahre) wurden 2 Varianten des Fertilitätserhalts angewandt. Bei Gruppe 1 ($n = 3$) wurde eine zyklusphasen-unabhängige transvaginale Aspiration, In-vitro-Maturation und Vitrifikation von Oozyten, gefolgt von einer laparoskopischen Asservierung und Kryokonservierung von Ovarialkortex durchgeführt. Bei Patientinnen der 2. Gruppe wurde eine modifizierte kontrollierte Ovarstimulation (rFSH + Tamoxifen + Letrozol im Antagonisten-Protokoll, Ovulationsinduktion mit GnRH-Agonist) zur konventionellen assistierten Reproduktion (ICSI) und Vitrifikation eingesetzt.

Ergebnisse: In Gruppe 1 konnten insgesamt 24 Oozyten (8 ± 2) im Germinalvesikelstadium gewonnen werden. Nach In-vitro-Maturation und Fertilisation konnten insgesamt 16 Oozyten ($5,3 \pm 0,6$) fertilisiert und vitrifiziert werden. Bei allen 3 Patienten wurde bilateral etwa 1/3 des Ovarialkortex asserviert und kryokonserviert. In Gruppe 2 konnten insgesamt 44 Oozyten ($14,6 \pm 6,3$) aspiriert werden. Bei 2 Patientinnen wurde ICSI mit Spermien des Partners angewandt, alle Oozyten im 2-PN-Stadium ($n = 8$ bzw. 9) wurden vitrifiziert. Bei Patientin 3 erfolgte mangels Partner keine Fertilisation, alle Oozyten wurden im M2-Stadium vitrifiziert ($n = 11$). Die maximalen Estradiolspiegel erreichten zum Zeitpunkt der Ovulationsinduktion durchschnittlich 895 ± 181 pg/ml und fielen 3 Tage nach Aspiration auf 488 ± 117 pg/ml ab.

Diskussion: Die Anwendung der In-vitro-Maturation führt weder zu einer onkologischen Therapieverschiebung noch zu einer Erhöhung des zirkulierenden Estradiolspiegels, ihre Effizienz (Eizellzahl) erscheint jedoch geringer. Aussagen zur Effizienz einer Kryokonservierung von Ovarialkortex sind heute nicht möglich, das Verfahren ist bei einzelnen

positiven Fallberichten weltweit nicht evaluierbar. Ideal erscheint die theoretisch risikoarme Kombinationsmöglichkeit von Kortexgewinnung mit vorausgehender IVM-Aspiration. In Gruppe 2 wurde dies vor einem potentiell erhöhten Komplikationsrisiko (Blutungen) unterlassen. Eine Verschiebung der onkologischen Therapie ist bei dieser Strategie erforderlich. Die Kombination mit antiöstrogen wirksamem Tamoxifen (periphere Rezeptorblockade) und Letrozol (reduzierte Synthese) während Ovarstimulation sowie die rasche Downregulation bei Einsatz eines GnRH-Agonisten zur Ovulationsinduktion lassen diese Variante des Fertilitätserhalts sicher erscheinen. Langzeitdaten zur onkologischen Sicherheit fehlen jedoch für alle fertilitätserhaltenden Methoden. Auch zu Auswirkungen einer Gravidität auf die onkologische Grunderkrankung liegen noch keine verlässlichen Daten vor.

P 35

INTRAVAGINALE UND INTRAZERVIKALE APPLIKATION VON SEMINALPLASMA IN IVF/ICSI-ZYKLEN – EINE DOPPELBLINDE PLACEBO-KONTROLLIERTE RANDOMISIERTE PILOTSTUDIE

M. von Wolff, S. Rösner, C. Thöne, T. Strowitzki

Abteilung für Gynäkologische Endokrinologie und Fertilitätsstörungen, Universitäts-Frauenklinik Heidelberg

Fragestellung: Seminalplasma führt im Mausmodell und in humanen endometrialen Epithelzellen in vitro zu einer Regulation implantationsrelevanter Faktoren. Diese Regulation vermag gemäß eigener Untersuchungen die Dysregulation verschiedener Zytokine aufzuheben, die bei ovariellen Stimulationsbehandlungen auftreten. Die Untersuchungen werfen die Frage auf, ob Seminalplasma auch im Humansystem in vivo bei IVF/ICSI-Therapien zu einer Verbesserung der Implantation führen kann, zumal durch die Vermeidung von Geschlechtsverkehr zum Zeitpunkt der Eizellentnahme ein Kontakt der Patientin mit Seminalplasma nicht erfolgt.

Methoden: Patientinnen der Heidelberger Kinderwunschprechstunde wurde vor einem IVF/ICSI-Zyklus einmalig eine Studienteilnahme angeboten. Eine

Stratifizierung erfolgte nach der Wahrscheinlichkeit eines Schwangerschaftseintritts unter Verwendung der Parameter Lebensalter und Implantationsversagen. 500–1500 µl Seminalplasma von den Partnern der Patientinnen wurde vor den IVF/ICSI-Zyklen durch Zentrifugationsschritte gewonnen, verblindet und kryokonserviert. Direkt nach der Follikelpunktion erfolgte die Instillation von 500 µl Seminalplasma (Verum) oder Placebo (NaCl) in die Zervix und die Restmenge in die Vagina. Ermittelt wurde die klinische Schwangerschaftsrate.

Ergebnisse: 168 Patientinnen willigten in die Studie ein. 82 Patientinnen wurden dem Stratum I (< 35 Jahre) und 86 dem Stratum II (≥ 36 Jahre oder Transfer von ≥ 6 Embryonen bei ≥ 3 Transfers ohne eingetretene Schwangerschaft) zugeordnet. 31 Patientinnen mußten von der Studie aufgrund fehlender Eizellen, wegen eines Fertilisationsversagens oder eines drohenden Überstimulationssyndroms mit Kryokonservierung aller Embryonen ausgeschlossen werden. Die Verum- und Placebogruppe waren identisch hinsichtlich Patientinnenalter, dem Anteil an IVF- und ICSI-Zyklen, der Zahl transferierter Embryonen und der Infertilitätsursache. Die Qualität der Embryonen war in der Verumgruppe etwas geringer. Die Schwangerschaftsrate in der Placebogruppe betrug 25,7 %. In der Verumgruppe lag die Schwangerschaftsrate mit 37,3 % absolut 11,6 % und relativ 45 % (Odds Ratio 1,72; 95 %-CI: 0,8–3,6) höher als in der Placebogruppe. Eine Signifikanz ($p = 0,19$) konnte nicht erreicht werden. Für ein signifikantes Ergebnis müßten bei einer Erhöhung der angenommenen Schwangerschaftsrate um 13 % insgesamt 422 Patientinnen rekrutiert werden.

Schlußfolgerung: Die Studie stützt, beweist aber nicht die Annahme, daß intrazervikal und intravaginal appliziertes Seminalplasma zum Zeitpunkt der Follikelpunktion die Implantationsrate verbessern kann. Ob dieser Effekt auf einer direkten Stimulation des Endometriums durch eine Aszension über den Zervikalkanal, auf einer indirekten Stimulation des Endometriums durch einen Transport über die Vagina zum Endometrium („first-pass effect“) oder auf einem immunologischen Effekt beruht, bleibt zu diskutieren.



Reproduktionsbiologie

P 36

EXPRESSION DES RELAXIN-REZEPTORS RXFP1 AUF MURINEN BLASTOZYSTEN

D. Baston-Büst, A. Hess, J. Hirchenhain, J. Krüssel
Unikid-Universitäts-Frauenklinik, Düsseldorf

Fragestellung: RXFP1 („relaxin family peptide receptor 1“; früher LGR7 [„leucine-rich repeat G-protein coupled receptor 7“]) gehört zur Subfamilie der Glykoprotein Hormon G-Protein-gekoppelten Rezeptoren und wird u. a. im Endometrium exprimiert. Relaxin (RLX) wird in seiner zirkulierenden Form vom Corpus luteum gebildet, sodaß dessen Konzentration durch Stimulationen im Rahmen von IVF-Zyklen aufgrund der Bildung mehrerer Corpora lutea erhöht vorliegt. Relaxin wird, ebenso wie dessen Rezeptor, u. a. im Endometrium exprimiert und übt auto-, para- und endokrine Einflüsse aus (z. B. Aktivierung von für die Implantation entscheidenden Molekülen: VEGF [„vascular endothelial growth factor“], IGFBP1 [„insulin-like growth factor binding protein“] und Prolaktin). Es ist bekannt, daß die Aktivierungen von VEGF und Relaxin während der Dezidualisierung endometrialer Stromazellen einen wichtigen Beitrag zur regelrechten Implantation eines Embryos leisten. Das Peptidhormon Relaxin ist beispielsweise an der Aktivierung von Matrix-Metalloproteinasen (MMPs) bei gleichzeitiger Hemmung des Inhibitors TIMP („tissue inhibitor of matrix metalloproteinases“) und folglich an Vorgängen der Umstrukturierung von Geweben beteiligt. Da der komplexe Vorgang der embryonalen Implantation von fetomaternalen Wechselwirkungen – u. a. auf immunologischer Ebene – geprägt ist, sollte untersucht werden, ob bereits im Rahmen der frühen Embryonalentwicklung und Implantation eine mögliche Rolle des Relaxin-Systems besteht.

Exprimieren murine Blastozysten (d [day] 3,5 nach Verpaarung) den Relaxin-Rezeptor RXFP1 („relaxin family peptide receptor 1“)?

Methoden: Reverse Transkription/nested-PCR für RXFP1 einzelner Blastozysten (Kontroll-cDNA aus murinem Ovargewebe). Klonierung der mittels nested-PCR generierten Fragmente und Sequenzierung Immunhistochemie-muriner Blastozysten.

Ergebnis: Die untersuchten Blastozysten exprimieren bereits an den 3,5 den Relaxin-Rezeptor RXFP1, dessen Amplifikat wir anhand von Sequenzierungen verifizieren konnten.

Schlußfolgerung: Wir konnten RXFP1 in murinen Blastozysten nachweisen und propagieren eine potentielle Rolle innerhalb embryo-maternaler Wechselwirkungen, die zur embryonalen Implantation beitragen und für die Etablierung einer Schwangerschaft von entscheidender Bedeutung sind. Bereits 1995 konnte die Arbeitsgruppe um Bani et al. zeigen, daß RLX die Differenzierung endometrialer Zellen zu Laminin-produzierenden, funktionellen Deziduazellen unterstützt. Die Expression des RLX-Rezeptors auf Präimplantations-Blastozysten kann potentiell als weiterer Indikator für die aktive Kommunikation zwischen Embryo und maternalen Geweben angesehen werden.

P 37

KULTURDAUER VOR DEM EMBRYOTRANSFER UND SCHWANGERSCHAFTSAUSGANG

V. Baukloh, R. Fischer, O. Naether, K. Rudolf
Fertility Center Hamburg

Fragestellung: In einigen ausländischen Zentren wird Embryoselektion und Blastozystentransfer als Mittel zur Erzielung hoher Schwangerschaftsraten nach assistierter Reproduktion teilweise aggressiv eingesetzt. Ungeklärt ist bislang, ob diese ausgedehnte In-vitro-Periode längerfristige Auswirkungen auf die Embryo-

nen und eventuell auch auf die geborenen Kinder zeigen kann.

Methoden: In unserem Zentrum wird generell am Tag 3 nach Follikelpunktion (FP) transferiert. Da aber möglichst jede Patientin durchgehend von ihrem behandelnden Arzt betreut wird, können diese Zeiten gelegentlich variieren – z. B. aufgrund von Wochenendvertretungen oder eines zu vollen Tagesbehandlungsplans. Die vorliegende retrospektive Auswertung bezieht sich auf den Zeitraum Juli 1998–Dezember 2006, die Transfers (ET) der am Tag 1 nach FP ausgewählten PN-Stadien fanden zwischen Tag 2 und Tag 5 statt. Eingeschlossen wurden nur Zyklen mit relativ günstiger Prognose, d. h. solche mit mindestens 5 Oozyten bei FP und mindestens 3 fertilisierten Oozyten ohne Unterscheidung, ob die Befruchtung mittels Insemination oder ICSI erzielt wurde. Die betrachteten primären Endpunkte waren: Schwangerschafts-(SS-) und Implantationsrate nach Kulturdauer, Rate an Implantationsverlusten und Rate an Gesamtaborten.

Ergebnisse: Insgesamt konnten 9619 Transfers über den genannten Zeitraum ausgewertet werden. Die Verteilung auf die entsprechenden ET-Tage (2–5) war wie folgt: 7,3 %, 50,6 %, 30,1 % und 12,0 % der Transfers. Die Werte für die ausgewerteten primären Endpunkte sind in **Tabelle 3** dargestellt.

Für alle 3 Parameter ließen sich signifikante negative Trends mit Zunahme der Kulturdauer aufzeigen. Die Unterschiede waren nicht dramatisch groß, bewirkten jedoch, daß die Endrate an intakten Schwangerschaften zwischen Transfers am Tag 2 und 5 um 4,5 % differierte (im einzelnen: 29,2 %, 28,3 %, 25,8 % und 24,7 % pro ET).

Schlußfolgerungen: Die dargestellten Ergebnisse legen nahe, daß bei Zyklen mit guter Prognose (mindestens 5 Oozy-

Tabelle 3: V. Baukloh et al. (P 37)

HET-Tag:	2	3	4	5	Trendanalyse: chi ² =/p =
% SS/ET	(275/700) 39,3	(1875/4870) 38,5	(1083/2899) 37,4	(411/1150) 35,7	3,857/0,0495
% Verluste/Implant.	26,5	27,6	33,0	35,9	17,825/ < 0,001
% Gesamtabort/SS	25,6	26,4	31,0	30,9	8,407/0,0096



ten, mindestens 3 fertilisiert) unabhängig von der Kulturdauer gute Schwangerschaftsraten erreichbar sind. Eine ausgedehnte Kulturperiode über 3 Tage nach FP kann offensichtlich negative Auswirkungen auf die Embryonenqualität haben, die sich in verringertem Implantationspotential und leicht erhöhter Abortneigung nach erfolgreicher Einnistung zeigt. Die hierfür zugrundeliegenden Mechanismen lassen sich nur vermuten. Es könnte sich um einen Effekt eventuell unzureichender Kulturbedingungen handeln, der sich unter Umständen als Imprinting-Defekt/e manifestiert. Da es sich in dieser Studie nicht um selektierte Embryonen, sondern lediglich um eine verlängerte Kulturdauer handelt, ist ein Vergleich mit den Ergebnissen nach gezielter Selektion nicht direkt möglich. Zum einen gibt es sehr wenige prospektive Studien über den Effekt der Blastozysten Selektion, zum anderen fehlen nach Wissen der Autoren bisher auch Analysen über den weiteren Verlauf der nach Blastozystentransfer erreichten Schwangerschaften. Eine solche Betrachtungsweise gäbe eine exaktere Bewertungsmöglichkeit dieser nach wie vor umstrittenen Methode.

P 38

EINFLUSS VON GNRH-AGONISTEN AUF DAS FOLLIKELWACHSTUM IN HUMANEM OVARIALGEWEBE IN DER SCID-MAUS

R. Dittrich, T. Maltaris, I. Hoffmann, H. Binder, M. W. Beckmann, A. Müller Frauenklinik, Universitätsklinikum Erlangen, Friedrich-Alexander-Universität, Erlangen-Nürnberg

Fragestellung: Nach Transplantation ovariellen Gewebes gehen sehr viele Follikel zugrunde. Ein Grund hierfür könnte sein, daß Gonadotropine das Follikelwachstum stimulieren, bevor eine ausreichende Neovaskularisierung stattgefunden hat. Ziel der Studie war daher, prospektiv den Effekt von GnRH-Analoga (GnRH-a, Triptorelin) auf die Anzahl von Follikeln in den unterschiedlichen Entwicklungsstadien in kryokonservierten humanen Transplantaten in gonadotropin-stimulierten oder nicht stimulierten SCID- („Severe Combined Immunodeficiency Disorder“-) Mäusen zu untersuchen.

Methodik: SCID-Mäusen (C.B-17/IcrHanHsd.scid) wurde kryokonserviertes humanes Ovarialgewebe von 7 Krebspatientinnen übertragen. Die Kryokonservierung des Gewebes erfolgte nach dem langsamen Einfrierenverfahren unter Verwendung von 1,5 M DMSO/PrOH als Gefrierschutzmittel. Nach dem Auftauen des Gewebes wurde dieses den narkotisierten Tieren in eine Tasche im Nackenmuskel transplantiert. Die transplantierten Gewebestücke hatten dabei einen Durchmesser von ca. 1 mm. Alle Tiere wurden ovariektomiert. Es wurden 4 Untersuchungsgruppen gebildet. In Gruppe A1 erhielten die Tiere HMG (1 IU FSH/1 IU LH per Tier/Tag) ohne Triptorelin und in Gruppe A2 HMG und Triptorelin (8 mg GnRH-a depot Triptorelin/4 Wochen). In Gruppe B1 erhielten die Tiere nur Salzlösung oder nur Triptorelin. Nach 17 Wochen wurden die Tiere getötet und die Follikelzahl bestimmt.

Ergebnisse: Direkt nach dem Auftauen konnten in allen Gewebeproben mit Hilfe einer Lebend/Tod-Färbung lebende Follikel gefunden werden. Die Triptorelin-Gabe führte zu einer signifikanten Reduktion der Follikelanzahl in den nicht mit Gonadotropinen stimulierten Tieren. In den mit Gonadotropinen stimulierten Tieren kam es zu keiner Reduktion an Primordial-, Primär- oder Präantralfollikeln. Es wurden jedoch signifikant weniger Antralfollikel gefunden.

Schlußfolgerung: Die Gabe von GnRH-Analoga ist nicht in der Lage, den Verlust an Primordialfollikeln in ovariellen Gewebeproben nach Transplantation in die SCID-Maus sowohl in stimulierten als auch nicht stimulierten Tieren zu verhindern. Darüber hinaus führte die Gabe von Triptorelin zu einem zusätzlichen Verlust an Follikeln, wenn Triptorelin direkt zum Zeitpunkt der Transplantation gegeben wird. Dies ist ein indirekter Hinweis darauf, das Gonadotropine das „Angehen“ der ovariellen Transplantate fördern können, obwohl Gonadotropine im weiteren Verlauf zu einem beschleunigten Aufbrauchen des primordialen Follikelpools führen.

P 39

STÖRUNGEN IN REIFUNG, SPINDELBILDUNG UND CHROMOSOMENVERTEILUNG IN 3,3'-DINITRO-BISPHENOL A (DN-BPA) BEHANDELTEN, IN VITRO REIFENDEN MAUS-OOZYTEN

U. Eichenlaub-Ritter¹, S. Lueke¹, S. Masuda², E. Vogt¹

¹Fakultät für Gentechnologie/Mikrobiologie, Universität Bielefeld, ²Graduate School of Nutritional and Environmental Sciences, University Shizuoka, Shizuoka, Japan

Fragestellung: Bisphenol A (BPA) ist ein endokrin-aktives Agens, das in Lebensmitteln und in der Umwelt auftritt und im Verdacht steht, Aneuploidien in somatischen Zellen und in Mammarioozyten zu induzieren [1, 2]. Während wir keinen Anstieg in numerischen chromosomalen Aberrationen in jungen, gesunden, in vitro reifenden Mausoozyten feststellen konnten, die entweder in vivo vor der Reifung oder während der Reifung in vitro mit BPA behandelt wurden, induzierten höhere Dosen (10 µg/ml entsprechend 43,8 µM/l) Reifungsarrest und Spindelaberrationen [3]. Da Nitrit in der Nahrung zur Bildung von 3,3'-dinitro-BPA (dn-BPA) führen kann, das im Ames-Test positiv ist [4] und nach In-vivo-Behandlung von männlichen Mäusen zur Bildung von Mikronuklei in Retikulozyten führt [4], untersuchten wir Mausoozyten, die in Anwesenheit von dn-BPA in vitro reifen.

Methoden: Die Reifungsrate, Spindelbildung und chromosomale Konstitution von in vitro reifenden Mausoozyten wurde mittels nicht-invasiver Polarisationsmikroskopie, Immunfluoreszenz mit Anti-Tubulin- und Anti-Pericentrin-Antikörpern sowie Anti-Mad2L1 und mittels Spreiten und C-Banding in Kontrollen und in 1, 5 und 10 µg/ml dn-BPA-behandelten Mausoozyten analysiert [3, 5, 6].

Ergebnisse: Oozyten, die mit 1 oder 5 µg/ml dn-BPA behandelt waren, hatten normale Spindeln und Polkörperabschnürung im Polarisationsmikroskop. Es gab einen signifikanten Anstieg in Oozyten mit unfokussierten Spindelpolen und ungewöhnlich breiten Spindeln nach 10 µg/ml dn-BPA ($p < 0,001$).



ABSTRACTS

Die Polkörperabschnürung erfolgte zum etwa gleichen Zeitpunkt in Kontrollen und mit bis zu 10 µg/ml behandelten Mausoozyten. LOAEL für Arrest in der Meiose I („germinal vesicle breakdown“, GVBD) war 5 µg/ml dn-BPA verglichen mit der Lösungsmittelkontrolle, während bei 10 µg/ml dn-BPA (31,4 µM/l) fast 50 % der Oozyten in der G2-Phase verharren ($p < 0,001$). Von den reifen Oozyten konnten weniger als 60 % einen Polkörper abschnüren ($p < 0,001$). Arrestierte Meiose-I-Stadien besaßen typische Bivalente, die Mad2L1-Signale an den Zentromeren aufwiesen, ähnlich wie bei Nocodazol-geblockten Meiose-I-Oozyten. Metaphase-II-Oozyten, die in Anwesenheit von 1, 5 und 10 µg/ml dn-BPA reiften, zeigten keinen Anstieg in Hyperloidie oder in strukturellen Chromosomenaberrationen. In Anwesenheit von 10 µg/ml dn-BPA bildeten sich hochaberrante und multipolare Metaphase-II-Spindeln. Etwa 50 % der Oozyten besaßen verstreute, nicht eingeordnete Chromosomen ($p < 0,001$).

Schlussfolgerung: Oozyten zeigen einen ähnlichen dosisabhängigen Arrest in der Meiose I nach Behandlung mit dn-BPA wie nach BPA [3], aber darüber hinaus scheinen viele Oozyten die Reifung nicht wiederaufnehmen zu können. Obwohl Spindelaberrationen und Störungen in der Einordnung der Chromosomen am Spindeläquator bei den höheren Dosen von dn-BPA auftreten, scheint die Aktivierung von Checkpunkten im Zellzyklus in gesunden jungen Oozyten zum meiotischen Arrest zu führen und damit vor Chromosomenfehlverteilung zu schützen. Vor allem gealterte Oozyten, die einen permissiven Spindelcheckpunkt haben [7], könnten demnach ein erhöhtes Risiko für Nondisjunction durch BPA und dn-BPA haben. Da die wirksame niedrigste Konzentration für Reifungsstörungen etwa 1000fach über den physiologischen Werten für BPA liegt (ca. 2 ng/ml in follikulärer und etwa 10 ng/ml in amniotischer Flüssigkeit beim Menschen [8]) und BPA in vivo offenbar rasch abgebaut wird, scheint zumindest für junge, gesunde Oozyten, die während der Reifung ausschließlich BPA oder dn-BPA ausgesetzt sind, ein geringes Risiko für Chromosomenfehlverteilung zu bestehen, während möglicherweise Risiken durch niedriges BPA in Prophase-Oozyten des embryonalen Ovars durch Störungen in der hormonellen Homeostase entstehen könnten

[9] und der genetische Hintergrund des weiblichen Organismus den Dose-Response auch während der Reifung beeinflussen könnte [3].

Literatur:

1. Hunt PA, Koehler KE, Susiarjo M, Hodges CA, Ilagan A, Voigt RC, Thomas S, Thomas BF, Hassold TJ. Bisphenol A exposure causes meiotic aneuploidy in the female mouse. *Curr Biol* 2003; 13: 546–53.
2. Johnson und Parry. *Mutat Res Special Issue*, in press.
3. Eichenlaub-Ritter et al. *Mutat Res Special Issue*, in press.
4. Masuda S, Terashima Y, Sano A, Kuruto R, Sugiyama Y, Shimoi K, Tanji K, Yoshioka H, Terao Y, Kinae N. Changes in the mutagenic and estrogenic activities of bisphenol A upon treatment with nitrite. *Mutat Res* 2005; 585: 137–46.
5. Shen et al. *Mutat Res Special Issue*, in press.
6. Eichenlaub-Ritter U, Winterscheidt U, Vogt E, Shen Y, Tinneberg HR, Sorensen R. 2-methoxyestradiol induces spindle aberrations, chromosome congression failure, and nondisjunction in mouse oocytes. *Biol Reprod* 2007; 76: 784–93.
7. Steuerwald N. Meiotic spindle checkpoints for assessment of aneuploid oocytes. *Cytogenet Genome Res* 2005; 111: 256–9.
8. Tsutsumi J. Assessment of human contamination of estrogenic risk for human reproduction. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2005; 93: 325–30.
9. Susiarjo M, Hassold TJ, Freeman E, Hunt PA. Bisphenol A exposure in utero disrupts early oogenesis in the mouse. *PLoS Genet* 2007; 3: e5.

P 40

FSH-REZEPTOREN IN HUMANEN KUMULUSZELLEN UND IHR EINFLUSS AUF DIE OÖZYTEN-REIFE

N. Gneist, G. Keck, I. Trinkaus, B. Heiss, B. Thieme, K. Hänseroth, W. Distler
Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Medizinische Fakultät Carl Gustav Carus, TU Dresden

Einleitung: Multiple Faktoren sind für den erfolgreichen Ausgang einer ART-Behandlung von Bedeutung. Dabei ist die Basis ein adäquates Follikelwachstum. Bereits auf einen leichten Anstieg von FSH im Serum reagieren die Granulosa- und Kumuluszellen des Follikels mit einer erhöhten Expression von FSH-Rezeptoren (FSH-R) und ermöglichen so durch die Produktion von Estradiol (E_2)

die Entwicklung und Reifung der Oozyte. Ungefähr 9–24 % der Frauen, die sich einer ART-Therapie unterziehen, reagieren insuffizient auf die Stimulationstherapie und werden als „poor responder“ bezeichnet, wobei auch eine Steigerung der FSH-Dosis nicht zu einem verbesserten Ansprechen führt. Andere Arbeiten zeigten, daß die Expression von FSH-R bei „poor respondern“ erniedrigt und bei Vorkommen von reifen Oozyten und hohen E_2 -Werten erhöht waren. Insgesamt ist allerdings das Vorkommen von FSH-R im einzelnen Follikel oder im jeweiligen Cumulus oophorus und dessen Einfluß auf die Oozytenqualität ungeklärt. Die Analyse von FSH-R könnte die bisherigen Parameter der Oozytenauswahl ergänzen.

Methoden: Wir analysierten immunzytochemisch die FSH-R-Expression in Kumuluszellen von insgesamt 57 individuell denudierten Oozyten (10 Patientinnen, mittleres Alter $32,0 \pm 3,8$ Jahre, mittlere Anzahl aspirierter Oozyten $11,2 \pm 4,8$, mittlere Anzahl einzeln denudierter Oozyten $5,7 \pm 0,9$). Die Paare unterzogen sich einer ICSI-Therapie in unserem Kinderwunschzentrum. Es kam das lange Stimulationsprotokoll mit dem GnRH-Analogen (Synarela®) zur Downregulation und rekombinantes FSH (Puregon®) zur ovariellen Stimulation zum Einsatz. Die FSH-Gesamtdosis lag zwischen 1250 und 4275 I.E.

Nach der enzymatischen Denudation (Hyase™, Vitrolife, Göteborg, Schweden) wurden die Oozyten in frisches Medium umgesetzt. Die Präparation der verbleibenden Kumuluszellen erfolgte durch Zytospinzentrifugation. Die Objektträger wurden dann luftgetrocknet und in absolutem Ethanol fixiert. Die immunzytochemische Färbung erfolgte mit einem FSH-R-spezifischen Antikörper (Acris Antibodies, Hiddenhausen, Deutschland) und der Farbnachweis mit dem LSAB-Detektkits und DAB⁺ als Chromogen (DakoCytomation, Glostrup, Dänemark). Kriterien zur Beurteilung der Oozyte waren Parameter zur Oozytenreifung wie die Fragmentierung der ersten Polkörperchens und die Adhäsivität der Kumuluszellen an die Zona pellucida.

Ergebnisse: FSH-R konnten in allen Kumuluszellproben nachgewiesen werden.



Die Proben wurden mikroskopisch evaluiert und eine Imageanalyse zur Quantifizierung durchgeführt. Mit einem hierfür etablierten Meßmodul des Programms CellID (Olympus, Hamburg, Deutschland) konnte die FSH-R-positive Fläche in Kumuluszellen erfaßt und zur Gesamtzellfläche ins Verhältnis gesetzt werden. Außerdem erfolgte die Beurteilung der Intensität in einem vierstufigen Scoringssystem. Der FSH-R-Anteil konnte nun erfaßt und mit der Oozytenqualität verglichen werden. Sowohl die Expression wie die Intensität der Färbung waren von unterschiedlicher Ausprägung. Pro Patientin wurden Werte von 3,2–8,6 % FSH-R-Anteil an der Gesamtzellfläche ermittelt. Innerhalb der Zellpopulation einer Patientin war ebenfalls eine verschiedene FSH-Expression zu beobachten. Es wurde bisher kein Zusammenhang zwischen FSH-R und dem Alter der Patientinnen und der Anzahl insgesamt aspirierter Oozyten gefunden. Auch resultierte ein gesteigerter FSH-Gesamtverbrauch nicht in einer verstärkten Expression von FSH-R. Kumuluszellen von Oozyten mit einer starken Adhärenz von Kumuluszellen an die Zona pellucida zeigten eine höhere FSH-R-Expression ($p < 0,05$).

Schlusfolgerung: Die vorliegende Arbeit zeigte, daß die Expression von FSH-R in den Kumuluszellen einer Patientin variabel sein kann. Nicht jeder Follikel spricht demnach in gleichem Maße auf die ovarielle Stimulationstherapie an, wobei Kumuluszellen von tendenziell eher unreifen Oozyten eine höhere FSH-R-Expression aufwiesen. Bei der ovariellen Stimulationstherapie werden Follikel vor der Atesie bewahrt. Letztendlich werden dabei Oozyten von der Kohorte rekrutiert, die im natürlichen Zyklus niemals zu einer reifen Eizelle herangewachsen wären. Diese Variabilität spiegelt sich unter anderem in der FSH-R-Expression wider. Im Fokus weiterer Untersuchungen wird das Fertilisierungsergebnis in Relation zur FSH-R-Expression stehen.

P 41

CORRELATION OF AUTOMATIC EVALUATION OF THE ZONA PELLUCIDA USING POLARAIDE® ZP-SCORE AND EMBRYO MORPHOLOGY ON DAY 5

L. Jelinkova, N. Reeka, A. Heine, F. Gagsteiger
Praxis Dr. Gagsteiger, IVF-Zentrum Ulm

Introduction: To increase the effectiveness of IVF/ICSI methods, patients undergo hormonal stimulation to obtain more than 1 oocyte available for the treatment cycle. Different methods are used to identify the oocyte with the highest developmental potential from the cohort of obtained oocytes. Most of those methods are based on morphological evaluation of oocytes and early embryos. Recently, several publications have described a new, simple and non-invasive method for the evaluation of ZP structure, which correlates with ART outcome. The inner layer of ZP is synthesized by the oocyte and the high ZP score could reflect the optimal metabolic conditions during the growth phase of oocyte and indirectly the highest quality of the oocyte cytoplasm. Moreover, an automatic ZP scoring system was developed to eliminate the subjective factor in this technique. Using this method, positive correlation between ZP score and embryonic development at day 3 was described by Montag. We studied the correlation between ZP score and the embryo morphology at day 5 in vitro.

Material and Methods: Patients: 43 patients, ≤ 35 years, ≤ 3 cycles of IVF/ICSI, ≥ 5 oocytes, ICSI method of insemination.

ZP Scoring: Oocytes were denuded using Cumulase (Medicult) one hour after puncture and after culturing in Cleavage PPM (Sage) covered by mineral oil (Sage) until ZP scoring. Automatic ZP scoring was performed using the OCTAX polar AIDE TM system in the special glass-petri dishes (Willco) in numbered drops of medium with HEPES supplemented with HSA (Sage) 30–60 min before ICSI.

After ICSI, oocytes were cultured individually in drops of Cleavage PPM covered by mineral oil until fertilization

control. 18 hours after ICSI, 2 fertilized oocytes with the highest ZP score were chosen for the culture, other zygotes were cryopreserved. At day 3 of culture, embryos were replaced into Blastocyst PPM (Sage) until day 5.

Embryo morphology at day 5 was evaluated as follows:

- A: Distinct, compact ICM, trophoblast with many epithelium-like cells, without fragments and degenerated cells.
- B: ICM with few loose cells, trophoblast created by few cells, presence of not differentiated big cells.
- C: No ICM or very small ICM with degenerated cells, trophoblast created by very few cells, many fragments and degenerated cells.

Results: The ZP score ranged from $-10,4$ to $+36,8$ with a mean value of $+7,2$. We observed a trend towards positive correlation between the higher ZP score and better embryo morphology at day 5, however, the oocytes with extreme high ZP score (> 2 SD) failed to develop into blastocyst stage to a higher extent compared to oocytes with an intermediate ZP score (32 % vs 46 % of blastocyst formation rate). Similarly, the higher percentage of optimal morphology blastocysts were observed in the group of intermediate ZP score oocytes (68 % vs 18 %) comparing the oocytes with extreme high ZP score.

The ZP score of immature oocytes (GV and MI) from the same patient was extreme high comparing to the average ZP score of MII oocytes (> 2 SD).

Conclusion: Automatic ZP scoring system could be an important tool to identify the oocyte with the highest developmental potential, however, more studies should be performed to find the optimal interpretation of obtained score values. In our study, we observed a trend towards positive correlation between high ZP score and better embryo morphology at day 5, nevertheless oocytes with an extremely high ZP score failed in high percentage to achieve the blastocyst stage. This phenomenon could be explained by asynchrony between the nuclear and cytoplasmic maturation in these oocytes.

Oocytes with an intermediate ZP score seem to have higher developmental po-



ABSTRACTS

tential compared to oocytes with an extremely high ZP score.

P 42

GDF9-MUTATIONEN UND PRÄMATURE OVARIALINSUFFIZIENZ

S. Ledig¹, K. Schiess², P. Wieacker^{1,3}
¹Institut für Humangenetik, Universitätsklinikum Magdeburg, ²Klinik für Reproduktions-Endokrinologie, Universitätsklinikum Zürich, Department Frauenheilkunde, ³Institut für Humangenetik, Universitätsklinikum Münster

Fragestellung: Unter dem Begriff „prä-mature Ovarialinsuffizienz“ („premature ovarian failure“, POF) wird eine Vielzahl von Erkrankungen zusammengefaßt, die durch das Auftreten einer hypergonadotropen Amenorrhoe vor dem 40. Lebensjahr charakterisiert sind. Neben X-chromosomalen Aberrationen konnten homozygote oder „compound heterozygote“ Mutationen im FSHR-Gen bei finnischen Frauen als genetische Ursache der POF identifiziert werden. Allerdings scheinen FSHR-Mutationen außerhalb der finnischen Bevölkerung von geringer Relevanz zu sein.

Erst kürzlich wurden heterozygote Mutationen in dem autosomal kodierten GDF9-Gen („growth differentiation factor 9“) und seinem X-chromosomalen Paralog BMP15 („bone morphogenetic factor 15“) als weitere mögliche Ursachen für POF identifiziert. Bei GDF9 und BMP15 handelt es sich um von Oozyten sezernierte Granulosazell-Mitogene. Ebenso wie andere Mitglieder der TGF β -Superfamilie werden GDF9 und BMP15 als Präproproteine translatiert, bestehend aus einem kurzen Signalpeptid, einer langen Pro-region und einer sehr kurzen reifen Proteinregion. Die Prodomäne ist für die Dimerisierung und die anschließende posttranslationelle Prozessierung zum biologisch aktiven dimeren Protein zuständig.

Patientin: Bei der 24-jährigen Patientin besteht seit 3 Jahren eine hypergonadotrope Amenorrhoe. Der Karyotyp ist unauffällig weiblich. Die Mutter der Patientin ist im Alter von 46 Jahren noch nicht menopausal, während bei der Groß-

mutter mütterlicherseits im 38. Lebensjahr ein vorzeitiges Ovarialversagen auftrat. Blut der Großmutter war leider nicht verfügbar.

Methoden: Die kodierenden Bereiche des GDF9- und des BMP15-Gens wurden sequenziert.

Ergebnisse: Aus der Sequenzierung der kodierenden Bereiche des BMP15-Gens ergab sich keine Sequenzveränderung bei der Patientin. Durch die Sequenzierung des Exons 1 des GDF9-Gens konnten wir bei der Patientin Heterozygotie für eine Transition von Zytosin nach Thymin an Basenposition 307 (c.307C > T) nachweisen. Diese Transition verursacht einen Aminosäureaustausch von Prolin zu Serin des Kodons 103 (p.P103S) in der Pro-Region des Proteins. Diese Sequenzveränderung konnte in 160 untersuchten weiblichen Kontrollen nicht nachgewiesen werden. Zudem wurde die Sequenzvariante c.307C > T in der aktuellen Literatur als ursächlich für die prä-mature Ovarialinsuffizienz einer Patientin beschrieben und konnte ebenfalls in 60 untersuchten Kontrollen nicht identifiziert werden. Um die pathologische Bedeutung der Variante c.307C > T absichern zu können, führten wir eine Untersuchung der Eltern der Patientin durch. Die Sequenzveränderung c.307C > T wurde über die nicht von einer POF betroffene Mutter auf die Tochter vererbt. Die ebenfalls betroffene Großmutter mütterlicherseits konnte nicht untersucht werden.

Schlußfolgerung: Daß die nicht betroffene Mutter unserer Patientin ebenfalls als Trägerin der Veränderung c.307C > T im GDF9-Gen identifiziert wurde, könnte gegen diese Mutation als alleinige Ursache einer POF sprechen. Wäre die von einer POF betroffene Großmutter der mütterlichen Seite ebenfalls Trägerin der Veränderung c.307C > T, wäre von einem Erbgang mit verminderter Penetranz auszugehen. Leider war es nicht möglich, Material der Großmutter für eine Sequenzanalyse zu erhalten. Es könnte sich bei der Veränderung c.307C > T allerdings auch um einen seltenen Polymorphismus handeln. Unser Ergebnis zeigt darüber hinaus die Notwendigkeit von Familienuntersuchungen bei der Beurteilung der pathologischen Bedeutung einer gefundenen Sequenzvariante.

P 43

NICHT-INVASIVE QUANTITATIVE MESSUNGEN DER LICHTBRECHUNG AN SPINDELN VON METAPHASE-I- UND METAPHASE-II-EIZELLEN

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

Fragestellung: Bei der Ausreifung der Eizelle vom Germinalvesikel- (GV-) Stadium zur befruchtungsfähigen Metaphase-II-Eizelle erfährt die Eizelle eine zweifache Umgestaltung des genetischen Materials. Zunächst wird in der 1. meiotischen Reifeteilung ein Chromosomensatz unter Bildung des ersten Polkörpers ausgeschleust. Die dabei gebildete Metaphase-I- (M-I-) Spindel wird nach Bildung des 1. Polkörpers aufgelöst. Nach ca. 60–70 min bildet sich dann die Metaphase-II- (M-II-) Spindel aus. In dieser Konfiguration verharret die Eizelle bis zur Aktivierung durch das Spermium. Im Vergleich zur M-II-Spindel liegt in der M-I-Spindel mehr chromosomales Material vor. In dieser Studie wurde mittels Polarisationsmikroskopie untersucht, ob sich die M-I-Spindel und die M-II-Spindel in bezug auf ihre lichtbrechenden Eigenschaften unterscheiden und sich daraus möglicherweise eine klinische Anwendung ergibt.

Methoden: Unreife menschliche Eizellen im GV-Stadium wurden in vitro nachgereift. Nach Auflösen des GV wurde mit Hilfe eines polarisationsmikroskopischen Verfahrens (Octax polarAide™) und einer integralen Software (Octax Eyeware™) Time-lapse-Aufnahmen erstellt und der Zellzyklusverlauf von der M-I-Spindel über die Bildung des ersten Polkörpers bis hin zur M-II-Spindel dokumentiert. Auf der Basis der so erhaltenen Daten wurde die Doppelbrechung der Spindel in nm berechnet.

Ergebnisse: Die Meßdaten zeigen, daß die M-I-Spindel generell eine höhere Doppelbrechung aufweist als eine M-II-Spindel. Der dynamische Verlauf der 1. Reifeteilung wird in der konstant zunehmenden Lichtbrechung der M-I-Spindel reflektiert. Diese Zunahme beträgt bis kurz vor dem Zeitpunkt der Ausschleu-



sung des 1. Polkörpers 50 %. Bei der Arretierung des Zellzyklus der Eizelle in der Metaphase-II zeigt die M-II-Spindel über eine längere Inkubationszeit Variationen der Lichtbrechung um 10 %.

Schlußfolgerungen: Unsere Ergebnisse belegen, daß sich die M-I- und die M-II-Spindel bezüglich ihrer lichtbrechenden Eigenschaften unterscheiden. Die Veränderungen während des fortschreitenden Zellzyklus der 1. meiotischen Reifeteilung wie auch die Variationen innerhalb des statischen Zustandes der M-II-Spindel deuten darauf hin, daß Messungen der Lichtbrechung als qualitativ prognostische Marker (z. B. Eizellqualität, Aneuploidiestatus) in der klinischen Routine unter den derzeitigen technischen Bedingungen nicht sinnvoll erscheinen.

Andrologie

P 44

DER VATERSCHAFTSNACHWEIS IM SPIEGEL VERGANGENER ZEITEN

K. Albrecht¹, D. Breitmeier², U. Jonas¹, D. Schultheiss³

¹Klinik für Urologie, Medizinische Hochschule Hannover, ²Institut für Rechtsmedizin, Medizinische Hochschule Hannover, ³Urologische Praxis Gießen, Urologische Belegabteilung, Evangelisches Krankenhaus Gießen

Einleitung: Seit Jahrhunderten treten Streitigkeiten beim forensischen Nachweis ungeklärter Vaterschaften auf. Neben den modernen standardisierten DNA- oder serologischen Nachweismethoden stellten in früherer Zeit Ähnlichkeits- und Tragzeitgutachten schwangerer Frauen sowie Fertilisationsgutachten die Bewertungsgrundlage über die Entscheidung einer möglichen Vaterschaft dar. Die Begutachtung erfolgte durch Ärzte, Physici oder einen *Chirurgus forensis*. Ein entscheidender wissenschaftlicher Fortschritt stellte sich im 17. Jahrhundert durch die mikroskopische Entdeckung der Spermatozoen durch die Niederländer Johan Ham und Antoni van Leeuwenhoek ein.

Im Römischen Reich galt die Rechtsprechung, daß die in Blutschande

Gezeugten (*incestuosi*) rechtlos waren. Selbst von ihrer Mutter konnten sie keine Alimentation erwarten. Alle anderen unehelichen Kinder, wie die beispielsweise im Ehebruch Gezeugten, hatten ihrem unehelichen Vater keine Rechtsansprüche geltend zu machen. Erst unter Justinian I (482 n. Chr.; oströmischer Kaiser) konnten in Einzelfällen Alimentationsansprüche an den Vater erfolgen. Er gab dem Rechtsleben eine Grundlage durch Festsetzung des römischen Rechts im *Corpus iuris civilis*. Eine Unterbrechung der von Justinian eingeführten Gleichstellung der Unehelichen erfolgte im Jahr 1804 durch das französische Gesetz, welches sich auch auf das deutsche Recht auswirkte. Nach dem Grundsatz „*La recherche de la paternité est interdite*“ konnten weder von der Mutter noch vom Kind des unehelichen Vaters Ansprüche geltend gemacht werden. Dieser Einschnitt wurde zum schlechten Los vieler unehelicher Kinder. In den Kulturstaaten heutiger Zeit hat auch der uneheliche Vater für die Alimentation des Kindes zu sorgen.

Methoden/Ergebnisse: Im sogenannten *congressus* wurden gerichtlich festgesetzte „geschlechtliche Kämpfe“ unter der Beobachtung von Chirurgen und Matronen ausgetragen, wenn es um die Beantwortung der Frage der Aufhebung einer Ehe oder einer potentiellen Vaterschaft aufgrund einer angeschuldigten Impotenz ging. Hierzu mußte der Geschlechtsverkehr direkt vor Zeugen durchgeführt werden, um somit die Erektionsfähigkeit des Mannes zu beweisen.

Giovanni Baptista Codronchius äußerte sich um das Jahr 1595 mit dem Zitat: „Der die Ehe ausmachende Beischlaf bräuchte dreierlei Dinge: die Kräfte, die Instrumente und den Samen.“ Weiterhin beschrieb er eine unzureichende Fruchtbarkeit nach übermäßiger Säfte-Evakuation, körperlicher Anstrengung oder langem Fasten sowie bei Mißbildungen der Genitalien oder unzureichender Qualität des Samens („Die Fettleibigen sind oft unfruchtbar, weil das Blut, das zur Samenbildung bestimmt wäre, bei ihnen zu fett wird.“).

Fortunatus Fidelis (1550–1630) hielt Männer für nicht fruchtbar, wenn ein „zu krummer“ Penis vorläge, da so eine gradlinige Ejakulation des Samens nicht erfolgen könne.

Der Begründer der gerichtlichen Medizin in Europa und Leibarzt des Papstes, Paolo Zacchia, unterschied im Jahr 1652 in seiner „*Impotentia Coeundi & Generandi*“ erstmals klar zwischen Potenz und Fruchtbarkeit. Beiderlei Geschlechter können sowohl impotent als auch infertil sein. Er zitierte, daß er eine „männliche Rute von so außerordentlicher Größe gesehen hätte, daß der Beischlaf dieses Menschen lebensgefährlich sein müßte“. Albrecht von Haller, erster Ordinarius für Anatomie, Chirurgie und Botanik der Universität Göttingen (1736), schilderte: „Unfähigkeit zum Beischlaf findet bei allen Mannspersonen statt, die beiderseitig keine Hoden haben. ... Überhaupt gehört zum Beischlaf nur eine männliche Rute, die untadelhaft ist.“

Der Rathenower Kreisarzt Gottschalk differenzierte im Jahr 1909 eine „relative und absolute Impotenz“. Die absolute Impotenz läge vor, wenn Störungen der Erektion, eine abnorme Größe des Gliedes oder Geschwülste die Penetration behindern würden. Gottschalk führte weiter aus, daß die erfahrensten Gerichtsärzte darüber übereinstimmen, daß auf keinem Gebiete der gerichtsarztlichen Tätigkeit so unglaubliche Lügen und freche Behauptungen vorgebracht werden, um ein günstiges Gutachten zu erzielen, als auf dem der strittigen geschlechtlichen Zustände vor Gericht.

Schlußfolgerung: In dieser Präsentation wird ein historischer Rückblick über die Entwicklung der andrologisch-forensischen Paternitätsbegutachtung gegeben und durch historische Fallbeispiele verdeutlicht.

P 45

DURCHFLUSSZYTOMETRISCHER NACHWEIS VON MASTZELLEN IM EJAKULAT VON MÄNNERN MIT PRIMÄRER INFERTILITÄT

J. Allam, M. Langer, I. Oltermann, G. Haidl
Abteilung für Andrologie, Klinik und Poliklinik für Dermatologie, Universitätsklinikum Bonn

Neben mikrobiologischen Untersuchungen ist der Nachweis von neutrophilen Leukozyten im Ejakulat



ABSTRACTS

von infertilen Männern mit Oligoasthenozoospermie von zentraler Bedeutung, wohingegen anderen inflammatorischen Zellen im Ejakulat, wie Mastzellen, kaum Beachtung geschenkt werden. Während Mastzellen bei der Orchitis von pathogenetischer Bedeutung sind, ist über Mastzellen im Ejakulat von Männern mit primärer Infertilität kaum etwas bekannt.

Im Ejakulat von 100 Männern mit primärer Infertilität wurden Mastzellen durchflußzytometrisch durch Anfärbung von CD117 untersucht und anschließend mit der Spermienzahl, -motilität, -morphologie, Granulozytenelastase und dem Nachweis von IgA und IgG auf Spermien korreliert.

Dabei zeigte sich im Gesamtkollektiv der untersuchten Ejakulate eine große Streubreite von Mastzellen (0 bis > 1000 Mastzellen/ml Ejakulat). Es konnte weder eine Korrelation zu Spermienzahl, -motilität, -morphologie noch zu der Granulozytenelastase nachgewiesen werden. Dennoch zeigte sich eine signifikante Korrelation zu dem Nachweis von IgA-Antikörpern auf Spermien, während sich keine Korrelation zu IgG-Antikörpern auf Spermien zeigte.

Aus unseren Ergebnissen kann geschlossen werden, daß Mastzellen unabhängig von Entzündungsreaktionen mit Beteiligung von neutrophilen Granulozyten im Ejakulat auftreten können und möglicherweise im Rahmen immunologischer Störungen bei Männern mit primärer Infertilität von Bedeutung sein könnten.

P 46

INHIBIN-B ALS PRÄDIKTIVER MARKER FÜR EINE VERBESSERUNG DER SPERMIODIAGRAMMWERTE NACH ERFOLGREICHER VARIKOZELEN-EMBOLISATION BEI PATIENTEN MIT INFERTILITÄT

*J. Allam, C. Köhler, G. Haidl
Abteilung für Andrologie, Klinik und Poliklinik für Dermatologie, Universitätsklinikum Bonn*

Der Stellenwert der Varikozelenverödung in der Behandlung von infertilen Männern mit Oligoasthenozoospermie ist

derzeit umstritten. Während retrospektive Studien keine signifikante Verbesserung der Spermiodiagrammwerte nach Varikozelenbehandlung nachweisen konnten, zeigt die klinische Erfahrung, daß es bei einem Teil der Patienten zu einer signifikanten Verbesserung der Spermiodiagrammwerte kommt. Kürzlich publizierte Studien konnten zeigen, daß es bei Patienten mit deutlicher Verbesserung der Spermiodiagrammwerte nach Varikozelenverödung zu einem Anstieg der Inhibin-B-Konzentrationen im Serum kam, so daß sich die Frage stellte, ob die Inhibin-B-Konzentration im Serum vor Varikozelenverödung ein prädiktiver Marker sein könnte.

In einer retrospektiven Studie an infertilen Männern, die sich im Zeitraum von 2000 bis 2006 in unserer Fertilitätssprechstunde zur Varikozelenverödung vorstellten, wurden Gruppen von Varikozelenpatienten mit niedrigen (< 30 ng/ml), mittleren (> 30 ng/ml und < 100 ng/ml) und hohen (> 100 ng/ml) Inhibin-B-Konzentrationen gebildet, um anschließend Spermienzahl, -motilität, -morphologie und -vitalität vor und nach Varikozelenverödung innerhalb der Gruppen zu untersuchen.

Dabei zeigte sich, daß insbesondere die Gesamtspermienzahl nach Varikozelenverödung in der Gruppe mit niedrigen und mittleren Inhibin-B-Konzentrationen signifikant anstieg, während es in der Gruppe der Patienten mit hohen Inhibin-B-Konzentrationen zu keinem signifikanten Anstieg kam. In der Gruppe der Patienten mit mittleren Inhibin-B-Konzentrationen wurde der höchste Anstieg 12 Wochen nach erfolgreichem Eingriff beobachtet. Zudem kam es zu einer signifikanten Verbesserung der Spermienmorphologie und -motilität, wohingegen keine Veränderung der Spermienvitalität zu beobachten war.

Den vorliegenden Ergebnissen nach zu urteilen könnten Varikozelenpatienten bei primärer Infertilität und niedrigen bzw. mittleren Inhibin-B-Konzentrationen im Serum von einer Varikozelenverödung profitieren.

P 47

HAT DIE DURCHFLUSSZYTOMETRISCHE UNTERSUCHUNG DES EJAKULATES PRÄDIKTIVEN WERT FÜR DAS ERGEBNIS EINER TESE?

*L. Beiglböck-Karau, C. Yeung, E. Nieschlag
Institut für Reproduktionsmedizin, Universitätsklinikum Münster*

Fragestellung: Nur bei etwa 50 % der TESE-Versuche können für ICSI geeignete Spermien aus dem Hodengewebe isoliert werden. Es fehlen nicht-invasive Methoden, die die Isolierbarkeit von Spermien aus Biopsiematerial besser vorhersagen. FSH und Inhibin haben für diese Fragestellung eine niedrige Sensibilität und Spezifität. Wir gingen der Frage nach, ob die Analyse aller zellulären Anteile im Ejakulat mittels Durchflußzytometrie bei Patienten mit nicht-obstruktiver Azoospermie das Ergebnis der Hodenhistologie und TESE vorhersagen kann.

Methoden: In den Ejakulaten von 50 Patienten mit Azoospermie wurden sämtliche zelluläre Bestandteile des Ejakulates anhand ihrer DNA, einer mitochondrialen Färbung und bestimmter Streuungsmuster des Laserlichts als elongierte Spermien (HC), runde Spermatozyten (1N), primäre Spermatozyten (4N) oder diploide Zellen (2N) durchflußzytometrisch quantifiziert. Anschließend wurden die Patienten einer Hodenbiopsie mit histologischer Untersuchung und TESE-Versuch unterzogen.

Ergebnisse und Schlußfolgerung: Das Muster und die Konzentration der Keimzellen in den verschiedenen Reifestadien im Ejakulat ist nicht mit der Präsenz elongierter Spermien im histologischen Präparat oder nach enzymatischer Gewebeaufbereitung korreliert. Alle Ejakulate wiesen HC-Zellen auf. Die Häufigkeit eines HC-Peaks war höher, wenn Tubuli mit intakter Spermatogenese vorlagen bzw. die TESE erfolgreich war. Die Häufigkeit eines HC-Peaks war bei den Patienten mit nicht-obstruktiver Azoospermie sogar höher als bei Patienten mit vermuteter oder nachgewiesener Obstruktion und vollständig erhaltener Spermatogenese. Die Anzahl primärer Spermatozyten im Seminalplasma stimmte mit dem Befund eines Spermatogenese-arrests auf der Stufe der Spermatozyten



überein. Keimzell-Peaks waren mit einer erhöhten Apoptoserate korreliert.

Der differenzierte Nachweis von Keimzellen im Ejakulat azoospermer Patienten hat nur geringe prognostische Aussagekraft für das Ergebnis der TESE. Dennoch kann die Präsenz von Keimzellen im Ejakulat als Hinweis für testikuläre Spermatogeneseaktivität gewertet werden.

P 48

QUALITÄTSKONTROLLE DER DEUTSCHEN GESELLSCHAFT FÜR ANDROLOGIE (QUADEGA) – DIE ERSTEN 5 JAHRE

T. Cooper, B. Hellenkemper, E. Nieschlag
Institut für Reproduktionsmedizin,
Universitätsklinikum Münster

Einleitung: Chemische Analysen der Serum- bzw. Blutparameter werden meist durch automatisch geeichte Analysegeräte erstellt. Für die Ejakulatanalyse hingegen ergeben sich Schwierigkeiten: visköse Ejakulate erschweren die Spermienkonzentrationsbestimmung; die Ermittlung von Spermienmotilität und -morphologie unterliegt subjektiven Aspekten; unterschiedliche Methoden können zu unterschiedlichen Ergebnissen führen. Externe Qualitätskontrollen sind für die Samenanalyse daher besonders wichtig.

Methoden: Die QuaDeGA-Ringversuche finden zweimal jährlich statt. Zu jedem Ringversuch gehören 2 fixierte Ejakulatproben zur Konzentrationsbestimmung und zur Ermittlung der morphologischen Normalformen. Ausstreichen und Färbung der Ejakulatproben werden von den teilnehmenden Laboren selbst vorgenommen. Zur Analyse der Spermienmotilität werden Filmsequenzen nativer Ejakulate auf einem Datenträger bereitgestellt. Die Ergebnisse der Auswertung für beide Proben werden mit Hilfe eines Youden Plots dargestellt. Jedes Labor erhält ein entsprechendes Ranking, von 1 (gut) bis 4 (schlecht).

Resultate: Zur Ermittlung der Spermienkonzentration wurden 12 unterschiedliche Zählkammern benutzt: nur 46 % aller Teilnehmer benutzt WHO-empfohlene Kammern. Verschiedene Ejakulatverdünnungslösungen wurden benutzt:

nur 25 % aller Teilnehmer verwendeten den WHO-Puffer. 17 Färbemethoden zur Bewertung der Normalformen wurden verwendet; nur ein Drittel der Zentren nutzte die WHO-empfohlenen Methoden Papanicolaou, Shorr oder DiffQuik. Zu Beginn des QuaDeGA-Programms erzielten einige Labore nur den Rank 4, der auf mehrere Fehlerquellen hinweist, nach dem 4. Ringversuch mußte dieser Rank nicht mehr vergeben werden. Eine deutliche Reduktion der Fehler und damit Erlangung niedriger Ranks konnte im Laufe der Zeit beobachtet werden. Die Daten der Teilnehmer, die ununterbrochen an 6 aufeinanderfolgenden Ringversuchen teilgenommen haben, wurden separat analysiert. Der Mittelwert der Rankingergebnisse aus den ersten und letzten 3 Läufen zeigt eine Verbesserung der Rankingergebnisse. Die Steigerung der Präzision bei der Konzentrationsbestimmung verdeutlichte sich am stärksten nach 4maliger Teilnahme am QuaDeGA-Ringversuch, aber auch die Ergebnisse für die Morphologie- und Motilitätsbestimmung verbesserten sich.

Schlußfolgerung: Die Auswertung soll die Entwicklung der Samenanalysequalität dokumentieren. Das Rankingsystem konnte zeigen, daß sich die Qualität der Analysen durch die konstante Teilnahme an den QuaDeGA-Ringversuchen deutlich steigert. Weitere Verbesserungen sind zu erwarten, wenn alle Teilnehmer ihre Methoden an die WHO-Empfehlungen anpassen.

P 49

BOTULINUMTOXIN A: EINE NEUE THERAPIEOPTION DER MAMILLODYNIE DES MANNES

S. Eigelshoven, R. Kruse, N. Neumann
Universitäts-Hautklinik, Düsseldorf

Einleitung: Es soll eruiert werden, ob Botulinumtoxin A zur Behandlung der Mamillodynie beim Mann wirksam ist.

Methoden: Bei einem 42jährigen Patienten, der seit der Pubertät unter einer schweren beidseitigen Mamillodynie litt, führten wir im Rahmen eines doppelblinden und placebokontrollierten Studiendesigns die lokale Injektion von 80 U Botulinumtoxin A (Dysport®, Ipsen

Pharma, Ltd., Ettlingen, Deutschland) im Bereich der rechten Mamille und 0,9 % Natriumchloridlösung im Bereich der linken Mamille durch.

Resultate: 48 Stunden nach Injektion von Botulinumtoxin A kam es auf der mit Botulinumtoxin-behandelten Seite zu einer vollständigen Schmerzremission, während sich im Bereich der mit 0,9 % Natriumchloridlösung behandelten Mamille keine Befundbesserung einstellte. 6 Monate nach anschließender Injektionsbehandlung beider Mamillen mit Botulinumtoxin A wurde der Patient vollständig schmerzfrei.

Schlußfolgerung: Der Einsatz von Botulinumtoxin A bei der bislang schwer zu behandelnden Mamillodynie des Mannes stellt möglicherweise eine neue erfolgversprechende Therapieoption dar.

P 50

EPIGENETISCHE KONTROLLE DER DAZ-GEN-EXPRESSION IM AZFC-FERTILITÄTSLOKUS

C. Falcao, C. Enders, T. Strowitzki, P. Vogt
Abteilung für Gynäkologische Endokrinologie und Fertilitätsstörungen, Universitäts-Frauenklinik Heidelberg

Einleitung: Der AZFc-Fertilitätslokus liegt in einer lokus-spezifischen komplexen repetitiven Sequenzblockstruktur im distalen Bereich des langen Arms des Y-Chromosoms (Yq11.23). Dies hat zur Folge, daß alle proteinkodierenden Y-Gene in dieser Sequenzregion repetitiv vorkommen und daß es aufgrund der hohen Sequenzhomologie zwischen den homologen Repeatblöcken experimentell schwierig ist, die spezifische Funktionalität der einzelnen Genkopien in der Human-Spermatogenese zu unterscheiden.

Nur nach Deletion der gesamten sogenannten AZFc-Region – durch ein Rekombinationsereignis zwischen 2 homologen Sequenzblöcken im Abstand von etwa 3 Megabasen (b2/b4) – wurde bisher in allen männlichen Populationen der Welt das Auftreten von Azoospermie und Oligozoospermie beobachtet. Partielle AZFc-Deletionen, die immer zumindest eine Kopie der verschiedenen Y-Gene in AZFc zurücklassen, werden



ABSTRACTS

auch bei fertilen Männern gefunden. Es ergibt sich somit die Frage, ob nur die Deletion aller Y-Gene in AZFc eine deutliche Reduktion der männlichen Fertilität bewirkt, oder ob auch die Deletion einer bestimmten Y-Genfamilie oder sogar nur einer bestimmten Y-Genkopie eine vergleichbare Störung in der Human-Spermatogenese auslösen kann.

Wir haben uns diese Fragen zuerst in bezug auf die DAZ- (Deleted in Azospermia-) Genfamilie gestellt, da diese DAZ-Gene – strukturell wie funktionell – mit einem hoch konservierten Gen auf Chromosom 3 (3p25; DAZL) und auf Chromosom 2 (2q13; BOULE) verwandt sind. Sie kodieren Keimbahn-spezifische RNA-Bindungsproteine, wobei erst während der Primatenevolution die Y-Genkopien in AZFc nach Transposition einer DAZL-Genkopie von Chromosom 3 etabliert wurden. Es liegt somit die Vermutung nahe, daß die Lokus-spezifische repetitive Strukturumgebung in AZFc eine spezifische und eventuell spezifisch epigenetische Kontrolle auf die Expression der verschiedenen DAZ-Genkopien in AZFc ermöglicht, die die konservierte Keimbahnfunktion des DAZL-Gens in den Primaten erweitert.

Methoden: Die vergleichende „In-silico“-Analyse der Promoter-Regionen aller DAZ-Gene wurde mit dem HUSAR-Softwarepaket der Universität Heidelberg durchgeführt. Das CpG-Methylierungsmuster der CpG-Kluster im Promoterbereich der DAZ-Gene wurde mit Hilfe des „Bisulfit Assays“ von Qiagen mit anschließender Sequenzanalyse (ABI-Kapillarsequenzierung) quantifiziert. Für die DAZ-Genkopie-spezifische quantitative Expressionsanalyse wurden transkript-spezifische Sequenzprimer entwickelt.

Resultate: Nur die Promoterstrukturen von DAZL und den DAZ-Genen in AZFc lassen noch eine gewisse Verwandtschaft erkennen, der Promoter von BOULE ist davon deutlich verschieden. Allerdings ist die funktionelle Feinstruktur von DAZL und DAZ-Promoter ebenfalls unterschiedlich. Dies drückt sich u. a. in einer unterschiedlichen Länge des CpG-Klusters vor Exon 1 aus und in einem unterschiedlichen Muster von konservierten Bindungsstellen keimbahn-spezifischer Transkriptionsfaktoren.

Interessanterweise wurde mit Hilfe des Bisulfitassays und anschließender Se-

quenzanalyse festgestellt, daß das CpG-Methylierungsmuster des CpG-Klusters im Promoter von DAZL1 und DAZ in den Leukozyten (beide Gene inaktiv) und im Hodengewebe (beide Gene aktiv) variabel ist. Vollständig demethylierte CpG-Domänen wurden nur für einzelne DAZ-Genkopien und dann nur im Hodengewebe identifiziert. Nur in Leukozyten erscheint das CpG-Methylierungsmuster des CpG-Klusters im DAZL1 und DAZ-Promoter einheitlich. Die Genkopie-spezifische Expressionsanalyse weist auf eine unterschiedliche Expression der verschiedenen DAZ-Genkopien im Hodengewebe hin.

Schlußfolgerungen: Das variable CpG-Methylierungsmuster im CpG-Kluster von DAZL und DAZ-Promoter in der genomischen DNA von Hodengewebe, aber nicht in Leukozyten, weist auf eine epigenetische Kontrolle der Expression von DAZL und DAZ in diesem Gewebe hin. Sie ist vermutlich die Grundlage für die gefundene differenzierte Expression der verschiedenen DAZ-Genkopien in AZFc.

P 51

ERFOLGREICHE INTRAZYTOLASMATISCHE SPERMENINJEKTION BEI PRIMÄRER ZILIENDYSKINESIE DURCH DEN EINSATZ LASER-SELEKTIERTER SPERMATOZOEN

P. Gerber, R. Kruse, J. Hirchenhain, J. Krüssel, N. Neumann
Hautklinik und Frauenklinik, Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf

Fragestellung: Erstbeschreibung einer Schwangerschaft einer 34 Jahre alten Patientin nach intrazytoplasmatischer Spermieninjektion (ICSI). Laser-selektierte Spermatozoen bei primärer Ziliendyskinesie (PCD) eines 37 Jahre alten Patienten mit kompletter Asthenozoospermie.

Methoden: ICSI nach Selektion vitaler aber immotiler Spermatozoen mittels hypoosmolaren Schwelltests (HOS) oder mittels eines 1,48 µm Diodenlasers.

Resultate: Ein 37jähriger Patient stellte sich mit einer primären Infertilität aufgrund einer bekannten PCD vor. Wiederholte Spermioogramme zeigten im

Nativpräparat keine motilen Spermatozoen, aber einen hohen Anteil von Spermatozoen mit aufgerollten Schwänzen vergleichbar mit HOS-reaktiven Spermatozoen. Vitale Spermatozoen wurden entweder mittels des HOS-Test oder durch den Einsatz eines 1,48 µm Diodenlasers selektiert und anschließend für die ICSI eingesetzt. Während im Falle der HOS-selektierten Spermatozoen 2 von 4 Oozyten (50 %) befruchtet werden konnten, führte der Einsatz Laser-selektierter Spermatozoen bei 4 von 7 Oozyten (57,1 %) zu einer erfolgreichen Befruchtung. Durch den Transfer zweier via Laser-selektierter Spermatozoen befruchteten Oozyten konnte bei der Patientin eine Schwangerschaft erreicht werden.

Schlußfolgerung: Der Einsatz eines Diodenlasers bietet eine sichere und innovative Technik zur Selektion vitaler aber immotiler Spermatozoen. Seine Anwendung ist eine vielversprechende Alternative, insbesondere in Fällen, in denen die Aussagekraft des HOS-Tests eingeschränkt ist.

P 52

ANALYSE DES ADIPOZYTOKINS RESISTIN IN HUMANEM SEMINALPLASMA

S. Grunewald
Abteilung Andrologie, Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie, Universität Leipzig

Einführung: Resistin ist ein Adipozytokin, das beim Menschen im Gegensatz zur Maus weniger von den Adipozyten als von Monozyten und Makrophagen und Endothelzellen exprimiert wird. Resistin induziert im Serum und in der Synovialflüssigkeit die Sekretion proinflammatorischer Zytokine, z. B. Elastase und Interleukin-6 (IL-6). Ziel der vorliegenden Studie war es, Resistin im Seminalplasma nachzuweisen und Assoziationen zu anderen Entzündungsmediatoren bzw. zur Ejakulatqualität zu analysieren.

Methoden: Es wurden Ejakulate 54 normalgewichtiger Infertilitätspatienten ohne klinische Zeichen einer Entzündung des Genitaltraktes und 18 Patienten nach Vasektomie untersucht. Dabei



wurden neben den klassischen Spermio-grammparametern (WHO) die Konzentrationen von Resistin, Elastase und IL-6 im Seminalplasma (ELISA) und von Resistin, Testosteron, FSH und Inhibin B im Serum bestimmt.

Resultate: Die mediane Resistin-Konzentration im Seminalplasma lag bei 1,62 ng/ml (IL-6: 12,0 pg/ml und Elastase: 16,7 ng/ml). Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in der Resistin-Konzentration von Ejakulaten mit normalen vs. subnormalen Spermio-grammparametern ($p > 0,05$), zudem fand sich keine Korrelation zur Spermienqualität (Konzentration, Motilität, Morphologie). Auch die Vasektomie hatte keinen Einfluß auf die Resistinspiegel ($p > 0,05$) im Seminalplasma. Hingegen korrelierte die Resistinkonzentration im Seminalplasma hochsignifikant zur Konzentration der Entzündungsmarker Elastase ($r = 0,86$; $p < 0,01$) und IL-6 ($r = 0,71$; $p < 0,01$). Die Resistinspiegel im Seminalplasma korrelierten nicht mit den Serumspiegeln des Adipozytokins und auch nicht mit den Serumspiegeln von Testosteron, FSH und Inhibin B. Darüber hinaus fand sich kein Zusammenhang mit dem Body-mass-Index.

Schlußfolgerung: Resistin konnte erstmalig in humanem Seminalplasma nachgewiesen werden. Die enge Korrelation zur Konzentration anderer Entzündungsmediatoren (Elastase, IL-6) legt eine pro-inflammatorische Rolle des Adipozytokins im Seminalplasma nahe. Da die Vasektomie keinen Einfluß auf den Resistinspiegel im Seminalplasma hat und die Konzentration von Resistin im Seminalplasma nicht zu der im Serum korreliert, wird für den männlichen Genitaltrakt eine multilokuläre Produktion z. B. durch Monozyten oder Leydig-Zellen postuliert.

P 53

VERBESSERUNG DER SPERMIIEN-CHROMATIN-DEKONDENSATIONS-RATEN BEI INFERTILITÄTSPATIENTEN DURCH ANNEXIN-V-MACS

S. Grunewald¹, V. Blumenauer², M. Reinhardt¹, A. Hmeidan², H. Glander¹, U. Paasch¹

¹A Abteilung Andrologie, Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie, Universität Leipzig, ²Praxisklinik Reproduktionsmedizin und Gynäkologische Endokrinologie, Leipzig

Einleitung: Die Depletion apoptotischer Spermien mittels Annexin-V-basierter magnetischer Zellseparation (MACS) wurde als neue Methode zur Verbesserung der Ergebnisse der assistierten Reproduktion eingeführt. Dabei werden Spermatozoen infolge der Bindung von Annexin-V-Microbeads an externalisiertes Phosphatidylserin (EPS) in 2 Fraktionen separiert: EPS- (nicht-apoptotische) und EPS+ (apoptotische). Die Annexin-V-MACS-Separation von Spermien gesunder Spender verbesserte deren Oozytenpenetrationsfähigkeit (Hamsteroozytenpenetrationstest), nicht jedoch die Spermienchromatindekondensationsraten (SCD, Hamster-ICSI). Ziel der vorliegenden Studie war es, die SCD nach Annexin-V-MACS-Separation bei Infertilitätspatienten zu untersuchen.

Methoden: 21 Ejakulate von Infertilitätspatienten mit subnormalen Spermio-grammparametern wurden nach Dichtegradientenzentrifugation mittels Annexin-V-MACS separiert. In den unbehandelten Kontrollen und in der EPS- bzw. EPS+ Fraktion wurde der Anteil apoptotischer Spermien durch Bestimmung der Caspase-3-Aktivierung (CP3, fluoreszenzmarkierter CP3-Inhibitor) und des transmembranösen mitochondrialen Membranpotentials (MMP, Disruptionsnach-

weis mittels lipophiler Kationen) erfaßt. Die SCD der Spermatozoen wurde durch Hamsteroozyten-ICSI (H-ICSI) an kryokonservierten Hamsteroozyten (20 pro Aliquot) evaluiert.

Resultate: Im Vergleich zu den Voruntersuchungen an gesunden Spendern erhielten die Ejakulate der Infertilitätspatienten deutlich mehr Spermien mit aktivierter CP3 und disruptiertem MMP. In der EPS-negativen Fraktion wurden im Vergleich zur Kontrolle und zur EPS-positiven Fraktion signifikant Spermien mit inaktiver CP3 und intaktem MMP angereichert. Damit einhergehend fand sich eine signifikant verbesserte Spermienchromatindekondensationsrate (Tab. 4).

Schlußfolgerung: Die Aktivierung der Apoptosekaskade in humanen Spermatozoen beeinträchtigt deren Chromatindekondensation. Die Anreicherung vitaler, nicht-apoptotischer Spermien könnte somit eine Verbesserung der Ergebnisse der intrazytoplasmatischen Spermieninjektion bei Infertilitätspatienten bei erhöhtem Anteil apoptotischer Spermatozoen bewirken.

P 54

LANGZEITERGEBNISSE DER OPERATIVEN PENISSCHAFTBEGRADIGUNG MITTELS SMALL INCISION/GRAFT-INTERPONAT BEI PATIENTEN MIT INDURATIO PENIS PLASTICA

S. Haag, E. Hauck, A. Pilatz, A. Hauptmann, T. Diemer, W. Weidner
Klinik und Poliklinik für Urologie und Kinderurologie, Universitätsklinikum Gießen

Fragestellung: Zur Vermeidung einer Penislängenreduktion wird bei Patienten mit Induratio penis plastica und ausge-

Tabelle 4: S. Grunewald et al. (P 53)

Parameter	Kontrolle	EPS-negativ	EPS-positiv
Aktive CP3 (% Spermien)	43,5 ± 13,8	26,8 ± 12,3*	58,4 ± 11,7*
Intaktes MMP (% Spermien)	54,7 ± 23,2	71,6 ± 21,5*	9,8 ± 12,0*
SCD (% Oozyten nach H-ICSI)	31,3 ± 13,1	44,2 ± 15,8*	18,3 ± 6,7*

Angabe als Mittelwert ± Standardabweichung. * $p < 0,01$ im Vergleich zur Kontrolle. Statistischer Test: Wilcoxon-Test.



ABSTRACTS

prägender dorsaler Penisdeviation von über 60° eine kombinierte Small Incision Plaque-Therapie mit Graft-Interponat durchgeführt. Die Ergebnisse von 30 rekonstruktiven Operationen wurden ausgewertet.

Methoden: Insgesamt wurde bei 30 konsekutiven Patienten eine Penischaftbegradigung mittels Small Incision Plaque-Therapie in der Sleeve-Technik durchgeführt. Interponiert wurde 4x ein venöses Graft, 5x Tutoplast® und 21x Tutopatch®. Präoperativ erfolgte die Diagnostik mit IIEF-Fragebogen, SKAT-Test, Duplexsonographie und DICC. Es wurden Penisdeviation, -länge und Erektion prä- sowie 3 und 12 Monate postoperativ evaluiert.

Ergebnisse: Bei den Patienten bestand eine dorsale Penisdeviation von 45–90°, im Durchschnitt 82°. Postoperativ beklagten nur 4 von 30 Patienten eine subjektive Restdeviation. Die mittels IIEF-Fragebogen ermittelte Erektionsfähigkeit war prä- und postoperativ unverändert, bei 2 Patienten lag eine mittlere, bei 23 Patienten eine milde Erektionsstörung vor. Die mittlere Penislänge betrug bei Erektion präoperativ 13,3 cm (11–15 cm) sowie postoperativ 13,2 cm (10–15 cm).

Insgesamt gaben 8 Patienten subjektiv einen Penislängenverlust von ca. 1 cm an, keiner eine Erektionsverschlechterung. Geringgradige Sensibilitätsstörungen der Glans, die nach 3 Monaten bei 16 Männern vorhanden waren, bildeten sich jedoch innerhalb von 12 Monaten bis auf einen Fall komplett zurück. Ein Fremdkörpergefühl durch das verwendete Nahtmaterial blieb bei 2 von 30 Patienten anhaltend nachzuweisen.

Schlußfolgerung: Unsere Ergebnisse der Operationstechnik mit Small Incision Plaque-Therapie und Graft-Interponat zeigen, daß mit dieser Technik bei guter Deviationskorrektur, Erhaltung der Penislänge und des Erektionsvermögens nach 12 Monaten ein sehr gutes funktionelles Ergebnis bei den Patienten erreicht werden kann.

P 55

DIE EXPRESSION VON SPEZIFISCH AZETYLIERTEM HISTON H4 WÄHREND DER NORMALEN UND GESTÖRTEN SPERMATOGENESE DES MENSCHEN

N. Hecht¹, A. Paradowska¹, M. Bergmann², W. Weidner¹, K. Steger¹

¹Klinik und Poliklinik für Urologie und Kinderurologie, Justus-Liebig-Universität, ²Institut für Veterinär-Anatomie, Histologie und Embryologie, Gießen

Fragestellung: Die Azetylierung von Kernhistonen resultiert in einer Lockerung der DNA-Histon-Interaktion. Sie steht daher in engem Zusammenhang mit der DNA-Replikation in Spermatogonien und dem Histon-Protamin-Austausch in elongierenden Spermatiden. Letzterer erfolgt in den Stadien 3–5 der Spermatogenese und führt zur Kondensation des Kernchromatins, was für die Befruchtungsfähigkeit der Spermien von entscheidender Bedeutung ist. Ziel unserer Studie war es, das Expressionsmuster von spezifisch an Lysin 5, 8, 12 und 16 azetyliertem Histon H4 (H4K5, H4K8, H4K12, H4K16) während der normalen Spermatogenese zu untersuchen. Ferner sollte geklärt werden, ob eine gestörte Spermatogenese mit einem veränderten Azetylierungsmuster assoziiert ist.

Methoden: Für die Immunhistochemie wurden von Bouin-fixierten und in Paraffin eingebetteten Hodenbiopsien mit normaler Spermatogenese (n = 2) und Spermatidenreifungsdefekt (n = 4) 5 µm dicke Schnitte hergestellt. Zusätzlich standen Ausstriche von normalem Ejakulat (n = 3: WHO-Kriterien) zur Verfügung. Das zu untersuchende Material wurde mit polyklonalen Primärantikörpern gegen H4K5ac, H4K8ac, H4K12ac und H4K16ac (Abcam, Cambridge, UK), mit biotinyliertem Ziege-anti-Kaninchen-Sekundärantikörper (Dako, Hamburg, Deutschland) und mit ABC-Komplex inkubiert und mit DAB-Reagenz entwickelt.

Ergebnisse: Während der normalen Spermatogenese zeigte H4K5ac positive Signale in den runden und elongierenden Spermatiden der Stadien III–V. Bei Spermatidenarrest waren die noch vorhandenen runden Spermatiden ebenfalls positiv. Zusätzlich waren einzelne

Spermatogonien gefärbt. Im Fall von H4K8ac waren bei normaler Spermatogenese ca. 50 % der Spermatogonien sowie runde und elongierende Spermatiden der Stadien III–V positiv. Bei gestörter Spermatogenese waren keine abweichenden Färbungen feststellbar. Die Immunreaktion von H4K12ac glich der von H4K8ac. Zusätzlich waren jedoch die elongierten Spermatiden der Stadien I–II immunopositiv. Das Expressionsmuster bei Spermatidenarrest war identisch mit dem bei normaler Spermatogenese mit Ausnahme der fehlenden elongierten Spermatiden der Stadien I–II. Der Antikörper gegen H4K16ac reagierte bereits mit pachytänen Spermatozyten ab Stadium III der normalen Spermatogenese. Außerdem waren die runden Spermatiden der Stadien I–III und die elongierenden Spermatiden der Stadien IV–V positiv. Bei Spermatidenarrest waren alle Spermatozyten immunonegativ. Im Ejakulat zeigte nur der Antikörper gegen H4K12ac in ca. 20 % der Spermatozoen ein positives Signal.

Schlußfolgerung: Die fehlende Azetylierung von H4K16 in Spermatozyten bei Spermatidenarrest könnte eine mögliche Ursache für die gestörte Entwicklung der Spermatiden darstellen. Die Tatsache, daß H4K12 als einziges Lysin in Spermatozoen azetyliert war, läßt eine wichtige Rolle für die Befruchtung bzw. frühe Embryonalentwicklung vermuten.

P 56

VERGLEICH DREIER METHODEN ZUR MORPHOLOGISCHEN EVALUATION MENSCHLICHER SPERMATOZOEN

U. Hipler¹, R. Henkel², G. Schreiber¹, S. Anita³

¹Klinik für Dermatologie und Dermatologische Allergologie, Jena, ²Department of Medical Biosciences, University of the Western Cape, Bellville, South Africa, ³Klinik für Urologie, Friedrich-Wilhelms-Universität, Bonn

Einleitung: Die Morphologie von Spermatozoen korreliert hochsignifikant mit der Fertilisationsrate im Rahmen der assistierten Reproduktion. Sie stellt einen wichtigen Parameter in der andrologischen Diagnostik dar, auf dessen Basis



unter anderem auch das therapeutische Konzept für die Patienten entwickelt wird. Zur Untersuchung der Morphologie sind verschiedene Methoden beschrieben worden, von denen die Färbung nach Papanicolaou und anschließende Auswertung nach strikten Kriterien weltweit als Standard angesehen wird. Ziel dieser Untersuchung war es deshalb, 3 häufig verwendete Methoden zur Evaluierung der Spermienmorphologie miteinander zu vergleichen.

Methoden: Bei 77 Patienten wurde die Spermienmorphologie nach Ausstrich je eines Ejakulatropfens auf einem Objektträger nach Färbung nach Papanicolaou und Shorr analysiert. Darüber hinaus wurde ein Schnelltest mittels Testsimplen[®] durchgeführt. Die Auswertung erfolgte jeweils nach strikten Kriterien. Der Vergleich der Methoden erfolgte mit den statistischen Methoden nach Bland und Altman sowie Passing und Bablok. Darüber hinaus wurden Mountain Plots durchgeführt.

Resultate: Für alle untersuchten Parameter korrelierten die verschiedenen Methoden signifikant. Allerdings lagen die Korrelationskoeffizienten mit den Testsimplen[®] jeweils deutlich niedriger. Während die Ergebnisse für die Kopf-, Mittelstück- und Schwanzmorphologie sowie für den Anteil normalgeformter Spermatozoen zwischen der Papanicolaou- und der Shorr-Färbung gute Übereinstimmung zeigten, wiesen die Ergebnisse mit den Testsimplen[®] deutliche bis signifikante Abweichungen, insbesondere für die Schwanzmorphologie ($p < 0,01$) auf. Die Variation war sehr stark von der Höhe der Meßwerte abhängig. Die Mittelwerte aller untersuchten Parameter unterschieden sich beim Vergleich mit den Testsimplen[®] in jedem Fall signifikant ($p < 0,05$), nicht jedoch bei Vergleichen zwischen Papanicolaou und Shorr.

Schlußfolgerungen: Die Ergebnisse legen eine weitgehende Übereinstimmung zwischen der Papanicolaou- und Shorr-Färbung dar, während der Schnelltest signifikante Abweichungen aufweist. Dies dürfte auf die Tatsache zurückzuführen sein, daß die Proben hier nicht fixiert werden. Da die Spermienmorphologie eine hohe Bedeutung im Rahmen der andrologischen Diagnostik hat und dieser Parameter wesentlich für die Beurteilung des Ejakulats ist, ist eine exakte

morphologische Beurteilung der Spermien essentiell. Die Verwendung von Schnelltests kann daher nicht empfohlen werden.

P 57

EINFLUSS VON MODERATEM RADFAHREN AUF DIE SKROTALTEMPERATUR

A. Jung, P. Strauß, H. Lindner, H. Schuppe
¹Zentrum für Dermatologie und Andrologie, Justus-Liebig-Universität, Gießen

Fragestellung: Die Hodentemperatur korreliert gut mit der Skrotaltemperatur als einem unter dynamischen Bedingungen meßbarem Parameter. Es wurde postuliert, daß Radfahren zu einer erhöhten Skrotaltemperatur und konsekutiv über die testikuläre Temperaturbelastung zu einer Einschränkung der Samenqualität führt. Ziel dieser Studie war es, den Einfluß von moderatem Radfahren unter standardisierten Laborbedingungen auf die Skrotaltemperatur zu ermitteln.

Methoden: 25 Probanden mit unauffälliger andrologischer Untersuchung wurden für die Studie rekrutiert. Um möglichst standardisierte Bedingungen für die körperliche Belastung zu erreichen, wurde ein Fahrradergometer in einem klimatisierten Raum mit einer auf 22 °C adjustierten Umgebungstemperatur benutzt. Skrotaltemperaturen wurden beidseits minütlich mit Thermistorsensoren gemessen und mittels tragbarem Datenrekorder aufgezeichnet. Ein weiterer Temperatursensor wurde an der zentralen Oberfläche des Fahrradsattels befestigt. Die Probanden begannen das Experiment jeweils zur gleichen Tageszeit. Ihre Kleidung bestand passend zur Körpergröße aus standardisierten Baumwollhosen, -unterhosen und -shirts. Nach Akklimatisation an die Laborgegebenheiten für 90 Minuten in sitzender Position radelten die Probanden für 60 Minuten mit einer Belastung von 25 Watt und einer Geschwindigkeit von 25 km/h auf einem Fahrradergometer.

Ergebnisse: Die Satteloberflächentemperatur erreichte nach 60 Minuten Radfahren im Median 35,59 °C. Die Medianwerte für die Skrotaltemperatur lagen linksseitig zu Beginn bei 35,75 °C und nach 60 Minuten bei 35,82 °C, rechts-

seitig bei 35,50 °C und 35,59 °C. Mittels ANOVA fand sich keine Korrelation zwischen der Dauer des Radfahrens und der Skrotaltemperatur. Die Skrotaltemperaturen während des Radfahrens waren jedoch signifikant niedriger ($p < 0,001$) als während der letzten 10 Minuten der Sitzphase vor Beginn des Radfahrens mit einer Differenz von 1,31 °C linksseitig und 1,46 °C rechtsseitig.

Schlußfolgerung: Moderates Fahrradfahren mit einer Belastung von 25 Watt kann nicht als wesentlicher genitaler Temperaturbelastungsfaktor interpretiert werden, sodaß der verallgemeinernd postulierte Zusammenhang zwischen Fahrradfahren und genitaler Hitzebelastung nicht haltbar ist.

P 58

MÄNNLICHE FERTILITÄTSPROTEKTION BEI KREBS-DIAGNOSE

G. Keck, I. Trinkaus, B. Thieme,
K. Hänseroth, B. Heiss, W. Distler
Universitätsklinikum TU Dresden

Fragestellung: Steigende Überlebensraten bei Krebserkrankungen haben zu einem erhöhten Bewußtsein für die Lebensqualität nach Überwindung der Krankheit geführt. Der durch die onkologische Therapie, insbesondere nach Einsatz alkylierender Substanzen, nach hochdosierter Chemotherapie in Verbindung mit einer Knochenmarktransplantation oder einer gonadalen Radiotherapie oft nicht vermeidbare irreversible Verlust von Keimzellen, bedeutet gleichzeitig den Verlust der Fortpflanzungsmöglichkeit. Da sich jedoch 3/4 aller kinderlosen onkologischen Patienten zu einem späteren Zeitpunkt ein Kind wünschen, sollte jedem Patienten vor der Behandlung der Grunderkrankung die Möglichkeit zur Wahrnehmung von fertilitätserhaltenden Maßnahmen angeboten werden.

Methoden: Im Poster wird die Literatur des aktuellen Standes der praxisrelevanten und der sich in der Forschungsstufe befindenden Möglichkeiten der Fertilitätsprotektion ausgewertet, welche dem onkologisch männlichen Patienten die Chance einer späteren Vaterschaft bewahren.



ABSTRACTS

Resultate: Die präventive Fertilitätskonservierung bei onkologisch erkrankten männlichen Patienten ist keinem starren Schema unterworfen, sondern richtet sich nach den individuellen Faktoren, der Krebsart und den Behandlungsmöglichkeiten der Erkrankung. Sie sollte so früh wie möglich ins Behandlungskonzept aufgenommen werden. Das komplexe Behandlungsschema zum Angebot und zur Durchführung fertilitätserhaltender Maßnahmen stellt eine fachübergreifende Herausforderung dar, die nur mit hohem integrativem Einsatz und Kompetenz des Fachpersonals erfolgreich sein kann.

Als etablierte Methode ist die Kryokonservierung von Sperma bei erwachsenen und adoleszenten onkologischen Patienten am weitesten verbreitet. Die Verwendung der Kryodepots erfolgt in Kombination mit Maßnahmen der Artifizialen Reproduktionsmedizin (ART) wie Insemination, IVF oder IVF mit ICSI. Das Kryodepot kann aus Sperma sowohl nach Spermengewinnung nach Masturbation, nach Spermien nach Aufarbeitung aus dem Hodenmaterial, Elektroejakulation oder aus Urin nach Masturbation angelegt werden. Eine Alternative ist gegebenenfalls die Kryokonservierung von testikulären Spermien im Hodengewebe.

Übereinstimmend berichten mehrere Autoren zum einen eine Inanspruchnahme der Kryodepots von weniger als 10 % für Maßnahmen der ART, zum anderen betonen sie aber die durchweg positive retrospektive Bewertung der Möglichkeit der Anlage eines Kryodepots aus psychologischer Sicht durch die Patienten.

Mit gutem Erfolg wird häufig die Gonenabschirmung während der Bestrahlung angewandt, während die hormonelle Therapie zur Abschirmung des testikulären Gewebes während Chemotherapie und Bestrahlungstherapie mit GnRH-Analoga oder Antagonisten bei Männern wenig effektiv ist und daher selten angewendet wird. Die bisher im Forschungsstadium erprobte Verwendung von kryokonserviertem testikulärem Gewebe zur Reimplantation nach der Krebsbehandlung und die In-vitro-Reifung kryokonservierter Germinalzellen wurde beim Menschen noch nicht angewandt. Jedoch stellt für präpubertäre männliche Patienten bei zu befürchtendem vollständigem Verlust aller

Keimzellen die frühzeitige Entnahme und extrakorporale Lagerung von diesen Keimzellen die einzige Option für die Erhaltung der Keimbahn des Patienten und spätere Initiierung der Fertilität dar. Deshalb wird im Glauben an einen schnellen Fortgang der Forschung und eine zukünftige Nutzung empfohlen, die Anwendung dieser Möglichkeit in ausgewählten Fällen zu erwägen.

Die Leistungen für Fertilitätsprophylaxe sind keine Leistungen der Krankenkassen, sondern müssen von den Patienten privat liquidiert werden. Die Verwendung der Spermienkryodepots zu Maßnahmen der ART wird von den Krankenkassen nur teilweise liquidiert.

Schlußfolgerung: Fertilitätsprophylaxe sollte heute zu einem festen Bestandteil des individuellen Behandlungskonzepts gehören.

Durch die Möglichkeit der Inanspruchnahme von fertilitätsprophylaktischen Maßnahmen stürmen viele Gefühle und Erwartungen auf den Patienten ein, die er in aller kürzester Zeit bewältigen und neben der Diagnosestellung verarbeiten muß. Neben der familiären und soziokulturellen Ebene wird der Patient mit hohen finanziellen Belastungen konfrontiert. In interdisziplinärer Zusammenarbeit gilt es, dem Patienten respektvoll zu begegnen, Druck möglichst zu vermeiden und komplex und kompetent auf seine Situation zugeschnitten zu beraten und zu behandeln.

P 59

VOLLSTÄNDIGE SPERMATOGENESE NACH AUTOLOGER TRANSPLANTATION VON HODENGeweBE IN NICHT-HUMANEN PRIMATEN

C. Luetjens, J. Stukenborg, E. Nieschlag, M. Simoni, J. Wistuba
Institut für Reproduktionsmedizin,
Universitätsklinikum Münster

Fragestellung: Die Transplantation von Hodengewebe soll infertilen Patienten eine Perspektive eröffnen, eigene Spermien zu erzeugen, insbesondere präpubertäre onkologische Patienten, die vor einer zytotoxischen Therapie Gewebe kryokonservieren und dieses zu einem späteren Zeitpunkt zurücktrans-

plantiert erhalten würden. Zunächst ist in einem möglichst eng mit dem Menschen verwandten Tiermodell zu zeigen, daß die autologe Transplantation von immatorem Hodengewebe überhaupt in vollständiger Spermatogenese mündet, da in bisherigen Studien für menschliches Gewebe lediglich ein zeitweises Überleben, jedoch keine vollständige Spermatogenese gezeigt werden konnte – ebenso wie bei dem in der vorliegenden Studie experimentell untersuchten Marmoset (*Callithrix jacchus*). Dieser Krallenne weist eine dem Menschen sehr ähnliche Organisation der Spermatogenese auf.

Methoden: In einer vierarmigen Studie haben wir die autologe Transplantation von Hodengewebe an Krallenaffen untersucht. Ziel der Studie war die Klärung der Ursachen des bisher schon bekannten meiotischen Arrests nach ektopter Transplantation sowie die Überprüfung der Möglichkeit, in orthotopischen Hodentransplantaten vollständige Spermatogenese zu erreichen.

Bei 3 Gruppen von 4wöchigen Krallenaffen und einer weiteren Gruppe mit adulten Tieren (n = 20) wurde Hodengewebe entnommen und autolog zurück transplantiert. Die erste Gruppe wurde hemikastriert und Teile des entnommenen Hodens ektoptisch unter die Rückenhaut zurücktransplantiert. Die 2. und 3. Gruppe wurde kastriert und Stücke eines Hodens wie bei der 1. Gruppe unter die Rückenhaut transplantiert. Zusätzlich wurde bei der 2. Gruppe Stücke des anderen Hodens unter die Skrotalhaut transplantiert. Bei der 3. Gruppe wurden Teile des 2. Hodens für 4 Monate kryokonserviert und dann anschließend autolog ektoptisch neben die bereits dort vorliegenden Transplantate gebracht. In der 4. hemikastrierten adulten Primatengruppe wurde der entnommene Hoden in Stücken unter die Rückenhaut und in den Hodensack zurück transplantiert. Allen Tieren wurden anschließend regelmäßig Blut entnommen. Den präpubertären Versuchstiere wurden 15 Monate und den erwachsenen Tiere 6 Monate nach der Transplantation die Transplantate entnommen und histologisch analysiert.

Ergebnisse und Schlußfolgerungen: In allen Gruppen wurde Hodengewebe unter der Rückenhaut gefunden, die Meiose wurde jedoch in keinem Gewe-



bestück durchschritten. Kryokonservierte Gewebestücke wurden nicht gefunden und müssen demnach resorbiert worden sein. Die Transplantate in den adulten Tieren zeigten deutliche Degeneration und waren deutlich schlechter entwickelt als die der immaturen Tiere. Nur in 2 Tieren der adulten Gruppe wurde fibrotisches Gewebe im Hodensack gefunden. Im Gegensatz dazu wurde in Tubuli der skrotalen Transplantate bei allen immaturen Tieren der 2. Gruppe eine vollständige Spermatogenese festgestellt, obwohl auch bei diesen Tieren die ektopischen Transplantate meiotisch arretiert waren. Wir nehmen an, daß der Temperaturunterschied zwischen Rückenhaut und Skrotum für diesen Unterschied verantwortlich ist.

In dieser Studie zeigen wir erstmalig, daß bei nicht-humanen Primaten vollständige Spermatogenese in autologen Transplantaten unreifen Hodengewebes erreicht werden kann. Wir postulieren, daß diese Technik der Transplantation von eigenem Hodengewebe als Fertilitätsreserve von onkologischen Patienten zur Anwendung kommen kann, falls es möglich wird, maligne Zellen sicher auszusortieren.

P 60

TRYPTASEKONZENTRATION IN SEMINALPLASMA UND BLUT VON INFERTILITÄTSPATIENTEN

R. Ludwig, W. Boehncke, H. Beschmann, F. Ochsendorf
Zentrum Dermatologie und Venerologie, Klinikum der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt/Main

Hintergrund: Tryptase kann die Sperminmotilität über Bindung an PAR2-Rezeptoren und intrazelluläre Aktivierung der MAP-Kinasen ERK1/2 einschränken. Tryptase-sezernierende Mastzellen wurden im männlichen und weiblichen Genitaltrakt nachgewiesen.

Fragestellung: Erlaubt die Messung der Tryptasekonzentrationen in Seminalplasma bzw. Blut Rückschlüsse auf eine Mastzellaktivierung im Hoden? Finden sich Assoziationen zwischen Tryptase im Seminalplasma bzw. im Blutserum und Spermio-graphmparametern?

Material und Methode: Bei 96 konsekutiven, sich erstmals wegen unerfülltem Kinderwunsch in unserem Labor vorstellenden Patienten wurde nach Einwilligung in die Untersuchung die Tryptase im Blutserum sowie im Seminalplasma mittels eines ELISA (Fa. Pharmacia) bestimmt. Daneben wurde ein Spermio-graphm angefertigt. Die Auswertung erfolgte deskriptiv mittels GraphPad Prism.

Ergebnisse: Bei 12 Patienten (12,5 %) fanden sich meßbare Tryptasekonzentrationen im Seminalplasma (1,09–6,25 µg/l, Median 1,72, Mittelwert 2,19). Es fanden sich bei der Gesamtbetrachtung keine Korrelationen zwischen den Tryptasekonzentrationen im Serum und Seminalplasma oder einem Parameter des Spermio-graphms, insbesondere nicht mit der Motilität. Die ausschließliche Analyse der Patienten mit meßbarer Tryptase im Seminalplasma zeigte eine negative Korrelation zwischen der Tryptase im Seminalplasma und der normalen Morphologie (Pearson $r = -0,6$; $p = 0,04$).

Schlußfolgerung: Die Bestimmung der Tryptase im Blut erlaubt keine Rückschlüsse auf die Konzentration im Seminalplasma. Bei 12 % unausgewählter andrologischer Patienten finden sich meßbare Konzentrationen im Seminalplasma. Mögliche Zusammenhänge mit Spermio-graphmparametern bedürfen der Bestätigung an einem größeren Kollektiv.

P 61

DIE AZETYLIERUNG VON LYSIN 12 IN HISTON H4 (H4K12AC) IN MÄNNLICHEN KEIMZELLEN UND IHRE ROLLE FÜR DIE EXPRESSION FERTILITÄTSRELEVANTER GENE

A. Paradowska¹, S. Schumacher¹, M. Bergmann², W. Weidner¹, K. Steger¹
¹Klinik und Poliklinik für Urologie und Kinderurologie, Justus-Liebig-Universität, Gießen, ²Institut für Veterinär-Anatomie, Histologie und Embryologie, Gießen

Fragestellung: Nach Fusion der Gameten muß das durch die DNA-Protamin-Interaktion kondensierte Kernchromatin des Spermatozoons de-kondensiert und die Protamine durch Histone zurück getauscht werden. Hierbei spielt die Azetylierung von Histonen, insbesondere die von H4K12ac, eine wichtige Rolle.

Darüber hinaus ist die Azetylierung von Histonen auch mit einer Zunahme der transkriptionalen Aktivität verbunden. Ziel dieser Studie war es, (1) mit Hilfe der Immunhistochemie das Expressionsmuster von H4K12ac während der normalen Spermatogenese nachzuweisen und (2) mit Hilfe der Chromatin-Immunpräzipitation (ChIP) eine mögliche Assoziation von H4K12ac mit fertilitätsrelevanten Genen zu untersuchen.

Methoden: Für die Immunhistochemie wurden von Bouin-fixierten und Paraffin-eingebetteten Hodenbiopsien mit normaler Spermatogenese 5 µm dicke Schnitte hergestellt. Zusätzlich standen Ausstriche von normalem Ejakulat (WHO-Kriterien) zur Verfügung. Das zu untersuchende Material wurde mit dem polyklonalen Primärantikörper gegen H4K12ac (Abcam, Cambridge, UK), mit biotinyliertem Ziege-anti-Kaninchen-Sekundärantikörper (Dako, Hamburg, Deutschland) und mit ABC-Komplex inkubiert und mit DAB-Reagenz entwickelt.

Der Chip-Assay wurde mit Chromatin, das mit Hilfe des Antikörpers gegen H4K12ac aus ejakulierten Spermatozoen gewonnen wurde, durchgeführt. Die spezifischen Primerpaare für die ausgewählten Gene dienten für die Untersuchung der Antikörper-Anreicherung durch real-time quantitative PCR (RTqPCR).

Ergebnisse: Die Immunhistochemie für H4K12ac zeigte in den Hodenbiopsien mit normaler Spermatogenese positive Signale in ca. 50 % der Spermatogonien, sowie in runden und elongierenden Spermatischen der Stadien III–V und in elongierten Spermatischen der Stadien I–II.

In den Ejakulaten konnte in ca. 20 % der Spermatozoen eine positive Immunreaktion nachgewiesen werden.

CHIP in Kombination mit RTqPCR identifizierte folgende mit H4K12ac immunpräzipitierte Gene: NANOG, C-MYC, und β-ACTIN.

Schlußfolgerung: Die Expression von H4K12ac von runden Spermatischen des Stadiums III bis hin zu ejakulierten Spermatozoen deutet auf eine wichtige Funktion dieser Modifikation für die Spermatozoenreifung und möglicherweise für die Befruchtung und frühe Embryonalentwicklung hin. Letztere Vermutung wird durch die Assoziation von H4K12ac



ABSTRACTS

mit NANOG und C-MYC bekräftigt. So ist bekannt, daß der Transkriptionsfaktor NANOG in embryonalen Stammzellen exprimiert wird und hier wahrscheinlich in die Aufrechterhaltung der Pluripotenz dieser Zellen involviert ist. C-MYC ist ein Vertreter der „immediate early genes (IEG)“, die als frühe Regulatoren von Zellwachstum und Differenzierungssignalen bekannt sind.

P 62

SERUM-FSH – PROGNOSTISCH AUSSAGEKRÄFTIG FÜR PATIENTEN MIT AZOOSPERMIE?

F. Kolodziej¹, M. Rickert-Foehring¹, H. Sperling², H. Rübbers³, S. Wohlers¹, D. Propping¹, P. Bielfeld¹, T. Katzorke¹
¹Novum – Zentrum für Reproduktionsmedizin, Essen, ²Kliniken Mariahilf GmbH, Mönchengladbach, ³Universitätsklinikum Essen

Für Kinderwunschpatienten mit der Diagnose Azoospermie eröffnet seit langem die Methode der testikulären Spermienextraktion (TESE) mit nachfolgender intrazytoplasmatischer Spermieninjektion (ICSI) die Möglichkeit, eine Vaterschaft herbeizuführen.

Im Vorfeld einer ART-Behandlung ist es von ärztlicher Seite wünschenswert, für das Patientenpaar eine fundierte Prognose bezüglich des Eintritts einer Schwangerschaft geben zu können.

In der vorliegenden Arbeit wurde anhand retrospektiver Datenauswertung von 610 TESE-ICSI-Zyklen die prognostische Wertigkeit von Serum-FSH des Mannes bezüglich des Eintritts einer Schwangerschaft und Geburt untersucht.

Methoden: Die Blutentnahme und Bestimmung von LH, FSH, AMH, Inhibin B (DPC Biermann, Bad Nauheim, Deutschland) erfolgte unmittelbar vor der TESE-OP. Diese wurde in der urologischen Abteilung des Universitätsklinikums Essen durchgeführt.

Der Transport der Hodenbiopsate erfolgte in kommerziell erhältlichem Spermienaufbereitungsmedium (Medicult, Berlin, Deutschland). Die Hodenbiopsate wurden mechanisch aufbereitet. Bei Vorhandensein von Spermien wur-

den die Proben in SpermFreeze (FertiPro, Beernem, Belgien) kryokonserviert [Kaden et al., 1985]. Im Rahmen der ICSI-Behandlung wurde die Probe aufgetaut, mittels Dichtegradientenzentrifugation aufbereitet und für die ICSI verwendet. Die ovarielle Stimulation der Patientinnen erfolgte auf übliche Weise mit Gonadotropinen [Devroy et al., 1992].

Ergebnisse: Von Juni 1997–Juni 2007 wurde in unserer Praxis bei 281 Patienten aufgrund einer diagnostizierten Azoospermie die TESE-OP durchgeführt und der Serum-FSH-Wert bestimmt. Das mittlere Alter der Frau zum Behandlungszeitpunkt lag bei 32,1 Jahren, das des Partners bei 37,5 Jahren.

Daraus ergaben sich 610 TESE-ICSI-Zyklen (2,2 Zyklen pro Paar). In 544 Zyklen (89 %) wurde ein Embryotransfer (ET) durchgeführt. In 157 Zyklen, respektive bei 133 Paaren, wurde eine Schwangerschaft erzielt (25,7 % pro Zyklus; 47,3 % pro Paar).

Die Serum-FSH-Werte der Männer lagen im Bereich von 0,01–89,3 IU/ml (MW 12,4 IU/ml), wobei sich in 495 Zyklen der Serum-FSH-Wert unter (Gruppe A), in 117 Zyklen über 20 IU/ml belief (Gruppe B).

In Gruppe A betrug das mittlere Alter der Frau 32,2 Jahre bzw. das des Mannes 38,0 Jahre. Die Fertilisationsrate betrug 55,5 %. Es wurden 128 Schwangerschaften nach 450 durchgeführten ET (28,4 % pro ET) erzielt. Die Baby-take-home-Rate betrug 15,8 % (78 Lebendgeburten). 35 Schwangerschaften (27,3 %) endeten in einem Abort.

Für Gruppe B lag das mittlere Alter der Frau bei 31,4 Jahren, das des Mannes bei 35,4 Jahren und es ergab sich eine Fertilisationsrate von 44,2 %. Nach 94 durchgeführten ET kam es zu 29 Schwangerschaften (31 % pro ET). Die Baby-take-home-Rate betrug 15,4 % (18 Lebendgeburten). 7 Schwangerschaften (24,1 %) endeten in einem Abort.

Schlußfolgerung: Die Einschätzungen der Erfolgsaussichten für TESE-Patienten gestalten sich aufgrund der individuell unterschiedlichen Ursachen für die Azoospermie sehr schwierig.

Aus den von uns erhobenen Daten läßt sich ein Zusammenhang zwischen der Höhe des FSH-Wertes und der Wahrscheinlichkeit für den Eintritt einer Schwangerschaft bzw. Lebendgeburt nicht darstellen.

Dagegen besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den Fertilisationsraten bei Patienten mit Serum-FSH-Werten über 20 IU/ml gegenüber denen mit geringeren Werten (44,2 % vs. 55,5 %; $p < 0,05$).

Dieses Ergebnis steht in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Ludwig und Mitarbeitern, die ebenfalls eine Unabhängigkeit des FSH-Wertes vom Zyklusausgang festgestellt haben [Ludwig et al., 2005].

Dagegen konnten Zitzmann und Mitarbeiter keine Schwangerschaft bei Serum-FSH-Werten über 20 IU/ml erzielen.

Es bleibt zu erörtern, ob der FSH-Wert allein – im Hinblick auf das Erzielen einer Schwangerschaft – einen signifikanten prognostischen Wert besitzt. Weitere endokrinologische Parameter wie Anti-Müller-Hormon (AMH) und Inhibin B werden ebenfalls im Zusammenhang mit TESE-Ergebnissen diskutiert [Duvilla et al., 2007].

P 63

VEREINFACHTE HOCHAUFLÖSENDE SPERMIDIAGNOSTIK (MSOME)

B. Bartoov¹, S. Buck², H. Ledermann¹, S. Peer¹, A. Salmassi², L. Mettler², A. Schmutzler²
¹Male Fertility Laboratory, Mina & Everard Goodman Faculty of Sciences, Bar-Ilan University, Ramat Gan, Israel, ²Universitäts-Frauenklinik, Christian-Albrechts-Universität, Kiel

Fragestellung: Die Untersuchung der Morphologie von Spermienorganellen motiler Spermien durch hohe Vergrößerung (MSOME) wurde eingeführt und wird durchgeführt durch das Laboratorium für männliche Fruchtbarkeit der Bar-Ilan Universität. Sie zielt darauf ab, zwischen Männern, bei deren Partnerinnen eine reguläre Schwangerschafts-



chance durch ICSI zu erwarten ist, und jenen, bei denen eine Spermiovorselektion durch MSOME vor ICSI zu empfehlen wäre, zu unterscheiden. Die Notwendigkeit von frischen Spermienproben für diese Untersuchung ist ein ernsthafter Nachteil der MSOME, speziell für weiter entfernt wohnende Patienten. Das Ziel dieser Studie ist, diesen Nachteil dadurch zu kompensieren, daß die Untersuchung an Trokkanausstrichen beweglicher Spermien durchgeführt wird.

Methoden: Die Vergleichs- und Vorhersagestudie wurde im IVF-Zentrum der Universität Kiel sowie im Laboratorium für männliche Fertilität der Bar-Ilan Universität durchgeführt. Fraktionen motiler Spermien von 14 Patienten nach Swim-up wurden für den Vergleich zwischen MSOME-Variablen von frischen und trockenen Proben (naß vs. trocken MSOME) genutzt. Nach ICSI wurden 11 trockene Proben motiler Spermien nach Israel geschickt, durch MSOME blind analysiert und mit dem Ausgang der ICSI in Deutschland verglichen. Hauptausgangsmesspunkte waren also MSOME und Schwangerschaft nach ICSI.

Ergebnisse: Der Anteil normaler Spermienknochen, analysiert durch MSOME in frischen Spermien und in trockenen Proben, war statistisch ähnlich ($7,1 \pm 5,3\%$ vs. $6,7 \pm 6,4\%$, Korrelation = 0,94; Cronbach's Alpha = 0,92). Bei den 5 Patienten, die mehr als 2 % Spermien mit normalem Nukleus im Ausstrich hatten, war die Schwangerschaftsrate nach ICSI doppelt so hoch wie bei den 6 Patienten mit weniger als 2 % normalem Nukleus im Ejakulat (60 % vs. 33 %).

Schlußfolgerung: Trockene MSOME scheint ein verlässlicher Ersatz für die normale nasse Untersuchung zu sein, auch bei der Vorhersage des ICSI-Ausgangs.

P 64

PHTHALATBELASTUNG BEI PATIENTEN DER FERTILITÄTSSPRECHSTUNDE: ASSOZIATIONEN ZWISCHEN METABOLITSPIEGELN DES DIETHYL-HEXYLPHTHALAT (DEHP) UND EJAKULATPARAMETERN

C. Herr¹, C. Fieber¹, A. zur Nieden¹, N. Stilianakis², J. Angerer³, A. Jung⁴, T. Eikmann¹, H. Schuppe⁴

¹Institut für Hygiene und Umweltmedizin, Justus-Liebig-Universität, Gießen, ²Joint Research Centre, European Commission, Ispra, Italien, und Institut für Biometrie und Epidemiologie, Friedrich-Alexander-Universität, Erlangen-Nürnberg, ³Institut und Poliklinik für Arbeits-, Sozial- und Umweltmedizin (IPASUM), Friedrich-Alexander-Universität, Erlangen-Nürnberg, ⁴Zentrum für Dermatologie und Andrologie, Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH

Einleitung: Phthalate kommen als „Weichmacher“ in der Kunststoffindustrie zur Anwendung und sind entsprechend ubiquitär verbreitet. Hierbei gehört Di(2-ethylhexyl)phthalat (DEHP) zu den Phthalaten mit der größten jährlichen Produktionsmenge (ca. 2 Mio. Tonnen). Tierexperimentelle Daten belegen eine entwicklungs- und reproduktionstoxische Wirkung dieser Chemikalien, insbesondere des DEHP. Beim Menschen sind neben der vorherrschenden oralen Aufnahme auch inhalative und dermale Exposition zu berücksichtigen, im einzelnen sind die Quellen der Phthalatbelastung jedoch noch unklar. Ziel der vorliegenden Studie war es, die Phthalatbelastung kontaminationsfrei mit Hilfe im Körper entstehender Metabolite zu erfassen, mögliche Prädiktoren der internen Phthalatexposition zu identifizieren und Zusammenhänge mit Ejakulatparametern zu analysieren.

Material und Methoden: Zwischen April 2004 und Oktober 2005 wurden von 335 Männern, die wegen unerfülltem Kinderwunsch zur andrologischen Untersuchung kamen, Spontanurinproben gewonnen. In diesen Proben wurden primäre und sekundäre Metabolite von DEHP [Mono(2-ethyl-5-hydroxyhexyl)phthalat (MEHP), 5OH-MEHP, 5oxo-MEHP, 5cxMEHP] sowie bei einer Subgruppe von Patienten weitere Phthalat-Metabolite [Mono-n-Butylphthalat

(MnBP), Mono-Benzylphthalat (MBzP)] bestimmt. Summenanteile wurden jeweils für die 4 DEHP-Metabolite (DEHP4) sowie alle 6 gemessenen Metabolite (DEHP 4 plus MnBP, MBzP = DEHP6) berechnet. Die Ejakulatanalyse erfolgte nach WHO-Richtlinien, die Beurteilung der Spermatozoenmorphologie nach der modifizierten Düsseldorfer Klassifikation. Die Ergebnisse wurden anhand der WHO-Referenzwerte (1999) dichotomisiert.

Ergebnisse: Mittels logistischer Regressionsanalysen wurden Odds Ratios (OR; adjustiert für Alter, Karenzzeit, Raucherstatus) für Einschränkungen der Ejakulatqualität berechnet (n = 165). Hierbei diente jeweils die 75 %-Perzentile für DEHP4 ($> 92,11 \mu\text{g/l}$) bzw. DEHP6 als Grenzwert der Phthalatbelastung. Die Odds Ratio für Einschränkungen der Spermienmotilität, -morphologie und -konzentration betrugen bei Männern mit DEHP4-Werten oberhalb der 75 %-Perzentile 2,23 (95 %-CI: 0,98–5,05), 2,81 (95 %-CI: 1,22–7,14) bzw. 2,61 (95 %-CI: 1,24–5,56). Vergleichbare Resultate fanden sich für DEHP6.

Schlußfolgerungen: Die Konzentrationen der Phthalatmetabolite bei den hier untersuchten, in Deutschland lebenden Männern waren mit den Ergebnissen anderer Studien vergleichbar. Erstmals konnte gezeigt werden, daß Einschränkungen der Ejakulatqualität mit einer höheren Exposition gegenüber DEHP-Metaboliten (> 75 %-Perzentile) assoziiert sind.



ABSTRACTS

P 65

AMPLIFIKATION VON PROTAMINEN UND BCL-2 IN TESTIKULÄREN SPERMATIDEN UND EJAKULIERTEN SPERMATOZOEN ALS PROGNoseMARKER FÜR MÄNNLICHE INFERTILITÄT

K. Steger¹, J. Wilhelm², L. Konrad³, T. Stalf⁴, R. Greb⁵, T. Diemer¹, S. Kliesch⁶, M. Bergmann⁷, W. Weidner¹

¹Klinik und Poliklinik für Urologie und Kinderurologie, Justus-Liebig-Universität, Gießen, ²Institut für Pathologie Gießen, ³Klinik und Poliklinik für Urologie und Kinderurologie, Philipps-Universität Marburg, ⁴Kinderwunschzentrum Mittelhessen, ⁵Frauenklinik Münster, ⁶Klinik für Urologie Münster, ⁷Institut für Veterinär-Anatomie, Histologie und Embryologie, Gießen

Fragestellung: Menschliche Spermien enthalten vergleichbare Mengen der Kernproteine Protamin-1 und Protamin-2. Demgegenüber konnte in infertilen Männern ein verändertes Protaminverhältnis nachgewiesen werden. Die zentrale Bedeutung eines ausgewogenen Protaminverhältnisses für die männliche

Fertilität wurde durch funktionelle Studien an Knock-out-Mäusen gezeigt. So sind haploinsuffiziente Mäuse für Protamin-1 und Protamin-2 infertil. In der vorliegenden Studie sollte geklärt werden, ob das Verhältnis von Protamin-1 zu Protamin-2-mRNA in testikulären Spermatischen und ejakulierten Spermatozoen einen verlässlichen Biomarker repräsentiert, um zwischen fertilen und infertilen Männern zu unterscheiden. Da die Integrität der DNA in Spermien zudem mit DNA-Fragmentation und Apoptose verbunden ist, sollte zudem geklärt werden, ob die Amplifikation des Apoptosemarkers Bcl-2 eine alternative Nachweismethode zu dem kostenintensiven „sperm chromatin structure assay“ (SCSA) bzw. der unsicheren Methode des „terminal transferase-mediated nick-end labeling“ (TUNEL) darstellt.

Methoden: Real-time quantitative RT-PCR für Protamin-1, Protamin-2 und Bcl-2 in testikulären Biopsien (74 infertile Männer vs. 17 Kontrollen) und Ejakulaten (95 infertile Männer vs. 10 Kontrollen).

Ergebnisse: Das Verhältnis von Protamin-1 zu Protamin-2 war zwischen

den verschiedenen Gruppen signifikant unterschiedlich. In testikulären Spermatischen war es 1:4 bei infertilen Männern vs. 1:3,2 bei den Kontrollen ($p = 0,0038$). In ejakulierten Spermatozoen war es 1:1,7 bei infertilen Männern vs. 1:1 bei den Kontrollen ($p = 0,0002$). Hohe Protaminverhältnisse korrelierten mit hohen Bcl-2-Werten, sowohl in testikulären Spermatischen ($p = 4,9 \times 10^{-7}$) als auch in ejakulierten Spermatozoen ($p = 0,0073$). Im Vergleich zu den Kontrollen enthielten testikuläre Spermatischen ca. 250x mehr ($p = 0,0004$) und ejakulierte Spermatozoen ca. 70x mehr ($p = 7,8 \times 10^{-6}$) Bcl-2. Weder das Protamin-mRNA-Verhältnis noch die Menge an Bcl-2 mRNA korrelierten mit der absoluten Spermien-dichte.

Schlußfolgerung: Sowohl in testikulären Spermatischen als auch in ejakulierten Spermatozoen konnten signifikant unterschiedliche Protaminverhältnisse und signifikant höhere Bcl-2-Mengen nachgewiesen werden. Beide Faktoren eignen sich somit als Prognosemarker zur Identifizierung infertiler Männer.

VERZEICHNIS DER ERSTAUTOREN IN ALPHABETISCHER REIHENFOLGE

Albrecht K	275	Griesinger G	262	Neulen J	255
Allam J	275, 276	Grunewald S	278, 279	Nitzschke M	265
Bals-Pratsch M	253, 258	Haag S	279	Paradowska A	283
Bartoov B	284	Hansmann D	259	Popovici R	265
Baston-Büst D	270	Hecht N	280	Rösing B	266
Baukloh V	270	Hehr A	260	Salmassi A	256
Beiglböck-Karau L	276	Herr C	285	Schmutzler A	266
Buchholz T	259	Hess A	255	Schultze-Mosgau A	267
Cooper T	277	Hipler U	280	Schwenn K	256
Dittrich R	271	Jelinkova L	273	Schüring A	267
Eichenlaub-Ritter U	271	Jung A	281	Seufert R	257
Eigelshoven S	277	Keck G	281	Steger K	286
Falcao C	277	Kemper S	262	Thorn P	268
Fijak M	254	Kissel C	253	von Otte S	268
Frambach T	261	Kling C	263(2)	von Wolff M	269
Gerber P	278	Kolodziej F	284	Wischmann T	251
Germeyer A	254	Ledig S	274	Wistuba J	260, 261
Gneist N	272	Ludwig R	283	Wollenschein M	252
Götte M	251	Luetjens C	282	Zervomanolakis I	258
		Montag M	264(2), 274		

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](#)