

Journal für

Reproduktionsmedizin und Endokrinologie

– Journal of Reproductive Medicine and Endocrinology –

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



**28. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für
Andrologie (DGA) e.V. - 8.-10. September 2016**

Saarbrücken (Abstracts)

J. Reproduktionsmed. Endokrinol 2016; 13 (4), 148-159

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



28. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Andrologie (DGA) e. V.

8.–10. September 2016, Saarbrücken

Abstracts*

Eingeladener Vortrag zur Session „Operative Andrologie“

Mikrochirurgische Refertilisierung bei postentzündlicher Samenwegsobstruktion

J. U. Schwarzer
Andrologie Centrum München, Deutschland

Fragestellung Nach beidseitiger Epididymitis kann eine Obstruktion beider Nebenhoden mit der Folge einer obstruktiven Azoospermie (OA) resultieren. Zur Therapie wird häufig ICSI mit testikulären oder epididymalen Spermatozoen gewählt und dabei die Alternative der mikrochirurgischen Refertilisierung nicht beachtet, obwohl diese gute Chancen auf natürliche Fertilität bietet.

OP-Technik Bei postentzündlichem Verschluss des Ductus epididymidis erfolgte eine mikrochirurgische Tubulovasostomie (TV), entsprechend einer selektiven Epididymovasostomie zwischen präokklusivem Ductus epididymidis (= Tubulus) und dem Vas deferens, in dreischichtiger Seit-zu-End-Technik. Der operative Zugang erfolgte skrotal, die OP ambulant in Allgemeinanästhesie

Patienten Ein Operateur eines Zentrums für urologische Mikrochirurgie führte von 10/93 bis 03/16 bei 129 Patienten mit postentzündlicher OA eine TV durch, bei n = 102 bilateral (79 %) und bei n = 27 (21 %) unilateral, während er im selben Zeitraum 1817 Patienten wegen Z. n. Sterilisationsvasektomie der Refertilisierung unterzog. Bei 85 Patienten (66 %) erfolgte zusätzlich eine MESA/TESE für ein Kryodepot zur Wahrung der evtl. späteren therapeutischen Option mittels ICSI.

Ergebnisse Ein Follow-up von mindestens 6 Monaten war bei 92/129 Patienten (71 %) möglich. Dabei wurden Spermioграмmbefunde und

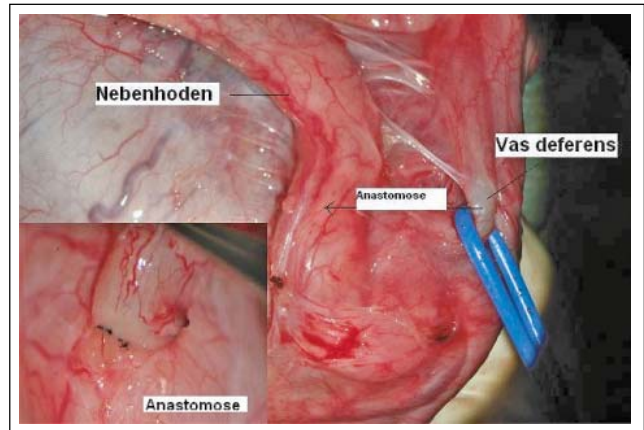


Abbildung 1: J. U. Schwarzer. Operationssitus.

Graviditäten dokumentiert, wobei bei n = 76 (83 %) eine Durchgängigkeit und bei n = 35 (38 %) eine Gravidität ohne reproduktionsmedizinische Maßnahmen belegt wurde.

Schlussfolgerung Die mikrochirurgische Refertilisierung (MR) bietet nicht nur bei Z. n. Vasektomie, sondern auch bei postentzündlichem Samenwegsverschluss realistische Chancen auf natürliche Fertilität, weshalb diese Option vor der Indikationsstellung der ICSI berücksichtigt werden sollte. Die ICSI bleibt als Zweitoption bestehen, zumal wenn bei der MR Spermien kryokonserviert wurden (Abb. 1).

Freie Vorträge zu aktuellen Themen der Andrologie

FV1

Genexpressionsanalyse einzelner humaner Spermatozoen: methodische Ansätze und Probleme

A.-N. Spiess¹, K. Steger², H. Cappallo-Obermann¹
¹Andrologie, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Hamburg; ²Klinik und Poliklinik für Urologie, Kinderurologie und Andrologie, Justus-Liebig-Universität, Gießen, Deutschland

Fragestellung Die Genexpressionsanalyse von humanen Ejakulaten oder aufgereinigten Spermatozoen stellt das Mitteln von Millionen Expressionswerten einer hochgradig heterogenen Zell-Population dar. Folglich sind Genexpressions-Veränderungen von bestimmten Subpopulationen nicht messbar, was zu einem extremen Informationsverlust

führt. Die Einzelzellen-Genexpressionsanalyse ist eine aufstrebende Methodik, welche die Analyse von Subpopulationen möglich macht und versteckte Tendenzen aufdecken kann. Prinzipiell ist diese Methodik das molekulare Pendant zu einem Spermioграмm: Experimentelle Parameter, wie z. B. Cq-Werte einer quantitativen PCR-Analyse (qPCR), werden an einzelnen Spermatozoen erhoben, ähnlich morphologischer Kriterien. Hier zeigen wir ein *proof-of-principle* einer qPCR-Analyse einzelner Spermatozoen, die mittels Mikromanipulator oder einem Hochdurchsatz-Einzelzell-Drucker (*Single Cell Printer*, IMTEK, Freiburg) isoliert wurden.

Ergebnisse Die Standard-Prozedur des *Single Cell Printer* (Abb. 2a) beinhaltet das Überprüfen einer erfolgreichen Deponierung einzelner oder mehrere Spermatozoen in die Wells der Mikrotiterplatte. Dies wird durch die optische Dokumentation der Spermatozoen vor und nach dem Verlassen der Druckdüse ermöglicht (Abb. 2b). Die Protamin 2-qPCR-

Analyse von 5 einzelnen Spermatozoen zeigt eine heterogene Transkript-Ausstattung (Abb. 2c), was noch eindeutiger wird bei der Analyse von Pools aus 20 und 10, als auch einer höheren Anzahl einzelner Spermatozoen (Abb. 2d). Die Kalibration von Spermienzahl gegen Cq-Werte mittels linearer Regression zeigt, dass hier nur bedingt eine Korrelation vorliegt ($R^2 = 0,4116$, Abb. 2d). Ein quadratisches Modell kann zwar den Fit etwas verbessern (rot, $R^2 = 0,4588$), hier müssen jedoch noch bessere mathematische Modelle entwickelt werden, denn in dem Bereich hoher Cq-Werte ist die technische Varianz erheblich. Neuere technische Entwicklungen wie die digital-PCR könnten hierfür einen Lösungsansatz bieten.

Schlussfolgerungen Die Genexpressionsanalyse humaner Spermatozoen beinhaltet einige Probleme, die größtenteils auf den immens niedrigen RNA-Mengen von 20–50 fg/Spermium beruht [Cappallo-Obermann et al., 2011], was 1/250-tel einer somatischen Zelle

* Ein alphabetisches Verzeichnis der Erstautoren finden Sie auf Seite 159.

darstellt. Wir zeigen, dass die Genexpressionsanalyse einzelner humaner Spermatozoen möglich ist, jedoch die Zuverlässigkeit der Daten durch neuere Methoden und hohen Durchsatz erst etabliert werden muss.

FV2

The Impact of Smoking on Protamine and Histone variants Alteration and DNA Integrity

N. Shelko^{1,2}, M. Montenarh², M. Hammadeh¹
¹Frauenklinik; ²Institut für Klinische Biochemie und Molekularbiologie, Universität des Saarlandes, Homburg, Deutschland

Introduction The aim of this study was to investigate the relationship between human sperm DNA integrity and sperm nuclear proteins under smoking; TUNEL assay, aniline blue stain, chromomycin A3 stain, histone and protamine concentration by electrophoresis. Beside, investigate the effect of smoking on sperm parameters including sperm protein (histone and protamine) and measuring the level of cotinine concentration in seminal plasma.

Participants, Materials, Setting, Methods

This study carried out at the Department of Obstetrics and Gynecology (IVF and Andrology Laboratory) University of Saarland. 30 nonsmokers (G. I) and 45 smokers (G. II) were enrolled in this study. Semen samples were prepared according to WHO guideline 2010 and sperm nuclear protein (H2b, H2a, H3, protamine 1 and 2) were extracted from each semen sample using acid-urea-PAGE and western blot as described previously by Mengual et al., [2003]. Sperm chromatin condensation was measured by aniline blue stain (AB) and chromomycine A3 (CMA3) staining. Also, DNA fragmentation evaluated by using TUNEL assay.

Results The levels of H2b, H2a, H3 and protamines 1, 2 in nonsmokers (G. I) were 109.1 ± 43.70 , 156.4 ± 12.6 , 151.2 ± 24.06 , 425.8 ± 16.26 and 412.8 ± 16.24 ng/106 while the corresponding values for smokers (G. II) were 292.27 ± 58.24 , 219.8 ± 16.35 , 225.6 ± 19.76 , 425.6 ± 14.56 and 354.9 ± 11.28 ng/106, respectively. Significant differences between G. I and G. II were observed in the concentrations of H2b, H2a, H3 and protamine 2 ($p < 0.05$). Besides, H2b correlates significantly negative with sperm membrane integrity (HOS test) ($r = -0.456$; $p = 0.001$) and sperm concentration ($r = -0.403$; $p = 0.003$) and correlates significantly positive with cotinine (ng/ml) ($r = 0.592$; $p = 0.000$). In addition, H2a correlates significantly negative with sperm membrane integrity (HOS test) ($r = -0.232$; $p = 0.04$), sperm motility ($r = -0.389$; $p = 0.000$), sperm vitality ($r = -0.496$; $p = 0.000$) and correlates significantly positive with cotinine (ng/ml) ($r = 0.322$; $p = 0.01$), and TUNEL value ($r = 0.313$; $p = 0.021$). Besides, H3 correlates significantly negative with sperm membrane integrity (HOS test) ($r = -0.384$; $p = 0.000$), sperm motility ($r = -0.297$; $p = 0.009$), sperm vitality ($r = -0.455$; $p = 0.000$), sperm concentra-

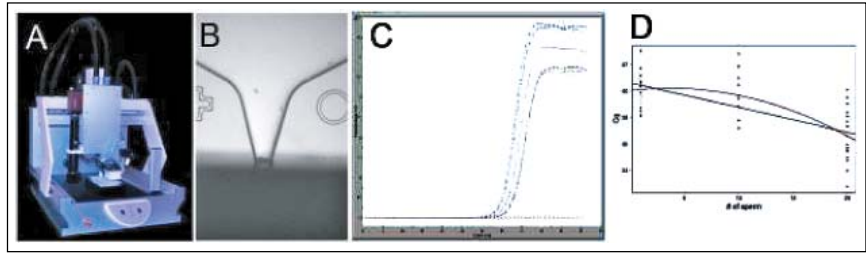


Abbildung 2: A.-N. Spiess et al. (FV1).

tion ($r = -0.371$; $p = 0.001$) and correlates significantly positive with TUNEL value ($r = 0.296$; $p = 0.029$).

Conclusion The present study showed that cigarette smoking negatively effects nuclear sperm protein concentration (histone and protamine). In addition, the present study also found that the relationship between histone protein (H2a, H3) with chromatin condensation and DNA fragmentation of spermatozoa.

FV3

Divergent Extensions of AZFc Gene Microdeletions in Leukocytes and Germ Cells Impair Sperm Prognosis for these TESE Patients with Nonobstructive Azoospermia

P. H. Vogt, U. Bender, J. Zimmer
 Sektion für Reproduktionsgenetik, Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin, Universitätsklinikum Heidelberg, Deutschland

The human Y chromosome harbours the Azoospermia Factor (AZF) locus causing male infertility when disrupted. It includes 14 protein encoding Y genes located in three distinct Y regions designated AZFa, AZFb, AZFc, respectively. They are expressed during different phases of human spermatogenesis. Accordingly, complete deletion of an AZF region, also called "classical" AZF microdeletion, is usually associated with a distinct testicular pathology. Their analysis can therefore be also used for patients suffering from non-obstructive azoospermia deciding for testicular sperm extraction (TESE). Complete AZFa or AZFb deletions in their leukocyte DNA suggest, they have no sperms in their testicular tubules, whereas patients with complete AZFc deletion do have a very good prognosis for sperm presence here. Partial AZF deletions including single AZF genes can cause the same testicular pathology as the corresponding complete deletion (e.g. DDX3Y gene deletions in AZFa), or might not be associated with male infertility at all (e.g. some DAZ gene deletions in AZFc).

It is generally believed that rate and extension of the AZF gene deletion identified in the patient leukocyte DNA corresponds to that present in the patient germ cells. However, experimental proof of this prediction is lacking. We therefore collected some azoospermic patients diagnosed with a classical AZFc deletion in their leukocyte DNA who decided for sperm extraction from their testicular bi-

opsies. We analysed the rate and extension of the AZFc deletion in their genomic DNA samples extracted from the left and right testis tissue biopsies performing PCR multiplex assays according to Vogt and Bender [1]. This protocol is able to distinguish classical AZFa, AZFb, AZFc deletions including their breakpoint regions from only complete single AZF gene deletions.

We found three samples with complete AZFc deletion in the genomic DNA of the left testis biopsy but extension of this AZFc deletion towards complete Y chromosome deletion in the right testis biopsy; two samples with complete AZFc deletion in the left, respectively, right testis biopsy were found with a partial AZFc deletion including the DAZ genes in the opposite testis sample. We conclude that the divergent Y deletions observed in the testis samples of these AZFc patients can impair their sperm prognosis significantly. They point to a dynamic rearrangement of the long Y arm in their testis DNA, probably due to a high frequency of recombination hot spots in the repetitive sequence blocks concentrated in AZFc.

Reference:

1. Vogt PH, Bender U. Human Y chromosome microdeletion analysis by PCR multiplex protocols identifying only clinically relevant AZF microdeletions. *Methods Mol Biol* 2013; 927: 187–204.

FV4

Purinergic Receptors in Human Testicular Peritubular Cells: Involved in Male Infertility?

L. Glashauser¹, K.-G. Dietrich¹, A. Tiefenbacher¹, J. U. Schwarzer², F.-M. Köhn³, A. Mayerhofer¹
¹Biomedical Center, Anatomy III – Cell Biology, Ludwig-Maximilians-Universität München, Planegg-Martinsried; ²Andrologie Centrum München; ³Andrologicum München, Deutschland

Human testicular peritubular cells (HTPCs) are the smooth muscle-like cells forming the wall of seminiferous tubules. Yet, besides their contractile abilities required for sperm transport, they may be involved in the regulation of inflammatory processes. This assumption is supported e.g. by the expression of Toll-like receptors (TLRs) and the secretion of cytokines. Purinergic receptors are strong candidates for a contribution to the sterile inflammation often discovered in infertility patients, but they are not very well characterized in the human testis. Hence, we aimed to identify and characterize individual purino-

ceptors of HTPCs and their involvement regarding inflammatory signaling. We studied cultured HTPCs stemming from individual patients and human testicular sections.

Within the P2X receptor subfamily P2X4, P2X5, P2X6 and P2X7 were present on mRNA level in all HTPC samples examined. Among these P2X7 stands out because of its unique signaling properties. P2X7 expression in HTPCs could further be verified at the cellular level in cultured cells and in human testicular sections. Interestingly, P2X7 distribution correlated with the degree of fibrotic remodeling in the wall of seminiferous tubules. Monitoring of cultured HTPCs loaded with a calcium-sensitive fluorescent dye (Fluo-4) revealed that the potent P2X7 agonist BzATP induced transient elevations of intracellular Ca^{2+} concentrations. Pre-incubation of cells with a specific P2X7 antagonist (AZ11645373) reduced the magnitude of the BzATP-evoked Ca^{2+} release. A 24h-stimulation of HTPCs with BzATP increased mRNA levels of inflammation-associated genes such as Cox2, IL-1 β or IL-6.

Taken together, these observations support the idea that P2X7-mediated actions in HTPCs have a say in promoting testicular inflammation. However, it is important to further characterize the other identified P2 subtypes and to determine possible interactions between different subtypes that may also participate in inflammatory processes.

Grants: Supported by DFG MA 1080/23-1.

FV5

Immune Privilege and Neoplasia in Human Testis – Potential Role and Functional Polarization of Macrophages and Dendritic Cells

D. Püschl¹, B. Klein¹, S. Indumathy², S. Kliesch³, M. Hedger⁴, K. Loveland⁵, M. Bergmann¹, H.-C. Schuppe⁵

¹Institute of Veterinary Anatomy, Histology and Embryology, Justus-Liebig-University, Gießen, Germany; ²Department of Anatomy and Developmental Biology, Monash University, Melbourne, Australia; ³Centre of Reproductive Medicine and Andrology; University of Münster, Germany; ⁴Hudson Institute of Medical Research, Monash University Melbourne, Australia; ⁵Department of Urology, Children's Urology and Andrology, Justus-Liebig-University, Gießen, Germany

Introduction Human testicular germ cell tumours, i. e. seminoma, and pre-invasive germ cell neoplasia in situ (GCNIS) are accompanied by infiltrating immune cells, previously identified as lymphocytes (T, B), macrophages and dendritic cells. Recent studies provide suggestive evidence that functional polarization and respective subtypes of macrophages (e.g. TAM, M1 and M2) play an important role in cancer development and surveillance. Also for dendritic cells, known as „professional“ antigen presenting cells, functionally different subsets (pDC, mDC) have been described. For both cell types and their subsets, however, putative immunopathological roles in testicular neoplasia remain to be

elucidated. Therefore, we set out to identify and characterize subsets of macrophages as well as DC in seminoma and GCNIS in comparison to non-inflamed testis with intact spermatogenesis (Nsp).

Material and Methods Bouin-fixed, paraffin-embedded tissue samples from human testis (seminoma n = 10; GCNIS n = 10; Nsp n = 5). The following markers were used for immunohistochemistry (IHC) and immunofluorescence (IF): macrophages M1: CD68; M2: CD163, CD206; dendritic cells mDC1: CD1c, CD11c; mDC2: CD11c, CD141; pDC: CD123, CD303, CD304, S100. Preliminary measurements of transcripts encoding relevant cytokines were made using quantitative RT-PCR after RNA extraction from cryopreserved tissue samples (seminoma, GCNIS) and cDNA synthesis.

Results In seminoma and GCNIS samples, IHC revealed positive staining with 7 DC-related markers tested, thus indicating presence of DC. Moreover, positive results were obtained for both M1- and M2-related markers. In ongoing experiments, IF double-staining is employed to further characterize extent and spatial distribution of infiltrating DC and macrophage subsets. In comparison, significantly lower numbers of macrophages and only isolated DC were observed in normal testis. Additional analysis of cytokine gene expression profiles using qRT-PCR reflects the interaction of different immune cells and functional polarization of macrophages and DC associated with testicular neoplasia.

Conclusion Detailed functional characterization of infiltrating immune cells in testicular neoplasia, i.e. macrophages and DC, will help to understand the complex mechanisms of „immune editing“ during testis cancer development.

Grants: Supported by DFG IRTG „Molecular Pathogenesis of Male Reproductive Disorders“, Project P2 (GRK 1871/1).

FV6

Unterschiedliche Effekte der Langzeitbehandlung mit Testosteron-Undecanoat (TU) auf anthropometrische Parameter bei hypogonadalen Männern mit Normalgewicht, Übergewicht und Adipositas in einer kontrollierten Registerstudie

K. S. Haider¹, A. Haider¹, G. Doros², A. Traish³, F. Saad^{4,5}
¹Urologische Praxis, Bremerhaven, Deutschland; ²Boston University School of Public Health; ³Boston University School of Medicine, Boston, USA; ⁴Bayer Pharma AG, Global Medical Affairs Andrology, Berlin, Deutschland; ⁵Gulf Medical University, Ajman, Vereinigte Arabische Emirate

Fragestellung Testosteronbehandlung bei adipösen hypogonadalen Männern führt zu nachhaltigem Gewichtsverlust. Hier untersuchten wir, ob das auch bei normalgewichtigen und übergewichtigen Männern zutrifft.

Methoden Messungen bei 656 Männern in einer Registerstudie. Mittleres Alter: 60,7 \pm 7,2 Jahre, Gesamttestosteron \leq 12,1 nmol/L. 360 Männer erhielten Testosteronbehandlung mit TU 1000 mg alle 12 Wochen nach einem Anfangsintervall von 6 Wochen bis zu 8 Jahre (T-Gruppe). 296 Männer hatten sich gegen eine Testosteronbehandlung entschieden und dienten als Kontrollgruppe (KTRL). Die mittleren Änderungen zwischen beiden Gruppen wurden über die Zeit verglichen. Um Unterschiede der Ausgangswerte zwischen den Gruppen zu berücksichtigen, wurden die Änderungen nach Alter, Gewicht, Bauchumfang, Nüchternzucker, Blutdruck, Lipiden und AMS adjustiert.

Ergebnisse 63 Männer waren normalgewichtig (27 in der T-Gruppe, 36 in KTRL). Das Gewicht (kg) fiel von 75,8 \pm 4,4 auf 74,1 \pm 2 in der T-Gruppe ($p < 0,01$) und stieg von 76,9 \pm 2,7 auf 77,2 \pm 1,8 in KTRL (NS). Der Modell-adjustierte geschätzte Unterschied zwischen den Gruppen nach 8 Jahren betrug -9,2 ($p < 0,0001$). Der Bauchumfang (cm) fiel von 94,3 \pm 2,8 auf 89,6 \pm 3,3 in der T-Gruppe ($p < 0,0001$) und stieg von 97 \pm 2,7 auf 98 \pm 2 in KTRL ($p < 0,01$), Unterschied zwischen den Gruppen nach 8 Jahren -4,8 cm ($p < 0,0001$).

222 Männer waren übergewichtig (85 in der T-Gruppe, 137 in KTRL). Das Gewicht (kg) fiel von 87,2 \pm 5,3 auf 77,7 \pm 2,8 in der T-Gruppe ($p < 0,0001$) und stieg von 86,8 \pm 5,9 auf 88,8 \pm 5,8 kg in KTRL ($p < 0,0001$). Der Modell-adjustierte geschätzte Unterschied zwischen den Gruppen nach 8 Jahren betrug -10,9 ($p < 0,0001$). Der Bauchumfang (cm) fiel von 98 \pm 3,2 auf 92 \pm 3,5 in der T-Gruppe ($p < 0,0001$) und stieg von 103,7 \pm 4,8 auf 106,1 \pm 2 cm in KTRL ($p < 0,0001$), Unterschied zwischen den Gruppen nach 8 Jahren -7 ($p < 0,0001$).

371 Männer waren adipös (248 in der T-Gruppe, 123 in KTRL). Das Gewicht (kg) fiel von 112,6 \pm 11,13 auf 90,03 \pm 7,7 in der T-Gruppe ($p < 0,0001$) und von 101,6 \pm 6,3 auf 100,3 \pm 4,6 in KTRL (NS). Der Modell-adjustierte geschätzte Unterschied zwischen den Gruppen nach 8 Jahren betrug -22,8 ($p < 0,0001$). Der Bauchumfang (cm) fiel von 109,7 \pm 7,2 auf 99 \pm 6,1 in der T-Gruppe ($p < 0,0001$) und von 112,8 \pm 5,8 auf 112,3 \pm 5 cm in KTRL ($p < 0,001$), Unterschied zwischen den Gruppen nach 8 Jahren -13,5 ($p < 0,0001$).

In KTRL ereigneten sich 21 Todesfälle, in der T-Gruppe 2 Todesfälle, außerdem 28 Schlaganfälle und 25 Herzinfarkte in KTRL. Die Medikamenten-Adhärenz betrug 100 %, da alle Injektionen in der Praxis verabreicht und dokumentiert wurden. Drop-outs gab es nicht.

Schlussfolgerungen Langzeitbehandlung mit TU bei hypogonadalen Männern resultiert in Reduktion von Gewicht und Bauchumfang, die umso ausgeprägter sind, je mehr die Männer am Anfang wiegen. Unbehandelte Kontrollpatienten nahmen zu oder hatten ein stabiles Gewicht.

FV7

Prävalenz von Risikofaktoren und Komorbiditäten bei 45-jährigen Männern mit erektiler Dysfunktion – Ergebnisse aus der GMS-Study

J. Hallanz¹, M. Schmautz¹, F.-M. Köhr², P. Albers³, C. Arsov⁴, B. A. Hadaschik⁴, M. Hohenfellner⁴, M. Kuczyk⁵, F. Imkamp⁵, J. Gschwend¹, K. Herkommer¹
¹Klinik und Poliklinik für Urologie, Klinikum Rechts der Isar der TU München, München; ²Andrologikum, München; ³Klinik für Urologie, Medizinische Fakultät, Universität Düsseldorf; ⁴Klinik für Urologie, Universitätsklinikum Heidelberg; ⁵Klinik für Urologie und Urologische Onkologie, Medizinische Hochschule Hannover, Deutschland

Fragestellung Die erektile Dysfunktion (ED) nimmt mit steigendem Alter zu und ist mit Komorbiditäten wie arterieller Hypertonie, Diabetes mellitus, dem metabolischen Syndrom und Risikofaktoren wie Rauchen, Alkohol und Bewegungsmangel assoziiert. Die vorliegende Studie untersucht die Prävalenz der ED bei einem repräsentativen 45-jährigen

Kollektiv mit gleichzeitiger Erfassung bekannter Risikofaktoren und Komorbiditäten.

Methoden Im Rahmen der GMS-Study (German Male Sex-Study) als Teil der laufenden PROBASE-Studie (der deutschen Prostatakarzinom-Screening-Studie) wurden 45-jährige Männer bevölkerungsbasiert über 4 Studienzentren (Düsseldorf, Hannover, Heidelberg, München) rekrutiert. Nach 12 Monaten Laufzeit wurden für die vorliegende Auswertung heterosexuelle Männer, die in einer stabilen Partnerschaft lebten und in den letzten 4 Wochen vaginalen Geschlechtsverkehr durchgeführt oder versucht hatten, eingeschlossen. Eine Assoziation zwischen ED und Komorbiditäten (Hypertonie, Diabetes mellitus, benignes Prostata-syndrom [ermittelt mittels International Prostate Symptom Score, IPSS]) sowie Risikofaktoren (Rauchen, Alkoholkonsum, sportlicher Aktivität $\leq 2 \times$ pro Woche für mindestens 30 Minuten, Body-mass-Index [BMI]) wurde mittels Chi-Quadrat-Test evaluiert. Die Erektionsfunktion wurde mittels Kurzversion (6 Fragen) des International Index of Erectile Function (IIEF) erhoben. Eine ED wurde ab einem IIEF-6-Score ≤ 25 definiert.

Ergebnisse 2315 Männer wurden in die Auswertung eingeschlossen. Die Gesamtprävalenz der ED betrug 15,3 %, mit folgenden Schweregraden: 0,4 % schwere ED (IIEF-Score: 6–10), 1,3 % moderate ED (IIEF-Score 11–16), 4,3 % milde bis moderate ED (IIEF-Score 17–21) und 9,3% milde ED (IIEF-Score 22–25). Männer mit einer ED hatten signifikant häufiger eine arterielle Hypertonie, ein benignes Prostata-syndrom (IPSS > 7), einen BMI ≥ 30 kg/m² und waren seltener sportlich aktiv; alle $p < 0,0002$. Für Tabak- und Alkoholkonsum sowie bei bestehendem Diabetes mellitus konnte kein signifikanter Zusammenhang festgestellt werden.

Schlussfolgerungen Fast jeder sechste Mann (15,3 %) mit 45 Jahren hat bereits eine ED (IIEF-6-Score ≤ 25). Es zeigte sich ein signifikant höheres Auftreten der ED bei Männern mit arterieller Hypertonie, Bewegungsmangel, einem BMI ≥ 30 kg/m² und einem IPSS > 7 . Jedoch hatten Männer, welche einen Diabetes mellitus hatten oder Raucher waren, in diesem jungen Kollektiv keine höhere ED-Prävalenz.

Poster

■ Grundlagenforschung

P01

Reorganisation testikulärer Strukturen bei *In-vitro*-kultivierten Zellen aus dem humanen adulten normogonadotropen Hoden mit vollständiger Spermatogenese

K. von Kopylow¹, S. Schlatt², W. Schulze³, A. Salzbrunn¹, A.-N. Spiess¹
¹Andrologie, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf; ²Centrum für Reproduktionsmedizin und Andrologie, Universitätsklinikum Münster; ³MVZ Fertility Center Hamburg GmbH, amedes-group, Hamburg, Deutschland

Einleitung Morphogenetische Dynamiken von *In-vitro*-kultivierten Hodenzellen sind aus Ratte und Maus bekannt [1–5]. Anhand von Zellkulturversuchen mit primär kultivierten Testiszellen transsexueller Männer wurden ähnliche Ergebnisse auch für den humanen Hoden gezeigt [Mincheva et al., unpublished].

Methodik Aggregatfreie Zellsuspensionen aus kleinen Hodenbiopsien normogonadotroper Patienten mit vollständiger Spermatogenese ($n = 3$) wurden bei 35 °C in unbeschichteten 96-well-Plastik-Zellkulturplatten serumfrei unter Zusatz von Chemokinen für mindestens 80 Tage kultiviert. Die Größenmessung der zellulären Cluster erfolgte alle 1–3 Tage.

Ergebnisse Zelluläre Aggregate waren an Zellkulturtag 6 nachweisbar, runde Zellcluster vermehrt ab Tag 8. Ab Tag 13 war die Ansiedlung der Cluster auf Zellen, die morphologisch peritubulären Testis-Zellen ähnelten,

zu beobachten. Außerdem wurden um Cluster herumgelagerte Spermatozoen-ähnliche Zellen sichtbar. Um Tag 19 kam es zur Clustervergrößerung, höchstwahrscheinlich durch Fusionsprozesse einzelner Aggregate und/oder Rekrutieren zusätzlicher Zellen. Parallel war das brückenartige „Auswachsen“ der unteren Zellschicht zwischen den Clustern zu einem „Straßen“- bzw. „Schiene“-ähnlichen System zu verzeichnen. Entlang dieser Stränge konnte später die Annäherung der Cluster mit nachfolgenden fusionsartigen Prozessen festgestellt werden, bei denen elongierte oder zunehmend dreidimensionale Strukturen generiert wurden. Die Größen der verschiedenen Clustertypen waren ansteigend von den anfänglich detektierten Aggregaten zu den später entstandenen Strukturen. In einer Zellkultur mit humanem Serum entstandene Formationen entsprachen in ihrer Größe den Clustertypen aus der serumfreien Zellkulturbedingung.

Schlussfolgerungen Zwischen somatischen Zellen und Keimzellen des adulten normogonadotropen menschlichen Hodens sind in der Zellkultur Interaktionen möglich. Hierbei entstandene zelluläre Cluster könnten geeignete Bedingungen für die Vermehrung von Spermatozoen bzw. spermatozoalen Stammzellen liefern sowie die Voraussetzung für eine *In-vitro*-Spermatogenese darstellen.

Förderung: Gefördert durch DFG: KO 4769/2-1.

Literatur:

1. Gassei K, et al. Initiation of testicular tubulogenesis is controlled by neurotrophic tyrosine receptor kinases in a three-dimensional Sertoli cell aggregation assay. *Reproduction* 2008; 136: 459–69.
2. Pan F et al. Effects of nanostructures and mouse embryonic stem cells on *in vitro* morphogenesis of rat testicular cords. *PLoS One* 2013; 8: e60054.

3. Reuter K et al. Reassembly of somatic cells and testicular organogenesis *in vitro*. *Tissue Cell* 2013; 46: 86–96.

4. Mäkelä JA, et al. Reconstruction of mouse testicular cellular microenvironments in long-term seminiferous tubule culture. *PLoS One* 2014; 9: e90088.

5. Yokonishi T et al. *In vitro* reconstruction of mouse seminiferous tubules supporting germ cell differentiation. *Biol Reprod* 2013; 89: 1–6.

P02

Expression Dynamics of Specific Markers of Human Testicular Somatic Cells in *in vitro* Cultured Primary Testicular Cell Cultures during Cord-like Structure Formation

M. Mincheva¹, R. Sandhowe-Klaverkamp¹, J.-B. Stukenborg², J. Wistuba¹, S. Schlatt¹
¹Centre for Reproductive Medicine and Andrology, Münster, Germany; ²Department of Women's and Children's Health, Pediatric Endocrinology Unit, Karolinska Institutet and University Hospital, Stockholm, Sweden

Background The cellular and molecular mechanisms involved in the *de novo* formation of testis cords have not been fully understood. A number of *in vitro* studies described the stepwise morphogenetic events for formation of tubule-like structures by testicular cells in animal models [1–5]. However, an *in vitro* system, using human testicular cells, allowing for the systematic investigation of initial steps of tubule formation on a morphological, mRNA and protein expression level is not yet available.

Methods Single cell suspensions of testicular cells from 8 transsexual patients were pre-

pared by 2-step enzymatic digestion. Cells were cultured onto glass inserts in 24-well plates in absence (control) or presence of knock-out serum replacement (KSR), and incubated over a two-week period at 35 °C and 5% CO₂. Changes in cell type composition and dynamics of cell-specific marker expression were analyzed on mRNA (qPCR) and protein level (by immunofluorescence and immunohistochemistry) for Sertoli, peritubular and mesenchymal cell markers. In addition, morphological changes were detected by phase-contrast microscopy.

Results In both conditions, cells attached and formed monolayers 24 h after plating. In the controls, SOX9-positive Sertoli cells reorganized in single or multi-layered irregular shaped plaques and sphere-shaped aggregates by day 5. At later time points (day 7 and 14) the ratio of sphere-shaped aggregates over irregular-shaped plaques increased. Over time in culture, aggregates condensed (day 7) and finally, adjacent clusters merged, forming multi-layered cord-like structures. In the KSR group, a comparable step-wise reassembly of Sertoli cells was observed, but the aggregates were exclusively sphere-shaped. Further, immunohistochemical staining revealed dynamic changes in protein cellular localization of Sertoli cell specific marker (SOX9) over time, with predominant nuclear expression at initial days of culture (day 3), which shifted to cytoplasmic, following one week of culture, and simultaneous cytoplasmic and nuclear localization around culture day 14. In the KSR condition, Sertoli cells retained predominantly nuclear expression of SOX9 with strong intensity throughout culture.

Conclusion We provide a more systematic characterisation of the dynamic phenotype of *in vitro* cultured human testicular cells during their re-organisation to form cord-like structures and the confirmation of the preliminary results on the transcriptional level is still ongoing. Moreover, it appears feasible to use this system as a tool for a detailed analysis of somatic cell interactions, cell polarity and clustering processes during testis formation.

References:

1. Gassei K, et al. Initiation of testicular tubulogenesis is controlled by neurotrophic tyrosine receptor kinases in a three-dimensional Sertoli cell aggregation assay. *Reproduction* 2008; 136: 459–69.
2. Pan F, et al. Effects of nanostructures and mouse embryonic stem cells on *in vitro* morphogenesis of rat testicular cords. *PLoS One* 2013; 8: e60054.
3. Yokonishi T, et al. *In vitro* reconstruction of mouse seminiferous tubules supporting germ cell differentiation. *Biol Reprod* 2013; 89: 1–6.
4. Zhang et al. 2014.
5. Mäkelä JA, et al. Reconstruction of mouse testicular cellular microenvironments in long-term seminiferous tubule culture. *PLoS One* 2014; 9: e90088.

P03

Evaluating Growth and Differentiation of Marmoset Testicular Tissue by Xenografting

S. Sharma, R. Sandhowe, O. Damm, B. Westernstroer, J. Wistuba, S. Schlatt
 Centrum für Reproduktionsmedizin und Andrologie, Universitätsklinikum Münster, Deutschland

Introduction Prepubertal male cancer patients undergoing cancer treatment are at risk of losing their fertility. High dose therapeutic treatment depletes spermatogonial stem cells in the testis, rendering these cancer survivors eventually infertile for life. In an attempt to preserve their fertility, clinics are cryo-banking testicular tissue prior to administering cancer therapy. In this study we explore the potential of testicular xenografting for *in vitro* sperm production using fresh and cryopreserved prepubertal testicular tissue from non-human primates, i.e. marmosets. Xenografting has been used as a tool in the past to generate sperm from testicular tissue fragments in different species. However, it has been elusive to achieve complete spermatogenesis using marmoset testis tissue. Due to endocrine distinctions in marmosets, we assume castration has a limited influence on graft development, and intact male and female mice may serve as superior hosts compared to castrated males. We compare graft survival in intact and castrated males and intact female nude mice. We also assess the influence of these grafts on the intrinsic reproductive system of the hosts.

Methods Testes from 6 prepubertal marmosets were retrieved by necropsy. Testes were dissected and transferred to chilled Leibovitz-15 medium. Fragments were prepared (approx. 1 mm³). Part of the tissue was used freshly for xenografting into 35 nude mice (intact and castrated males, and intact females). The remaining tissue fragments were frozen in DMSO containing cryomedium using slow freezing, snap freezing, and vitrification protocols. After cryopreservation for 6 months, fragments were ectopically xenografted into 24 intact nude male mice. After 5–6 months all xenografted mice were sacrificed and graft retrieval was performed. PAS staining and morphometric analysis of graft sections is ongoing to evaluate histologically the state of spermatogenesis in grafts retrieved from various mouse hosts.

Results PAS stainings revealed the presence of round and elongating spermatids in the grafts retrieved from intact and castrated male hosts. Female hosts show superior graft survival but do not support postmeiotic differentiation of germ cells in the grafts. Superior graft retrieval rate was observed with fresh tissue xenografting compared to cryopreserved, and amongst intact hosts compared to castrates.

Conclusion Xenografting shows spermatogenic induction in marmoset testicular grafts. Biological limitations and ethical regulations might restrict clinical application of testicular

xenografting in humans, but it could be exploited for research purposes. Marmosets could be used as an excellent model to make testicular grafting clinically viable in the future.

P04

A nonhuman Primate Model for the Study of Testicular Peritubular Cells

N. Schmid¹, F. Flenkenthaler², T. Fröhlich², G. Arnold², R. Behr³, A. Mayerhofer¹

¹Biomedical Center, Department Anatomy III – Cell Biology; ²Gene Center, Laboratory for Functional Genome Analysis LAFUGA, Ludwig-Maximilians-Universität München; ³Plattform Degenerative Erkrankungen, Institut für Primatenforschung, Deutsches Primatenzentrum GmbH, Leibniz-Göttingen, Deutschland

Human testicular peritubular cells (HTPCs) are smooth-muscle-like cells, which form the wall of the seminiferous tubules. HTPCs have contractile abilities and are associated with the transport of immotile sperm. During the last years evidence has accumulated that these cells are involved in male (in) fertility. For example, they are important for paracrine regulation of the male gonad. By using HTPCs, i.e. cells from individual patients, we observed that they secrete the stem cell factor GDNF and may thereby contribute to the spermatogonial stem cell niche. Such a role was recently confirmed in rodents. Yet, the structures of rodent and primate seminiferous tubule walls and of peritubular cells differ, rendering rodents a suboptimal model for the study of these cells. On the other side, lifestyle, age, nutrition and the medical history of patients may affect HTPCs. To be able to control such influences we sought to establish a relevant primate model. Marmoset monkeys (*Callithrix jacchus*) are non-human primates, which are used as model organisms in reproductive research. They share many biologically relevant aspects with humans, including characteristics of germ cell development and function, and were thus chosen. Using a similar approach as for HTPCs, we were able to isolate and culture marmoset monkey testicular peritubular cells (MKT-PCs) from testicular fragments. Cultured MKT-PCs, like their counterpart *in vivo*, express characteristic markers, namely smooth-muscle (SM) markers, e.g. SM-actin and the androgen receptor. The absence of markers for Leydig cells (LH-receptor) and Sertoli cells (FSH-receptor) was documented. In a pilot experiment, the secreted and cellular proteins of MKT-PCs were investigated by LC-MS/MS and compared with results of HTPCs, obtained previously. A considerable overlap of prominent secreted and cellular proteins was detected, supporting the relevance of the marmoset monkey as a translational model for the human.

Grants: Supported by DFG (MA 1080/27-1; AR 362/9-1; BE 2296/8-1).

P05

Unterschiede zwischen der Supersonic-Scherwellenelastographie (SSI) und dem Acoustic Radiation Force Impulse Imaging- (ARFI-) Elastographieverfahren – *In-vivo*-Studie an Hodengewebe

J. Marcon¹, M. Trottmann¹, J. Rübenthaler², M. D'Anastas², A. Becker¹, C. Stief¹, M. Reiser², D.-A. Clevert²
¹Urologische Klinik und Poliklinik; ²Institut für Klinische Radiologie, Ludwig-Maximilians-Universität München, Deutschland

Einführung Die Sonographie der Hoden bildet einen bildgebenden Eckpfeiler in der Diagnostik der männlichen Infertilität. Das neue Verfahren der Scherwellenelastographie erlaubt eine untersucherunabhängige Methode der Bestimmung von Gewebesteifigkeit, wobei die Hoden durch ihre exponierte Lage dieser Untersuchung gut zugänglich sind. Die Technik des Acoustic Radiation Force Impulse Imaging (ARFI) ist in das Ultraschallgerät verbaut. Über einen mechanischen Impuls werden Scherwellen im Gewebe erzeugt, wobei die Geschwindigkeit dieser vom Ultraschallgerät selbst aufgezeichnet wird, eine externe Kompression ist nicht notwendig. Auf ähnliche Weise erzeugt das Supersonic Imaging (SSI) laterale Scherwellen. Eine höhere Geschwindigkeit korreliert dabei mit höherer Gewebesteifigkeit. Seit Kurzem wird ein Unterschied bei Standardwerten zwischen beiden Messverfahren vermutet. Bisher liegen noch keine *In-vivo*-Studien zu diesem Thema vor, wobei wir durch die Verwendung beider Geräte in unserem Zentrum an gesunden Probanden im Hinblick auf den klinischen Einsatz, zum Beispiel in der Diagnostik bei männlicher Infertilität, relevante Unterschiede aufzeigen wollen.

Material und Methoden Wir untersuchten die Hoden von 58 gesunden Probanden mit normaler B-Bild-Sonographie sowie mit verschiedenen elastographischen Verfahren. In drei vordefinierten Bezirken (Oberpol, mittlerer Anteil und Unterpol) erfolgte die Messung der Scherwellengeschwindigkeit mit dem Aixplorer® Ultraschallgerät (SuperSonic Imagine, France). In einem zweiten Messdurchgang erfolgte eine Beurteilung derselben Messregionen mittels ARFI durch das Siemens Acuson S2000® Ultraschallgerät (Siemens Medicare, Deutschland). Die Messwerte wurden jeweils in m/s beschrieben.

Ergebnisse Die gemessenen Werte für SSI lagen in allen Messregionen signifikant höher verglichen mit der ARFI.

Zusammenfassung Sowohl die ARFI als auch die SSI ermöglichen eine quantitative und qualitative Beurteilung der Gewebesteifigkeit und zeigten sich praktikabel im klinischen Einsatz. Für die Definition von Standardwerten im Hodengewebe ist es obligat, zwischen den unterschiedlichen Techniken zu unterscheiden. Als nächster Schritt sehen wir den routinemäßigen Einsatz der Elastographietechniken in der Diagnostik der männlichen Infertilität sowie die Einleitung entsprechender Studien.

P06

Vimentin als Marker der Fertilität?

A. Tok, M. von Brandenstein, I. Akbarov, J. Fries, A. Heidenreich
 Urologie, Universitätsklinikum Köln, Deutschland

Vimentin ist ein Strukturprotein, das in vielen Zellen unseres Körpers exprimiert wird. Die Vollängensvariante dieses Proteins ist bestens analysiert und essentiell für die Strukturgebung von Zellen. Fällt diese Vimentinstruktur aufgrund des Verlustes des C-terminalen Endes von Vimentin zusammen, können andere Zellorganellen, wie z. B. Mitochondrien, einfacher ausgebildet werden. Spermien benötigen viel Energie, somit benötigen sie ein „lockeres“ Zytoskelett, um die Mitochondrien auszubilden. In gesunden Spermien befinden sich die Mitochondrien in der Halsregion. Die Arbeitsgruppe besitzt einen bisher nicht kommerziell erhältlichen Antikörper, dieser erkennt eine bisher noch nicht analysierte Variante des Vimentins. Dieses Vimentin ist C-terminal trunziert. Somit sollten Spermien von Normozoospermiepatienten eine Überexpression der trunzierten Variante des Vimentins in der Halsregion aufweisen.

In Ausstrichpräparaten (n = 20) von Ejakulatproben von Normozoospermiepatienten wurde die Lokalisation der Vollängensvariante überwiegend im Äquatoralsegment (> 90 %) detektiert, wohingegen die verkürzte Variante in der Halsregion der Spermien zu lokalisieren war (> 92 %). Vergleicht man diese Ejakulatausstriche mit Ejakulatausstrichen von Patienten mit Oligo-Asthenoteratozoospermie (OAT-) Syndrom (n = 15), so fällt ein komplett anderes Expressionsmuster auf. Die trunzierte Variante ist nicht mehr überwiegend in der Halsregion lokalisiert, es kommt zu einer diffusen Verteilung dieser Variante, nur Spermien mit einer normalen Morphologie weisen eine Lokalisation der verkürzten Variante in der Halsregion auf. Ebenso ist die Vollängensvariante nicht mehr überwiegend in dem Äquatoralsegment lokalisiert, diese scheint verstärkt im Halsbereich exprimiert zu werden.

Es konnte gezeigt werden, dass die Lokalisation der verkürzten Variante mit der Lokalisation der Mitochondrien homolog ist. Des Weiteren konnte eine Abnahme der verkürzten Variante in Ejakulaten von Patienten mit OAT nachgewiesen werden.

Es ist äußerst wahrscheinlich, dass die Präsenz der verkürzten Variante des Vimentins für die Fortbewegung von Spermien wichtig ist. Aufgrund dieser Tatsache beschäftigt sich die Arbeitsgruppe mit der Entwicklung eines Testsystems.

Es konnte gezeigt werden, dass die Präsenz der Vimentinvariante für die Fortbewegung von Spermien von Bedeutung ist und das in Spermien mit einer schlechten Mobilität diese Variante wenig vorhanden ist und es zu einer Überexpression der Vollängensvariante kommt.

P07

Analysis of the Epigenetic Regulation of the Piwi-like 2 Promoter in Spermatogenesis

M. Giebler, T. Greither, H. M. Behre
 Zentrum für Reproduktionsmedizin und Andrologie, Halle a. d. Saale, Deutschland

Background Piwi-like 2, a member of the Argonaute protein family, is exclusively expressed in pre-pachytene and pachytene stages of spermatogenesis. Piwi-like 2 acts in the germ cell development and the silencing of retrotransposons to maintain genomic integrity and stem cell character. In the present study we investigated DNA methylation as potential mechanism for the regulation of human Piwi-like 2 expression in cell lines related to spermatozoa precursor cells.

Methods For epigenetic regulation studies TCam2 and NT2D1 cell lines were used. We analyzed the expression of Piwi-like 2 by qRT-PCR and Western Blot after treatment with DNA methylation inhibitor 5-Aza-2'-deoxycytidine (5AzadC). Analysis of CpG methylation status of the Piwi-like 2 promoter was assessed by bisulfite sequencing. Piwi-like 2 promoter activity was demonstrated by luciferase reporter gene assay. The role of CpG methylation was studied by *in vitro* methylation of respective Piwi-like 2 promoter constructs.

Results Piwi-like 2 mRNA (37-fold; p = 0.021) and protein was upregulated in TCam2 cells after 5AzadC treatment. NT2D1 showed no change in Piwi-like 2 expression. Bioinformatics analysis identified 57 CpG dinucleotides in the promoter sequence from -300 bp to +600 bp. Bisulfite sequencing of the CpG site demonstrated a different basal methylation level of Piwi-like 2 in the cell lines (TCam2: 85%, NT2D1: 41%). Treatment of cells with 5-AzadC allows a partial demethylation of Piwi2 promoter in TCam2 (74%) and NT2D1 (30%). Transfection of cells with different Piwi-like 2 promoter constructs identified several regulatory regions by an increase of luciferase activity. Fragment 1: 35-fold (p = 0.007) increase in TCam2 and 10fold activation in NT2D1 (p = 0.001); Fragment 2: 3-fold induction in TCam2 (p = 0.049) and a 6.5-fold increase of luciferase activity in NT2D1 (p = 0.034). *In vitro* methylation of selected fragments suppressed Piwi-like 2 promoter activity.

Conclusion We report an increase of Piwi-like 2 expression in hypermethylated cell line TCam2 by treatment with 5azadC. Piwi-like 2 promoter constructs of different length are able to drive luciferase expression in human cells to different extents. However, the activity was markedly reduced after *in vitro* methylation of these fragments. These data indicate that in humans DNA methylation is able to induce epigenetically silencing of Piwi-like 2 expression and provide first hints for epigenetic alterations during spermatogenesis.

P08

NOX, NE and MPO are Essential for Human Spermatozoa-induced Net Formation

R. Sanchez¹, F. Zambrano¹, R. Villagra², T. Carrau², T. Fichtner², U. Gärtner³, A. Seipp², A. Taubert², C. Hermosilla²

¹Universidad de La Frontera; ²Institute of Parasitology, Temuco, Chile; ³Institute of Anatomy and Cell Biology, Justus-Liebig-University, Gießen, Germany

Introduction When leukocytosis processes occur in the female reproductive tract, the spermatozoa are deposited in the presence of neutrophils. In 2004, a new antimicrobial mechanism was found in which activated neutrophils release nuclear DNA associated with proteins, forming extracellular neutrophil traps (NETs), which trap and eliminate foreign bodies. The object of this work was to determine whether the human spermatozoon is a sufficient stimulus to trigger release of extracellular neutrophil traps (NETs), in a manner which is dose-dependent over time, and to assess what sequelae direct exposure to NETs may have in spermatozoa.

Materials and Methods SEM (Scanning electron microscopy) photographs were taken of the interaction between neutrophils and spermatozoa, together with immunofluorescence of the main components of NETs. Release of NETs was quantified by Pico Green staining, assessing the kinetics and different exposure rates. Different inhibitors of the NETs structures were tested, and their effects on the mobility of spermatozoa were evaluated.

Results The SEM photographs showed cell adhesion between neutrophils and spermatozoa, and the formation of NETs. Quantification of the NETs showed that they increase significantly ($p < 0.05$) when they are incubated at a proportion of 1:6 (neutrophils : spermatozoa) for 2 h. When samples at this ratio were examined over time it was found that NETs formation increases ($p < 0.05$) from 120 min exposure. Evaluation of the effect of the inhibitors showed that CMK and ABAH inhibit NETs formation significantly ($p < 0.05$). Immunofluorescence photographs confirmed the formation of neutrophil traps. The progressive mobility of spermatozoa measured after different periods of exposure

(0, 1, 2 and 3 h) to increasing doses of neutrophils (1:18, 6:18 and 9:18) showed that after 1 hour the mobility reduced significantly ($p < 0.001$) in the 2 groups with the highest proportion of neutrophils (Fig. 3)

Conclusion We show that the human spermatozoon is a sufficient stimulus to trigger the release of NETs; this response is dose-dependent and increases with exposure time. The spermatozoa undergo changes in mobility, suggesting that this interaction may be detrimental to the probability of successful fertilisation.

Grants: This work was supported by PROYECTO CEGIN 09CN14-5960 INNOVA CORFO, Government of Chile.

P09

MALDI-TOF Mass Spectrometry and NMR Spectroscopy as Indispensable Tools for Lipid Analysis of Human Spermatozoa

K. M. Engel, U. Paasch, J. Schiller

Klinik und Poliklinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie, Andrologie, Leipzig, Deutschland

Introduction Due to an increasing undesired childlessness, methods allowing the fast assessment of human spermatozoa quality are urgently needed. In the present study, the applicability of NMR spectroscopy and MALDI-TOF mass spectrometry to the analysis of the (phospho)lipid composition of human and other mammalian spermatozoa as well as seminal fluids was investigated.

Methods Sperm and seminal plasma from fresh ejaculates were separated by centrifugation. Lipid extraction was either performed on fresh or cryopreserved spermatozoa by chloroform/methanol according to the procedure by Bligh and Dyer. Organic extracts were subsequently analysed by (a) MALDI-TOF mass spectrometry using 0.5 M 2,5-dihydroxybenzoic acid (DHB) as matrix and (b) high resolution ¹H and ³¹P NMR spectroscopy.

Results Both, MALDI and NMR spectra indicated a high content of double bonds within the organic spermatozoa extracts but no marked differences between native and cryopreserved spermatozoa. Mass spectrometry

detected intense peaks which could be assigned to highly unsaturated phosphatidylcholines containing docosahexaenoyl (22:6) residues. In contrast, the seminal plasma contained more saturated lipids, particularly more saturated sphingomyelin.

A freezing/thawing cycle changed the lipid composition of spermatozoa significantly. While the content of phosphatidylcholines and sphingomyelin decreased, lysophosphatidylcholines and ceramide appeared. Analogous changes were also observed if the so-called “acrosome” reaction was induced by the addition of calcium ionophores. These results were finally confirmed by experiments on the action of phospholipases on isolated phospholipids such as PC 16:0/22:6.

Conclusion Our data clearly demonstrate that lipid degradation by the release and/or the activation of both phospholipase A2 and sphingomyelinase in human spermatozoa due to the freezing/thawing cycle occurs. MALDI-TOF mass spectrometry and NMR spectroscopy are both suitable and complementary methods to get information about the lipid status as well as changes in the lipid content of spermatozoa.

P10

Untersuchung der Spermien-Glykokalyx bei normalen und pathologischen Ejakulatqualitäten

S. Bour, R. Paschold, A. Becker, C. G. Stief, M. Trottmann
Urologische Klinik und Poliklinik, Ludwig-Maximilians-Universität München, Deutschland

Fragestellung Die Ursachen einer männlichen Infertilität sind heterogen. Als großer Anteil liegt als Ausschlussdiagnose bei 30–44 % eine idiopathische Genese vor. Erst kürzlich konnte gezeigt werden, dass im humanen Eileiter ein Spermienreservoir gebildet wird, das eine Befruchtungsfähigkeit der Spermien über mehrere Tage mitbegründet. Man vermutet, dass diese Bindung, wie im Tiermodell gezeigt, u. a. auf einer Lektin-Kohlenhydratrest-Erkennung beruht. Im Fall einer gestörten Bindung könnte dies zu einer funktionellen Beeinträchtigung der Fertilität sowohl beim Mann als auch bei der Frau führen. Die vorliegende Studie soll mögliche beteiligte Zuckerreste auf der Spermienoberfläche charakterisieren und klären, ob eine Verwendung in der andrologischen Diagnostik praktikabel wäre.

Methoden Im Rahmen einer andrologischen Diagnostik an der LMU München wurden 100 frische humane Ejakulate unterschiedlichster Qualität (Normozoospermie bis OAT-Syndrom) untersucht. Mittels Western-Blot soll der Nachweis von Glykoproteinen erbracht werden, die spezielle Zuckerreste (Sialinsäure, Mannose, Fucose) binden. Zusätzlich erfolgte eine Fluoreszenz-Färbung von Ausstrichen mit Hoechst3342 und FITC-konjugierten Zuckerresten. Die fluoreszenzmarkierten Proben wurden konfokalmikroskopisch untersucht und die Fluoreszenz qualitativ und quantitativ analysiert.

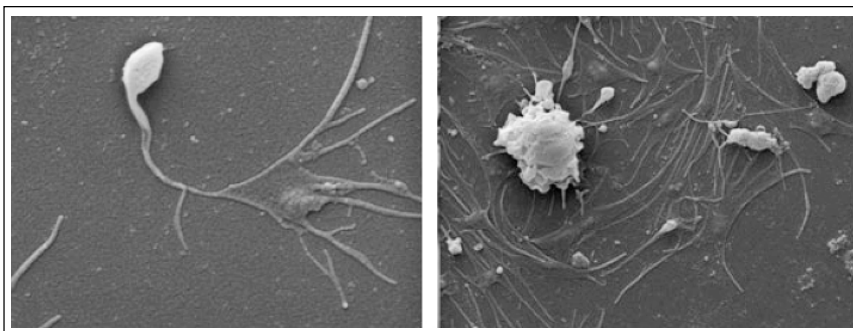


Figure 3. R. Sanchez, et al. (P08). NETs formed by human sperm after 2 h exposure with PMN. Scanning electron microscopy analysis shows the activation of neutrophils in the presence of human sperm that shows clearly the formation of NET.

Ergebnisse Nach den Ergebnissen des Lektin-Blots können deutliche Unterschiede in der Expression von Glykoproteinen im humanen Spermium zwischen den einzelnen Patienten differenziert werden. Die Proteine, die Sialinsäure binden, variierten in der Größe zwischen 160 und 10 kDa. Auffällig sind veränderte Expressionsmuster bei Sialinsäure-bindenden Glykoproteinen bei einem Patienten mit OAT-Syndrom im Vergleich zu normozoospermen Patienten. Fluoreszenzaufnahmen zeigten, dass die Verteilung der Proteine im Wesentlichen auf die Akrosom-Region des Spermienkopfes beschränkt ist. Der Anteil der Spermien mit gebundenen Zuckern sowie die Menge der gebundenen Kohlenhydratreste variiert stark zwischen den Patienten.

Schlussfolgerungen Die Expression von Glykoproteinen auf der Oberfläche von Spermien könnte mit einer eingeschränkten Fertilität korrelieren. Es sind weitere Studien nötig, um diese Annahme mit Risikogruppen in Verbindung zu bringen. Mithilfe einer Fluoreszenz-gestützten Diagnostik können in Zukunft molekulare Marker auf der Oberfläche von Spermien nachgewiesen werden, die eine wichtige Rolle bei der Befruchtung und Bildung eines Spermienreservoirs einnehmen.

P11

Isolate Gradient as a Suitable Replacement for Percoll in Assisted Re-Production Techniques in Cattle

B. Sepulveda Rebolledo¹, M. E. Arias², R. Sanchez², F. Zambrano², R. Felmer²

¹Universidad Mayor, ²Universidad de La Frontera, Temuco, Chile

Introduction In assisted reproductive techniques it is essential to perform a sperm selection to obtain gametes with high motility and membrane integrity for *in vitro* fertilization (IVF) and high DNA integrity for intracytoplasmic sperm injection (ICSI). Percoll gradient centrifugation was the method of choice for the separation of bovine sperm in IVF laboratories. However, Percoll causes an inflammatory response in reproductive tissues, alters the sperm adhesion, and has an endotoxic effect that increases embryo fragmentation and reduces the pregnancy rate. Similarly to humans, Percoll is not recommended for commercial IVF purposes in cattle. In the present study we evaluated whether Isolate was a suitable substitute for Percoll in assisted reproduction techniques.

Material and Methods Commercial cryopreserved semen from two different bulls were used after sperm selection in both gradients and viability (SYBR14/PI), acrosome (PNA-FITC/PI), oxidative stress (CH 2FDFA), DNA integrity (TUNEL) and mitochondrial membrane potential (8ψ) (TMRM) were determined by flow cytometry and motility parameters were assessed by CASA.

Statistical analysis Differences among treatments were analyzed using one-way ANOVA after arcsine transformation of the propor-

tional data. To identify differences between groups a post-Tukey test was performed, with a significance level of $p < 0.05$. The values were expressed in % (mean \pm SD).

Results In pooled samples from both bulls, a higher percentage of sperm with intact plasma membrane, acrosome integrity and high 8ψ was observed in both sperm selection methods compared to the control. The plasma membrane integrity assessed by SYBR-14/PI in frozen/thawed sperm without selection was 46% (control). However, after gradient sperm selection there was a significant ($p < 0.05$) increase in this parameter to 84.1 and 68.7% for Percoll and Isolate, respectively. The evaluation of acrosome membrane integrity by PNA-FITC showed an increase in the percentage of spermatozoa with intact acrosome membrane in Percoll (84%) compared to the control (62.6%), although no differences were observed between the two sperm selection methods (84% vs. 77% for Percoll and Isolate, respectively). The mitochondrial membrane potential determined by JC-1 showed an increase in spermatozoa with a high mitochondrial membrane potential after applying both sperm selection methods. This increase went from 57.6% (control) to 86.5% for Percoll.

Conclusion Isolate generated a similar recovery of motile spermatozoa with intact plasma membrane, acrosome integrity and mitochondrial membrane potential and showed no alterations in the intracellular levels of ROS, and DNA damage, compared to Percoll, providing a good alternative for replacement of this sperm selection gradient in ARTs.

Grants: This work was supported by Proyecto de Inserción de Capital Humano Avanzado en la Academia N° 79130018 (Dra. María Elena Arias). PAI-CONICYT, Chile.

P12

Short-term Exposure of Mature Oocytes to 3-Morpholinopyridone in vitro Increases Number of Expanded Blastocysts and Modified Gene Expression in Cattle

B. Sanchez, P. Loren, C. Chequeman, E. Sanchez, J. Risopatron, M. E. Arias, R. Felmer
Universidad de La Frontera, Temuco, Chile

Introduction Short-term exposure of gametes to different types of stress might induce stress tolerance in mammalian embryos. The aim was to evaluate the short-term exposure of bovine mature oocytes to 3-morpholinopyridone (SIN-1) on subsequent *in vitro* embryo development, embryo quality and relative gene expression.

Material and Methods In each experimental assay (20–25 embryos per replicate/treatment), after IVM, matured cumulus-oocyte complexes (COCs) were randomly exposed to one of five different SIN-1 concentrations:

0 (Control), 0.1, 1, 10 or 100 μM SIN-1 for 1 hour at 38.5 °C in 5% CO₂ and in humidified air. After exposure, treated COCs were washed separately using IVF-TALP and then transferred to IVF plates. Cleavage and blastocyst rates were recorded at 72 hours and at Day 7, respectively. Embryo quality was assessed by differential staining. Gene expression of 12 genes involved in NO production (*nNOS*, *iNOS*, *eNOS*), stress tolerance (*HSPA1A*), oxidative stress (*HIF1A*, *PRDX5*, *SOD1*, *SOD2*), apoptosis (*BCL2A1*) and specific factors of early embryonic development (*CDX2*, *OCT4*, *NANOG*) were analyzed in the expanded blastocyst by real-time quantitative PCR.

Results The cleavage rate at 72 hours did not show differences among groups. However, the blastocyst rate on Day 7 decreased gradually in a dose-dependent manner. Embryo quality analysis did not show differences in total cell number (TCN) or inner cell mass (ICM) among groups. Relative gene expression analysis showed down regulation of *eNOS* expression and up regulation of *nNOS* expression in all treatments evaluated compared to the control group. Also, down regulation was observed in some treatments: *SOD2* at 0.1 μM; *SOD1* at 0.1 and 100 μM; *PRDX5* at 0.1, 10 and 100 μM; and *NANOG* at 10 and 100 μM; and up regulation of *CDX2* expression at 100 μM. The other genes (*OCT4*, *HIF1A*, *HSPA1A*, *BCL2A1* and *iNOS*) did not show differences in the relative gene expression. Use of the SIN-1 in concentrations of 0.1 and 10 μM increased the rate of expanded blastocysts (63% and 69%, respectively vs. 45% in the control group) and maintained proper embryo quality compared to the control group.

Conclusion Short-term exposure of mature bovine oocytes to the ROS and RNS donor SIN-1 with 0.1 and 10 μM SIN-1 increased the rate of expanded blastocysts and maintained proper embryo quality compared to the control group. The increased number of expanded blastocysts is important as this information can be used in assisted reproductive techniques such as cryopreservation and embryo transfer. Our study provides information on the effects of bovine oocyte exposure to SIN-1, an O₂- and NO-donor. To our knowledge, no study has yet addressed the possibility of inducing stress tolerance in oocytes through their exposure to SIN-1 with the aim of improving *in vitro* embryo production. However, this compound seems unable to induce stress tolerance in bovine blastocysts. Further research is needed to clarify the complete mechanism underlying the effect of SIN-1.

Grants: This work was supported by FONDECYT Grant N° 1130888, CONICYT, Government of Chile.

■ Klinische Forschung

P13

Effekte der Langzeitbehandlung mit Testosteron-Undecanoat (TU) bei hypogonadalen Männern mit Osteoporose in einer kontrollierten Registerstudie

K. S. Haider¹, A. Haider¹, G. Doros², A. Traish³, F. Saad^{4,5}
¹Urologische Praxis, Bremerhaven, Deutschland; ²Boston University School of Public Health; ³Boston University School of Medicine, Boston, USA; ⁴Bayer Pharma AG, Global Medical Affairs Andrology, Berlin, Deutschland; ⁵Gulf Medical University, Ajman, Vereinigte Arabische Emirate

Fragestellung Obwohl Testosteron für die Behandlung der Osteoporose beim Mann nicht indiziert ist, ist die Wirkung auf Knochendichte hinreichend belegt. Wir analysierten in unserer Registerstudie Effekte der Testosteronbehandlung bei hypogonadalen Männern im Vergleich zu einer unbehandelten Kontrollgruppe.

Methoden Von 656 hypogonadalen Männern hatten 99 eine Osteoporose. 63 erhielten eine Testosteronbehandlung mit TU 1000 mg alle 12 Wochen nach einem Anfangsintervall von 6 Wochen bis zu 8 Jahre (T-Gruppe). 33 Männer hatten sich gegen eine Testosteronbehandlung entschieden und dienten als Kontrollgruppe (KTRL). Die mediane Beobachtungszeit war 6 Jahre in der T-Gruppe und 7 Jahre in KTRL. Ein kombinierter T-Score (Lendenwirbelsäule und Hüfte) wurde vom Orthopäden 2–4× jährlich gemessen und übermittelt. Um Unterschiede der Ausgangswerte zwischen den Gruppen zu berücksichtigen, wurden die mittleren Änderungen nach Alter, Gewicht, Bauchumfang, Nüchternzucker, Blutdruck, Lipiden und AMS adjustiert.

Ergebnisse Das mittlere Alter betrug 54,4 ± 8,4 Jahre in der T-Gruppe und 64,9 ± 4,1 in KTRL. 30 Patienten in der T-Gruppe hatten Klinefelter-Syndrom (KS). Von diesen waren 28 mit Verdacht auf Testosteronmangel und mögliches Vorliegen eines KS vom Orthopäden überwiesen worden.

In der T-Gruppe waren die meisten Patienten unbehandelt. Drei Patienten erhielten Vitamin-D-Kalziumpräparate, nur 1 erhielt Alendronat. In KTRL nahmen alle Patienten Vitamin-D-Kalziumpräparate, 17 nahmen kontinuierlich Alendronat, 10 hatten Alendronat eine Zeitlang genommen und es dann wegen Nebenwirkungen abgesetzt.

Die mittleren T-Scores verbesserten sich kontinuierlich in der T-Gruppe von -3,36 ± 0,57 auf -1,08 ± 0,61 nach 8 Jahren.

Bis auf 6 Patienten in der T-Gruppe waren zum letzten Beobachtungszeitpunkt alle in der Kategorie Osteopenie (T-Score von -1 bis -2,49). Die 6 Patienten, die immer noch das Osteoporose-Kriterium erfüllten (T-Score ≤ 2,5) waren die mit der kürzesten Behandlungsdauer (18–36 Monate). Alle 33 Patienten in KTRL waren zum letzten Beobachtungszeitpunkt immer noch in der Osteoporose-Kategorie.

Vier größere Frakturen (3 Oberschenkelhals-, 1 Oberarmfraktur) ereigneten sich in KTRL, außerdem 8 Schlaganfälle, 3 Herzinfarkte und 1 Todesfall. In der T-Gruppe gab es 1 Todesfall durch Verkehrsunfall.

Schlussfolgerungen Langzeitbehandlung mit TU bei hypogonadalen Männern mit Osteoporose führt zu nachhaltiger Verbesserung der Knochendichte. Die Standardbehandlung mit Vitamin-D-Kalzium und/oder Bisphosphonaten brachte keinerlei Verbesserung. Es ist wichtig, dass Orthopäden über die Zusammenhänge von Hypogonadismus und Osteoporose, insbesondere bei KS, informiert sind.

P14

Akzeptanz und Verträglichkeit von axillärem Testosterongel (Axiron®) bei symptomatischem Hypogonadismus

K. A. Probst, F. Groenewold, M. Janssen, M. Stöckle, S. Siemer
 Klinik für Urologie und Kinderurologie, Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg, Deutschland

Fragestellung Zu den Leitsymptomen des Hypogonadismus gehören Leistungsabfall, Libidoverlust und erektile Dysfunktion. Bei Nachweis eines Testosteronmangels und gleichzeitigem Vorliegen von Symptomen gibt es vielfältige Optionen zur Substitution, seit 04/2014 ist in Deutschland auch die axilläre Gelapplikation (AT) mit Axiron® verfügbar. Anhand unserer Datenbank analysierten wir die Akzeptanz der Patienten gegenüber dieser Applikationsform sowie Effektivität und Verträglichkeit des Präparates.

Methoden Zwischen 01/2011 und 01/2016 wurden insgesamt 87 Patienten mit Testosteron-Substitutionstherapie (TRT) in unserer Datenbank erfasst. Hiervon erhielten n = 29 Patienten primär AT oder wurden darauf von einem anderen Präparat umgestellt (Initialdosis: 60 mg). Wir analysierten anschließende Therapieabbrüche oder Wechsel, Auftreten von Nebenwirkungen/Unverträglichkeiten sowie die Testosteron- (T-) Spiegel bei den Kontrollvorstellungen, welche im Schnitt 4 Wochen (T1) bzw. 3 Monate (T2) nach Therapiebeginn erfolgten. Hierbei wurden auch Hämatokrit, Lipid- und PSA-Spiegel kontrolliert.

Ergebnisse Der mittlere Testosteronspiegel von Patienten, welche die TRT mit AT begannen (n = 25) betrug 2,48 mg/dl (Range 1,0–4,0 mg/dl). Der mittlere T-Spiegel aller Patienten (n = 29) bei T1 betrug 4,9 mg/dl (Range 1,3–14,8 mg/dl), bei T2: 5,22 mg/dl (Range 1,74–8,46 mg/dl). Bei n = 4 Patienten kam es zu Nebenwirkungen bzw. Problemen bei der Anwendung (Hautreizungen und Verfärben der Kleidung), bei einem Patienten führte dies zum Wechsel des Präparates. Ein weiterer Patient wechselte aufgrund fehlenden Therapieansprechens, bei allen anderen Patienten (n = 28) kam es zu einem deutlichen Rückgang der Symptomatik. Bei n = 3 Patienten musste die Dosis im Verlauf auf 30 mg/d reduziert, bei n = 1 Patienten auf 90 mg/d er-

höht werden. Kein Patient zeigte Auffälligkeiten hinsichtlich Lipidspiegel, Hämatokrit oder PSA-Spiegel im Beobachtungszeitraum (im Mittel 5,2 Monate; Range 2–17 Monate).

Schlussfolgerungen Insgesamt ist AT eine nebenwirkungsarme Therapie mit guter Symptomreduktion. Aufgrund des unterschiedlichen Ansprechens sind kurzfristige Laborkontrollen sinnvoll, damit die Dosis ggf. angepasst werden kann. Um die Langzeiteffektivität und -verträglichkeit besser beurteilen zu können, werden noch weitere Follow-up-Daten erhoben.

P15

Langzeiteffekte der Behandlung mit Testosteron-Undecanoat (TU) bis zu 8 Jahren auf urogenitale Funktionen bei hypogonadalen Männern im Vergleich zu einer unbehandelten Kontrollgruppe in einer Registerstudie einer urologischen Praxis

K. S. Haider¹, A. Haider¹, G. Doros², A. Traish³, F. Saad^{4,5}
¹Urologische Praxis, Bremerhaven, Deutschland; ²Boston University School of Public Health; ³Boston University School of Medicine, Boston, USA; ⁴Bayer Pharma AG, Global Medical Affairs Andrology, Berlin, Deutschland; ⁵Gulf Medical University, Ajman, Vereinigte Arabische Emirate

Fragestellung Die längsten randomisierten kontrollierten Studien zur Testosterontherapie haben eine Dauer von 3 Jahren. In einer laufenden Registerstudie untersuchen wir Langzeiteffekte auf urogenitale Funktionen im Vergleich zu einer Kontrollgruppe.

Methoden 656 Männer (mittleres Alter: 60,7 ± 7,2 Jahre), Gesamttestosteron (T) ≤ 12,1 nmol/l und symptomatisch nach Aging Males Symptoms Fragebogen (AMS). 360 Männer erhielten eine Testosteronbehandlung mit TU 1000 mg alle 12 Wochen nach einem Anfangsintervall von 6 Wochen bis zu 8 Jahre (T-Gruppe). 296 Männer hatten sich gegen eine Testosteronbehandlung entschieden und dienten als Kontrollgruppe (KTRL). Die mittleren Änderungen zwischen beiden Gruppen wurden über die Zeit verglichen. Um Unterschiede der Ausgangswerte zwischen den Gruppen zu berücksichtigen, wurden die Änderungen nach Alter, Gewicht, Bauchumfang, Nüchternzucker, Blutdruck, Lipiden und AMS adjustiert.

Ergebnisse T stieg von 9,8 ± 1,3 auf Tiefstwerte zwischen 16 und 17 nmol/l in der T-Gruppe. In der T-Gruppe stieg der IIEF-EF (maximale Punktzahl: 30) von 19,5 ± 5,0 auf 25,9 ± 3,0 mit einer Veränderung zum Ausgangswert von 6,0. Der Anstieg war statistisch signifikant zum Vorjahr über die ersten 4 Jahre und blieb dann stabil. In KTRL fiel der IIEF-EF von 20,5 ± 3,1 auf 11,7 ± 1,6 nach 8 Jahren um 9,5 Punkte. Das Prostatavolumen stieg von 29,2 ± 10,4 auf 31,1 ± 1,5 ml.

Das Restharnvolumen in der T-Gruppe stieg von 47,3 ± 22,8 auf 13,7 ± 4,6 ml, in KTRL von 48,3 ± 16,3 auf 64,5 ± 22,2 ml. Differenz zwischen den Gruppen: -52,8 ml.

Der IPSS fiel in der T-Gruppe von $6,4 \pm 4,0$ auf $2,0 \pm 1,0$ und stieg in KTRL von $4,5 \pm 2,0$ auf $6,5 \pm 2,6$. Differenz zwischen den Gruppen: $-4,8$.

In KTRL ereigneten sich 21 Todesfälle, 28 Schlaganfälle und 25 Herzinfarkte, in der T-Gruppe 2 Todesfälle.

Die Medikamenten-Adhärenz betrug 100 %, da alle Injektionen in der Praxis verabreicht und dokumentiert wurden. Drop-outs gab es nicht.

Schlussfolgerungen Langzeittherapie mit TU in einer unselektierten Kohorte hypogonadaler Männer resultierte in Verbesserungen urogenitaler Funktionen, während bei unbehandelten Kontrollen mit zunehmendem Alter eine Verschlechterung auftrat, die offenbar unabhängig von der Prostatagröße war. Langzeittherapie mit TU scheint den urogenitalen Alterungsprozess zu verzögern. Die exzellente Patienten-Compliance lässt auf ein hohes Maß an Patienten-Zufriedenheit schließen.

P16

Frühdagnose einer Osteoporose unter Androgendeprivationstherapie eines Prostatakarzinoms mittels Osteodensitometrie

S. Naique¹, C. Lang¹, M. Bach², H. Derouet^{1,3}

¹Klinik für Urologie, Knappschafts Krankenhaus Sulzbach;

²X-Care Praxis für Radiologie und Nuklearmedizin;

³Gemeinschaftspraxis, Urologisches Zentrum am Boxberg, Neunkirchen, Deutschland

Einleitung Die Osteoporose stellt ein potentiell hohes Risiko der Langzeitanwendung einer Androgendeprivationstherapie beim Prostatakarzinom dar. Ziel der vorliegenden Studie war es, frühzeitig eine Osteoporose bei Prostatakarzinompatienten unter dieser Therapieform zu erfassen, um das Eintreten von Komplikationen rechtzeitig durch die Gabe adäquater Gegenmaßnahmen (z. B. Bisphosphonate, Denosumab) zu verhindern.

Material und Methoden Bei 40 Patienten (Alter 72–92 Jahre) nach einer Androgendeprivationstherapie von 2–20 Jahren wurde eine standardisierte Osteodensitometrie-Diagnostik mittels radiologischem DEXA-SCAN durchgeführt. Der DEXA-Scan misst die Knochenmineraldichte der Lendenwirbelsäule (von L1–L4) und der Hüfte (T-Score: $< -2,5$ Osteoporose, -1 bis $-2,5$ Osteopenie, 0 bis -1 normal) und vergleicht sie mit einem Normalkollektiv. Danach erfolgt eine Einteilung der untersuchten Patienten in normale Knochenmineraldichte, Osteopenie und Osteoporose. Es wurden zusätzlich anamnestisch bei jedem Patienten weitere potentielle Risikofaktoren für eine Osteoporose erfasst.

Bisherige Ergebnisse Bei den bisherigen Untersuchungen zeigten 5/40 Patienten (13 %) einen Normalbefund. Eine manifeste, behandlungsbedürftige Osteoporose wurde bei 18/40 Patienten (45 %) nachgewiesen. Bei 17/40 Patienten (42 %) lag lediglich eine Osteopenie vor.

Bei nachgewiesener Osteoporose bzw. Osteopenie waren die betroffenen Regionen nahezu gleichmäßig auf Lendenwirbelsäule und Femur verteilt. Es ergab sich keine Bevorzugung einer Region. Die Dauer der Androgendeprivation korrelierte in dem untersuchten Kollektiv nicht mit der Ausprägung der Osteoporose bzw. Osteopenie.

Hinsichtlich der anamnestischen Risikofaktoren korrelierten koronare Herzkrankheit und körperlicher Aktivitätsminderung bzw. Inaktivität positiv mit der Diagnosestellung einer Osteoporose.

Schlussfolgerungen Die vorliegende Untersuchung belegt den negativen Einfluss einer Androgendeprivationstherapie beim Prostatakarzinom auf den Knochen. Die DEXA-Messung sollte daher in das therapeutische Management der Patienten eingebaut werden, um vor Eintreten von Komplikationen intervenieren zu können. Die Entwicklung einer Osteoporose korrelierte allerdings nicht allein mit der Dauer der Androgendeprivationstherapie. Individuelle Kofaktoren wie Aktivitätsmangel, auch bedingt durch eine schwere Komorbidität (KHK), scheinen eine wichtige Rolle zu spielen.

P17

Einfluss der Ernährung auf die Sexualhormone

B. Schwindl

Kliniken Nordoberpfalz AG, Urologie, Weiden, Deutschland

Der Ernährungszustand in seinen Extremen wie Adipositas bzw. Kachexie hat signifikante Veränderungen des Hormonhaushaltes zur Folge.

Die Wertigkeit einer ausgewogenen, vitamin- und ballaststoffreichen Ernährung wird anhand von Beispielen aufgezeigt. Die Bedeutung der Substitution mit Mikro-, Pflanzennährstoffen, Vitaminen und Spurenelementen wird kritisch diskutiert. Ein Mangel (z. B. Vitamin B 12 bei veganer Ernährung) oder auch ein Defizit (nach 2011 geänderten Normwert häufig nachweisbares Vitamin-D-Defizit) sollten ergänzt werden. Eine Zink-Ergänzung (11 mg/Tag) kann die Sexualfunktion durch Aktivierung der Testosteron-Rezeptoren verbessern. L-Arginin ist in hoher Dosis (3–5 g/Tag) ist als NO-Lieferant einsetzbar.

Auf die Risiken endokriner Störung durch Alkohol, Drogen (z. B. Dopamin-Stoffwechsel bei Crystal-Meth), Doping, Fremd-Östrogene etc. wird hingewiesen.

Demonstriert wird dies anhand von ausgewählten Patientencharakteristika mit besonderem Augenmerk auf klinische und laborchemische Parameter (wie DHEA, Östrogen, Progesteron und Testosteron, IGF-1, TSH und SHBG-Werte).

Neben eigener klinischer Erfahrung wird die Medline/Pubmed-Recherche zugrunde gelegt.

P18

A Rare Case of Sex Reversal During Puberty

G. Meyer¹, M. Sohr², K. Badenhoop¹, J. Bojunga¹

¹Endokrinologie, Medizinische Klinik I, Universitätsklinikum, Johann-Wolfgang-Goethe-Universität, Frankfurt a. M.; ²Urologische Klinik, Markus Krankenhaus, Frankfurt a. M., Deutschland

A 34-year-old refugee from Somalia was referred because of a suspected DSD. Due to ambiguous, but predominantly female external genitalia at birth he was raised as a girl, whereas his subjective gender identity has always been male. Puberty led to a significant virilization of the body but only to a very limited virilization of the external genitalia. The patient presented himself with an undoubtedly male-type body composition. External genitalia were now predominantly male with micropenis and hypospadias glandis. Small testes could be palpated in both labia between which a small perineal orifice appeared. Sex hormones LH, FSH, testosterone (T), dihydrotestosterone (DHT) DHEAS and androstenedione lay within normal male ranges. Estradiol level was borderline elevated (54 pg/ml, n 27.1–52.2), whereas Müllerian inhibiting hormone was remarkably increased (35.48 ng/ml, n 1.5–4.3). Chromosome analysis showed a regular male karyotype. Highly increased T/DHT-ratio of 54 (n 8–16) in combination with the masculinization defect strictly limited to external genitalia led to the clinical diagnosis of steroid 5 alpha-reductase 2 deficiency (SRD). SRD is an autosomal recessive, 46, XY DSD leading to an impaired virilization during embryogenesis due to defective conversion of T to DHT. In affected subjects, 5-alpha-reductase activity is reduced in genital skin fibroblasts. Clinical presentation is highly variable from almost entirely female to almost entirely male external genitalia. Pubertal increase in T can be sufficient for virilization of the remainder body at the time of expected puberty as seen in our patient. Consanguinity of patient's parents suggests a homozygous mutation in the SRD5A2 gene and a molecular genetic analysis is ongoing in order to identify the mutation. Over 50 different mutations have been described in the past.

Conclusion This case of a rare DSD elucidates impressively how an enzyme deficiency affects the mechanisms of androgen action in the process of sexual differentiation.

P20

Fertilitätserhalt bei jungen Männern mit Krebs

A. Valipour^{1,2}, S. Osowski², A. Dreher², F. R. Ochsendorf¹, I. Schäfer³, T. Weberschock^{1,2}

¹Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie; ²Arbeitsgruppe Evidenzbasierte Medizin, Institut für Allgemeinmedizin, Johann-Wolfgang-Goethe-Universität, Frankfurt a. M.; ³Institut für Versorgungsforschung in der Dermatologie und bei Pflegeberufen, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Deutschland

Fragestellung Jährlich erkranken in der Europäischen Union über 100.000 junge Männer an Krebs [1]. Leitliniengerechte Therapien umfassen häufig sowohl fertilitätseinschränkende Behandlungen wie Chemotherapie, Radiatio und Operationen, als auch Empfehlungen zur Aufklärung über die Möglichkeit der Kryokonservierung. Wir untersuchten in der vorliegenden systematischen Übersichtsarbeit, welcher Anteil krebserkrankter Männer vor Initiierung einer Krebstherapie eine Aufklärung hierüber erhält, bzw. eine Fertilitätsreserve anlegt.

Methoden Es wurden die Datenbanken PubMed, EMBASE, Cochrane CENTRAL und DARE seit Beginn der Kryokonservierung menschlicher Spermien im Jahr 1939 durchsucht [2]. Eingeschlossen wurden Studien zur Häufigkeit der Aufklärung und Anlage von Fertilitätsreserven bei Männern zwischen 15 und 49 Jahren mit Diagnose einer der 10 häufigsten Krebserkrankungen in ihrer Alters- und Geschlechtsgruppe, gemessen an Inzidenzdaten der Europäischen Union [1]. Zudem inkludierten wir die Diagnose des Prostatakarzinoms. Zwei Autoren führten unabhängig die Selektion, Bewertung und Datenabstraktion der Studien durch.

Ergebnisse Aus 9894 Abstracts konnten über 148 Volltexte letztlich 12 Arbeiten in die Auswertung eingeschlossen werden. Insgesamt liegt der Anteil über Fertilitätserhalt aufgeklärter Patienten zwischen 23,4 % und 100 %. Demgegenüber ist der Anteil an Patienten, die diese Möglichkeit letztlich wahrnehmen, mit 15,2 % bis 92 % jeweils etwas geringer. Den höchsten Anteil an durchgeführten Kryokonservierungen zeigen Arbeiten zu jungen französischen Heranwachsenden im Alter von 15–19 Jahren mit Hodenkrebs (90 %) beziehungsweise hämatologischen Malignomen (92 %).

Schlussfolgerungen Die unterschiedlichen Aufklärungsraten können aufgrund der Verteilungen ansatzweise durch Faktoren wie jüngeres Alter bzw. Stand der individuellen Familienplanung, aber auch gesetzliche Vorgaben und Kostenerstattung erklärt werden. Vollständige Aufklärungsraten wurden nur innerhalb von Studien erreicht. In einem weiteren Schritt gilt es Maßnahmen zu identifizieren, die zu höheren Aufklärungsraten führen.

Literatur:

1. Ferlay J, et al. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet]. International Agency for Research on Cancer 2013, Lyon, France. <http://globocan.iarc.fr> (zuletzt gesehen: 1.7.2016).

2. Shattles LB. The respiration of human spermatozoa and their response to various gases and low temperatures. *Am J Physiol* 1939; 128: 408–15.

P21

Plastische Penis-schlauchkorrektur beim Paraffinom – modifizierte Operation nach Reich in Kombination mit einer Skrotalplastik

D. Osmonov, A. Aksenov, C. M. Naumann, K.-P. Jünemann

Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel, Deutschland

Einleitung Ein Paraffinom des Penis und des Skrotums ist eine eher kasuistische klinische Situation. Sie entsteht durch subkutanes Autounterspritzen in die männlichen Geschlechtsorgane. Verschiedene Substanzen werden dazu verwendet, u. a. Vaseline, Paraffin oder sogar Stahlkügelchen. Im Verlauf können Komplikationen, wie chronische Schmerzen, Schwellungen, Dysurie, Dermatitis, Kavernitis bis hin zu oberflächlicher oder sogar tiefer Nekrose auftreten.

Material und Methoden Wir berichten über einen 38-jährigen Patienten, der sich in der andrologischen Sprechstunde mit einer rezidivierenden, ulzerierenden Entzündung der Genitalorgane bei Zustand nach subkutaner Autoinjektion von Paraffin vorstellte. Es zeigte sich ein massives Oleogranulom in Penis-schlauch und Skrotum. Die Penishaut war sehr derb mit zwei postentzündlichen Ulzerationen.

Ergebnisse Wir boten dem Patienten ein zweiteiliges Konzept an. Zunächst erfolgte eine ausgedehnte Hautexzision und eine plastische Deckung des Defektes mit skrotaler Haut (Operation nach Reich). Wir führten eine Hautexzision des Penis-schlaches mit Freipräparation bis zur Buck'schen Faszie und eine weitere skrotale Hautexzision mit kompletter Entfernung des Fremdkörpergranuloms durch. Danach erfolgte die Penis-schlauchplastik nach Reich. Dazu wurde eine Anker-Naht zwischen dem tiefsten Punkt des Skrotumdefektes bis zum Defekt am Frenulum gesetzt. Weiters erfolgte eine zirkuläre Naht zwischen Zirkumzisionswunde und Skrotum. Im kranialen Wundbereich wurde folgende plastische Deckung vorgenommen: 1.) Die zirkuläre Wunde nach Hautentfernung dorsal wurde längs vernäht. 2.) Die Skrotalhaut wurde auch im dorsalen Bereich zirkulär mit der Zirkumzisionswunde adaptiert.

Zehn Wochen später wurde die Skrotalplastik (Teil II) durchgeführt.

Zusammenfassung Die chirurgische Behandlung des Paraffinoms ist eine Herausforderung für den Urologen. Das Problem der chirurgischen Behandlung liegt vor allem im großen Hautdefekt. Alternativ zum Spalthauttransplantat kann auch die in Vergessenheit geratene OP-Technik nach Reich durchgeführt werden. Im unseren Fall wurden zwei OP-Schritte modifiziert: a.) Statt einer Tunnelierung des Penis wurde die Skrotalhaut im dorsalen Bereich zirkulär mit der Zirkumzisionswunde adaptiert. b.) Statt einer longitudi-

nalen Hautinzision mit Formung eines „Koffer-Griffes“ wurde eine Skrotalplastik durchgeführt. Das Ergebnis der Operation war zufriedenstellend.

P22

Frühveränderung der Erektionsfunktion nach roboterassistierter Prostatektomie in Abhängigkeit der ein- oder beidseitigen Nervenschonung

K. A. Probst, K. Möller, M. Janssen, S. Siemer, M. Stöckle, C.-H. Ohlmann

Klinik für Urologie und Kinderurologie, Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg, Deutschland

Fragestellung Zu den wichtigsten Komplikationen einer radikalen Prostatektomie (RRP) gehört, neben der Inkontinenz, die erektile Dysfunktion. Mittels nervenschonender Op-Techniken wird versucht, die erektile Funktion (EF) zu erhalten. Literaturdaten zeigen jedoch, dass sich die EF nach Operation mit einer Latenz von bis zu 2 Jahren regeneriert.

Wir analysierten die frühen Follow-up-Daten von Patienten nach RRP mit ein- oder beidseitiger Nervenschonung (EnsRP, BnsRP) hinsichtlich ihrer erektilen Funktion (EF).

Methoden In einer prospektiven Datenbank erfassten wir n = 2192 Patienten, welche zwischen 09/2009 und 09/2015 einer RRP unterzogen wurden. Bei n = 1108 Patienten wurde eine EnsRP oder BnsRP durchgeführt, bei n = 236 Patienten lagen Follow-up-Daten zur EF vor (3 Monate postoperativ). Die Erfassung der EF erfolgte mittels Fragebögen (IIEF-5-Score). Wir beurteilten insbesondere die Veränderung des Scores bei Patienten mit vormals guter EF (GEF: IIEF-5 > 21) in Abhängigkeit der ein- oder beidseitigen Nervenschonung. Ein Rückgang der EF auf einen IIEF-5 Score von < 21 wurde als klinisch signifikante Verschlechterung gewertet (SEF).

Ergebnisse In der Analysegruppe (n = 236) zeigte sich insgesamt ein mittlerer präoperativer IIEF-5-Score von 18,7 sowie ein mittlerer postoperativer Score von 6,4. In der GEF-Gruppe (n = 99) betrug der mittlere Score präoperativ 23,8 und postoperativ 8,4.

Insgesamt wurden n = 133 Patienten (56,4 %) mittels BnsRP operiert; von den Patienten der GEF-Gruppe erhielten n = 61 eine BnsRP und n = 38 eine EnsRP.

Insgesamt lag postoperativ bei n = 221 Patienten (93,6 %) eine SEF vor. Nach EnsRP wurde eine signifikant höhere Rate an Patienten mit SEF (100 %) im Vergleich nach BnsRP (87 %) beobachtet (p ≤ 0,001).

Schlussfolgerungen Unsere Daten zeigen im frühen Follow-up eine deutliche Abnahme der EF nach RRP trotz nervenschonender Technik. Durch beidseitige Nervenschonung kam es zu einem signifikant besseren postoperativen Ergebnis hinsichtlich der EF. Um den Langzeit-Effekt beurteilen zu können, wird ein längeres Follow-up erhoben und ausgewertet.

P24

**Postorgasmic Illness Syndrome:
Fallbericht und Literaturübersicht**

B. Malisiewicz, R. Kaufmann, F. R. Ochsendorf
Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie,
Universitätsklinikum, Johann-Wolfgang-Goethe-Uni-
versität, Frankfurt a. M., Deutschland

Hintergrund Waldinger und Schweitzer berichteten 2002 über Patienten, welche nach dem Orgasmus nasale Kongestion, Augenbrennen und grippeähnliche Symptome angaben. Sie nannten diese Beschwerdesymptomatik „Postorgasmic illness Syndrome“.

Methoden Wir stellen einen Patienten mit diesem Krankheitsbild vor und diskutieren anhand der Literatur Pathogenese und Therapieansätze.

Ergebnisse/Fallbericht Ein 26-jähriger, ansonsten gesunder Patient leidet seit 4 Jahren ca. 10–15 Minuten nach der Ejakulation an Abgeschlagenheit, Konzentrationsstörungen sowie Tränen von Nase und Augen. Diese

Symptome hielten bis zu 5 Tage an. Die bisher durchgeführte allergologische, urologische und psychologische Diagnostik war unauffällig. Es konnte kein spezifisches IgE gegenüber rCAN f5 (Hund) und Seminalplasma nachgewiesen werden. Therapieversuche mit oralen Antiphlogistika und Antihistaminika (ca. 1 Stunde vor Ejakulation bzw. bis zu 2 Tage danach) besserten die Beschwerden nur mäßig.

Diskussion Die bisher beschriebenen Patienten hatten die gleiche Symptomatik wie der eigene Patient. Die Symptome traten innerhalb weniger Sekunden bis Stunden nach 90 % der Ejakulationen auf. Sie persistierten über 2–7 Tage und erreichten ihr Maximum oft erst nach 2 Tagen. Im Verlauf bildeten sie sich vollständig zurück. Bei 58 % der Betroffenen bestand eine atopische Diathese und bei 56 % eine *Ejaculatio praecox*. Es ließen sich keine assoziierten psychischen oder organischen Ursachen feststellen. Bei 88 % der Betroffenen war die Prick-Testung gegen das eigene Ejakulat positiv, sodass eine allergo-

logisch-immunologische Ursache postuliert wurde. Zwei Patienten wurden erfolgreich mittels einer spezifischen Immuntherapie mit autologem Sperma behandelt. Kritisch ist aber anzumerken, dass die Symptome nicht zu einer IgE-vermittelten Immunreaktion passen. Andere Arbeitsgruppen konnten zudem kein spezifisches IgE bei den Patienten nachweisen. Sie vermuten eher eine überschießende Zytokinsekretion nach der Ejakulation oder ein Ungleichgewicht im endogenen μ -Opioid-Rezeptorsystem. Vereinzelt wurde über eine Symptombesserung nach Gabe von nicht-steroidalen Antiphlogistika berichtet.

Schlussfolgerungen Diese Symptomkonstellation ist weiterhin unbekannt. Andrologen sollten die Beschwerden einordnen können. Eine ätiologische Klärung sowie die Evaluation von Therapieansätzen werden erst möglich sein, wenn man standortübergreifend Patienten mit diesen Beschwerden standardisiert diagnostiziert und versucht, zu behandeln.

Autorenverzeichnis

(nur federführende Autoren)

A	M	S
Aksenov A.P21 158	Malisiewicz B.P24 159	Sanchez R.P08 154
B	Marcon J.P05 153	Sanchez R.P11, P12 155
Bour S.P10 154	Meyer G.P18 157	Schmid N.P04 152
E	Míncheva M.P02 151	Schwarzer J. U. 148
Engel K. M.P09 154	N	Schwindl B.P17 157
G	Naique S.P16 157	Sharma S.P03 152
Giebler M.P07 153	O	Spiess A.-N.FV1 148
Glashauer L.FV4 149	Osmonov D.P21 158	T
H	P	Tok A.P06 153
Haider A.P15 156	Paschold R.P10 154	V
Haider K. S.FV6 150	Probst K. A.P14 156	Valipour A.P20 158
Haider K. S.P13 156	Probst K. A.P22 158	Vogt P. H.FV3 149
Hallanzy J.FV7 151	Püschl D.FV5 150	von Kopylow K.P01 151
Hammadeh M.FV2 149		Z
		Zambrano F.P08 154

Mitteilungen aus der Redaktion

Besuchen Sie unsere Rubrik

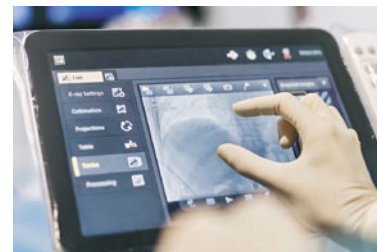
[Medizintechnik-Produkte](#)



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](#)