

Journal für

# Reproduktionsmedizin und Endokrinologie

– Journal of Reproductive Medicine and Endocrinology –

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



**Gem. Jahrestagung d. Österreichischen Gesellschaft für  
Reproduktionsmedizin und Endokrinologie, d.  
Österreichischen IVF-Gesellschaft u. d. Österreichischen  
Gesellschaft für Sterilität, Fertilität und  
Endokrinologie Salzburg, 2.–4.10.2014 (Abstracts)**

*J. Reproduktionsmed. Endokrinol 2014; 11 (4), 211-218*

[www.kup.at/repromedizin](http://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

**Gemeinsame Jahrestagung**  
der  
**Österreichischen Gesellschaft für Reproduktionsmedizin und  
Endokrinologie,**  
der  
**Österreichischen IVF-Gesellschaft**  
und der  
**Österreichischen Gesellschaft für Sterilität, Fertilität und  
Endokrinologie**  
Salzburg, 2.–4. Oktober 2014  
Paracelsus Medizinische Privatuniversität

**Abstracts\***  
(Reihenfolge nach präsentierenden Autoren)

**Follicular growth after xenotransplantation of cryopreserved/thawed human ovarian tissue in SCID mice**

*S. Ayuandari<sup>1,2</sup>, K. Winkler-Crepaz<sup>1</sup>, S. Hofer<sup>1</sup>, M. Paulitsch<sup>1</sup>, C. Wagner<sup>1</sup>, L. Horling<sup>1</sup>, L. Wildt<sup>1</sup>, S. C. Ziehr<sup>1,3</sup>*

<sup>1</sup>Department of Gynecological Endocrinology and Reproductive Medicine, Innsbruck Medical University, Austria; <sup>2</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, Gadjah Mada University, Indonesia; <sup>3</sup>A.R.T. Bogenhausen, Munich, Germany

**Background** The outcome of cryopreservation and thawing procedures applied to preserve human ovarian tissue prior to gonadotoxic treatments still needs to be assessed before retransplantation. Xenotransplantation is the best experimental approach for quality assessment prior to autotransplantation. However, the optimal observation period of xenotransplantation to observe follicular growth and the molecular mechanism of follicular growth initiation in xenotransplantation procedure is still unclear. Therefore, the aim of this study is to evaluate follicle development after cryopreserved/thawed human ovarian tissue xenotransplantation in SCID mice.

**Methods** Cryopreserved/thawed human ovarian tissue obtained from cancer patients (n = 10) was thawed by using a rapid thawing protocol with 30 seconds of warming at room temperature, followed by 2 minutes at 37 °C in a waterbath, and 3 washing steps in a sucrose gradient. Thawed tissue was cut into 3-mm pieces and transplanted into 6-week-old SCID mice (n = 46) divided into 4 groups

of observation periods: 4, 8, 12, and 16 weeks. Two 3-mm pieces of human ovarian tissue were transplanted into a subcutaneous neck pouch of each recipient mouse. By the end of the observation period, the morphological features of the grafts were evaluated.

**Result** From a total of 47 mice, 46 (97.8 %) survived the operation and entire observation period. So far, all grafts have been recovered and were macroscopically comparable to pregraft-controls with visible vascularization. Seven mice are still under observation. The graft recovery rate so far was 97.4 %, as 74 grafts out of 76 were found. After 4 weeks of xenografting, the percentage of primordial follicles was significantly reduced to 42.1 % (n = 23) compared to pregraft-controls (88.5 %, n = 16). A significantly reduced percentage of primordial follicles was also observed after 8, 12, and 16 weeks of grafting (24.1 %, 21.4 %, 6.7 % respectively, n = 10 per group). In contrast, the percentage of growing follicles significantly increased after 4, 8, 12, and 16 weeks of grafting (30.8 %, 50.0 %, 57.1 %, and 70.0 %) compared to only 1.6 % in pregraft-controls. Antrum formation was already observed within 12 and 16 weeks.

**Conclusion** The optimal observation period in cryopreserved/thawed human ovarian tissue xenotransplantation is 12–16 weeks as antrum formation has been observed in these periods. Therefore based on the results of this study, future xenotransplantation experiments might be conducted more efficiently. Comparable to other authors, rapid increase of growing follicles along with fast decrease of primordial follicles was also observed in this study. Therefore, these findings lead to further investigation of molecular mechanisms in follicular growth initiation after human ovarian tissue xenotransplantation.

**Psychische Belastungsaspekte bei Kinderwunsch und deren Bewältigung aus Sicht der Paare**

*K. Brandt  
IVF-Zentren Prof. Zech, Bregenz*

In der Wissenschaft bestehen kontroverse Erkenntnisse zu der Fragestellung, ob und inwieweit das Entstehen einer Schwangerschaft nicht nur durch biologisch-medizinische Aspekte bestimmt wird, sondern auch durch psychische. Im IVF-Zentrum Bregenz wurden daher 400 in Behandlung befindliche Frauen und Männer zu dieser Thematik befragt. Die Ergebnisse dieser Befragung werden präsentiert und mögliche Schlussfolgerungen daraus diskutiert.

Ergänzend wird berichtet, wie sich der Einsatz von Hypnosetechniken auf die Aspekte auswirkt, die von den behandelten Frauen als belastend geschildert werden und Thema der psychologischen Konsultationen sind. Von ärztlicher Seite können diese Belastungsaspekte als wertvolle Hinweise genutzt werden, um Paaren den Sinn einer psychologischen Begleitung der Kinderwunschbehandlung nahezubringen.

**Vitamin D bei Kinderwunsch und in der Schwangerschaft**

*M. Brunbauer, M. Swoboda, L. Loimer  
Kinderwunschambulanz Dr. Loimer, Wien*

In den vergangenen Jahren gab es zusehends mehr Studien zum Thema Vitamin D in der Phase des Kinderwunsches und der Schwangerschaft. Die biomedizinische Literatur belegt einen häufigen Mangel an Vitamin D in der Bevölkerung. Es gibt Hinweise, dass ein niedriger Vitamin-D-Spiegel mit einer redu-

\* Ein alphabetisches Verzeichnis der präsentierenden Autoren finden Sie auf Seite 218.



zierten Fruchtbarkeit, dem Vorhandensein von Endometriose und dem PCO-Syndrom verbunden ist.

Beobachtungsstudien finden auch eine höhere Inzidenz von Präeklampsie, Frühgeburt, bakterieller Vaginose und Gestationsdiabetes bei Frauen mit niedrigem Vitamin-D-Spiegel.

Gleichzeitig warnt der Beipackzettel eines häufig verwendeten Vitamin-D-Präparates, dass bei Schwangeren nicht mehr als 400 IE/d eingenommen werden sollen. Leider reicht diese Dosierung bei den meisten Patienten nicht aus, um den Spiegel auf den unteren Normwert zu heben. Wie passen diese Erkenntnisse zusammen?

Der Vortrag gibt einen Überblick über das derzeit gesicherte Wissen über Vitamin D in der Zeit um den Kinderwunsch und die Schwangerschaft. Praktische Therapieempfehlungen werden genauso besprochen wie die Frage: „Kann ich über das Ziel hinausschießen; ist eine Überdosierung möglich?“

### Medikamentöses Management bei gestörter Frühschwangerschaft: Analyse der Erfolgsrate eines neuen Protokolls an der Frauenklinik Innsbruck

V. Colleselli, C. Brunner, T. Bartosik, A. Ciresa-König, L. Wildt, B. Seeber

Department Frauenheilkunde, Univ.-Klinik für gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin, Medizinische Universität Innsbruck

**Einleitung** Die medikamentöse Therapie bei gestörter Frühschwangerschaft stellt für viele betroffene Frauen eine attraktive, nichtinvasive Behandlungsmöglichkeit dar. Sowohl in der Praxis als auch in der Literatur kommen zahlreiche verschiedene Protokolle zum Einsatz und es werden stark variable Erfolgsraten beobachtet. Auch in Österreich gibt es keine einheitlichen Leitlinien. An der Universitätsklinik Innsbruck wurde im März 2012 ein neues Protokoll zur medikamentösen Therapie bei gestörter Frühschwangerschaft (Missed Abortion/Windei) etabliert. Hierbei erhalten die Patientinnen nach eingehender Aufklärung über die verschiedenen Behandlungsoptionen (chirurgisch, medikamentös oder abwartend) ambulant 200 mg Mifepriston (Mifegyne®) und werden anschließend 36–48 Stunden später tagesklinisch zur vaginalen Verabreichung von 800 mcg Misoprostol (Cyprostol®) aufgenommen. Begleitend erhalten alle Patientinnen eine prophylaktische antiemetische und analgetische Therapie.

**Ziel** Die vorliegende Studie dient der Überprüfung dieses Protokolls und dessen Erfolgsrate anhand retrospektiver Analyse der Patientinnen, die im Zeitraum von 1. März 2013 bis 28. Februar 2014 anhand des oben genannten Schemas behandelt wurden.

**Methoden** Patientinnen wurden anhand der ICD-10-Codes O02.0 und O02.1 ermittelt. Mehrlingsschwangerschaften wurden von der Auswertung ausgeschlossen. Die Behandlung wurde als erfolgreich gewertet, wenn die Patientin im Anschluss an die me-

dikamentöse Therapie keine chirurgische Behandlung benötigte. Ein Vergleich wurde mit Daten aus unserer vorhergehenden Studie mit dem vormals angewendeten Medikamentschema (2006–2012) mit einer Erfolgsrate von 60 % durchgeführt.

**Resultate** Insgesamt wurden bisher 74 Patientinnen in die Auswertung eingeschlossen. Im Gesamtkollektiv beobachteten wir eine Erfolgsrate von 85 %. Unterteilt nach Diagnose (Missed Abortion vs. Windei) zeigte sich kein signifikanter Unterschied (82,5 % vs. 92,3 % erfolgreich;  $p = 0,378$ ).

**Schlussfolgerung** Durch die Anpassung des medikamentösen Schemas konnte eine Steigerung der Erfolgsrate von 62 % auf 85 % erreicht werden. Diese Verbesserung kann sowohl auf das optimierte Medikationsprotokoll als auch auf die Etablierung eines standardisierten Behandlungsablaufs zurückgeführt werden. Mit 85 % erreicht die Erfolgsrate einen Wert vergleichbar zu publizierten Daten in der Literatur und ist akzeptabel im Vergleich zu ca. 99 % Erfolg bei chirurgischer Therapie. Daher sind wir zuversichtlich, dass dieses Behandlungskonzept in Zukunft österreichweit akzeptiert und implementiert werden wird.

### Neutrophin BDNF and NGF and their receptors in deep infiltrating endometriosis and the implication of innervation: an immunohistochemical study

A. Dewanto<sup>1,2</sup>, R. Glückert<sup>3</sup>, J. Dudas<sup>3</sup>, E. Müller-Holzner<sup>4</sup>, S. Mechsner<sup>5</sup>, A. Schrott-Fischer<sup>2</sup>, B. Seeber<sup>1</sup>, L. Wildt<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Gynecological Endocrinology and Reproductive Medicine, Innsbruck Medical University, Austria; <sup>2</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, Gadjah Mada University, Indonesia; <sup>3</sup>Department of Otolaryngology and <sup>4</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, Innsbruck Medical University, Austria; <sup>5</sup>Department of Gynecology, Charite, Berlin, Germany

**Background** The role of the neurotrophins NGF (neurotrophic growth factor) and BDNF (brain-derived neurotrophic factor) in neural growth and development is already known. Recently, their role in cancer cell growth and infiltration has been studied. BDNF seems to be important in the infiltration process in malignant cells such as gastrointestinal cancer. Meanwhile, the presence of the neutrophin receptors trkA (tropomyosin related kinase A), trkB, and p75 is important to determine the fate of tumour cells. In endometriosis, this complex system has not fully elucidated yet. Therefore, the aim of the study was to study innervation of endometriosis lesions through the expression of BDNF and NGF and receptor trkA, trkB, and p75 in deep infiltrating endometriosis (DIE) in comparison to peritoneal endometriosis (PE).

**Methods** PE lesions (n = 15) and DIE lesions (n = 15) were immunostained and analysed with anti-BDNF, anti-NGF, anti-trkA, anti-trkB, anti p75, anti-protein gene product 9.5 (PGP9.5) specific markers for intact nerve fibres, and anti-tyrosine hydroxy-

lase (TH) specific markers for sympathetic nerve fibres.

**Result** The percentage of BDNF-positive immunostaining cells was greater than 75 % in both groups. Both gland and stroma cells of DIE lesions had a lower percentage of NGF-positive immunostaining cells compared to those in PE lesions ( $p < 0,041$  and  $p < 0,015$ , respectively). There was no significant reduction in the trkA-positive immunostaining cells, which are the main NGF receptor, results in DIE lesions. Although BDNF-positive immunostaining cells were equally high in both groups, the major BDNF receptor, trkB, in stroma only showed lower percentage of immunostaining cells in PE compared to in DIE ( $p < 0,013$ ). The percentage of p75-positive staining cells in DIE tissues tended to be higher than in PE tissue, though not statistically significant. The mean nerve density per mm<sup>2</sup> of TH-positive immunostaining nerve fibres was 5-fold greater in DIE than in PE ( $2007.17 \pm 879.58$ ;  $387.83 \pm 86.89$ ). There was a 2-fold greater number of PGP9.5 positively immunostaining nerve fibres in DIE compared to PE ( $7094 \pm 3025$ ;  $3834 \pm 851$ ).

**Conclusion** Our results show that BDNF-trkB signalling is higher in DIE lesions compared to PE lesions because of the observed corresponding low abundance of trkB in PE. This may imply that BDNF-trkB signalling is important for the infiltrating process of endometriosis cells. On the other hand, NGF-trkA signalling, which was lower in DIE compared to PE, does not play a similar role. Based on the higher percentage of p75 positively staining cells in DIE, this receptor is likely not a marker of apoptosis, as has been shown in certain cancers, but instead may be a marker of cell growth.

### Der G-Protein-gekoppelte Rezeptor (PGR) 55 und seine Funktion in der humanen Plazenta

J. Kremshofer, V. M. Berghold, G. Moser, M. Siwet, A. Blaschitz, M. Sundl, B. Huppertz, M. Gauster  
Institut für Zellbiologie, Histologie, Embryologie, Medizinische Universität Graz

**Einleitung** Plazentazotten werden im intervillösen Raum vom mütterlichen Blut umspült und sind daher für den Gas- und Nährstoffaustausch zwischen Mutter und Kind essenziell. Aus diesem Grund ist eine intakte Ausbildung der fetalen Blutgefäße innerhalb der Zotten von immenser Bedeutung. Der G-Protein-gekoppelte Rezeptor 55 spielt zusammen mit seinem Liganden Lysophosphatidylinositol (LPI) eine Rolle in der Angiogenese, seine Aufgaben in der Plazenta sind aber weitgehend unerforscht. Des Weiteren zeigen Studien, dass die GPR55-Expression im Fettgewebe adipöser Frauen erhöht ist. Ob zwischen dieser erhöhten Expression und der Entwicklung von Fetten adipöser Mütter ein Zusammenhang besteht, ist noch ungeklärt.

**Methoden** Um die physiologische Rolle des GPR55 in der humanen Plazenta aufzuklären, wurde dessen Expression mittels qPCR in Plazentagewebe aus dem ersten Schwan-

gerschaftsdrittel und *post partum* bestimmt und der Rezeptor mittels Immunhistochemie (IHC) lokalisiert. Dieselben Methoden wurden verwendet, um ein geeignetes Zellmodell zu finden. Mit primären Endothelzellen aus der humanen Plazenta („placental arterial endothelial cells“ [PAECs]) wurden dann erste Versuche zum Einfluss von LPI auf Zytotoxizität (LDH-Assay) und Migration (Wound-healing Assay) durchgeführt. Weiters wurden die Zellen mit TNF- $\alpha$  und IL-6 inkubiert, zwei bei Adipositas verstärkt ausgeschüttete Zytokine.

**Resultate** Die IHC der Plazentaprobe zeigte eine Expression des Rezeptors am fetalen Endothel kleinerer Blutgefäße, besonders bei Blutgefäßen direkt unter dem Trophoblast. Größere Blutgefäße zeigten unterschiedlich starke Rezeptorexpressionen, wobei Arterien im Vergleich zu Venen eine höhere GPR55-Expression aufwiesen. Nachdem Expressionsexperimente eine nennenswerte Menge an GPR55 in PAECs zeigten, wurden weitere Zellkulturexperimente mit diesen primären Zellen durchgeführt. Der LDH-Assay zeigte eine Abnahme der Zellviabilität mit steigender LPI-Konzentration. Bei einer Konzentration von bis zu 5  $\mu$ M LPI wiesen PAECs eine gehemmte Migration auf. Die Behandlung dieser Zellen mit TNF- $\alpha$  und IL-6 zeigte eine erhöhte Rezeptorexpression im Vergleich zu unbehandelten Zellen.

**Schlussfolgerung** GPR55 wird in der humanen Plazenta bereits ab dem ersten Schwangerschaftsdrittel exprimiert und zeigt eine besonders starke Ausbildung am Endothel kleinerer Blutgefäße. Eine Stimulierung durch LPI, dem natürlich vorkommenden GPR55-Liganden, beeinflusst Apoptose und Migration von Endothelzellen. Der Anstieg der Rezeptorexpression als Reaktion auf TNF- $\alpha$  und IL-6 gibt einen Hinweis darauf, dass GPR55 bei der Entstehung und dem Verlauf von Adipositas und damit verbundenen Erkrankungen eine Rolle spielen könnte.

### Ist es Zeit, die Dogmen des Follikelmonitorings und des optimalen Zeitpunkts des hCG-Triggers zu überdenken?

M. Murtinger, J. Okhowat, V. Eichel, S. Baldauf, H. Zech, B. Wirleitner, M. Schuff, N. H. Zech  
IVF-Zentren Prof. Zech, Bregenz

**Einleitung** Die hormonelle Stimulation der Ovarien, das Follikelwachstum und der optimale Zeitpunkt zur Setzung des hCG-Triggers sind die Grundlage einer erfolgreichen Behandlung in der IVF. Bislang basierte die Gabe des hCG primär auf dem Wachstum des Leitfollikels bzw. der 3 größten Follikel. Mit Optimierung der Ultraschalltechnologie und der Verbesserung der Auswertbarkeit der Daten kann nun das Wachstum des gesamten Follikelpools besser überwacht und ausgewertet werden. Damit ergeben sich neue Möglichkeiten für die Bestimmung des optimalen Auslösezeitpunkts.

**Methoden** In unserer Studie wurden 1217 Stimulationen ausgewertet. Die hormonelle

Stimulation wurde nach dem langen GnRH-Agonisten-Protokoll (Long-Protocol) durchgeführt. Das Stimulationsmonitoring erfolgte ab dem 6. Stimulationstag alle 2 Tage mittels transvaginaler 3-dimensionaler Ultrasonographie (Voluson E8, GE Medical Systems, Kretztechnik, Zipf, Austria) bis zum Tag der hCG-Applikation. Als neue Strategie wurde das Kriterium zur Bestimmung des Auslösezeitpunkts zur hCG-Gabe nicht nach den 3 größten Follikeln, sondern aufgrund des Wachstums der Follikelkohorte entschieden. Die OPU erfolgte etwa 35 h nach der hCG-Gabe. Retrospektiv wurden das Profil des Follikelpools hinsichtlich Größe und Volumen sowie die Anzahl und Qualität der gewonnenen Eizellen und das Outcome ausgewertet.

**Resultate** Insgesamt wurden aus den 1217 Stimulationen und OPU nach dem Long-Protocol 25.957 Follikel zwischen 2 und 30 mm ausgewertet. Aus den durchschnittlich 21,3 Follikeln, die pro Patient gemessen wurden, konnten im Mittelwert 10,8 Kumulus-Oozyten-Komplexe (COCs) und 8,8 MII-Eizellen gewonnen werden. Eine Verteilung der gewonnenen Eizellen auf die unterschiedlichen Follikelgrößenkohorten wird präsentiert.

**Schlussfolgerung** Die heute allgemeingültigen Dogmen zur Follikelzahl und Follikelgröße zum Zeitpunkt des hCG-Triggers basieren auf Studien, die auf konventionellem, 2-dimensionalem Ultraschall beruhen. Bei diesem jedoch ist eine exakte ultrasonographische Erfassung des Follikels jedoch nicht möglich. Dank innovativer Neuerungen im Bereich der Ultraschalldiagnostik wie dem auf der 3-dimensionalen Ultrasonographie basierenden Sono-AVC lassen sich Follikelgröße und -volumina – auch in einer großen Kohorte – exakter erfassen. Mittels dieser Technik lassen sich daher auch kleinere Follikel genauestens vermessen. Die Quantität und Qualität der beim OPU gewonnenen Oozyten hängt nicht nur entscheidend vom richtigen Stimulationsprotokoll, sondern auch von der adäquaten Stimulationsüberwachung und dem damit verbundenen korrekten Zeitpunkt der Auslösung ab. Anhand der hier präsentierten Daten vertreten wir den Standpunkt, dass die Festlegung des Auslösezeitpunktes anhand des Leitfollikels (16–18 mm) bzw. anhand der 3 größten Follikel (18–20 mm) als Goldstandard kritisch hinterfragt und revidiert werden sollte.

### Vergleich der Methoden zur Samenaufbereitung für IVF und ICSI im Hinblick auf die DNA-Integrität der therapeutisch verwendeten Samenzellen

S. Ehmman, M. Schenk  
Das Kinderwunsch Institut Schenk GmbH, Dobl, Austria

**Introduction** In recent years it has been demonstrated repeatedly that DNA fragmentation has an impact on fertilisation rate and is associated with a higher abortion rate.

Furthermore, the techniques of assisted reproduction are increasingly gaining importance.

From today's perspective, it is thought that the different methods for semen preparation have different effects on the reduction of DNA strand breaks.

**Methods** Aim of this work was to compare 3 different methods of preparation in terms of reduction of DNA-fragmentations. Twenty participants took part in the study and 3 methods were used; swim-up, density-gradient centrifugation, Zech-selector. The different results from the methods were compared to the native semen based on the reduction of DNA strand breaks. To identify DNA strand breaks, the method used in this study was the SCD (Sperm Chromatin Dispersion) test as this test is commonly used in IVF laboratories. A significant result of reduction of strand breaks with the techniques was established with swim-up ( $p = 0.002$ ) and Zech-selector ( $p = 0.009$ ).

**Results** When comparing the methods swim-up and Zech-selector, no significant difference was recorded. At the same time a reduction of fragmented sperm DNA by using the density-gradient centrifugation was not possible. Finally, there are numerous methods for detection of DNA strand breaks, but not all are suitable for routine use.

### Biomarkers of oxidative stress as a valuable means to support the selection process of viable human embryos for transfer

L. Hofmann<sup>1</sup>, E. M. Thon-Gutschia<sup>2</sup>, S. Vujisic<sup>2</sup>, M. Schenk<sup>3</sup>, D. Kastelic<sup>3</sup>, E. Zinser<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>FH JOANNEUM, Biomedizinische Analytik, Graz, Austria; <sup>2</sup>BetaPlus Center for Reproductive Medicine, Zagreb, Croatia; <sup>3</sup>Das Kinderwunsch Institut Schenk GmbH, Dobl, Austria

**Introduction** Infertility is an increasing problem in our society. To overcome infertility problems, affected couples are searching for help that can be provided by means of assisted reproductive techniques (ART). In the case of in vitro fertilization (IVF), the success for achieving pregnancy is around 25–30%. Not all pregnancies, however, result in the birth of a healthy baby. About 20% of initial pregnancies result in abortion and around 5% are extrauterine pregnancies. Those indicate the importance of embryo selection for viability before implantation. There is increasing evidence that embryo selection based on the evaluation of the stage-specific morphology is not satisfactory to predict its developmental potential. Therefore, identification of relevant molecular viability markers feasible to predict highest probability of establishing a healthy pregnancy and live birth is crucial. The combination of morphology with relevant biochemical markers could improve embryo selection, reduce the number of multiple pregnancies, and increase the overall IVF success rate. Many factors influencing human fertility are attributed to oxidative stress. Oxidative stress (OS) plays an important role in



human reproduction. Moderate concentrations of reactive oxygen species (ROS) are required for numerous physiological processes. Higher concentrations of ROS, however, are detrimental. Consequently, it is important to determine the level of OS during IVF. The definition of thresholds between physiological and pathological concentrations of oxidative stress is of particular importance. Therefore, reliable methods for measurement of OS damage should be established.

**Methods** Concentration of carbonyl proteins was determined using an optimized enzyme linked immune assay (ELISA) method previously described by Buss and Alamdari with slight modification.

**Results** Will be presented.

**Association of serum vitamin D levels with hypogonadism in men**

E. Lerchbaum<sup>1,2</sup>, S. Pilz<sup>1,3</sup>, C. Trummer<sup>1</sup>, T. Rabe<sup>2</sup>, M. Schenk<sup>4</sup>, A. C. Hejboer<sup>5</sup>, B. Obermayer-Pietsch<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Division of Endocrinology and Metabolism, Department of Internal Medicine, Medical University of Graz, Austria; <sup>2</sup>University Women's Hospital, Heidelberg, Germany; <sup>3</sup>Department of Epidemiology and Biostatistics and EMGO Institute for Health and Care Research, VU University Medical Center, Amsterdam, The Netherlands; <sup>4</sup>Das Kinderwunsch Institut Schenk GmbH, Dobl, Austria; <sup>5</sup>Department of Clinical Chemistry, VU University Medical Center, Amsterdam, The Netherlands

**Objective** There is inconsistent evidence on a possible association of vitamin D and androgen levels in men. We therefore aim to investigate the association of 25-hydroxyvitamin D (25[OH]D) with androgen levels in a cohort of middle-aged men.

**Design** Cross-sectional study.

**Patients** 225 men aged 35 (30–41) years.

**Measurements** We measured 25(OH)D, total testosterone (TT), free testosterone (FT), and SHBG concentrations.

**Results** We found no significant correlation of 25(OH)D and androgen levels. Further, androgen levels were not significantly different across 25(OH)D quintiles. The overall prevalence of hypogonadism was 21.5 % and lowest in men within 25(OH)D quintile 4 (82–102 nmol/l). We found a significantly increased risk of hypogonadism in men within the highest 25(OH)D quintile (> 102 nmol/l) compared to men in quintile 4 (reference) in crude (OR 5.10, 1.51–17.24; p = 0.009) as well as in multivariate adjusted analysis (OR 9.21, 2.27–37.35; p = 0.002). We found a trend towards increased risk of hypogona-

dism in men within the lowest 25(OH)D quintile (≤ 43.9 nmol/l).

**Conclusions** Men with very high 25(OH)D levels (> 102 nmol/l) are at an increased risk of hypogonadism. Further, we observed a trend towards increased risk of hypogonadism in men with very low vitamin D levels indicating a U-shaped association of vitamin D levels and hypogonadism. With respect to risk of male hypogonadism, our results suggest optimal serum 25(OH)D concentrations of 82–102 nmol/l.

**Hat das AB0-Blutgruppensystem einen Einfluss auf die ovarielle Reserve und das Outcome einer ART-Behandlung?**

D. Spitzer, L. Wohlfart, J. Stadler, C. Corn, B. Wirleitner, M. Schuff, N. H. Zech  
 IVF-Zentren Prof. Zech, Salzburg/Bregenz

**Einleitung** Einige an IVF-Patientinnen durchgeführte Studien postulieren einen Zusammenhang zwischen der Blutgruppenzugehörigkeit einerseits und dem Risiko für ein ovarielles Hyperstimulationssyndrom (OHSS) sowie auch einer verminderten ovariellen Reserve (OR) andererseits. Wir versuchen zu klären, ob tatsächlich ein Zusammenhang zwischen der Blutgruppenzugehörigkeit (AB0-System) und der OR bzw. dem Schwangerschafts-Outcome besteht.

**Methoden** In einer retrospektiven Studie der IVF-Zentren Prof. Zech Salzburg wurden 1889 IVF-Zyklen zwischen 2005 und 2012 in Hinsicht auf die Blutgruppenzugehörigkeit der Frau anhand zweier Altersgruppen (I: 21–36 Jahre und II: 37–43 Jahre) untersucht und ausgewertet. Es wurden die Art der kontrollierten ovariellen Stimulation (überwiegend langes GnRH-Agonisten-Protokoll), die Anzahl der Kumulus-Oozyten-Komplexe (KOK), der Metaphase-II- (MII-) Oozyten, die Fertilisierungsrate (FR), die Schwangerschaftsrate (SSR), die Ongoing-pregnancy-Rate (OPR) und die Lebendgeburtenrate (LGR) evaluiert.

**Ergebnisse** Innerhalb beider Altersgruppen I (658 Frauen) und II (544 Frauen) bestanden keine statistisch signifikanten Unterschiede hinsichtlich BMI, Rhesus-Faktor, den verwendeten Stimulationsprotokollen oder der angewendeten Fertilisierungstechnik. Auch bezüglich der Zahl der gewonnenen KOK und in der Folge der MII-Oozyten und der FR ergaben sich zwischen den verschiedenen Blutgruppen-Typen in beiden Alterskollektiven keine Unterschiede. **Tabelle 1**

ist das SS-Outcome der verschiedenen Blutgruppen-Typen in den beiden Altersgruppen zu entnehmen.

**Diskussion** Da sich in den erhobenen Parametern (KOK, MII-Oozyten) das Fertilitätspotenzial am besten widerspiegelt und hier in den beiden Altersgruppen kein Unterschied bestand, konnten wir die Annahme, dass Frauen mit Blutgruppe 0 eine niedrigere OR hätten, widerlegen. Es muss allerdings berücksichtigt werden, dass sich diese Untersuchung ausschließlich auf IVF-Patientinnen kaukasischen Typs bezieht.

**Schwangerschaft durch Lutealphasenstimulation bei Poor-Responder-Patientinnen**

A. Stadler, G. Kommetter, S. Bulfon-Vogl  
 STERIGNOST Institut für Kinderwunschbehandlung GmbH, Klagenfurt

**Einleitung** Poor-Responder-Patientinnen stellen speziell bei erhöhtem FSH-Wert eine große Herausforderung in der täglichen IVF-Praxis dar. Wir haben vor einigen Monaten begonnen, solche Fälle mit einer Lutealphasenstimulation zu behandeln. Diese Art der Stimulation eröffnet eine neue Sichtweise auf die ART-Behandlungen.

**Methoden** Die Lutealphasenstimulation wird speziell bei Krebspatientinnen angewendet, um schnellstmöglich Eizellen zu erhalten, ohne das Intervall zur geplanten antitumoralen Therapie zu verlängern. Vor einigen Monaten ist eine chinesische Arbeit zur Lutealphasenstimulation bei jungen Frauen mit sehr guten Ergebnissen erschienen. Wir haben nun in unserem Institut die Stimulationstherapie den Angaben dieser Arbeit [1] angepasst. Die Behandlung wird nur begonnen, sofern nach nachgewiesener Ovulation antrale Follikel < 8 mm vorhanden sind. Die Stimulation erfolgt mit einer HMG-Dosis von 225 IU unter konkomitanter Gabe von Letrozol für mindestens 5 Tage bis zu einer Follikelgröße von 13 mm. Die Ovulationsinduktion erfolgt bei mehreren Follikeln mit 18 mm oder 1 Follikel mit 20 mm Durchmesser. Aufgrund der fehlenden Schleimhautsynchronisation müssen die Embryonen kryokonserviert werden. Mit dieser Art der Stimulation ist eine Antagonistengabe hinfällig, da es in der Lutealphase keinen vorzeitigen LH-Anstieg gibt.

**Resultate** Wir haben bisher bei 5 Paaren den Rücktransfer durchgeführt, von denen 2 Frauen schwanger sind – eine davon bereits in der 25. SSW. Die Ergebnisse der anderen 3 sind noch ausständig.

**Tabelle 1:** Spitzer D, et al. SS-Outcome der verschiedenen Blutgruppen-Typen in den beiden Altersgruppen.

AB0-Typ	0		A		B		AB	
	21–36	37–43	21–36	37–43	21–36	37–43	21–36	37–43
Zyklen (Anzahl)	370	363	421	413	54	38	123	107
Ø Alter (Jahre; ±)	31,9 (± 3,4)	39,7 (± 2,0)	32,6 (± 3,1)	39, (± 2,1)	31,3 (± 3,8)	39,7 (± 1,8)	32,1 (± 3,1)	39,3 (± 2,0)
SSR (%)	185 (50)	125 (34,4)	218 (51,8)	144 (34,9)	29 (53,7)	13 (34,2)	64 (52,0)	36 (33,6)
OPR (%)	153 (41,4)	95 (26,2)	179 (42,5)	108 (26,2)	23 (42,6)	11 (28,9)	55 (44,7)	27 (25,5)
LGR (%)	140 (37,8)	81 (22,3)	170 (40,4)	91 (22,0)	21 (38,9)	10 (26,3)	49 (39,8)	23 (21,5)

Unser Patientenkollektiv inkludiert bisher Frauen zwischen 38 und 42 Jahren mit anamnestic mehreren frustrierten IVF/ICSI-Vorbehandlungen. Es zeigte sich stets eine erstaunlich gute Eizellqualität.

**Schlussfolgerung** Die erzielten Schwangerschaften traten bei Paaren mit langer ART-Anamnese und schlechter Eizellqualität bzw. fehlendem Response ein. Durch Stimulationsbeginn in der Zyklusmitte ist der FSH-Basaltonus deutlich niedriger, was in unseren Augen zur besseren Eizellqualität führt. Womöglich liegt der Grund hierfür aber auch am Wegfall der vorzeitigen Luteinisierung, die in o. g. Arbeit erläutert wurde. Des Weiteren könnte auch die fehlende Notwendigkeit eines GnRH-Antagonisten die Eizellqualität verbessern. Da wir heute durch die Vitrifikation sehr gute Schwangerschaftsraten erzielen können, gewinnt diese Stimulationsart an Bedeutung. Durch Bestimmen des AFC (Follikel < 8 mm) nach Ovulation kann bereits der voraussichtliche Erfolg der Behandlung erkannt werden. Zusammenfassend scheinen Patientinnen > 40 Jahre nicht von dieser Behandlung zu profitieren.

#### Literatur:

1. Kuang Y, Hong Q, Chen Q, et al. Luteal-phase ovarian stimulation is feasible for producing competent oocytes in women undergoing in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection treatment, with optimal pregnancy outcomes in frozen-thawed embryo transfer cycles. *Fertil Steril* 2014; 101: 105–11.

### Spezifische Endometritis als Ursache des wiederholten Implantationsversagens

H. P. Steiner

Institut für In-vitro-Fertilisierung und Endokrinologie, Graz

Das wiederholte Implantationsversagen trotz schöner Embryonen ist eine große Herausforderung für die Reproduktionsmedizin. Einer Reihe von bekannten Ursachen (wie Uterusmissbildungen, Endometriumpolypen, Endometriose, das „dünne Endometrium“) sowie genetischen Ursachen stehen viele unbekannt immunologische Faktoren sowie der Versuch, das individuelle Implantationsfenster zu finden, gegenüber.

Ein Stiefkind der Abklärung ist der Anschluss einer spezifischen Endometritis. Die folgenden Kasuistiken sollen auf diese Notwendigkeit hinweisen.

**Kasuistik 1** 42-jährige chinesische Patientin. Partner: 67 Jahre, Österreicher.

Nach 4 erfolglosen IVF-Versuchen Vorstellung an meinem Institut.

Nach einem weiteren IVF-Zyklus und 2 IVF-Zyklen mit Transfers von optimalen Embryonen, jedoch mit suboptimalem Endometrium (fehlende Dreilagigkeit), Entschluss zur Hysteroskopie. In der Anamnese fanden sich Spottings im Vorzyklus unter einem oralen Kontrazeptivum.

Die Hysteroskopie ergab ein unauffälliges Uteruscavum. Histologie der Strichabasio: chronische Endometritis mit Endothelzellengranulomen und Erhöhung der Zahl an Plas-

mazellen. Die PCR auf spez. Entzündung blieb vorerst negativ, ebenso die Kultur.

Eine neuerliche Abrasio und Kulturentnahme an meinem Institut sowie eine neuerliche Hysteroskopie mit Abrasio im LKK Villach ergaben positive Kultur auf *Mycobacterium tuberculosis* bzw. positive PCR.

Nach 6-monatiger Tb-Therapie kam es 3 Monate nach Absetzen der Therapie bei einem weiteren IVF-Versuch zu einer „Missed Abortion“; nach dem insgesamt 9. IVF-Versuch zur intakten Schwangerschaft mit Geburt eines gesunden Mädchens.

**Kasuistik 2** 34-jährige österreichische Pflegehelferin. Vor 5 Jahren negativer Tuberkulin-Hauttest nach Mendel-Mantoux. Bei Erstuntersuchung: Sactosalpinx, Mucometra, massiver Ascites.

Salpingektomie. Pathol. Befund des purulenten Ascites: „Lymphstau“. PCR auf *Mycobacterium tuberculosis* neg. Quantiferon Tb-Goldtest positiv. 6-monatige Tb-Therapie. Dzt. nach 1. IVF-Versuch intakte Grav. MLV.

**Schlussfolgerung** 5 % der Ursachen weiblicher Fertilitätsstörungen weltweit sind spezifische Entzündungen. Trotz fehlendem Nachweis des *Mycobacterium tuberculosis* ist eine spezifische Therapie bei pos. Tb-Goldtest in Kombination mit z. B. einer Sactosalpinx, Ascites oder histologischem Abrasio-Befund einer spezifischen chronischen Entzündung indiziert.

### PGS (Preimplantational Genetic Screening) – eine Möglichkeit der „Chorionzottenbiopsie“ schon am Tag 5 statt in Woche 12?

M. Swoboda, M. Brunbauer, L. Loimer

Kinderwunschkliniken Dr. Loimer GmbH, Wien

Durch Entnahme von Zellen des Trophekterms am Tag 5 der Embryonalentwicklung (Trophekterdbiopsie) kann der Embryo hinsichtlich möglicher Aneuploidien untersucht werden. Besonders bei Frauen mit fortgeschrittenem mütterlichen Alter und in Kombination mit rezidivierenden Aborten oder wiederholtem Implantationsversagen scheint dieses Vorgehen die Chance auf eine Lebendgeburt deutlich zu erhöhen. Durch einen Single-Embryo-Transfer von euploiden Embryonen kann auch in diesem Kollektiv den Frauen eine hohe Chance auf einen gesunden Einling geboten werden. Außerdem können „Schwangerschaften auf Probe“ mit eventuellem Abbruch nach auffälligem Fröhscreening in der 12. SSW verhindert werden. Durch den Einsatz von immer schneller verfügbaren genetischen Analyseergebnissen könnte dabei sogar ein Transfer im gleichen Zyklus möglich sein. Der Vortrag soll die aktuelle Studienlage zu diesem Thema und die österreichische Gesetzeslage diskutieren.

### Prävalenz hysteroskopisch/biopsisch verifizierter intrauteriner Pathologien bei Patientinnen mit Kinderwunsch

M.-L. Trofajer, M. Feichtinger, W. Feichtinger, M. Stroh-Weigert

Wunschbaby Institut Feichtinger, Wien

**Einleitung** Nichtdiagnostizierte Pathologien des Uterus können zu Implantations- und Konzeptionsstörungen führen. Eine Indikation für eine Hysteroskopie (HSK) scheint erst nach wiederholt erfolglosen IVF-Versuchen bzw. bei sonographisch erfassten Auffälligkeiten gegeben zu sein.

Ziel dieser Studie war es, die Anzahl intrauteriner Pathologien, die zuvor nicht diagnostiziert werden konnten, Veränderungen der Endometriumdicke vor und nach HSK/Pipelle, Unterschiede bei der Anzahl der Pathologien im Alter sowie bei Patientinnen mit „repeated IVF failure“ und die Auswirkungen auf Schwangerschaftsraten im nachfolgendem IVF-Zyklus zu untersuchen.

**Methoden** In dieser monozentrischen retrospektiven Studie wurden 100 Patientinnen statistisch analysiert, die eine Hysteroskopie oder Endometriumbiopsie mittels Pipelle mit nachfolgender IVF-Behandlung zwischen September 2011 und Oktober 2013 im Wunschbaby Institut Feichtinger hatten.

**Resultate** Insgesamt hatten 23 % (23/100) eine auffällige 2D-Sonographie und 47 % (47/100) eine intrauterine Auffälligkeit in HSK/Pipelle. Hier stellten Polypen mit 53,2 % die häufigste Ursache einer Pathologie dar. Bei 39,0 % (39/77) der Patientinnen mit vorausgegangenem unauffälligem Ultraschall wurde dennoch eine Pathologie durch HSK/Pipelle diagnostiziert. Hier zeigten sich Entzündungen (56,7 %) als häufigste Ursache. Im Vergleich zu jüngeren Patientinnen (26,5 %) war die Anzahl intrauteriner Pathologien bei Patientinnen > 35 Jahre (50 %) signifikant erhöht ( $p = 0,019$ ). Die durchschnittliche klinische Schwangerschaftsrate betrug 31 %, bei Patientinnen > 35 Jahre 27,3 %.

**Schlussfolgerung** Mit 39 % finden sich bei unauffälliger 2D-Sonographie dennoch häufig intrauterine Auffälligkeiten, die einen Einfluss auf Schwangerschaftsraten haben können. Für Patientinnen > 35 Jahre wäre eine frühere Indikation zur HSK/Pipelle von Vorteil, da vor allem dieses Patientenkollektiv hinsichtlich der klinischen Schwangerschaftsrate von der Intervention zu profitieren scheint.

### Endometriuskarifikation und Implantation

P. Uher, H. Visnova, M. Pohanka

Karlsbad Fertility, Institut für Reproduktionsmedizin und Genetik, Karlovy Vary, und Institut für Sexualogie, Karls Universität Prag, Tschechische Republik

**Einleitung** Trotz stetiger Erfolge der Reproduktionsmedizin und allgemeiner Fortschritte bestehen nach wie vor ernste und bis jetzt noch nicht lösbare Probleme und manche Paare bleiben kinderlos. Eines dieser Probleme

me ist eine Störung der Implantation und daraus resultierendes wiederholtes Versagen der Einnistung – RIF. In den vergangenen Jahren wurde über bessere Schwangerschaftsraten bei diesen Patienten nach einer Hysteroskopie oder Curettage vor der eigentlichen Therapie berichtet. Es wurde vermutet, dass eine sanfte Verletzung des Endometriums eine Kaskade von Reaktionen auslöst, die eine Besserung der Implantation verursachen.

**Methoden** Für unsere Beobachtungsstudie haben wir ein Kollektiv von 68 RIF-Patientinnen mit mehreren möglichen, erfolglosen IVF-Zyklen mit eigenen Eizellen, aber mit mindestens einer vergeblichen Therapie mit gespendeten Eizellen gewählt.

Bei diesen Patientinnen wurde 10 bis 1 Tag vor dem Termin der Menstruation eine Hysteroskopie mit einem 5-mm-Equipment-Olympus CLL-V1 durchgeführt. Nach der optischen Kontrolle des Cavums wurde ein Scratching mit einer stumpfen 5-mm-Curette abgeschlossen.

Danach wurde die Menstruation abgewartet und ein Aufbau des Endometriums mit oder ohne Downregulation durchgeführt.

Parallel wurde die entsprechende Spenderin stimuliert und nach der Eizellgewinnung und IMSI-Befruchtung das Endometrium der Patientin weiter mit Progesteron vorbereitet. Es wurde obligatorisch ein Blastozysten transfer am 5. Tag durchgeführt.

Die Schwangerschaftsraten und die Höhe des Endometriums wurden ausgewertet.

**Resultate** Es wurde festgestellt, dass die Patientinnen im nächsten Zyklus nach der Hysteroskopie mit der Skarifikation ein um durchschnittlich 0,9 mm höheres Endometrium am 12. Tag des Aufbaus aufgewiesen haben.

Dabei war interessant, dass diese Zunahme der Endometriumhöhe bei Frauen mit vorher sehr niedrigem Endometrium (< 7 mm) deutlicher war als bei Frauen, die das Endometrium in den vorherigen Zyklen > 7 mm hatten.

Es wurde von diesen 68 Patientinnen bei 41 eine Schwangerschaft erzielt (d. h. PR 60,3 %) und das ist um 7,5 % höher als die Schwangerschaftsraten bei einem zweiten ED-Versuch in unserem Kollektiv von ED-Patienten.

**Schlussfolgerung** Es gibt selbstverständlich viel zu diskutieren. Wie aber unsere Ergebnisse in dem Eizellspende-Kollektiv und auch die zitierten Arbeiten bewiesen haben, ist heute anzunehmen, dass eine „endometrial injury“ in einem Zyklus vor einer geplanten Therapie eine Besserung der Schwangerschaftsraten bei RIF-Patienten bringen könnte. Damit wir diese vielversprechenden Ergebnisse noch mehr bestätigen können, starten wir in dieser Zeit mit einer multizentrischen, randomisierten kontrollierten Studie mit 200 Patientinnen in einem Eizellspendeprogramm.

## Does thyroid stimulating hormone (TSH) affect anti-müllerian hormone (AMH) and, therefore, follicular recruitment?

A. Weghofer<sup>1,2</sup>, D. H. Barad<sup>1,3</sup>, V. A. Kushnir<sup>1</sup>, N. Gleicher<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>The Center for Human Reproduction, New York, USA;

<sup>2</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, Medical University Vienna, Austria; <sup>3</sup>The Foundation for Reproductive Medicine, New York, USA

**Objective** Thyroid dysfunction is the most common autoimmune endocrine disorder in women of reproductive years, including infertile women. Hypothyroidism is believed to impair follicular development. Recent animal studies demonstrated an impact of thyroid function on follicular recruitment by demonstrating accelerated growth and reduced apoptosis of preantral follicles with thyroxin co-culture within physiological ranges. If thyroid function also influences follicular recruitment in humans, we, therefore, investigated whether TSH concentrations relate to AMH concentrations in euthyroid women of reproductive age.

**Materials and Methods** We investigated the association of AMH, TSH and Sex Hormone Binding Globuline (SHBG) in 210 infertile women (median age of 39.0 years) undergoing basic work-ups prior to fertility treatments between July 2009 and March 2014. All women included in the study had to demonstrate normal TSH levels (0.45–4.5 µIU/mL) and were stratified based on TSH cut  $\leq$  2.5 µIU/mL, a widely utilized cut-off level between normal and hypothyroid function for women trying to conceive or already pregnant. Associations between TSH and AMH were investigated by logistic regression and were corrected for age (to account for age-related decline of AMH) and for SHBG (to control for SHBG increases with increasing thyroxin levels). SHBG binds to testosterone and estradiol, which in turn may influence AMH levels.

**Results** Median TSH levels were 1.7 µIU/mL; median AMH levels 0.4 ng/mL. Women with TSH  $\leq$  2.5 µIU/mL presented with significantly higher AMH levels compared to their counterparts with TSH levels > 2.5 µIU/mL ( $p = 0.039$ ). Those findings remained significant when the analysis was adjusted for age ( $p = 0.022$ ) and for age and SHBG ( $p = 0.016$ ).

**Conclusions** TSH levels  $\leq$  2.5 µIU/mL in euthyroid infertility patients appear associated with significantly higher AMH levels than in women with TSH > 2.5 µIU/mL, suggesting a beneficial effect of lower TSH levels on follicular recruitment. It now remains to be determined whether thyroxin supplementation may enhance follicular recruitment in women with baseline TSH levels > 2.5 µIU/mL.

## Einfluss unterschiedlicher Sauerstoffkonzentrationen auf die Wechselwirkung zwischen der humanen Trophoblastenzelllinie ACH-3P und adulten Endothelzellen

G. Weiss, B. Huppertz, M. Siwetz, I. Lang, G. Moser  
Institut für Zellbiologie, Histologie und Embryologie,  
Medizinische Universität Graz

**Einleitung** Der Invasionsprozess von Trophoblastzellen im ersten Schwangerschaftsdrittel wird stark von einem Sauerstoffgradienten beeinflusst und ist deshalb ein entscheidender Schritt in der frühen Plazentaentwicklung. Bei der Etablierung des mütterlichen Blutflusses in Richtung des intervillösen Raumes spielen vor allem endovaskuläre Trophoblasten eine wichtige Rolle. Im Rahmen dieser Studie soll die Interaktion zwischen humanen adulten Endothelzellen und fetalen Trophoblasten unter verschiedenen Sauerstoffbedingungen untersucht werden. Der Fokus liegt dabei auf den parakrinen Faktoren der Trophoblasten sowie den Auswirkungen der direkten Ko-Kultivierung beider Zelltypen.

**Methoden** Für die Experimente wurden die Trophoblastenzelllinie ACH-3P und humane Endothelzellen der Arteria iliaca (HIAEC) verwendet. Konditioniertes Medium (Cdm) wurde durch Inkubation konfluenter ACH-3P-Zellen mit DMEM-Medium für 48 h unter 2,5 % und 20 % Sauerstoff (Cdm 2,5 %, Cdm 20 %) hergestellt. Der Einfluss von Cdm auf die Vitalität und die endotheliale Netzwerkformation wurde mittels LDH-Assay bzw. Matrigel-Assay eruiert. Nicht-konditioniertes Medium wurde als Referenzkontrolle verwendet. Im Weiteren wurden Ko-Kultur-Versuche der beiden Zelltypen durchgeführt, um den direkten Einfluss von ACH-3P-Zellen auf Endothelzellen zu ermitteln.

**Resultate** Die Kultivierung von HIAEC in der Gegenwart von Cdm 2,5 % und Cdm 20 % reduzierte die LDH-Aktivität in den Kulturüberständen signifikant auf 54,0 %  $\pm$  4,3 % bzw. 22,4 %  $\pm$  4,6 % der Kontrolle ( $n = 6$ ;  $p < 0,001$ ). Da LDH nur von beschädigten bzw. toten Zellen in den Zellkulturüberständen freigesetzt wird, wurde die endotheliale Zellvitalität deutlich gesteigert. Ergänzend stabilisierte Cdm die Anzahl von HIAEC-Netzwerken im Matrigel-Assay bis zu 48 h, während endotheliale Netzwerke im Kontrollmedium bereits nach 24 h abgebaut wurden. Auch im Ko-Kultur-Ansatz konnte eine Stabilisierung der endothelialen Netzwerkstrukturen durch ACH-3P-Zellen beobachtet werden.

**Schlussfolgerung** ACH-3P-Zellen sezernieren ein Zytokinmuster, das die Zellvitalität von Endothelzellen deutlich erhöht. Diese parakrinen Faktoren führen zu einer Stabilisierung endothelialer Netzwerkstrukturen. Das konnte auch durch eine direkte Ko-Kultivierung der beiden Zelltypen gezeigt werden. Diese Resultate unterstreichen, dass die ACH-3P-Zelllinie als geeignetes Zellmodell zur Untersuchung der frühen Plazentaentwicklung dient. Mit diesen Untersuchungen sollen weitere Aufschlüsse auf das Verhalten



embryonaler Zellen während der Schwangerschaft erhalten werden, um bei Pathologien mit entsprechendem Fehlverhalten der Zellen erste Hinweise auf mögliche Therapieansätze geben zu können.

### Wie viel sagt uns die Embryomorphologie am Tag 5 über die Chancen für die Patienten?

*B. Wirleitner, P. Vanderzwalmen, A. Stecher, M. Zintz, M. Bach, N. H. Zech  
IVF-Zentren Prof. Zech, Bregenz*

**Einleitung** Blastozystenentwicklung und Embryomorphologie am Tag 5 (d5) sind wichtige Faktoren für die Implantationschancen. In der Infertilitätsbehandlung gibt es aber immer wieder Patienten, bei denen keine Top-grading-Blastozysten am Transfer tag vorliegen und die damit eine sehr niedrige „Expected Gametes Performance“ (EGP) aufweisen. Bei diesen Patienten erreichen die Embryonen oft nicht das im Istanbul Consensus Workshop 2011 angegebene „optimale Entwicklungsstadium der voll expandierten oder hatchenden Blastozyste“ am d5. In aktuellen Publikationen gab es Hinweise darauf, dass Embryonen mit einer verzögerten Blastulation eine höhere Wahrscheinlichkeit für chromosomale Aneuploidien zeigen. Mit diesem Hintergrund wollten wir die tatsächlichen Chancen für eine Implantation sowie die Baby-Take-Home-Rate nach Transfer von Embryonen mit einer stark verlangsamten Entwicklung untersuchen.

**Methoden** In dieser retrospektiven Analyse wurden 488 d5-Embryo-Transfers ausgewertet. Als „Main Outcome“ wurden Implantations- und Baby-Take-Home-Raten sowie Gesundheit der geborenen Kinder gesetzt.

**Resultate** Nach 88 Single-Embryo-Transfers (SETs) mit Embryonen im Stadium von „frühen Blastozysten“ mit Top-Morphologie wurde eine Implantationsrate von 36 % sowie eine Geburtenrate von 26 % erzielt. Im Vergleich dazu kam es nach 124 SETs mit frühen Blastozysten reduzierter Qualität zu einer Implantation von 17 Embryonen (14 %) und zu 8 Geburten (6,5 %). Aus SETs von 181 Embryonen, die eine stark verlangsamte Entwicklung zeigten (vor Erreichen des Morula-Stadiums am d5), resultierten 8 Schwangerschaften (4,4 %) und 7 gesunde Kinder wurden geboren (3,9 %). Nach 95 Double-Embryo-Transfers (DET) mit Embryonen derselben Qualität kam es zu 7 Schwangerschaften (7,4 %), von denen 4 bis in die 12. Woche gingen (4,2 %) und 3 gesunde Kinder geboren wurden (3,2 %).

**Schlussfolgerung** Expandierte Blastozysten haben eine gute Chance zu implantieren. Es gibt allerdings immer wieder Patienten, bei denen keine expandierten Blastozysten am d5 vorliegen. Kann in diesem Fall ein Transfer vorgenommen werden bzw. welche Chancen haben die Patienten auf ein gesundes Kind? Unsere Daten zeigen, dass die Implantationsraten bei frühen Blastozysten mit Top-Morphologie mit 36 % noch sehr hoch sind. Einen sichtbaren Rückgang der Raten finden wir bei frühen Blastozysten mit reduzierter

Qualität bzw. bei stark entwicklungsverzögerten Embryonen. Jedoch ist auch bei diesen Embryonen eine 3,2–6,5%ige Chance auf ein gesundes Kind da. Daher kann, nach ausführlicher Aufklärung der Patienten über die stark reduzierten Implantationsraten, auch ein Transfer von Embryonen mit langsamer Entwicklung vorgenommen werden. Wir konnten keinen Hinweis auf ein erhöhtes Abort- oder Missbildungsrisiko der Kinder finden. In Zusammenhang mit diesen Ergebnissen wird nun ein weiterer Therapieansatz analysiert. Dabei wird eine Verbesserung der Implantationschancen durch Kultur der Embryonen bis d6 mit anschließender Kryokonservierung der Blastozysten und einem Transfer im Kryozyklus, zur Gewährleistung der optimalen Synchronisierung des Endometriums und des Embryos, untersucht.

### Blastozystenkultur und EGP (Expected Gametes Performance): „The new KPI in ART“

*N. H. Zech, B. Wirleitner, D. Spitzer, P. Vanderzwalmen, A. Stecher  
IVF-Zentren Prof. Zech, Bregenz*

**Einleitung** Um den Erfolg einer Kinderwunschbehandlung abschätzen zu können, werden IVF-Patientinnen bei der hormonellen Stimulation anhand der ovariellen Antwort in Low-, Normal- und High-Responder eingeteilt. Grundlage hierfür ist die erwartete Anzahl gewonnener Eizellen in Abhängigkeit vom Alter. Eine präzise und einheitliche Definition der „Responder“-Gruppen fehlt jedoch und ein ganzheitlicher Blick auf die unterschiedlichen Komponenten, die eine Kinderwunschbehandlung beeinflussen können, unterbleibt vollständig, da wichtige Faktoren, die den Erfolg einer IVF-Therapie wesentlich bestimmen können, komplett außer Acht gelassen werden. Anhand der folgend aufgeführten Beispiele sei die Problematik erläutert.

**Methoden** EGP-Bestimmung basierend auf der Blastozystenkultur.

#### 1. Fall

33-jährige Frau mit 42-jährigem Partner, Oligozoospermie, sekundäre idiopathische Sterilität nach einer biochemischen Schwangerschaft.

**Zyklus:** 7 Eizellen gewonnen; 6 davon reife Oozyten; alle 6 wurden befruchtet, Fertilitätsrate (FR) 100 %; 5 Blastozysten von guter Qualität am Tag 5; Transfer von 2 Blastozysten (Qualität: B1 5BA, B1 4AB) und anschließend Geburt eines Jungen; 3 Blastozysten wurden kryokonserviert.

**Samenanalyse:** 2,6 ml; 11 Mio./ml; progressive Motilität: 57 %; und IMSI-Report: 8 % Klasse-I-, 51 % Klasse-II- und 41 % Klasse-III-Spermien.

#### 2. Fall

35-jährige Frau mit 38-jährigem Mann, Teratozoospermie, primäre Sterilität bei verschlossenen Eileitern.

**Zyklus:** 11 Eizellen gewonnen; 10 davon reife Eizellen; alle wurden befruchtet (FR 100 %); 1 Blastozyste (fB1 c); Transfer von

dieser Blastozyste; keine Schwangerschaft in diesem Zyklus.

**Samenanalyse:** 3,5 ml; 18,4 Mio./ml; progressive Motilität: 55 %; und IMSI-Report: 0 % Klasse-I-, 25 % Klasse-II- und 75 % Klasse-III-Spermien.

#### 3. Fall

34-jährige Frau mit 37-jährigem, querschnittsgelähmtem Mann mit schlechtem Samenbefund, primäre Sterilität.

**Zyklus:** 16 Eizellen gewonnen; 13 davon waren reife Eizellen; 12 wurden befruchtet (FR 92,3 %); 5 Blastozysten (4 gute Qualität und 1 sehr niedrige Qualität); Transfer von einer Blastozyste (B1 2AB) und Geburt eines gesunden Mädchens; 3 Blastozysten wurden kryokonserviert.

**Samenanalyse:** 1 ml; 2,5 Mio./ml; progressive Motilität: 5 %; und IMSI-Report: 0 % Klasse-I-, 11 % Klasse-II- und 89 % Klasse-III-Spermien.

**Diskussion** Die hier aufgeführten Fälle zeigen beispielhaft, dass die Oozytenzahl nicht optimal den „ART-Outcome“ bestimmt. Die Terminologie „Responder“ berücksichtigt nur die ovarielle Reserve, der paternale Faktor etwa bleibt dabei unberücksichtigt. Dieser kommt jedoch am Tag 2/3 der Embryonalentwicklung zum Tragen, wenn das embryonale Genom aktiviert wird und damit auch die väterlichen Gene. Nicht die Anzahl der bei der Punktion gewonnenen reifen Eizellen ist daher relevant, um den Erfolg einer IVF-Therapie abzuschätzen, sondern die der entstandenen Blastozysten. „Expected Gametes Performance“ („low“ EGP: 1–3, „normal“ EGP: 4–5, „high“ EGP: > 5) stellt, basierend auf der Blastozystenkultur unter Einbeziehung weiterer Parameter, wie das Alter bei der Partner, detaillierte Samenanalyse (u. a. IMSI), FR, Blastozystenkultur- sowie Vitrifikationsprotokolle, einen optimalen Standard des zu erwartenden Entwicklungspotenzials der weiblichen und männlichen Geschlechtszellen dar. Eine einheitliche Anwendung dieses Standards würde Kinderwunschpaaren eine bessere und aussagekräftigere Prognose über den möglichen Erfolg der IVF-Therapie bieten.

### Wie wirkt die Spermienqualität auf den Ausgang der Behandlung mittels Leihmutter? Eine retrospektive Studie

*I. Zervomanolakis<sup>1,2</sup>, D. Dafnis<sup>2</sup>, I. Giakoumakis<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>IVF-Abteilung, Klinik Mitera, Athen; <sup>2</sup>Mediterranean Fertility Center & Genetic Services, Chania, Griechenland*

**Einleitung** Der Ausgang der Behandlung mittels Leihmutter, die eine Option für gebärfähige Frauen anbietet, ist von der Gametenqualität abhängig. Ziel unserer retrospektiven Studie ist die Untersuchung des Einflusses der Samenqualität auf die Befruchtungs-, Teilungs- und Schwangerschaftsrate bei Leihmüttern.

**Methoden** 117 Paare, die sich wegen Hysterektomie, Sichelzellanämie, Hypertonie, Nieren- bzw. Leberinsuffizienz einer Behand-



lung mittels ICSI und anschließender Leihmutterchaft zwischen 2010 und 2012 unterzogen, wurden in 4 Gruppen in Bezug auf die Samenqualität bzw. zusätzliche Eizellspende geteilt. Während 32 Paare der Gruppe A eine normale Samenqualität ohne erforderliche Eizellspende aufwiesen, wurde in der Gruppe B (28 Paare) mindestens ein auffälliger Spermogrammparameter gemäß WHO-Richtlinien festgestellt. In den Gruppen C mit 31 Paaren ohne männlichen Faktor bzw. D mit 26 Paaren und zusätzlichem männlichen Faktor wurde eine Eizellspende wegen Ovarialinsuf-

fizienz benötigt. Alle Leihmütter erhielten 2 Embryonen zum Zeitpunkt des Embryotransfers. Als zu untersuchende Parameter dienten die Befruchtungs-, Teilungs- bzw. Schwangerschaftsraten in den verschiedenen Gruppen, die mit dem Chi-Quadrat-Test verglichen wurden.

**Resultate** Die Gruppen A bzw. C wiesen eine signifikant höhere Befruchtungs- und Teilungsrate im Vergleich zu den Gruppen B bzw. D auf (59,7 % gegen 43,9 % bzw. 62,9 % gegen 48,0 %,  $p < 0,05$ ). Ähnlich signifikant

höher war die Schwangerschaftsrate in den zu untersuchenden Gruppen (43,7 % gegen 28,6 % bzw. 45,2 % gegen 30,8 %,  $p < 0,05$ ).

**Schlussfolgerung** Trotz günstiger Implantationsbedingungen bei Leihmüttern ist die Behandlungsprognose bei Paaren mit männlichem Faktor schlechter. Dies deutet auf die Bedeutung der Samenqualitätsparameter wie Spermienmorphologie, Motilität bzw. DNA-Fragmentierung hin und zeigt den unumgänglichen Einfluss der Spermien auf das Behandlungsergebnis.

## Autorenverzeichnis (nur präsentierende Autoren)

<b>A</b>	<b>K</b>	<b>T</b>
Ayuandari S. .... 211	Kremshofer J. .... 212	Trofaier M.-L. .... 215
<b>B</b>	<b>M</b>	<b>U</b>
Brandt K. .... 211	Murtinger M. .... 213	Uher P. .... 215
Brunbauer M. .... 211		<b>W</b>
<b>C</b>	<b>S</b>	Weghofer A. .... 216
Colleselli V. .... 212	Schenk M. .... 213(2x), 214	Weiss G. .... 216
<b>D</b>	Spitzer D. .... 214	Wirleitner B. .... 217
Dewanto A. .... 212	Stadler A. .... 214	<b>Z</b>
	Steiner H. P. .... 215	Zech N. H. .... 217
	Swoboda M. .... 215	Zervomanolakis I. .... 217

# Mitteilungen aus der Redaktion

Besuchen Sie unsere Rubrik

## [Medizintechnik-Produkte](#)



Neues CRTD 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](#)