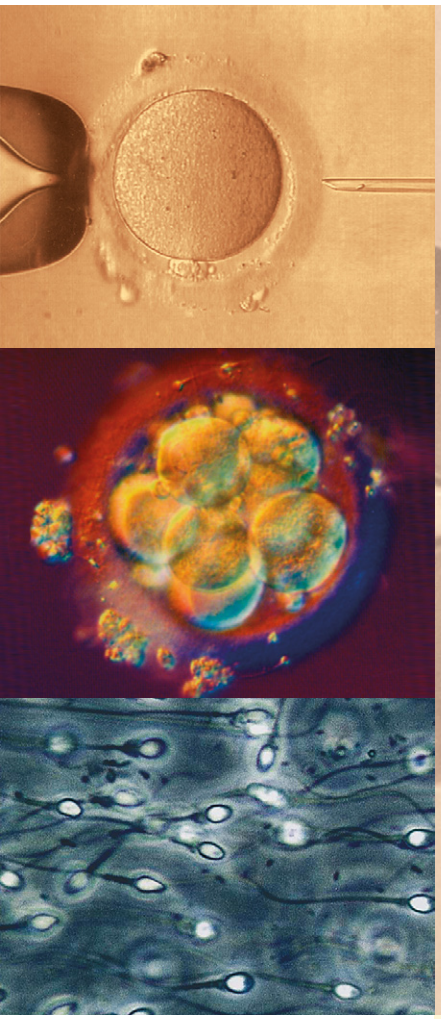
Journal für

Reproduktionsmedizin und Endokrinologie

– Journal of Reproductive Medicine and Endocrinology –

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



9. DVR-Kongress, 01.10.–02.10.2021 Virtuell - Abstracts

J. Reproduktionsmed. Endokrinol 2021; 18 (5), 248-265

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

SAVE THE DATE

11. DVR KONGRESS

27.11.-29.11.2025

Messe und Congress Centrum
Halle Münsterland **MÜNSTER**

Prof. Dr. rer. nat. Nina Neuhaus
Prof. Dr. med. Frank Tüttelmann
Prof. Dr. med. Volker Ziller

From Bench to Bedside and Back

For personal use only. Not to be reproduced without permission of Krause & Pachernegg GmbH.

9. DVR-Kongress
01.10.–02.10.2021
Virtuell

Abstracts*

POSTER

Endometrium, Endometriose, Myome, Fertilitätschirurgie

P01

Metformin treatment changes the expression of metastasis-associated genes and proteins in human endometrial cancer cell lines

J. Brüggemann, C. Lange, J. Jauckus, T. Strowitzki, A. Germeyer
Universitäts-Frauenklinik Heidelberg, Gynäkologische Endokrinologie und Fertilitätsstörungen, Heidelberg, Deutschland

Endometrial cancer (EC) is one of the most common malignancies in women. Risk factors for EC are unopposed estrogen levels, as often seen in women with diabetes mellitus type II (T2DM) or polycystic ovary syndrome (PCOS). Metformin, a drug used in T2DM and off-label in PCOS, significantly improved overall-survival in EC patients in retrospective studies. Additionally, several in-vitro studies discovered direct anti-cancer effects of metformin on different types of cancer. Further effects were investigated on gene and protein level in EC cells.

Methods In this in-vitro study, EC cell lines Ishikawa and HEC-1A were cultured under 12 different conditions over 7 days. Besides an untreated control, treatment with metformin (0.1 and 1.0 mmol/L), insulin (100 ng/mL) or a combination of both were applied in either normoglycemic (5.5 mmol/L) or hyperglycemic (17.0 mmol/L) medium supplemented with 10 nmol/L ß-estradiol.

Using a transcriptome array approach (> 160 genes), 10 genes were selected to be further investigated by qPCR. Promising effects on gene regulation after treatment were identified for COL1A1, TIMP2 and MMP9. For these genes, additional protein analysis was carried out by western blotting. Statistics were performed using a mixed-effect model and Tukey's multiple comparisons post-hoc test (significance at $p < 0.05$).

Results COL1A1 encodes the pro-alpha1 chain of type I collagen and may contribute to endometrial cancer metastasis. In Ishikawa cells, COL1A1 was downregulated when treated with high-dose metformin and insulin under normoglycemic conditions.

MMP9 degrades collagen, among other substrates. A downregulation can lead to less tumor progression and lower metastatic potential. In qPCR, MMP9 was downregulated by high-dose metformin treatment under both normo- and hyperglycemic conditions with and without insulin in HEC-1A cells. In protein analysis, high-dose metformin downregulated MMP9 under hyperglycemic conditions in the HEC-1A cell line, whereas MMP9 was downregulated under normoglycemic conditions by high- or low-dose metformin with or without insulin in Ishikawa cells.

TIMP2 inhibits metalloproteinases like MMP9, and therefore a low expression could be linked to myometrial invasion and metastasis. In protein analysis, an upregulation of TIMP2 occurred under hyperglycemic conditions when comparing the combination of insulin and metformin with the insulin treatment in HEC-1A cells whereas in Ishikawa cells TIMP2 was downregulated. In Ishikawa cells, the treatment with low- or high-dose metformin alone as well as high-dose metformin with insulin under normoglycemic conditions caused a downregulation of TIMP2 in qPCR.

This study confirmed an effect of metformin on the expression of COL1A1, MMP9 and TIMP2 in EC cell lines. However, as the current study was performed in vitro, the effects of metformin cannot be extrapolated to patients.

Genetik, PKD, PID

P02

Präimplantationsdiagnostik (PID) im MGZ – Medizinisch Genetischen Zentrum

U. Koehler, U. Schön, T. Harasim, I. Diebold, T. Neuhann
MGZ – Medizinisch Genetisches Zentrum, München, Deutschland

Das PID-Zentrum (https://www.pid-zentrum.de/) des Medizinisch Genetischen Zentrums in München (https://www.mgz-muenchen.de/) führt Präimplantationsdiagnostik für Chromosomenveränderungen und monogen vererbte Erkrankungen seit seiner Zulassung im Juni 2015 durch. Eine Kooperation mit derzeit zwölf Kinderwunschzentren (Stand Juli 2021) gewährleistet, dass Paare wohnortnah reproduktionsmedizinisch betreut werden können. Nach zustimmender Bewertung der Bayerischen Ethikkommission für Präimplantationsdiagnostik erfolgen die genetischen Analysen an Trophoblasten nach Biopsie einer Tag-5- oder Tag-6-Blastozyste.

PID für Chromosomenveränderungen

Die PID an Trophektodermproben umfasst die Untersuchung bei strukturellen Chromosomenveränderungen des Paares (reziproke Translokation, Robertsonsche Translokation, Inversion, Insertion) und die Untersuchung von numerischen Chromosomenveränderungen nach wiederholten Fehlgeburten. Seit 2015 wurden insgesamt 904 Trophektodermproben von 272 Zyklen mittels Array-CGH oder Next-Generation-Sequencing untersucht. 660 Analysen (73 %) entfielen auf strukturelle Chromosomenveränderungen, 244 (27 %) auf numerische Chromosomenveränderungen. 274 (30,3 %) der untersuchten Proben waren für einen Transfer geeignet, 579 (64 %) Proben waren strukturell oder numerisch auffällig. Von 13 (1,4 %) Proben konnte keine ausreichende Menge DNA für eine Analyse vervielfältigt werden, 38 Analysen (4,2 %) entsprachen nicht den Qualitätskriterien für eine zweifelsfreie Interpretation. Bislang wurden nach 196 Transfers durchgeführt und 88 klinische Schwangerschaften (44,9% pro Transfer) erzielt.

PID für monogene Erkrankungen

Seit 2015 wurden insgesamt 495 Trophektodermproben von 130 PID-Zyklen untersucht (74 autosomal rezessive, 37 autosomal dominante und 19 X-Chromosomale Erkrankungen. 204 (41 %) Proben waren für einen Transfer geeignet, in 149 Proben (30,1 %) wurde der die Sequenzvariante(n) tragende Haplotyp nachgewiesen. Durch die angewendete Untersuchungsmethode (Karyomapping) konnten darüber hinaus in 78 (16 %) Proben numerische Chromosomenaberrationen nachgewiesen werden. Bislang wurden 88 Transfers durchgeführt und 39 klinische Schwangerschaften (44 % pro Transfer) erzielt. Zu den häufigsten im PID-Zentrum München untersuchten Erkrankungen zäh-

*Begutachtet und zusammengestellt vom wissenschaftlichen Komitee. Ein alphabetisches Verzeichnis der präsentierenden Autoren finden Sie auf Seite 265.

len: Spinale Muskelatrophie (19), Cystische Fibrose (10), Muskeldystrophie Duchenne (7), Myotone Dystrophie Typ 1 (7).

Die PID ist eine sichere Untersuchungsmethode zur Feststellung unbalancierter Chromosomenaberrationen und pathogener Sequenzvarianten. Verglichen mit der Gesamtzahl der in Deutschland durchgeführten PIDs verfügt das Medizinisch Genetische Zentrum mit über 1400 untersuchten Trophektodermproben über eine große Erfahrung auf diesem Gebiet.

Klinische Embryologie / Reproduktionsbiologie / Grundlagenforschung / Stammzellen

P03

Analyse von Schadstoffen aus dem Konsum von Tabakprodukten oder nikotinhaltigen Substanzen in der Follikelflüssigkeit (FF) von Frauen im Rahmen einer intrazytoplasmatischen Spermieninjektion (ICSI)-Behandlung

T. Trapphoff, C. Ontrup, S. Dieterle
MVZ Kinderwunschzentrum Dortmund, Dortmund, Germany

Hintergrund Beim Tabakkonsum entstehen mehr als 4000 toxische Chemikalien. Zu den bekannten neurotoxischen Substanzen zählen Nikotin und sein Hauptmetabolit Cotinin. In der gegenwärtigen Literatur wurde die Akkumulation dieser Schadstoffe in der FF nicht oder nur unzureichend untersucht und kontrovers diskutiert.

Zielsetzung Analyse der FF von Frauen mit unerfülltem Kinderwunsch im Rahmen einer ICSI-Behandlung auf die Präsenz von Schadstoffen aus der Verbrennung von Tabakprodukten oder dem Konsum von nikotinhaltigen Substanzen und Ermittlung des Einflusses dieser Substanzen auf den Ausgang einer Kinderwunschbehandlung (primärer Endpunkt: klinische Schwangerschaftsrate).

Studiendesign Die Proben wurden zwischen 2017 und 2020 im Kinderwunschzentrum Dortmund von Frauen ohne Endometriose, PCO-Syndrom oder einem Ovarial-, Uterus- oder Mammakarzinom gesammelt. Nur Patientenpaare mit männlichem Faktor im Rahmen einer ICSI-Behandlung wurden eingeschlossen.

Die Konzentration von Nikotin und Cotinin in der FF wurde mittels Gaschromatographie-Massenspektroskopie bestimmt.

Die statistische Auswertung erfolgte mittels Mann-Whitney- und Fisher-Test für die Kontrollgruppe (Nichtraucher) und Studiengruppe (Raucher).

Ergebnisse Insgesamt wurden n = 101 Proben für die Kontrollgruppe und n = 46 Proben für die Studiengruppe untersucht. In der Kontrollgruppe konnte in keiner der Proben Nikotin oder Cotinin nachgewiesen werden. In der Studiengruppe wurde Nikotin in 24 % (11/46) und Cotinin in 76 % (35/46) der analysierten Proben detektiert. Die durchschnittliche Konzentration betrug 6,1 ± 6,9 ng/ml FF [MW ± s.d.] für Nikotin und 119,5 ± 97,5 ng/ml FF für Cotinin. Signifikante Unterschiede zwischen Nichtrauchern und Rauchern für die Anzahl an gewonnenen Eizellen, reifen Metaphase-II-Eizellen und die Befruchtungsrate lagen nicht vor. Die klinische Schwangerschaftsrate in der Studiengruppe (28,6 %; CI 0,95: 14,9–42,6 %) und Kontrollgruppe (46,2 %; CI 0,95: 35,9–56,4 %) war nicht signifikant unterschiedlich (p = 0,08).

Erstmalig konnten Cotinin und Nikotin auch nach dem ausschließlichen Konsum von e-Zigaretten in der FF nachgewiesen werden. Die durchschnittliche Konzentration von Nikotin in der Follikelflüssigkeit betrug 13,1 ± 6,2 ng/ml FF und 97,5 ± 94,4 ng/ml FF für Cotinin (n = 3).

Zusammenfassung Der Konsum von Tabakprodukten hat keinen signifikanten Einfluss auf den Ausgang einer ICSI-Behandlung, auch wenn ein Trend hinsichtlich einer reduzierten klinischen Schwangerschaftsrate erkennbar ist. Nikotin und Cotinin konnten erstmalig nach dem ausschließlichen Konsum von e-Zigaretten in der FF nachgewiesen werden.

Einschränkungen dieser Studie beinhalten die Übertragbarkeit der Daten auf die gesamte Bevölkerung und die bislang geringe Stichprobengröße.

P04

Vergleich von 3 Organkulturbedingungen für adultes Hodengewebe hinsichtlich Stimulation der Testosteronproduktion, Zellerhalt und IL-6-Sekretion

N. L. Aden[1], A. Salzbrunn[1], S. W. Schneider[2], K. von Kopylow[1]
[1]Abteilung für Andrologie, Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Venerologie, und [2]Zentrum für Innere Medizin, Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Venerologie, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Deutschland

Einleitung Hochdosierte Strahlentherapie u. Chemotherapie (insbes. alkylierende Zytostatika) gelten als gonadotoxisch [Jahnukainen et al., 2015]. Deshalb wird den zu behandelnden Männern vor Therapiebeginn angeboten, Ejakulat für eine Kinderwunschbehandlung einzufrieren. Für präpubertäre Jungen gibt es dagegen noch keine funktionierenden Techniken für den Fertilitätserhalt. Um ihnen nach gonadotoxischer Therapie trotzdem die Option auf biologische Vaterschaft zu geben, muss eine Möglichkeit ohne Ejakulat-Abgabe geschaffen werden, da dieses noch nicht gebildet werden kann.

Experimentelle Ansätze für diese Fragestellung umfassen die Propagierung von SSCs in der Zellkultur zur späteren autologen Transplantation und die In-vitro-Spermatogenese für eine Befruchtung via ICSI [Oliver & Stukenborg, 2020]. Seit Jahren werden hierfür in den Zentren weltweit Hodenbiopsien von solchen Jungen eingefroren. Eine vielversprechende Methode für die Reifung des Keimepithels und die In-vitro-Spermatogenese ist Ex-vivo-Organkultur, bei der kleine Gewebefragmente kultiviert u. die Keimzellnische erhalten bleibt. Um ähnliche Erfolge wie im Mausmodell [Sato et al., 2011] im humanen Kontext zu erzielen, müssen noch große Hürden überwunden werden.

Material und Methoden Für die Zellkultur wurde Hodengewebe von adulten Patienten der Andrologie des UKE (Vasektomie oder OA) verwendet, das im Rahmen einer TESE für eine Kinderwunschbehandlung gewonnen wurde. Die Gewebefragmente wurden für 21d auf Agarosegel-Kissen kultiviert. Verglichen wurden 3 Nährmedien, supplementiert mit Wachstumsfaktoren und Hormonen. Die Gewebefragmente wurden auf makroskopische Veränderungen (Schrumpfung, Gewebeerhalt) evaluiert und Nährmedien für ELISA gesammelt. Nach der Fixierung der Gewebe in modified Davidson's Fluid wurden Immunfärbungen mit zellspezifischen Antikörpern angefertigt.

Ergebnisse Nach 21d konnten sowohl intakte Keimzellen und somatische Zellen, als auch proliferierende Zellen und Spermatiden, die bereits vor der Kultivierungsperiode vorhanden waren, detektiert werden. Gleichzeitig waren die kultivierten Hodenbiopsien in der Lage, große Mengen Testosteron zu produzieren. Weiterhin enthielt das Zellkulturmedium das Zytokin IL-6, ein Indiz für eine inflammatorische Situation.

Ausblick Um den nächsten Schritt in Richtung erfolgreicher humaner testikulärer Organkultur zu gehen, muss die „Entzündungssituation in der Zellkulturschale" eingedämmt werden. Der Einsatz von NSAIDs könnte einen Lösungsansatz darstellen.

P05

Lower spermatozoal PIWI-LIKE 1 and 2 transcript levels are significantly associated with higher fertilization rates in IVF

T. Greither[1], M. Giebler, D. Handke, G. Seliger, H. M. Behre
Zentrum Für Reproduktionsmedizin Und Andrologie; MLU Halle-Wittenberg, Halle (Saale), Deutschland

PIWI-LIKE 1–4 play a pivotal role in stem cell maintenance and transposon repression in the human germline. Therefore, dysregulation of these genes negatively influences genetic stability of the respective germ cell and subsequent development and maturation. The aim of this study was to analyze whether spermatozoal PIWI-LIKE 1–4 mRNA levels associated with fertilization rate in IVF and ICSI cycles.

130 patients undergoing one or more ART cycles between April 2018 and July 2020 were included. Primary outcome was fertilization rate associated with PIWI-LIKE 1–4 transcript levels in the swim-up spermatozoa used in the respective ART cycle.

From 160 IVF or ICSI cycles, portions of swim-up spermatozoa used for fertilization were collected and total RNA was isolated. After cDNA synthesis, PIWI-LIKE 1–4 mRNA expression was measured by quantitative PCR using commercially available TaqMan probes. GAPDH was used as reference gene. Relative mRNA expressions were correlated to semen variables and fertilization rate in ART.

PIWI-LIKE 1 and 2 mRNA expression were positively correlated in spermatozoa of the swim-up fraction (rS = 0.78; p < 0.001). PIWI-LIKE 4 mRNA expression was inversely correlated with PIWI-LIKE 1 and 2 mRNA expression (rS = –0.25 and rS = –0.28, p < 0,001). PIWI-LIKE 1–4 mRNA expression in spermatozoa of the swim-up fraction was not associated with sperm concentration, motility or morphology in the native ejaculate. However, a low PIWI-LIKE 2 mRNA expression in the swim-up spermatozoa was positively associated with a fertilization rate ≥ 50% (p = 0.02, Mann-Whitney-U-Test). Furthermore, a low PIWI-LIKE 1 mRNA expression in the swim-up spermatozoa was also significantly associated with a fertilization rate ≥ 50% (p = 0.0499). When analysing IVF and ICSI cycles separately, lower PIWI-LIKE 1 and 2 transcript levels were only associated with higher fertilization rates in IVF (p = 0.002 and 0.02, respectively), but not in ICSI cycles (p = 0.91 and 0.22, respectively). In our study, we observed an association between lower PIWI-LIKE 1 and 2 transcript levels and higher fertilization rate in IVF cycles. Based on these results, spermatozoal PIWI-LIKE 1 and 2 transcripts could be a surrogate marker for proper sperm development and fertilization capacity of spermatozoa. It could be speculated that patients with higher PIWI-LIKE 1 or 2 transcript levels in swim-up sperm should be offered ICSI rather than IVF despite relatively good classical sperm characteristics.

P06

Immune characteristics of testicular germ cell tumours: a comparative study

M. Figura[1], J. Heyer[1], R. Islam[1], K. Hartmann[1], S. Kliesch[2], A. Pilatz[3], F. Dittmar[3], F. Wagenlehner[3], K. Loveland[4,5], M. Hedger[4,5], B. Loveland[6], H.-C. Schuppe[3,7], D. Fietz[1,7]
[1]Dept. of Veterinary Anatomy, Histology and Embryology, Justus Liebig University, Gießen, Germany; [2]Centre of Reproductive Medicine and Andrology, University of Münster, Münster, Germany; [3]Dept. of Urology, Pediatric Urology and Andrology, Justus Liebig University, Gießen, Germany; [4]Centre for Reproductive Health, Hudson Institute for Medical Research, Clayton, Australia; [5]Dept. of Molecular and Translational Sciences, Monash University, Clayton, Australia, [6]Burnet Institute, Prahran, Australia; [7]Hessian Center for Reproductive Medicine HZRM, Justus Liebig University, Gießen, Germany

Testicular germ cell tumours (TGCT) originate from germ cell neoplasia in situ (GCNIS) cells that differentiated into different cancer types, i.e. seminoma (SE) and non-seminoma, e.g. embryonic carcinoma (EC). Factors involved in tumour development, progression, and prognosis are poorly understood but infiltrating immune cells and respective cytokines/chemokines are involved. In an ongoing prospective cohort study, patients undergoing surgery for suspicion of testis cancer are enrolled (starting 03/2017, n = 70; age 18–69y, median 37.7). Along with a comprehensive clinical database, biopsies from different areas of tumour-bearing testes and contralateral "healthy" testis samples are collected. A special focus is on immune cell infiltration and the tumour immune microenvironment.

In this study, we compared SE (n = 37) with EC (≥ 80% in tumour, n = 9). For histological and immunohistochemical (IHC) analysis, testis biopsies from tumour (tu), tu-adjacent, tu-distant sites, upper and lower pole of the contralateral testis were fixed in Bouin's solution. Tissue sections were stained with hematoxylin/eosin and specific antibodies for representative immune cell types including rare T cell subtypes (CD3, CD20cy, CD68, CD11c, CD25, FOXP3, CXCR5, BCL6). IHC analysis was performed using a semi-quantitative scoring system including a) density and b) spatial distribution of immune cell infiltration. Gene expression analysis was performed using cryopreserved tissue of the same locations; biopsies showing normal spermatogenesis (NSP) were included as controls. By qRT-PCR, expression of immune cell markers, cytokines, chemokines, non-immune somatic, and germ cell markers were analysed.

Histological analysis of SE- and EC-derived samples revealed heterogeneous pathological patterns, with predominance of GCNIS in tu-adjacent and tu-distant sites. Contralateral testis samples mainly contained preserved spermatogenesis. IHC showed significantly increased numbers of T cells, B cells, macrophages, and dendritic cells in different locations of SE and EC compared to NSP. T cells represented the most abundant subgroup with highest density in SE (tu > tu-adjacent > tu-distant), exceeding those in EC. Similar differences in immune cell markers between locations and pathologies were observed by qRT-PCR. Moreover, expression of pro-inflammatory cytokines such as IL-6 was increased.

These preliminary results show that SE and EC samples differ with regard to density and spatial distribution of immune cell infiltration and cytokine/chemokine expression profiles. Further investigations aim at deciphering how immune cell infiltration shape the tumour microenvironment. By correlation of clinical data and gene expression/IHC results, novel prognostic factors and/or immune therapeutic concepts for TGCT could be identified. Supported by DFG GRK 1871/2.

P07

A whole transcriptome atlas at germ cell-type resolution reveals regulatory changes in gene expression throughout human spermatogenesis

L. Siebert-Kuss[1], H. Krenz[2], T. Tekath[2], M. Wöste[2], S. Di Persio[1], N. Terwort[1], J.-F. Cremers[3], J. Wistuba[1], M. Dugas[2], S. Kliesch[3], S. Schlatt[1], F. Tüttelmann[4], J. Gromoll[1], N. Neuhaus[1], S. Laurentino[1]
[1]Centre of Reproductive Medicine and Andrology, University Hospital of Münster, Münster, Germany; [2]Institute of Medical Informatics, University Hospital of Münster, Münster, Germany; [3]Centre of Reproductive Medicine and Andrology, Department of Clinical and Surgical Andrology, University Hospital of Münster, Münster, Germany; [4]Institute of Reproductive Genetics, University of Münster, Münster, Germany

In human spermatogenesis, diploid germ cells undergo genomic and morphological transformations in order to build haploid male gametes, the spermatozoa. In obstructive azoospermia, no sperm are found in the ejaculate, however sperm can be retrieved through microdissection testicular sperm extraction. For many patients with non-obstructive azoospermia (NOA), sperm retrieval is difficult as they present germ cell arrests at different spermatogenic stages or even no germ cells at all. Less than 30% of infertile patients receive a causative diagnosis, as to date, genes controlling the human spermatogenic process remain largely unknown. To provide patients with a better genetic diagnosis, comprehensive cell type-specific expression patterns are required. These also include transcript isoforms produced by alternative splicing, as different isoforms influence the functional output of a gene. To this end, we aimed at generating a whole transcriptome atlas at germ cell-type resolution for human spermatogenesis. We sequenced total RNA isolated from testicular biopsies of patients with Sertoli cell-only phenotype (SCO, n = 3), spermatogenic arrests at spermatogonial (SPG, n = 4), spermatocyte (SPC, n = 3) and spermatid (SPD, n = 3) level, as well as of patients with qualitatively and quantitatively normal spermatogenesis (N, n = 3). We identified germ cell-specific gene expression profiles by analysis of differentially expressed genes (DEGs) and captured germ cell-specific usage of different isoforms by analysis of differential transcript usage (DTU) between samples varying only in one consecutive germ cell-type (e.g. SCO vs SPG, SPG vs SPC, SPC vs SPD, SPD vs N). We detected between 839 and 4138 DEGs per group comparison. Pathway analysis confirmed the enrichment of genes involved in germ cell-specific processes, including development of stem cells or spermiogenesis, respectively. In-depth analysis of these gene lists allowed the identification of multiple germ cell-specific genes for spermatogonia (TSPY4), spermatocytes (FTHL17), spermatids (TMCO5A), and elongated spermatids (TP53TG5). DTU analysis revealed between 1062 and 2153 alternatively spliced genes per group comparison. Intriguingly, DTU genes

showed limited overlap with DEGs. Moreover, pathway analyses indicates that DTU genes are involved in more general biological functions (i.e. RNA metabolism), suggesting these kinds of functions are predominantly regulated at the post-transcriptional level during human spermatogenesis. Our study constitutes a powerful resource for the field as it reveals the transcriptomic programming changes during human spermatogenesis at germ cell-type resolution. This dataset contributes to the identification and characterization of novel infertility candidate genes and may help to unravel the pathogenesis of NOA.

This work was supported by the German Research Foundation (CRU326).

P08

Cluster analysis revealed two subphenotypes of cryptozoospermic patients displaying common alterations of the spermatogonial stem cell compartment

L. C. Schülke[1], S. Di Persio[1], J. Wistuba[1], J.-F. Cremers[2], S. Kliesch[2], N. Neuhaus[1]
[1]Centre of Reproductive Medicine and Andrology, Institute of Reproductive and Regenerative Biology, University of Münster, Münster, Germany; [2]Centre of Reproductive Medicine and Andrology, Department of Clinical and Surgical Andrology, University of Münster, Münster, Germany

Cryptozoospermia is a severe form of oligozoospermia in which patients present with a sperm concentration below 0.1 mil/ml. While the etiology remains unclear, the testicular histology is highly heterogeneous suggesting the existence of cryptozoospermic (Crypto) patient subgroups. Moreover, the spermatogonial stem cell compartment is altered in individual Crypto patients with an unexpected increase in the most undifferentiated spermatogonia (PIWIL4+) and a decrease of the reserve stem cells (Adark).

We aimed to assess if the group of Crypto patients can be subclassified and if alterations in the spermatogonial compartment are associated with the severity of testicular tissue impairment.

Clinical and histological parameters of 150 Crypto and 162 patients with obstructive azoospermia and normal spermatogenesis (Normal controls, Bergmann-Kliesch score 7–10), who underwent a testicular biopsy at the Centre of Reproductive Medicine and Andrology in Münster, were selected retrospectively from the Androbase database. These samples were used for principal component analysis (PCA) and hierarchical clustering. A representative cohort of 43 patient samples was analyzed by determination of the Bergmann-Kliesch score and immunohistochemistry (MAGEA4 and PIWIL4). The number of MAGEA4+, PIWIL4+ and Adark spermatogonia was quantified in 20 round tubules per sample.

The PCA and hierarchical clustering revealed 3 different clusters. Leading factors determining the clusters were the percentage of tubules with elongated spermatids (Cluster 1, all normal samples), the percentage of tubules with spermatocytes (Cluster 2, Crypto samples) and tubules containing Sertoli cells only (Cluster 3, Crypto samples), respectively. Additional differences were increased FSH levels ($p < 0.001$) and decreased testicular volumes ($p < 0.001$) in Cluster 3 compared to Cluster 2 samples. In the stem cell compartment, however, we found reduced numbers of MAGEA4+ and Adark spermatogonia as well as increased proportions of PIWIL4+ spermatogonia, which were significantly correlated with lower Bergmann-Kliesch Scores, in both Crypto Clusters.

Crypto patients can be divided into two subgroups mainly defined by the histological composition of their testicular tissues. Crypto patients show alterations in the spermatogonial compartment compared to normal patients. These alterations are similar between patients from both Crypto Clusters and are worse in patients with lower Bergmann-Kliesch-Scores.

P09

Nachweis von hohen HCMV-Viruslasten in Samenproben eines Samenspenders über einen Zeitraum von mehr als 2 Jahren nach Primärinfektion

A. Hauser[1], K. Lazar[2], L. Penka[2], T. Iftner[2], D. J. Peet[1], A.-K. Klym[1], K. Hamprecht[2]
[1]Berliner Samenbank GmbH, Berlin, Deutschland; [2]Institut für Medizinische Virologie, Universitätsklinikum Tübingen, Tübingen, Deutschland

Hintergrund Das Vorhandensein von infektiösen humanen Herpesviren in Spermaproben ist ein bekanntes Phänomen [Kaspersen und Höllsberg, 2013] und stellt ein potentielles Risiko für eine Virusübertragung und einen frühen Abort nach assistierter Reproduktion dar. Es liegen keine Daten über die longitudinale Virusausscheidung von latent infizierten Samenspendern vor. Tatsächlich ist in Deutschland ein HCMV-Seroscreening von Samenspendern „in Abhängigkeit von der Vorgeschichte des Spenders" nach der Transplantationsgesetz-Gewebeverordnung vorgeschrieben und wird „zu Beginn des Spendezyklus und darüber hinaus in regelmäßigen Abständen" nach den Richtlinien des „Arbeitskreises Spenderinsemination" empfohlen.

Fragestellung Gibt es Hinweise auf eine persistierende HCMV-Ausscheidung bei einem Samenspender nach Serokonversion in Blut, Samenplasma und Samenzellen?

Methoden Im Mai 2018 wurde in der Berliner Samenbank ein Anti-HCMV-IgG-negativer Samenspender rekrutiert, der in seinem ersten Spendezyklus 19 Spenden generierte. Im Januar 2019 wurde der HCMV-Immunstatus erneut analysiert (HCMV-IgG und IgM) gemäß den nationalen Empfehlungen. HCMV-Viruslasten in Blut, Urin, Samenplasma und Samenzellen wurden retro- und prospektiv über einen Zeitraum von mehr als 2 Jahren überwacht.

Ergebnisse Beim HCMV-Antikörper-Screening des Spenders wurde eine Serokonversion innerhalb des ersten Spendezyklus zwischen Mai 2018 und Januar 2019 festgestellt. Im Februar 2019 wurde eine latente HCMV-Infektion mit starker Anti-GB2-IgG-Reaktivität ohne Nachweis von HCMV-DNA im Blut festgestellt. Während des gesamten Beobachtungszeitraums von Juli 2018 bis September 2020 ließ sich jedoch infektiöses HCMV in der Samenprobe nachweisen. Die retrospektive Analyse der Samenspenden zeigte einen starken Anstieg von niedrigen Viruslasten im Juli 2018 auf Spitzenwerte im September 2018 ($3{,}64 \times 10^6$ Kopien/ml) mit persistierendem HCMV-Ausscheidung in das Seminalplasma und die Spermazellen bis September 2020.

Schlussfolgerungen Wir präsentieren den ersten Nachweis für eine langfristige HCMV-Ausscheidung nach Primärinfektion und während der Entwicklung einer latenten Infektion ohne Nachweis viraler DNA in Blut und Urin im Kontext einer hohen IgG-Avidität. Seminales Plasma und seminale Zellen waren für 26 Monate nach der Infektion hoch infektiös. Die unerkannte persistierende lokale Ausscheidung infektiöser Viren in den Samen im Kontext der Samenspende hat Auswirkungen auf die öffentliche Gesundheit und daher sollte das Screening latent infizierter HCMV-Samenspender, das ausschließlich auf der HCMV-Serologie basiert, auf die PCR aus Spermaproben in regelmäßigen Abständen erweitert werden.

P10

Effects of intralipid infusions on anti-trophoblast antibody (ATAb) activities in patients with recurrent pregnancy loss: an observational report

N. Rogenhofer[1], F. Batz[1], S. Mahner[1], Y. Lindgard von Hasselbach[2], C. J. Thaler[1]
[1]Division of Gynecological Endocrinology and Reproductive Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology, University Hospital LMU München, München, Germany; [2]Praxis Prof. Hempen und Kollegen, München, Germany

Purpose Some studies suggest intravenous intralipid infusions (IVIL) to be effective in the treatment of immune-mediated pregnancy failure. To this date it remains to be established, how IVIL might protect pregnancy and therefore a specific subgroup of RPL patients that might benefit from IVIL has not been defined.

Anti-trophoblast antibodies (ATAb) have been associated with RPL and appear to mediate immune pathology. We have shown, that ATAb in vitro decrease HCG- and progesterone production pointing to a mechanism how ATAb interfere with normal pregnancies. We have measured ATAb-activities in patients undergoing off label IVIL-treatment.

Materials and Methods 10 RPL-patients with positive ATAb, determined by using the choriocarcinoma cellline JEG-3 and flow cytometry as described before, and otherwise unexplained RPL, received off-label IVIL during pregnancy. Two ATAb-positive RPL patients preferred expectant management. In addition, ATAb-activity was studied in pregnancies of two healthy ATAb-negative volunteers without miscarriages.

Results In RPL patients receiving IVIL, relative ATAb-activity decreased from an average of 56.8 ± 17.0% to 20.8 ±1 1.0% ($p < 0.001$).

The two RPL-patients without IVIL, aborted at 6 + 3 gw and 7 + 4 gw and embryonic genetic testing revealed euploid karyotypes. During pregnancies of the two healthy ATAb-negative individuals, ATAb-activities remained negative (16 ± 9.8%) without significant changes ($p = 0.22$).

Nine of the 10 pregnancies receiving IVIL proceeded uneventful with healthy newborns ≥37th gw. One patient receiving IVIL aborted at 7 + 6 gw and embryonic genetic-testing revealed a trisomy 16. No specific side effects concerning IVIL were noted.

Conclusion Intralipid preparations during pregnancies of ATAb-positive RPL-patients significantly reduce ATAb-activities and this may indicate a therapeutic mechanism of these preparations.

P11

Age-associated differences in the human sperm methylome

S. Laurentino, J.-F. Cremers, B. Horsthemke, F. Tüttelmann, K. Czeloth, M. Zitzmann, E. Pohl, S. Rahmann, C. Schröder, S. Berres, K. Redmann, C. Krallmann, S. Schlatt, S. Kliesch, J. Gromoll
Centre of Reproductive Medicine and Andrology, University of Münster, Münster, Deutschland

Currently, the age of prospective fathers shows an increasing trend in industrialised societies. This tendency has potentially negative consequences, as advanced paternal age is associated with lower fertilisation rates, longer time to pregnancy, and a higher risk of miscarriage. In addition, older fathers carry an increased change of paternal age effects (PAE) in the offspring, which include monogenic and complex disorders. The age-associated increase in *de novo* mutations that occurs with age in the human male germline does not fully explain the increased prevalence of PAE disorders in the offspring of older men. Epigenetic alterations have been suggested to be involved in the pathogenesis of PAE. Although epigenetic drift is one of the hallmarks of ageing, this phenomenon was understudied in the germline. In order to study the effects of pure ageing on the male germline and reproductive parameters, independent of age-associated morbidities, we have assembled the Fertility and Ageing in Healthy Men (FAMe) cohort. This was composed of 197 men between 18 and 84 years of age who underwent a careful clinical evaluation prior to inclusion in the study. For each volunteer swim-up sperm samples were obtained. Using whole genome bisulfite sequencing, we analysed the sperm methylome in the two extreme age groups ($n = 6$ per group, 18–25 versus > 65 years of age). After bioinformatic analysis we were able to identify 236 differentially methylated regions (DMR) with over 30% methylation difference between the two groups and at least 5 CpG sites in length. These DMRs were highly specific for sperm and not identifiable in ageing blood DNA. The regions showed an overrepresentation of DNA transposons ($p < 0.001$) and LINE elements ($p < 0.01$). Moreover, gene ontology analysis of neighbouring genes resulted in an enrichment in homeobox genes ($p < 0.05$), while gene set enrichment analysis showed enrichment in multiple gene sets involved in transcriptional regulation (e.g. transcription factor binding, $p < 0{,}001$) and nervous system development (e.g. central nervous system development, $p < 0.001$). We made use of six of the age-dependent sperm DMRs to construct a biological clock for the prediction of age in human sperm. This sperm age predictor can be used to evaluate the effects of fertility, health, and other factors on the human male germline ageing process.

In conclusion, the human male germline displays a highly characteristic pattern of DNA methylation changes with age, which is dif-

ferent from the one found in somatic lineages. In the future, it would be interesting to evaluate whether these alterations are associated with PAE and with the decreasing fertility observed with increasing paternal age.

Grants This project was supported by the DFG (GR1547/19-1 and Clinical Research Unit 326).

These data form part of Laurentino et al., Aging Cell. 2020 19):e13242. doi: 10.1111/acel.13242.

P12

Volatile organische Verbindungen in Ausatemluft und Schweiß im Verlauf des Menstruationszyklus

D. Pflanzer[1], A. Reiner[1], V. Ruzsanyi[4], W. Lederer[3], L. Wildt[2], B. Toth[2], B. Böttcher[2]
[1]Medizinische Universität Innsbruck, Innsbruck, Österreich; [2]Universitätsklinik für Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin, Innsbruck, Österreich; [3]Universitätsklinik für Anästhesie und Intensivmedizin, Innsbruck, Österreich; [4]Institut für Atemgasanalytik, Innsbruck, Österreich

Einleitung Die Bestimmung der fruchtbaren Phase einer Frau stellt trotz etlicher Methoden noch immer ein Problem in der Reproduktionsmedizin dar. Viele dieser Methoden sind ungenau, schwer durchführbar oder aufwendig. VOCs (volatile organic compounds) sind gasförmige Stoffe, die unter anderem bei Stoffwechselprozessen im Körper entstehen können und beispielsweise über die Ausatemluft, Schweiß und Urin ausgeschieden werden. Durch den hormonellen Einfluss verändern sich die Konzentrationen der VOCs im Laufe des Menstruationszyklus. Das Ziel der Pilotstudie war es, herauszufinden, ob diese Veränderungen zur Bestimmung der fruchtbaren Phase herangezogen werden können.

Methoden Zehn gesunde Probandinnen, die nicht hormonell verhüteten, wurden rekrutiert. Bei jeder Frau wurden 5 Messtage innerhalb eines Zyklus festgelegt, idealerweise 2 in der Follikelphase, einer am Tag der Ovulation und 2 in der Lutealphase. An der Universitätsklinik für Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin wurden jeweils Blutproben zur Hormonbasisdiagnostik abgenommen. Im Atemgaslabor wurden anschließend volatile Stoffe in der Ausatemluft mittels online PTR-ToF-MS und im Schweiß mittels GC-IMS gemessen.

Die statistische Auswertung erfolgte mit SPSS. Mittels Friedman-Test wurde jeder detektierte Stoff in der Ausatemluft auf Unterschiede in den Konzentrationen zwischen Follikelphase, Ovulation und Lutealphase geprüft. Die volatilen Stoffe im Schweiß wurden mittels ANOVA mit Messwiederholung oder dem Friedman-Test auf Unterschiede der Intensitäten zwischen den drei Zyklusphasen geprüft. Zur graphischen Darstellung der Daten wurden jeweils Boxplot-Diagramme erstellt.

Außerdem werden die Hormonwerte im Serum noch mit den Konzentrationen der Stoffe in der Ausatemluft und den Intensitäten im Schweiß korreliert.

Resultate Für die Auswertung der Ausatemluftproben wurden 5 Probandinnen ausgeschlossen. Es konnte bei keinem der Stoffe ein signifikanter Unterschied der Konzentrationen zwischen den Zyklusphasen festgestellt werden. Für die Auswertung der Schweißproben wurden 3 Probandinnen ausgeschlossen. Auch hier gab es bei keinem der identifizierten Stoffe signifikante Unterschiede zwischen den Zyklusphasen.

In den graphischen Darstellungen war bei manchen Stoffen, wie beispielsweise bei Aceton in der Ausatemluft, ein Trend einer höheren Konzentration um die Ovulation erkennbar.

Schlussfolgerung Diese Arbeit kann als Grundlage für weitere Studien mit einem größeren Probandinnenkollektiv dienen, um feststellen zu können, ob sich VOCs in der Ausatemluft oder im Schweiß zur Bestimmung der fruchtbaren Phase eignen.

P13

Natriuretische Peptide beeinflussen die prostatischen glatten Muskelzellen und könnten potentielle Therapieoptionen für BPH ohne negativen Einfluss auf die Ejakulation sein

M. A. Kuchta[1], C. Rager[1], F. Wagenlehner[2], R. Middendorff[1]
[1]Institut für Anatomie und Zellbiologie, Gießen, Germany; [2]Klinik für Urologie, Kinderurologie und Andrologie, Gießen, Germany

Seit der Entdeckung der natriuretischen Peptide (NPs; ANP, BNP, CNP) zwischen 1980 und 1990 wurden ihre Funktionen in vielen Organen und Geweben gut beschrieben. Eine hohe Konzentration von CNP wurde in den männlichen Fortpflanzungsorganen wie der Prostata gefunden. Darüber hinaus wurden hohe CNP-Konzentrationen auch im Seminalplasma von Schweinen nachgewiesen. Weitere Studien zur Funktion von NPs in der Prostata fehlen jedoch. NPs wirken über zyklisches GMP (cGMP) Signalwege, die z. B. die Relaxation von glatten Muskelzellen oder die Zellproliferation regulieren. Dies könnte für die Behandlung der benignen Prostatahyperplasie (BPH) von Interesse sein, da eine Erhöhung des Muskeltonus und die Zellproliferation die Hauptveränderungen bei dieser Erkrankung sind. Hierfür muss der hormonelle Einfluss von NPs auf den cGMP-Signalweg und seine Bedeutung für die BPH untersucht werden. Die Beeinflussung des cGMP-Signalweges, wie z. B. über PDE5-Inhibitoren hat bereits gezeigt, dass es keinen negativen Einfluss auf die Ejakulation gibt, wie es jedoch bei Alpha-1-Rezeptorblockern, wie Tamsulosin, der Fall ist. Zunächst konnten wir zeigen, dass Komponenten des cGMP-Signalwegs, z. B. die Rezeptoren für die natriuretischen Peptide GC-A und GC-B, im menschlichen Prostatagewebe und in kultivierten humanen primären prostatischen glatten Muskelzellen (HPrSMCs) exprimiert werden. Interessanterweise war GC-B, der Rezeptor für CNP, höher exprimiert als der ANP- und BNP-Rezeptor GC-A. In Übereinstimmung damit fanden wir mittels cGMP-ELISA, dass CNP mehr als ANP, die cGMP-Produktion in HPrSMCs in einer dosisabhängigen Weise aktiviert. Humane primäre glatte Aortenmuskelzellen (HAoSMCs) wurden als Referenzzellen gemessen. Um die Auswirkungen der NPs auf die Zellproliferation in einer kurz- und langfristigen Weise zu zeigen, wurden MTT-Assays durchgeführt. Für ein Ex-vivo-Setup wurden einzelne Rattenprostatadrüsen isoliert und die Auswirkungen von NPs auf die Kontraktilität dieser Drüsen mittels Live-Imaging untersucht. CNP (und ANP) konnten die Kontraktionsfrequenz und den Muskeltonus signifikant senken. Somit könnten natriuretische Peptide, die den Muskeltonus und die Proliferation beeinflussen, vielversprechende potentielle Medikamente für die Behandlung der BPH sein.

P14

Die drei Fragezeichen und Tubuli seminiferi, ihre schnellen spontanen Kontraktionen, sowie deren Reduktion durch NO

C. Rager[1], A. Mietens[1], S. Tasch[1], C. Nowell[2], F. Wagenlehner[3], R. Middendorff[1]
[1]Institut für Anatomie und Zellbiologie, Justus-Liebig-Universität, Gießen, Deutschland; [2]Faculty of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Drug Discovery Biology, Monash University, Melbourne, Australia; [3]Klinik und Poliklinik für Urologie, Kinderurologie und Andrologie, Universitätsklinikum Gießen-Marburg, Gießen, Deutschland

Kontraktionsfähige glatte Muskelzellen sind in verschiedensten Organen an der Regulation des Transports von Körperflüssigkeiten beteiligt. Im männlichen Reproduktionstrakt umgeben kontraktile peritubuläre Muskelzellen (PTCs) das Keimepithel der Tubuli seminiferi, in dem die Proliferation und Reifung der Keimzellen zu Spermatozoen erfolgt. Diese noch unbeweglichen Zellen benötigen eine aktive Schubkraft, die sie Richtung Rete testis befördert. Die Kontraktilität der PTCs und ihre Regulation ist daher wichtig für die männliche Fertilität. Tubuli seminiferi der Ratte enthalten die verschiedenen Spermatogenesestadien des Keimepithels in aufeinanderfolgenden Abschnitten und eignen sich daher für die Analyse regionsspezifischer Unterschiede in der Funktion der glatten Muskulatur.

In dieser Studie wurde erstmals ein FIJI-basierter Code etabliert, um *ex vivo* an isolierten Tubuli seminiferi der Ratte die spontanen Kontraktionen der Tubuluswand in Abschnitten vor (Dark) und nach Spermiatio (Pale) zu charakterisieren. Neben einer pixelgenauen optischen Umwandlung zur Darstellung der unterschiedlichen Kontraktionen während der Live-Aufnahme, ermöglicht dieser Code eine Quantifizierung und statistische Auswertung dieser Bewegungen. Es zeigte sich ein signifikanter Unterschied im schnellen spontanen Kontraktionsverhalten der verglichenen Dark- und Pale-Abschnitte. Nach Behandlung mit einem relaxierend wirkenden NO-Donor zeigte sich unabhängig vom jeweiligen

Spermatogenesestadium eine signifikante Reduktion dieser spontanen Kontraktionen in einem äquipotenten Ausmaß. Interessanterweise konnte über die Adaption des Codes im Sinne einer Längsschnittdarstellung kein gerichteter Fluss des Lumeninhaltes vor oder nach NO-Behandlung detektiert werden. Im Gegensatz dazu zeigte sich nach Oxytocin-Gabe eine koordinierte Kontraktion längerer Wandabschnitte, die einen gerichteten Transport luminalen Inhaltes induzierte.

Auch in Hodentubuli aus humanen Biopsien konnten unter Verwendung desselben Ex-vivo-Aufbaus spontane Kontraktionen als auch deren NO-induzierte Veränderungen visualisiert werden.

Die beobachteten unterschiedlichen Kontraktionsmuster der PTCs könnten innerhalb der Tubuli seminiferi diverse Funktionen erfüllen. Während lokale Kontraktionen und NO-Effekte Spermatogenese-abhängig auf das Keimepithel wirken können, hängt der Transport der unbeweglichen Spermatozoen im Tubuluslumen möglicherweise von einer koordinierten Aktivität der PTCs in größeren Tubulusabschnitten ab.

P15

Glukosestoffwechselstörung und Frühgeburtlichkeit in der assistierten Reproduktion

D. Günther, I.Weber, D. Gutknecht, M. Bals-Pratsch
Profertilita, Fachklinik, Regensburg, Deutschland

Einleitung Im Jahr 2017 wurden 8,4 % der Kinder in Deutschland vor der vollendeten 37. SSW und somit als Frühgeburt geboren [1]. Weltweit werden bis zu 11 % der Kinder zu früh geboren, was weitreichende Konsequenzen für die Kinder selbst, deren Familien und das jeweilige Gesundheitssystem hat [2].

Ein Gestationsdiabetes ist ein bekanntes Risiko für eine Frühgeburt [3]. Daher ist für die Prävention die frühzeitige Erkennung und ausreichende Behandlung eines Gestationsdiabetes bzw. eines Diabetes mellitus wichtig [4]. Bekannte demographische Risikofaktoren sind hierfür der Anstieg des mütterlichen Alters in der Schwangerschaft und die damit verbundene erhöhte Prävalenz eines Gestationsdiabetes [5]. Um hier bei den Patienten eine Risikokonstellation schon präkonzeptionell erkennen zu können, erfolgt in unserem Zentrum bereits parallel zur Sterilitätsdiagnostik eine präkonzeptionelle Stoffwechseldiagnostik im Rahmen unseres Stoffwechselkonzeptes [6]. Bei Glukosestoffwechselstörungen und einer Insulinresistenz erfolgt die präkonzeptionelle Intervention durch eine professionelle Ernährungsberatung und Ernährungsumstellung, wenn notwendig auch eine diabetologische Mitbehandlung mit Blutzuckerselbstmessung, sowie der Start einer Metformin-Therapie mit der ART-Behandlung.

Methodik Die Datenerhebung für Profertilita erfolgte mittels des Auswertungseditors von MedITEX. In diesem Programm wird die gesamte elektronische Patientenakte geführt. Es wurden alle von 2012 bis 2018 durchgeführten IVF-, ICSI-, IVF/ICSI- und Auftauzyklen untersucht. Alle geborenen Einlinge mit Dokumentation der SSW bei Geburt wurden ermittelt. Aus dem Anteil der vor Vollendung der 37. SSW geborenen Einlinge wurde die Frühgeburtenrate berechnet. Die Daten des Deutschen IVF-Registers (D·I·R) wurden den jeweiligen Jahrbüchern entnommen. Die Frühgeburtlichkeit wurde für jedes einzelne Jahr berechnet. Die Mittelwerte der jährlichen Frühgeburtenraten, die Standardabweichungen und der Zweistichproben-t-Test unter der Annahme gleicher Varianzen mit $\alpha = 0{,}05$ wurden mittels Excel errechnet.

Ergebnis Um einen möglichen Effekt unseres Stoffwechselkonzeptes auf die Frühgeburtlichkeit in unserem Patientenkollektiv zu bestimmen, wurden alle in unserem Zentrum geborenen Einlinge in den Jahren 2012 bis 2018 (n gesamt Profertilita = 1008) untersucht und der Anteil der vor der vollendeten 37. SSW geborenen Kinder (n < 37. SSW Profertilita = 150) ermittelt. Diese Daten wurden mit den Zahlen des D·I·R verglichen (n gesamt D·I·R = 88554, n < 37. SSW D·I·R = 18471). Die 7 Jahre ergeben eine Frühgeburtlichkeit von 14,9 ± 1,1 % bei Profertilita und von 21,1 ± 1,8 % beim D·I·R. Dieser Unterschied ist signifikant ($p < 0{,}01$).

Schlussfolgerung Die ausgewerteten Daten von 2012–2018 zeigen, dass mit 14,9 ± 1,1 % der Anteil an Frühgeburten bei Einlingsschwangerschaften in unserem Patientenkollektiv deutlich kleiner ist wie der im D·I·R repräsentierte, deutschlandweite Durchschnitt von 21,1 ± 1,8 % frühgeborenen Einlingen nach ART-Behandlung. Diese Verringerung der Frühgeburtlichkeit um den Faktor 1,5 resultiert in einer Frühgeburtenrate, die deutlich näher an der der Gesamtbevölkerung ohne ART-Behandlung liegt.

Es kann somit angenommen werden, dass durch unser praxisinternes Stoffwechselkonzept und die dadurch resultierende effiziente, präkonzeptionelle Stoffwechseltherapie zur Behandlung des frühen GDM, ein entscheidender Beitrag zur Vermeidung einer Frühgeburtlichkeit geleistet wird.

Literatur:

1. IQTIG Bundesauswertung zum Erfassungsjahr 2017 – Geburtshilfe Qualitätsindikatoren Online: https://iqtig.org/downloads/auswertung/2017/16n1gebh/QSKH_16n1-GEBH_2017_BUAW_V02_2018-08-01.pdf (zuletzt gesehen: 20.08.2021).

2. Kuon RJ, Voß P, Rath W. Progesterone for the prevention of preterm birth – an update of evidence-based indications. Geburtshilfe Frauenheilkd 2019; 79: 844–53.

3. S3-Leitlinie Gestationsdiabetes mellitus (GDM), Diagnostik, Therapie und Nachsorge, 2. Auflage: https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/057-008l_S3_Gestationsdiabetes-mellitus-GDM-Diagnostik-Therapie-Nachsorge_2019-06.pdf (zuletzt gesehen: 20.08.2021).

4. Tennant PW, Glinianaia SV, Bilous RW, et al. Pre-existing diabetes, maternal glycated haemoglobin, and the risks of fetal and infant death: a population-based study. Diabetologia 2014; 57: 285–94.

5. Dudenhausen JW, Friese K, Kirschner W. Präkonzeptionelle Gesundheitsberatung und Beratung zur Wahl der Geburtsklinik als weitere Instrumente zur Verringerung von Frühgeburten. Z Geburtsh Neonatol 2007; 211: 142–6.

6. Fill-Malfertheiner S, Gutknecht D, Bals-Pratsch M. Preconception Optimization of Glucose and Insulin Metabolism in Women Wanting to Conceive - High Rate of Spontaneous Conception Prior to Planned Assisted Reproduction. Geburtshilfe Frauenheilkd 2017; 77: 1312–9.

Männliche Infertilität, Hypogonadismus und erektile Dysfunktion

P16

Effect of mild α-chymotrypsin treatment of highly viscous semen samples on fertilization rates

A. Schallmoser, N. Sänger
Universitätsklinikum Bonn, Bonn, Germany

Background Highly viscous semen reduces sperm motility significantly and can contribute to infertility. When processing semen samples, few techniques exist to induce liquefaction in case of seminal hyperviscosity such as different washing steps and mechanical treatment. The use of α-chymotrypsin seems controversial due to possible negative effects on fertilisation rates after in vitro fertilization (IVF). The main objective of this study was to examine the influence of mild α-chymotrypsin treatment of semen samples on the fertilisation rate after artificial reproductive treatment (ART).

Methods The fertilization rate of 52 ART cycles was examined following IVF using a low dose of α-chymotrypsin to induce liquefaction of highly viscous semen and was compared to a control group of 88 ART cycles.

Results There was no significant difference in the fertilization rates of α-chymotrypsin treated semen samples compared to the control group; pregnancy rates were unaffected.

Conclusions The use of mild α-chymotrypsin treatment of semen samples in case of hyperviscosity does not appear to impact negatively on the fertilization rates after ART and could be regarded as an additional method to induce liquefaction of highly viscous semen samples in IVF.

P17

Kann SARS-CoV-2 durch Ejakulat übertragen werden? Ergebnisse eines Pilotprojektes

D. Baston-Büst[1], N. Holtmann[2], P. Edimiris[1], M. Andree[3], L. Müller[3], C. Döhmen[1], O. Adams[3], J.-S. Krüssel[1], A. Bielfeld[1]
[1]Uniklinik Düsseldorf, Frauenklinik, Unikid, Düsseldorf, Deutschland; [2]Novum, Essen, Deutschland; [3]Uniklinik Düsseldorf, Institut für Virologie, Düsseldorf, Deutschland

Studienfrage Ist SARS-CoV-2-RNA im Ejakulat positiv getesteter männlicher Probanden oder nach überstandener Infektion mittels Real Time (RT) PCR nachweisbar?

Material und Methoden Neben Ejakulat (WHO-Spermiogramm und SARS-CoV-2-RT-PCR gegen einen Abschnitt des E-Gens an nativer Probe und nach Dichtegradientenzentrifugation) wurde auch eine Blutprobe zur Antikörperbestimmung mittels kommerziellem ELISA (IgA und IgG) analysiert. 34 männliche Probanden konnten eingeschleust werden und wurden in folgende Gruppen un-

terteilt: a) Probanden in Rekonvaleszenz nach mildem (kein stationärer Aufenthalt) oder moderatem (stationärer Aufenthalt mit teilweise Oxygenierung) SARS-CoV-2-Krankheitsverlauf (n = 18 [n = 14 milde und n = 4 moderate Verläufe]; 8–54 Tage nach Symptomende); b) Kontrollgruppe (kein positiver Antikörpernachweis) (n = 14); c) akut an SARS-CoV-2 erkrankte Probanden (n = 2). Kein Proband wies Vorerkrankungen (z. B. Bluthochdruck, Diabetes) gemäß Anamnese auf. Das Ethikvotum der Uniklinik Düsseldorf (Studiennummer 2020-938) als auch die Zustimmung der Probanden lagen vor.

Ergebnisse SARS-CoV-2-RNA konnte in keiner Ejakulatprobe (nativ oder nach Dichtegradientenzentrifugation) mittels RT-PCR nachgewiesen werden. Allerdings waren sowohl das Ejakulatvolumen, die Spermienkonzentration als auch die Motilität gemäß WHO-Spermiogramm von Probanden nach moderater SARS-CoV-2-Infektion gegenüber dem Kontrollkollektiv und Probanden mit mildem Krankheitsverlauf eingeschränkt (keine signifikanten Unterschiede in Alter oder BMI unter den Gruppen).

Schlussfolgerung SARS-CoV-2 kann nicht mittels Ejakulat übertragen werden. Ein milder SARS-CoV-2-Krankheitsverlauf scheint keine bzw. geringe Auswirkungen auf die Hoden- und Nebenhodenfunktion in Bezug auf die erfassten Spermiogrammparameter zu haben. Probanden mit einem moderaten Krankheitsverlauf als auch Probanden mit mildem, aber fiebrigem Verlauf zeigten jedoch Einschränkungen bei den Spermiogrammparametern (Volumen, Konzentration, Motilität). Vermutlich sind diese Einschränkungen auf das aufgetretene Fieber kombiniert mit einer längeren Krankheitsdauer bei den moderat erkrankten Probanden zurückzuführen.

P18

Significance of the sperm DNA fragmentation index (DFI) for male fertility diagnostics

O. Vedrines, A. Mathwig, M. Stumm
Medicover Genetics, Berlin, Germany

Introduction A number of studies [1–3] around the world showed a decrease in sperm quality in men. Male infertility diagnostics is mainly based on analysis of clinical history, physical examination, hormone tests and sperm analysis. Sperm analysis involves analyzing the concentration, motility and percentage of normally formed sperm. These are the three parameters that are routinely assessed to choose the most appropriate assisted reproductive technology (ART) for the patient.

However, these parameters do not provide complete information as they do not take into account the analysis of another important parameter, the integrity of the DNA molecule in the sperm head. For an optimal assessment of sperm quality, this parameter should also be evaluated, as a high level of DNA fragmentation in sperm has a detrimental effect on natural fertilization, successful implantation and achievement of pregnancy following ART, and is considered a risk factor for recurrent miscarriage [4–6].

In our study, we analyzed whether the age of the patients correlates with an increase in DNA fragmentation in sperm and to what extent the DNA fragmentation correlates with the values of other sperm parameters.

Material and Methods We compared the data of standard sperm analysis and DNA Fragmentation Index (DFI) of 715 patients (2009 to 2021) from four different fertility centers. The DFI was assessed using the Halosperm® Test from Halotech, which is an indirect method to detect DNA strand breaks based on Sperm Chromatin Dispersion (SCD) technic. Using a chemical treatment that denaturates the DNA strands, each sperm shows a special pattern of dispersion: Sperms with low fragmentation present loops of DNA spreading in the shape of a halo around the head. Sperms with DNA fragmentation present either a small halo or a clear outline (no halo), depending on the level of damages. DAPI (4',6-Diamidino-2-phenylindole) stained sperms were analyzed using a fluorescent microscope. 500 sperms/patient were analyzed and the DFI was calculated. We grouped the patients according to their DFI:

1) DFI ≤ 15%: According to this DNA fragmentation level, it is assumed that pregnancy with a fertile female partner can be achieved by natural conception.

2) DFI between 16 and 29%: The DNA fragmentation starts to impact fertility and intra uterine insemination (IUI) is recommended.

3) DFI ≥ 30%: To achieve a pregnancy by natural conception with a fertile female partner is unlikely and in vitro Fertilization (IVF) or Intracytoplasmic Sperm Injection (ISCI) are recommended.

We analyzed the normal distribution of each parameter, performed t-tests to highlight the significance of our results, and calculated the correlation coefficient p to determine, which sperm parameter is most impacted by the DFI.

Results There is a direct correlation between the DFI and the age of the patients. The DFI increases significantly with patient's age. Patients with high DFI ≥ 30% are on average 40 years old. In comparison, patients with low and medium DFI categories have a median age of 36.5 and 38.5 years, respectively.

There is also a direct correlation between DFI and the other routinely tested sperm parameters:

1) DFI increases significantly as sperm concentration decreases: mean concentrations are 66.0 M/ml, 51.3 M/ml and 39.9 M/ml in the low, medium and high DFI categories, respectively.

2) DFI increases significantly as the percentage of normally formed sperm decreases: the average percentages are 4.04%, 3.37% and 2.69% in the low, medium and high DFI categories, respectively.

3) DFI increases significantly when sperm motility decreases: The average percentage of motile cells is 52.1%, 43.3% and 32.4% in the low, medium and high DFI categories, respectively.

The motility parameter correlates best with DFI: its correlation coefficient is –0.46, compared to –0.25 and –0.21 for the percentage of normally formed sperm and concentration, respectively.

Finally, we analysed the correlation between combined spermiogram parameters and the DFI. Patients were divided into 4 groups according to the number of abnormal spermiogram parameters:

Group 1: All 3 parameters are normal. 4.3% of these patients have a DFI ≥ 30%.

Group 2: One of 3 parameters is abnormal. 10.5 % of these patients have a DFI ≥ 30%.

Group 3: Two of the 3 parameters are abnormal. 29.2 % of these patients have a DFI ≥ 30%.

Group 4: All 3 spermiogram parameters are abnormal. 47.6 % of these patients have a DFI ≥ 30%.

Conclusions The DFI shows a direct correlation to the age of the patients. Also, the DFI shows a correlation to all 3 standard spermiogram parameters, alone and in combination.

Interestingly, 4% of patients with a normal spermiogram and < 40 years show a high DFI (> 30%). This highlights the fact that DNA fragmentation analysis can provide additional information that routine sperm analysis does not.

Especially in patients with a normal spermiogram and unexplained fertility problems, the DNA fragmentation index can serve as an additional clinical biomarker. DFI analysis allows a more detailed assessment of male fertility. It can help to determine an individual and appropriate fertility treatment or explain previously unsuccessful therapeutic approaches.

References:

1. Carlsen E, et al. Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. BMJ 1992; 305: 609–13.
2. Auger J, et al. Decline in semen quality among fertile men in Paris during the past 20 years. N Engl J Med 1995; 332: 281–5.
3. Geoffroy-Siraudin C, et al. Decline of semen quality among 10932 males consulting for couple infertility over a 20-year period in Marseille, France. Asian J Androl 2012; 14: 584–90.
4. Yang H, et al. The effect of sperm DNA fragmentation index on assisted reproductive technology outcomes and its relationship with semen parameters and lifestyle. Transl Androl Urol 2019; 8: 356–65.
5. Lewis S,. et al. Clinical implications of sperm DNA damage. Hum Fertil (Camb) 2010; 13: 201–7.
6 Simon, L et al. Paternal influence of sperm DNA integrity on early embryonic development. Hum Reprod 2014; 29: 2402–12.
7. Agarwal A, et al. Sperm DNA Fragmentation: A New Guideline for Clinicians. World J Mens Health 2020; 38: 412–71.

P19

Cryopreservation of sperm prior and post-orchiectomy in patients with testicular germ cell cancer – the timing matters!

Y. Tang, S. Kliesch, M. Schubert
Department of Clinical and Surgical Andrology, Centre of Reproductive Medicine and Andrology (CeRA), Münster, Germany

Background Testicular germ cell cancer (TGCC) is the most frequent malignancy among men aged 20-44 years. Many patients have not fathered children yet when receiving the diagnosis. After being diagnosed, patients are scheduled for surgery very soon and sometimes subsequent gonadotoxic therapies are necessary. According to German and EAU guidelines, semen cryopreservation for fertility protection should be performed prior to orchiectomy. Often patients have little time to make a decision about family planning and fertility protection before surgery. Thus, this study aims at comparing semen parameters before and after orchiectomy.

Patients and Methods After thorough power analysis (power = 80%, $p < 0.05$) we prospectively recruited 25 TGCC patients who performed semen cryopreservation at our Centre between April 2019 and March 2021. Study participation included, besides the regular pre-surgery cryopreservation (T0), a post-surgery visit within 8 weeks (T1) with additional semen analysis (with or without cryopreservation), physical examination, blood sampling and ultrasound. The primary endpoint was the change in total sperm count (ΔTSC) over the period of T0–T1. A binominal test under the null hypothesis of no clinically relevant change in TSC was applied. A relative decrease of more than 50% was considered as relevant. Consecutive analyses were performed using a Wilcoxon signed rank test. The latter was applied for sperm motility, vitality, semen volume and concentration.

Results Of the 25 patients, 15 had a seminoma, and 8 had a non-seminoma of stage I or II (2 unknown). 18 patients had a higher TSC before orchiectomy (T0). Seven patients revealed higher TSC after surgery (T1). Median total sperm count was 52.8 Mill/ejac. before and 26.5 Mill/ejac. after orchiectomy. There was a decline of semen concentration from 17.6 Mill/ml to 6.3 Mill/ml and a decline in motility a+b from 35% to 20% in median. The binominal test did not result in a statistically significant decrease in TSC ($p = 0.69$). The Wilcoxon signed rank test showed a decrease in sperm concentration ($p = 0.004$), motility ($p = 0.004$) and TSC ($p = 0.083$).

Conclusion Our findings indicate that semen cryopreservation should be performed before orchiectomy. In most patients a decline in semen parameters can be observed. Thus, cryopreservation prior to surgery seems mandatory in TGCC patients, especially with initially reduced sperm production. However, some patients have a higher total sperm count after orchiectomy, indicating an individualized additional potential for cryopreservation post-surgery. The current study with its limited patient number, but relevant results, forms the ideal starting point for a prospective multicentre study to evaluate both the obligation for presurgical cryopreservation and the identification of patient subgroups who could benefit from additional post-surgery cryopreservation.

P20

Loss of profilin-3 impairs spermiogenesis by affecting acrosome biogenesis, autophagy, manchette development and mitochondrial organization

N. Umer[1], L. Arevalo[1], I. Kosterin[1], S. Phadke[2], K. Lohanadan[3], G. Kirfel[3], D. Sons[4], W. Witke[5], H. Schorle[1]

[1]Institute of Pathology, Uniklinikum Bonn, Bonn, Germany; [2]Department of Medicine III, University Hospital RWTH Aachen, Aachen, Germany; [3]Institute for Cell Biology, University of Bonn, Bonn, Germany; [4]Department of Membrane Biochemistry, Life and Medical Sciences Institute (LIMES), University of Bonn, Bonn, Germany; [5]Institute of Genetics, University of Bonn, Bonn, Germany

Profilins (PFNs) are key regulatory proteins for the actin polymerization in cells and are encoded in mouse and humans by four Pfn genes. PFNs are involved in cell mobility, cell growth, neurogenesis and metastasis of tumor cells. The testes specific PFN3 is localized in the acroplaxome-manchette complex of developing sperm. We demonstrate, that PFN3 further localizes in the Golgi complex and proacrosomal vesicles during spermiogenesis, suggesting a role in acrosome formation. Using CRISPR/Cas9 genome editing we generated mice deficient for Pfn3. $Pfn3^{-/-}$ males are sub-fertile displaying a type II-globozoospermia. We revealed, that $Pfn3^{-/-}$ sperm display abnormal manchette development leading to an amorphous sperm head shape. Additionally, $Pfn3^{-/-}$ sperm showed reduced sperm motility resulting from flagellum deformities. We show, that acrosome biogenesis is impaired starting from the Golgi phase. RNA-seq analysis revealed an upregulation of Trim27 and downregulation of Atg2a. As a consequence mTOR was activated and AMPK was suppressed resulting in the inhibition of autophagy. This dysregulation of AMPK/ mTOR affected the autophagic flux which is hallmarked by LC3B accumulation and increased SQSTM1 protein levels. Autophagy is involved in proacrosomal vesicle fusion and transport to form the acrosome. We conclude that this disruption leads to the observed malformation of the acrosome. TRIM27 is the binding partner of PFN3, confirmed by co-immunoprecipitation of both proteins from testis extracts. Further, actin related protein ARPM1 was absent in the nuclear fraction of $Pfn3^{-/-}$ testes and sperm. This suggests, that lack of PFN3 leads to destabilization of the stable PFN3-ARPM1 complex resulting in the degradation of ARPM1. Interestingly, in the $Pfn3^{-/-}$ testes, we detected increased protein levels of essential actin regulatory proteins, cofilin-1 (CFL1), cofilin-2 (CFL2) and actin depolymerizing factor (ADF). Taken together, our results reveal the importance for PFN3 in male fertility and implicates this protein as a candidate for male factor infertility in humans.

P21

Which parameter predicts the probability of finding sperm in an mTESE sample best?

S. F. Kappes, F. Macke, S. Kliesch, V. Nordhoff
Centrum für Reproduktionsmedizin und Andrologie, Münster, Deutschland

Introduction In case of azoospermia the combination of microsurgical testicular sperm extraction (mTESE) and intracytoplasmic sperm injection (ICSI) has become the standard treatment in assisted reproduction. However, predicting the potential retrievability of spermatozoa in a cryopreserved mTESE on the day of ICSI is still a major issue. Several clinical parameter as potential predictors are being discussed in the literature; but it is still unclear which parameter predicts sperm outcome best.

Methods We retrospectively analysed 198 azoospermic patients who had a TESE-ICSI at our department between the years 2009 and 2019. Patient data including hormonal values, mTESE data including respective histological analysis, and the number of spermatozoa extracted from a small, pre-processed sample (PPS) before freezing procedure were collected. Moreover, we included the total sperm number of 872 single mTESE tissue samples thawed at time of TESE-ICSI into our analysis. A multiple linear regression analysis using SPSS was performed to identify the best predictor for sperm outcome on the day of ICSI.

Results We found a significant ($p = 0.01$) and strong ($rs = 0.926$) correlation of the sperm count of the PPS and the corresponding mTESE sample on the day of ICSI, indicating that the PPS reflects very well the probability of finding equal numbers of spermatozoa with respect to the PPS on the day of ICSI. Moreover, the analysis of a histological specimen using the Bergmann-Kliesch score correlated very well with the occurrence of spermatozoa in the PPS ($rs= 0.729$; $p < 0.001$). A multiple linear regression analysis including hormonal values like FSH, testosterone, age, BMI and PPS revealed that FSH ($p = 0.001$) and PPS ($p < 0.001$) had the highest predictive power to forecast the occurrence of spermatozoa on the day of ICSI. The amount of time needed for sperm retrieval at ICSI decreased significantly ($p > 0.001$) with increasing sperm numbers from 13.8 min per spermatozoon to 2.16 min due to absolute sperm numbers in PPS.

Conclusion Treatment options for azoospermic patients are mostly related to the ability to find spermatozoa on the day of ICSI. Predicting the findable amount is of utmost importance, not only for the IVF laboratory searching for spermatozoa, but also aids in counselling about the chances for the respective couple already before the start of TESE-ICSI therapy.

P22

COVID-19 – implications for future fertility or testicular germ cell changes?

M. von Brandenstein[1], B. Köditz[1], H. Göbel[2], M. Huerta[1], J. Friemann[2], O. A. Cornely[3], D. Nicol[4], H. Schorle[5], A. Heidenreich[1]
[1]Uniklinik Köln, Urologie, Köln, Germany; [2]Uniklinik Köln, Pathologie, Köln, Germany; [3]Uniklinik Köln, Innere Medizin, Köln, Germany; [4]Consultant Urological Surgeon, The Royal Marsden NHS , London, UK; [5]Uniklinik Bonn, Bonn, Germany

Background In December 2019 the first case of COVID-19 was reported and since then several groups have already published that the virus can be present in the testis.

Objective To study the influence of SARS-CoV-2 in the dysregulation of the androgen receptor (AR) level which may lead to fertility problems and induce germ cell testicular changes in patients after COVID-19.

Design, Settings Formalin-Fixed-Paraffin-Embedded (FFPE) testicular samples from patients who died with or as a result of COVID-19 (n = 8) compared with controls (n = 6), inflammatory changes (n = 5), seminoma without/without metastasis (n=10) compared with healthy biopsy samples (n = 3) were analyzed and compared via qRT-PCR for the expression of miR-371a-3p. Immunohistochemical analysis (IHC) and ELISA for androgen receptor (AR) as a target of miR-371a-3p were performed. Serum samples of patients with mild or severe COVID-19 symptoms (n = 34) were analyzed for miR-371a-3p expression.

Results In 70% a significant upregulation of the miR-371a-3p was detected in postmortem testicular tissue samples, 75% showed a reduced spermatogenesis. In serum samples the upregulation of the miR-371a-3p was also detectable.

Conclusion Dysregulation of the AR is associated with infertility and, in addition may trigger malignant transformation of intratubular germ cell neoplasia, unclassified type (IGCNU) germ cells leading to the development of testicular germ cell tumors as a possible late onset complication after SARS-CoV-2 infection. Further study have to confirm our findings to evaluate if reconvalescent men younger than 50 years need regular urological examinations probably accompanied with the analysis of serum for miR-371a-3p expression.

P23

Two groups of OAT syndromes – special receptor responsible for successful Tamoxifen therapy?

M. von Brandenstein[1], M. Huerta[1], B. Köditz[1], P. Paffenholz[1], J. Herden[1], J. Denil[2], A. Heidenreich[1]
[1]Uniklinik Köln, Urologie, Köln, Germany; [2]PAN Klinik Köln, Köln, Germany

Introduction Infertility is a major condition worldwide with approximately 70 million men suffering from this condition. Frequently, sperm quality is a big problem. There are several different abnormal pathological ejaculate syndromes; however, the Oligoasthenoteratozoospermia (OAT) syndrome is the most common one. In cases of fertility problems due to the OAT syndrome, 61% of patients can be treated with Tamoxifen. Nevertheless, in 39% of the treated Tamoxifen patients the therapy fails.

Methods We analyzed n = 18 OAT syndrome ejaculates and n = 15 Normozoospermic ejaculates according to the expression of different receptors via Western Blot as well as immunofluorescence.

Results In 45% the postulated receptor was expressed. OAT syndrome sperm with no postulated receptor presence shows the prescencs of an other receptor. In sperm from normozoospermic patients, the postulated receptor was detectable but not the second one, in teratozoospermic sperms the situation was vice versa. The ET-1 expression, evaluated via ET-1 specific ELISA, in sperms from OAT patients ET-1 level was significantly lower in comparison to sperms from normozoospermic patients.

Conclusion Since it is known from literature that Tamoxifen treatment induces increasing ET-1 levels, ET-1 sperm levels were analyzed via ELISA showing significantly lower levels in OAT syndrome compared to normozoospermic. Due to the treatment with Tamoxifen, the ET-1 levels in ejaculates increase and therefore the presence of the special receptor increases as well which seems to be necessary for normal sperm appearance, number and movement. Increasing ET-1 levels are responsible for decreasing NO (nictric oxide) levels, which regulate the postulated receptor. Concluding this, patients with a decreased presence of the special receptor in sperms can be the target group for successful Tamoxifen treatment.

P24

Establishment and analysis of a Protamine-1-deficient mouse line

G. E. Merges[1], J. Meier[1], L. Arévalo[1], S. Schneider[1], A. Kruse[2], A. Fröbius[2], K. Steger[2], H. Schorle[1]
[1]Department of Developmental Pathology, Institute of Pathology, University Hospital Bonn, Bonn, Germany; [2]Department of Urology, Pediatric Urology and Andrology, Section Molecular Andrology, Biomedical Research Center of the Justus-Liebig University, Gießen, Germany

During spermiogenesis histones are replaced by protamines, which leads to hypercondensation of the chromatin and transcriptional silencing in sperm. Thereby the paternal genetic material is protected. In mice and men Protamine-1 (Prm1) and Protamine-2 (Prm2) are expressed in a species-specific ratio. In human, alteration of this ratio has been correlated to male sub- or infertility.

Our group has shown that in mice loss of Prm2 triggers a reactive oxygen species (ROS)-induced destruction cascade during epididymal transit, which ultimately renders male mice infertile. Loss of one allele of Prm2 causes no pathomorphological effect.

Here, we used CRISPR/Cas9-based gene-editing to generate Prm1-deficient mice to analyze the consequences of loss of Prm1.

Prm1$^{-/-}$ males are sterile. Loss of one allele of Prm1 (Prm1$^{+/-}$) renders males subfertile.

The testis/body weight ratio is not significantly different between Prm1-deficient and WT mice. Spermatogenesis appears normal in Prm1$^{+/-}$ and Prm1$^{-/-}$ males.

However, epididymal sperm counts are reduced for Prm1$^{-/-}$ males compared to Prm1$^{+/-}$ and WT males. Prm1$^{-/-}$ males show a defect sperm membrane integrity. Sperm from Prm1$^{+/-}$ males show a 65% reduction in motility compared to WT sperm. Prm1$^{-/-}$ sperm are completely immotile. While DNA from Prm1$^{+/-}$ epididymal sperm is mainly intact, DNA from Prm1$^{-/-}$ sperm is degraded into fragments. Prm1$^{-/-}$ sperm show defective chromatin hypercondensation, detachment of the cell membrane and impaired acrosome integrity. Further, Prm1$^{-/-}$ sperm lose the typical hooked head shape. 3'-mRNA sequencing of the whole testis showed transcriptional deregulation/impaired transcriptional silencing in Prm1$^{-/-}$ compared to Prm1$^{+/-}$ and Prm1$^{+/+}$ samples. Chromomycin A3 (CMA3) staining revealed a global impairment of protamination already in Prm1$^{+/-}$ sperm. In comparison approx. 30% of Prm2$^{+/-}$ sperm stained positive for CMA3. Staining against 8-OHdG detected, like in Prm2$^{-/-}$ sperm, increased ROS-induced DNA damage in Prm1$^{-/-}$ sperm compared to Prm1$^{+/-}$ and WT sperm. Lastly, unprocessed PRM2 was detected in the nuclear protein fraction isolated from Prm1$^{+/-}$ and Prm1$^{-/-}$ epididymal sperm.

Interestingly, Prm1$^{+/-}$ males are subfertile already, while Prm2$^{+/-}$ males remain fertile. This suggests that loss of one allele of Prm1 cannot be fully compensated. Transmission electron microscopy- based analyses revealed that DNA of Prm1$^{+/-}$ and Prm2$^{+/-}$ sperm appeared electron dense with intact chromatin.

This raises the question as to why the Prm1$^{+/-}$ males are subfertile. Prm1$^{+/-}$ sperm display impaired protamination and a defect in pre-PRM2 processing. This could lead to uncoordinated gene-silencing, defective chromatin hypercondensation and potential loading of Prm2 precursors to the DNA resulting in failure of proper sperm function.

P25

Combating idiopathic male infertility: A novel diagnostic test to identify patients suffering from a loss of CatSper function

C. Schiffer[1], S. Young[1], C. Brenker[1], F. Tüttelmann[3], A. Röpke[3], H. Hamzeh[4], A.Wagner[1], D. Wachten[2], U. B. Kaupp[4], S. Kliesch[1], T. Strünker[1]
[1]Center of Reproductive Medicine and Andrology, University Hospital Münster, Münster, Germany; [2]Institute of Innate Immunity, University Hospital Bonn, Bonn, Germany; [3]Institute of Reproductive Genetics, University of Münster, Münster, Germany; [4]Center of Advanced European Studies and Research, Bonn, Deutschland

Sperm require the activity of the sperm-specific $Ca2^+$ channel CatSper (cation chan-

nel of sperm) to break through the egg coat. Consequently, men suffering from a loss of CatSper function are infertile and their sperm also fail to fertilize the egg upon IUI and IVF treatment. CatSper-deficient patients can only father a child using ICSI.

However, a loss of CatSper function does not affect the production, basal motility, or morphology of sperm and, thus, escapes state-of-the-art semen analysis – CatSper-deficient patients are "normozoospermic". Therefore, affected patients are prone to experience failing cycles of assisted reproductive treatment – if the infertility is identified at all.

To close this diagnostic gap, we have developed the prototype of a novel laboratory test to assess the function of CatSper in semen samples from patients undergoing semen analysis. Using this "CatSper-Activity-Test" in a pilot study, we identified nine patients suffering from a loss of CatSper function caused by deletions and/or mutations of CATSPER genes. According to standard semen analysis, the majority of these CatSper-deficient patients are normozoospermic, feature no other pathological condition, and were "diagnosed" as idiopathic infertile. The CatSper-deficient sperm from these patients were characterized with a battery of techniques, including motility analysis, electrophysiology, Ca^{2+}-fluorimetry, and 3D-STORM. We show that CatSper-deficient sperm indeed fail to hyperactivate and penetrate the egg coat, and that the homozygous deletion of CATSPER2 represents the most common genetic cause underlying a loss of CatSper function. Moreover, we propose that the loss of CatSper function is among the most frequent causes of total fertilization failure in classical IVF.

With a hands-on-time of only a few minutes and no special equipment or training required, the CatSper-Activity-Test is suited for a seamless integration into every andrological laboratory. Therefore, in the form of a designated in-vitro-diagnostic test, we envisage the CatSper-Activity-Test as a novel, powerful tool for the early diagnosis of male infertility and an evidence-based treatment decision in assisted reproduction.

Sexualmedizin, Varia

P26

Validierung des Fragebogens I-Transqol zur Erhebung der Lebensqualität von Trans*personen unter geschlechtsangleichender Hormontherapie

M. Muller, C. Lampl, D. Riedl, L. Gschwentner, E. Arnold, J. Wegscheider, B. Toth, K. Feil
Universitätsklinik für Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin, Medizinische Universität Innsbruck, Innsbruck, Österreich

Einleitung Viele Trans*personen sind sowohl aufgrund ihrer Geschlechtsdysphorie als auch Diskrimierung einer starken psychischen Belastung ausgesetzt. Mit dem Fragebogen iTransQol wird ein valides Messinstrument zur Erhebung der Lebensqualität von Trans*personen vor und während einer geschlechtsangleichenden Hormontherapie entwickelt.

Methoden Entsprechend internationaler Guidelines umfasst die Fragebogenentwicklung mehrere Stufen: (1) systematische Literaturrecherche und strukturierte Interviews mit Patient*Innen und Behandler*innen zur Identifikation zentraler Problembereiche („Issues"), (2) Umwandlung der Issues in Fragebogenitems für eine vorläufige Fragebogenversion, (3) Vorab-Testung des provisorischen Fragebogens und (4) breite psychometrische Testung des Fragebogens. Die ersten 3 Phasen der Entwicklung hat der Fragbogen bereits durchlaufen, aktuell befindet sich diese prospektive Studie in Phase 4. Der Fragebogen wird anhand der Befragung von n = 200 Trans*personen und n = 200 Cispersonen als Kontrollgruppe validiert. Als externe Validitätskriterien werden drei weitere Fragebögen verwendet, der SF-36 (körperliche und mentale Lebensqualität), der PHQ-9 (Depressivität) und der GAD-7 (Angst).

Resultate Im Zuge der Literaturrecherche wurden 64 Issues (44 allgemein, 20 geschlechtsspezifisch) identifiziert und in Itemformate umgewandelt. In den kognitiven Interviews wurden die Issues hinsichtlich der jeweiligen Relevanz, Bedeutung und Verständlichkeit sowie Redundanz bzw. fehlende Inhalte beurteilt. Basierend auf den Bewertungen der Teilnehmer*innen, wurden die 64 Items auf insgesamt 38 Items reduziert. Aufgrund der Vorab-Testung wurde ein weiterer Item entfernt.

Schlussfolgerung Der Fragebogen soll in Phase 4 in seiner endgültigen Fassung validiert werden, um ein Werkzeug zu erstellen, das mit einer kurzen und prägnanten Abfrage das Wohlbefinden der Trans*personen unter geschlechtsangleichender Hormontherapie widerspiegeln kann.

P27

Wenn ART erfolglos bleibt: Zahlen, Erfahrungen, Interventionen

T. Wischmann[1], P. Thorn[2]
[1]Institut für Medizinische Psychologie, Universitätsklinikum Heidelberg, Heidelberg, Deutschland;
[2]Praxis für Paar- und Familientherapie, Kinderwunsch-Beratung, Mörfelden, Deutschland

„Failures (with some successes) of assisted reproduction and gamete donation programs" lautet der (etwas provokative) Titel eines Artikels 2013 in der Fachzeitschrift *Human Reproduction*, in dem der Fokus – anders als sonst üblich – auf den Misserfolgen der Reproduktionsmedizin liegt. In der hier vorliegenden Übersicht sollen zunächst die Erfolgschancen der assistierten Reproduktion (ART) einer kritischen Betrachtung unterzogen werden, bezogen auf die kumulative Lebendgeburtenrate. Es folgen dann die Studienergebnisse zur Lebensqualität ungewollt kinderlos gebliebener Paare. Abschließend werden Beispielinterventionen der psychosozialen Kinderwunschberatung aufgezeigt sowie wichtige Hinweise für Ärztinnen und Ärzte gegeben, falls die ART erfolglos bleiben sollte. Optimismus ist sicherlich keine zwingende Voraussetzung zum Start einer reproduktionsmedizinischen Behandlung: Das ist ein Mythos. Von daher sollte bereits beim Erstgespräch im Kinderwunschzentrum der „Plan B" aktiv durch den Reproduktionsmediziner unbedingt angesprochen werden. Die Aussicht definitiver Kinderlosigkeit ist eine gefühlsmäßig herausfordernde Vorstellung, das Thema sollte aber kein Tabuthema sein, weder für das Paar noch für den Arzt.

P28

Sexual and reproductive health in transgender and non-binary gender individuals during the COVID-19 pandemic in Germany

F. Batz, S. Mahner, C. J. Thaler, N. Rogenhofer
Department of Obstetrics and Gynecology and Center for Gynecological Endocrinology and Reproductive Medicine, University Hospital, LMU München, München, Germany

Background Preliminary research shows a substantial impact of the COVID-19 pandemic on sexual health and the desire for own parenthood [1]. Since published research suggests that gender minorities are at a higher risk of experiencing negative changes in mental health [2], we studied sexual and reproductive health as indicators for mental wellbeing in transgender individuals during the COVID-19 pandemic.

Methods An anonymous nationwide online survey was conducted among transgender and non-binary individuals in Germany during the first COVID-19 lockdown from April 20th to July 20th, 2020. Demographic variables and self-report measures of sexual health and motives for and against having a child (including questions from Sexual Behavior Questionnaire (SBQ-G)) were collected. The questions items refer to the time "since the pandemic began".

Results A total of 197 participants were included: (I) Transgender men (n = 102, 51.8%), (II) Transgender women (n = 64, 32.4%), (III) Non-binary gender identities (n = 31, 15.8%). Approximately two-third of the study population indicated a desire for own children. 45.6 % would like to have two children (n = 90). 66.5 % (n = 131) reported no change in their desire for own parenthood since the COVID-19 pandemic. 22.8 % (n = 45) stated an increase and 4.1 % (n = 8) a decrease in their desire for own children. The motives for and against having a child did not differ from cis*gender individuals. During the COVID-19 pandemic the average weekly frequency of masturbation increased significantly compared to the time before the pandemic ($p < 0.05$). In contrast, sexual contacts did not change significantly since the pandemic. Furthermore, all study groups showed an increase in satisfaction with the frequency of sexual contacts since the COVID-19 pandemic. Moreover, the level of sexual arousal and capability to enjoy sexual intercourse or masturbation increased significantly in all study groups during quarantine compared to the time before the pandemic.

Conclusion During the COVID-19 pandemic, intense social restrictions and physical distancing measures have been implemented. Several studies show that mental and sexual wellbeing as well as the motives for and against having a child has been affected since the pandemic. This is the first study for Germany to examine reproductive health of the particularly vulnerable group of gender minorities. The findings suggest that during a pandemic, as is now the case in the COVID-19 pandemic, sexual and reproductive health care should be provided, especially for sexual minority groups.

References:

1. Ibarra FP, et al. Impact of the COVID-19 pandemic on the sexual behavior of the population. The vision of the east and the west. Int Braz J Urol 2020; 46 (Suppl.1): 104–12.

2. Panzeri M, et al. Changes in sexuality and quality of couple relationship during the COVID-19 lockdown. Front Psychol 2020; 11: 565823.

Weibliche Infertilität und MAR: IUI, IVF, ICSI, natürlicher und stimulierter Zyklus

P29

Retrospektive Analyse des Zusammenhangs von ersten hCG-Werten und dem Ersttrimestertest sowie dem Schwangerschaftsoutcome bei Patientinnen nach assistierter reproduktionsmedizinischer Therapie (ART)

J. Lanbach, S. Falkensteiner, A. Aulitzky, A.-L. Zippl, B. Seeber
Universitätsklinik für Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin, Universitätsklinik Innsbruck, Innsbruck, Österreich

Einleitung Das humane Choriongonadotropin (hCG) ist ein schwangerschaftsspezifisches Hormon, das hauptsächlich von Syncytiotrophoblasten gebildet wird. Frühestens eine Woche nach der Befruchtung ist es im Serum der Mutter nachweisbar und wird als diagnostischer Test zum Schwangerschaftsnachweis verwendet.

Nach einer Behandlung mittels assistierter reproduktionsmedizinischer Therapie (ART) wird das hCG zu einem standardisierten Zeitpunkt nach dem Embryotransfer (ET) im Serum bestimmt, um eine Schwangerschaft festzustellen. Hierbei zeigen sich mitunter große Schwankungen der Werte. Die Bedeutung dieser Schwankungen ist bislang noch unklar. Studien lassen vermuten, dass erhöhte Werte von hCG in der Frühschwangerschaft auf ein erhöhtes Risiko für Schwangerschaftskomplikationen hinweisen können.

Ziel dieser Studie war zu untersuchen, ob ein hoher hCG-Wert 11 Tage nach ET mit einem schlechteren Schwangerschaft-Outcome assoziiert ist.

Material und Methoden In dieser retrospektiven Studie wurde der hCG-Wert am Tag 11 nach ET mit den Werten des Ersttrimestertests und dem Outcome der Schwangerschaft verglichen. Eingeschlossen wurden alle Patientinnen, die im Zeitraum vom 2014–2019 an der Klinik für Gynäkologische Endokrinologie der Uniklinik Innsbruck eine ART-Behandlung mit Single-Embryotransfer (sET) erhalten haben, zum Zeitpunkt der Datenerhebung zwischen 18 und 45 Jahren alt waren und bei welchen ein positiver hCG-Wert nachgewiesen wurde. Die Ausschlusskriterien wurden definiert als das Vorliegen einer Mehrlingsgravidität, „Vanishing-twin" und einer Extrauteringravidität.

Ergebnisse Bei einem Kollektiv von insgesamt 638 Patientinnen kam es bei 202 Patientinnen zu einem Abort, bei 436 Patientinnen stellte sich eine vitale Schwangerschaft ein. In der statistischen Auswertung zeigte sich ein signifikanter Unterschied ($p < 0{,}001$) zwischen den beiden Gruppen bezüglich des hCG-Wertes am Tag 11 nach ET (Abort: 212 ± 191 U/L, vitale Schwangerschaft 358 ± 218). Die ROC-Analyse ergab bei einem Cut-off-Wert des hCG von 18 U/I, 100-%-Sensitivität für eine gestörte Gravidität. Eine Einteilung des hCG-Wertes in 3 Gruppen (< 15., 15.–85., > 85. Perzentile) wurde für weitere statische Analysen angewendet. Im Ersttrimesterscreening zeigten sich bezüglich der Parameter hCG ($p = 0{,}200$), PAPP-A ($p = 0{,}358$) und PI der A. uterina ($p = 0{,}082$) im Gruppenvergleich höhere Werte bei initial erhöhtem hCG. Die Unterschiede waren jedoch nicht signifikant. Ein signifikanter Unterschied im Gruppenvergleich bezüglich der Schwangerschaftskomplikationen ergab sich im Auftreten einer Präeklampsie ($p = 0{,}025$) und eines HELLP-Syndroms ($p = 0{,}025$). Ein höherer Ausgangwert von hCG konnte mit diesen Komplikationen assoziiert werden. Die Analyse der mütterlichen und kindlichen Geburtskomplikationen zeigte keine signifikanten Unterschiede.

Diskussion Erhöhte erste hCG-Werte nach ET scheinen mit einigen Schwangerschaftskomplikationen assoziiert zu sein und stellen damit möglicherweise einen Risikomarker für Plazentationsstörungen dar. Von klinischer Bedeutung bei der Betreuung von IVF-Patientinnen ist zudem der ermittelte Cut-off-Wert des hCG-Wertes von 18 U/I, hCG-Werte < 18 U/I deuten hierbei auf eine gestörte Gravidität hin.

Unsere Ergebnisse erlauben möglicherweise eine frühe Identifizierung von Risikoschwangerschaften und in der Folge den früheren Einsatz von therapeutischen Optionen wie beispielsweise Acetylsalicylsäure zur Prävention von Plazentationsstörungen (z. B. Präeklampsie).

P30

Klinischer Score zur Vorhersage des Erfolgs von Ovulationsinduktion und intrauteriner Insemination

A.-L. Zippl[1], P. Rockenschaub[2], A. Wachter[1], B. Toth[1], B. Seeber[1]
[1]Universitätsklinik für Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin Innsbruck, Innsbruck, Österreich; [2]Institute of Health Informatics, University College London, London, UK

Einleitung Die in der Literatur beschriebenen Schwangerschaftsraten nach Ovulationsinduktion (OI) und intrauteriner Insemination (IUI) sind sehr heterogen. Es wurden verschiedene prädiktive Faktoren beschrieben, dennoch ist bisher kein klinisches Hilfsmittel verfügbar, das diese Faktoren kombiniert und eine Vorhersage der Schwangerschaftschancen eines Paares durch OI und IUI ermöglicht.

Methoden Im Rahmen einer retrospektiven Kohortenstudie wurden 1437 IUI-Zyklen ausgewertet, die zwischen 2009 und 2017 bei 758 Paaren an einem universitären reproduktionsmedizinischen Zentrum durchgeführt wurden. Eingeschlossen wurden Frauen zwischen 18 und 45 Jahren, bei denen nach einer Stimulation mit Clomiphen und/oder Gonadotropinen oder im natürlichen Zyklus eine OI und eine homologe IUI erfolgt war. Das primäre Outcome war Schwangerschaft, definiert als positives humanes Choriongonadotropin (hCG) 12–14 Tage nach der IUI. Der IUI-Erfolg wurde sowohl als Schwangerschaftsrate pro Zyklus als auch kumulativ pro Paar berechnet. Parameter, die als prädiktive Faktoren in Betracht gezogen wurden, umfassten weibliches Alter und Body-Mass-Index (BMI), Anti-Müller-Hormon (AMH), weibliche Infertilitätsdiagnose und Gesamtzahl der beweglichen Spermien („total progressive motile sperm count", TPMSC). Anhand der Resultate wurde unter Verwendung eines multivariablen Continuation-Ratio-Modells ein prädiktiver Score entwickelt.

Resultate In unserem Kollektiv lag die Schwangerschaftsrate pro Zyklus bei 10,9 % und kumulativ bei 19,4 %, vergleichbar mit den in der Literatur beschriebenen Raten. Die meisten Paare ließen 1–3 IUI-Zyklen durchführen, während sich nur 56 (7,4 %) 4 oder mehr Zyklen unterzogen. In einer multivariablen Analyse war die Schwangerschaftswahrscheinlichkeit negativ mit einem weiblichen Alter ≥ 35 Jahren (Odds-Ratio [OR] 0,63, 95-%-Konfidenzintervall [CI]: 0,41–0,97; $p = 0{,}034$), Endometriose, unilateralem Tubenfaktor oder anatomischen Malformationen im Vergleich zu anovulatorischer Infertilität oder ohne weibliche Infertilitätsursache (OR 0,54, 95-%-CI: 0,33–0,89; $p = 0{,}016$), AMH < 1 ng/ml (OR 0,50, 95-%-CI 0,29–0,87; $p = 0{,}014$), und TPMSC < 5 Mio (OR 0,47, 95-%-CI: 0,19–0,72; $p = 0{,}004$) assoziiert. Auf der Basis dieser Ergebnisse wurde ein klinischer Score entwickelt, der von 0 bis 5 reicht und die Schwangerschaftsrate pro Zyklus vorhersagt. In unserer Kohorte hatten Paare mit einem Score von 5 nach 3 IUI-Zyklen eine kumulative Schwangerschaftswahrscheinlichkeit von knapp 45 %, während Paare mit einem Score von 0 nach 3 Zyklen eine Wahrscheinlichkeit von nur 5 % erreichten.

Schlussfolgerung IUI-Erfolgsraten variieren stark anhand der Eigenschaften des Paares. Der von uns entwickelte, einfach anwendbare klinische Score unterstützt Ärzte bei der

Einschätzung der Schwangerschaftschancen eines Paares mittels OI und IUI und ermöglicht eine evidenzbasierte und individuelle Beratung. Um die Generalisierbarkeit des Scores zu prüfen, sollten Validierungsstudien in anderen Kohorten durchgeführt werden.

P31

Maternale und neonatale Verläufe nach Auftauzyklen mit und ohne Corpus luteum

F. Waschkies[1], L. Kroning[1], T. Schill[2], A. Chandra[3], C. Schippert[1], D. Töpfer[1], Y. Ziert[1], F. von Versen-Höynck[1]
[1]Medizinische Hochschule Hannover, Hannover, Deutschland; [2]Kinderwunschzentrum Langenhagen und Wolfsburg MVZ, Langenhagen, Deutschland; [3]Kinderwunsch-Zentrums Deutsche Klinik Bad Münder, Bad Münder, Deutschland

Hintergrund Heutzutage nimmt der Transfer kryokonservierter Embryonen einen hohen Stellenwert im Rahmen von Kinderwunschbehandlungen ein. Aktuelle Beobachtungsstudien legen nahe, dass es abhängig vom Behandlungsprotokoll Unterschiede im maternalen und neonatalen Outcome nach Auftauzyklen geben könnte. Unsere Studie analysierte, ob sich die Häufigkeiten ausgewählter maternaler und neonataler Outcomes nach Auftauzyklen ohne Corpus luteum-(CL-) Entwicklung im Vergleich zu Zyklen mit CL-Entwicklung unterscheiden, um Zusammenhänge zwischen dem Fehlen des CL und unerwünschten Schwangerschaftsoutcomes aufzudecken.

Methoden In unsere retrospektive Beobachtungsstudie sind Daten aller zwischen 1997 und 2019, an 3 niedersächsischen Kinderwunschzentren, durchgeführten Auftauzyklen eingeflossen (n = 8700). Unser finales Studienkollektiv umfasste 2 Patientinnenkohorten mit Lebendgeburten von Einlingen (0 CL-Kohorte [Embryotransfer im artifiziellen Zyklus, n = 114] und ≥ 1 CL-Kohorte [Embryotransfer im (modifiziert) natürlichen oder stimulierten Zyklus, n = 68]). Die Studienteilnehmerinnen füllten einen Fragebogen zum Schwangerschafts- und Geburtsverlauf aus. Aus den zugesandten Geburtsakten der jeweiligen Krankenhäuser wurden Daten zu maternalen und neonatalen Verläufen extrahiert und validiert. Um den statistischen Zusammenhang zwischen den Outcomes und dem Fehlen des CL zu analysieren, wurden multivariable logistische und lineare Regressionsmodelle berechnet. Übereinstimmungen zwischen den Selbstauskünften der Teilnehmerinnen und den validierten Diagnosen der Behandlungsakten wurden durch die Berechnung von Cohen's Kappa bestimmt.

Ergebnisse Das Risiko, eine hypertensive Schwangerschaftserkrankung zu entwickeln, war in der Kohorte mit Embryotransfer ohne CL im Vergleich zu Transferen mit CL gesteigert (aOR 5,56, 95-%-CI: 1,12–27,72). Die Geburtsgewichte und Gewichtsperzentilen waren darüber hinaus in der 0-CL-Kohorte signifikant höher. Das Fehlen des CL zeigte sich als Prädiktor für ein höheres Geburtsgewicht (adjustierter Koeffizient B 179,74, 95-%-CI: 13,03–346,44) sowie für höhere Gewichtsperzentilen (adjustierter Koeffizient B 10,23, 95-%-CI: 2,28–18,40). Dies galt insbesondere für weibliche Neugeborene innerhalb der 0-CL-Kohorte. Die Übereinstimmung zwischen den Selbstauskünften der Teilnehmerinnen im Fragebogen und den Diagnosen aus den medizinischen Behandlungsunterlagen war mit Ausnahme der Hypertonie (κ = 0,38) in den überwiegenden Fällen groß.

Schlussfolgerungen Trotz niedriger Fallzahlen untermauert diese Studie Beobachtungen zu einer potentiellen Assoziation zwischen dem Fehlen des CL in Auftauzyklen und unerwünschten maternalen bzw. neonatalen Outcomes. Die in den vergangenen Jahren beschriebenen höheren Geburtsgewichte und die höhere Anzahl makrosomer Neugeborener nach Kryo-Zyklen im Vergleich zu frischen IVF-Embryotransferen können möglicherweise auch mit dem Fehlen eines CL in artifiziellen Auftauzyklen zusammenhängen. Weiterführende Untersuchungen sind nötig, um die Kausalität zu verifizieren (z. B. RCT) und zugrundeliegende Mechanismen, wie z. B. den Einfluss fehlender CL-Hormone, zu erforschen.

P32

Circulating microRNA expression in ART patients

T. Greither, S. Epstein, P. Tannert, H. M. Behre
Zentrum für Reproduktionsmedizin und Andrologie, MLU Halle-Wittenberg, Halle (Saale), Germany

MicroRNAs are small, non-coding RNAs regulating the translation of their respective target genes. Extracellular circulating microvesicle-bound microRNAs can be detected in various body fluids including blood, and can be utilized as markers of pathophysiological and physiological changes. During the initiation and duration of a pregnancy, the embryo and the placenta induce changes in the circulating microRNA patterns of the mother. Aim of this study was the analysis of the expression of different previously trophoblast-annotated microRNAs during the early pregnancy following ART treatment.

We isolated total RNA from the serum of 51 patients undergoing ART treatment at different time points (day 8 of hormonal stimulation as baseline; two weeks after embryo transfer (ET); three weeks after ET and six weeks after ET). The serum levels of miR-27b, miR-141, miR-191, miR-222, miR-433, miR-593, the miR-372/373 cluster, miR-411 and miR-539e were measured via quantitative PCR using miR-16 expression as internal reference.

All microRNAs were detectable in the serum of ART patients to different extents, with miR-593, miR-411 and miR-539e exhibiting the lowest expression. In bivariate correlation analyses on baseline, levels of miR-141 and miR-433 (rS = 0.51; p < 0.001), miR-191 and miR-539 (rS = 0.36; p = 0.01) and miR-222 and miR-433 (rS = 0.39; p = 0.005) were significantly associated, pointing towards a co-regulation of these microRNAs during follicle stimulation. Two weeks after ET, increased circulating miR-141 levels were significantly associated with a pregnancy (p = 0.03; Mann-Whitney U test). Eight weeks after ET, no further association between circulating microRNAs and pregnancy could be detected. Furthermore, decreased miR-222 and miR-539 levels on the second week after ET were associated with an increased risk of later miscarriage (p = 0.015 and 0.01, Mann-Whitney U-test).

In conclusion, miR-141 serum levels may serve as indicator of an ongoing implantation during ART. Circulating microRNAs miR-222 and miR-539 may be an early indicator of a miscarriage. Further studies are necessary to validate these results.

P33

Höhere klinische Schwangerschaftsrate nach Verabreichung eines Oxytocin-Rezeptor-Antagonisten bei einer Embryonenübertragung: Eine systematische Übersichtsarbeit und Metaanalyse von 11 randomisierten Studien

K. Neumann[1], G. Griesinger[2]
[1]Praxisklinik Kinderwunsch Fleetinsel, Hamburg, Deutschland; [2]Universitäres Kinderwunschzentrum Lübeck, Lübeck, Deutschland

Hintergrund Uterine Kontraktionen werden als eine mögliche Ursache für ein Implantationsversagen nach Embryonenübertragung im Rahmen einer assistierten Reproduktion beschrieben. Als ein therapeutischer Ansatzpunkt zur Erhöhung der Lebendgeburtenrate pro Embryonenübertragung sind daher verschiedene Oxytocin-Rezeptor-Antagonisten in randomisierten klinischen Studien untersucht worden.

Methode Verschiedene Literaturdatenbanken wurden nach randomisierten klinischen Studien, die eine Verabreichung von einem Oxytocin-Rezeptor-Antagonisten vor, während oder nach einer Embryonenübertragung versus Plazebo/nil untersucht haben, durchsucht. Es wurde eine Meta-Analyse von aggregierten Daten nach standardisierter Vorgehensweise durchgeführt. Alle Ergebnisse sind pro randomisierter Patientin dargestellt. Es wurde eine Sensitivitätsanalyse zur Studienqualität, Art des Medikaments und Tag der Embryonenübertragung durchgeführt.

Ergebnisse Die elektronische Literatursuche zeigte n = 11 randomisierte klinische Studien (RCTs), die in die Auswertung eingeschlossen werden konnten. Das untersuchte Medikament war Atosiban in n = 7, Barusiban in n = 1 und Nolasiban in n = 3 Studien, welches jeweils intravenös, subkutan oder *per os* appliziert wurde. Relevante Heterogenität zwischen den Studien waren die Patientinnenpopulation (Endometriose, Patientinnen mit Implantationsversagen), Art des Behandlungszyklus (Frisch- oder Auftauzyklus), Medikamentenart und methodische Validität. Die Lebendgeburtenrate war höher bei Frauen, die einen Oxytocin-Rezeptor-Antagonisten zur Embryonenübertragung verabreicht bekommen hatten (relatives Risiko: 1,09, 95-%-CI: 0,98–1,20; p = 0,11, I2 =

25 %, n = 5 Studien, n = 2765) wie auch die klinische Schwangerschaftsrate (relatives Risiko: 1,31, 95-%-CI: 1,13–1,51; p = 0,0002, I2 = 61 %, n = 11 Studien, n = 3,611). Eine Sensitivitätsanalyse unter Einschluss von Studien mit geringem Risiko für systematische Verzerrung bestätigte eine höhere klinische Schwangerschaftsrate für Patientinnen, die einen Oxytocin-Rezeptor-Antagonisten verabreicht bekommen hatten (relatives Risiko: 1,11, 95-%-CI: 1,01–1,22; p = 0,03, I2 = 5 %, n = 5 RCTs, n = 2765).

Schlussfolgerung Die Verabreichung von Oxytocin-Rezeptor-Antagonisten zur Embryonenübertragung hat das Potential die Lebendgeburtenwahrscheinlichkeit und klinische Schwangerschaftsrate pro Embryonenübertragung zu erhöhen.

P34

Plasmalevel von Dydrogesteron und Dihydrodydrogesteron in artifiziellen Kryo-ET Zyklen: eine prospektive Kohortenstudie

G. Griesinger[1], A. Masuch[1], M. Depenbusch[1], A. Schultze-Mosgau[1], T. Eggersmann[1], K. Neumann[1,2]
[1]Universitäres Kinderwunschzentrum Lübeck und Manhagen, Lübeck, Deutschland, [2]Kinderwunschzentrum Fleetinsel Hamburg, Hamburg, Deutschland

Im artifiziellen Kryozyklus werden Follikelwachstum und Ovulation durch eine exogene Östradiolgabe unterdrückt und die Rezeptivität des Endometriums durch eine exogene Gestagengabe induziert. Durch die Abwesenheit eines Corpus luteum sind endometriale Rezeptivität und Fortbestand einer Schwangerschaft im artifiziellen Kryozyklus somit gänzlich abhängig vom exogen zugeführten Gestagen. Bei Verwendung von vaginalem, mikronisiertem Progesteron in üblicher Dosierung bleiben 25–30 % der Frauen unterdosiert. Orales Dydrogesteron (DYD) kann vaginales, bioidentisches Progesteron im Frischzyklus ersetzen und bietet sich ebenso als Gestagen mit guter oraler Bioverfügbarkeit für den Einsatz im artifiziellen Kryozyklus an. Bisher wurden aber keine Studien durchgeführt, die die inter- und intraindividuelle Varianz der Plasmaspiegel von DYD (und dem Hauptmetaboliten Dihydrodydrogesteron, DHD) nach oraler Gabe von 3 × 10 mg beschreiben und den Zusammenhang zwischen Plasmaspiegeln in der Lutealphase und Behandlungsergebnis explorieren.

Im Rahmen einer prospektiven, klinischen Kohortenstudie (5/2018–11/2020) (Studienregister: NCT03507673) wurden 217 Frauen in einem artifiziellen Kryozyklus behandelt (3 × 2 mg orales Östradiol gefolgt von zusätzlich 3 × 10 mg oralem Dydrogesteron); Einschlusskriterium: am Tag 12–15 der Östradiolgabe kein Follikelwachstum und das Serumprogesteron < 1,5 ng/ml. Am Tag des Embryotransfers wurden Serum und Plasmaproben asserviert (–80°C) und durch LC/MS die DYD- und DHD-Spiegel bestimmt.

Bei 14/217 (6,4 %) Patientinnen wurde eine Ovulation detektiert, sodass diese Patientinnen ausgeschlossen wurden. Bei weiteren 5 Patientinnen konnten die DYD- und DHD-Werte nicht gemessen werden, sodass für den ET an Tag 2 oder 3 n = 41 und für den ET an Tag 5 n = 157 Plasmaproben zur Verfügung standen. Die mittleren Werte von DYD und DHD waren 1,6 mg/ml (± 1,6) und 41,3 ng/ml (± 28,4) an ET Tag 2, 1,6 mg/ml (± 1,1) und 40,4 ng/ml (± 24,4) an ET Tag 3, und 1,3 mg/ml (± 0,9) und 35,8 ng/ml (± 21,2) an ET Tag 5, sodass ein „plasma steady-state“ schon am dritten Tag der Einnahme erreicht zu werden scheint. Die Plasmawerte von DYD und DHD waren nicht bzw. nur sehr schwach mit dem BMI und dem Körpergewicht der Frau assoziiert, sodass die Plasmakonzentrationen von DYD und DHD nicht relevant vom Verteilungsvolumen bestimmt zu sein scheinen. Die DYD- und DHD-Werten waren bemerkenswert stark korreliert (Korrelationskoeffizient ~0,93), sodass für zukünftige Studien die Messung nur eines der beiden Wirkstoffe hinlänglich sein dürfte. Patientinnen im untersten Viertel der DYD- und DHD-Konzentrationen am Tag des ET hatten eine deutlich niedrigere Wahrscheinlichkeit für den Eintritt einer fortlaufenden Schwangerschaft und Geburt. Weitere Studien sind deshalb notwendig.

P35

Ergebnisse der intraovariellen Injektion von plättchenreichem Plasma (PRP) bei vorzeitiger ovarieller Erschöpfung und low Response: Eine Kohortenstudie

T. Eggersmann
Universitäres Kinderwunschzentrum Lübeck und Manhagen, Lübeck, Deutschland

Vorzeitige ovarielle Erschöpfung (POI), geringe ovarielle Reserve und damit einhergehend die altersbedingte Infertilität sind zentrale Herausforderungen in der Reproduktionsmedizin. Unter physiologischen Umständen befinden sich die meisten Follikel des weiblichen Ovars lebenslang in einem Ruhezustand, bevor sie schließlich atretisch werden. Histologische Untersuchungen haben gezeigt, dass der ovarielle Follikelpool einer Frau erst mit Beginn der 70. Dekade [1] vollständig aufgebraucht ist, sodass sich die zentrale Frage stellt, ob und wie dieser Pool aus oogonialen Stammzellen [2] zu reaktivieren ist. Verschiedene Ansätze, um Stammzellen im weiblichen Ovar zu reaktivieren, sind in den vergangenen Jahren berichtet worden. Dabei spielt die intraovarielle Injektion von autologem plättchenreichem Plasma (PRP) eine große Rolle. PRP wird aus ca. 60 ml Vollblut der Patientin durch Zentrifugation gewonnen und besteht aus zahlreichen Zellen und Botenstoffen, die für die Differenzierung und Regeneration verantwortlich sind.

In dieser prospektiven Kohortenstudie wurden 12 Patientinnen zwischen 02/2020–02/2021 beobachtet. Das mittlere Alter der Kohorte war 38,4 (± 3,5) Jahre mit einem mittleren BMI 24,3 (± 3,2) kg/m^2 und einer mittleren Kinderwunschdauer von 35,7 (± 19,3) Monaten (18–90 Monate). Es zeigte sich vor Therapiestart ein mittlerer AFC von 1,7 (± 1,1), ein basales AMH mehrheitlich unter der Nachweisgrenze von 0,23 (± 0,10) ng/ml und FSH 35,5 (± 20,8) IU/l. Unter sonographischer Kontrolle und in tiefer Sedierung wurden den Patientinnen 2,5–5 ml frisch gewonnenes, autologes PRP (Arthrex ACP) in jedes Ovar mittels einer 17 G einlumigen Nadel injiziert. Es zeigte sich in seriellen AMH-Kontrollmessungen eine geringfügige AMH-Erhöhung bei 3/12 Patientinnen. Eine IVF-Behandlung wurde 57 ± 19 Tage (30–93 Tage) nach PRP-Injektion gestartet und es konnten im Mittel 2,3 (± 1,5) MII-Oozyten gewonnen werden. Insgesamt 3 Patientinnen wurden im Verlauf durch IVF schwanger (1× biochemische SS, 1x Abort 14. SSW, 1 Lebendgeburt).

Diese Ergebnisse sind aufgrund der geringen Fallzahl und der fehlenden Kontrollgruppe bisher nicht von zufälligen Effekten unterscheidbar. Nach Etablierung der Methode in-domo und erstem Erfahrungsgewinn planen wir nun eine kontrollierte, randomisierte zweiarmige Studie (n = 140), die den Effekt und die therapeutische Sicherheit der einmaligen Injektion von PRP in das Ovar vor geplanter IVF-Therapie bei Patientinnen mit reduzierter ovarieller Reserve untersucht.

Literatur:

1. Gougeon A, et al. Age-related changes of the population of human ovarian follicles: increase in the disappearance rate of non-growing and early-growing follicles in aging women. Biol Reprod 1994; 50: 653–63.

2. Martin JJ, et al. Implications and current limitations of oogenesis from female germline or oogonial stem cells in adult mammalian ovaries. Cells 2019; 8: 93.

ORALS

Genetik, PKD, PID

OP1

Deciphering the role of cleaved-protamine 2 in sperm chromatin dynamics

L. Arévalo, S. Schneider, G. E. Merges, F. E. Oben, H. Schorle
Uniklinikum Bonn, Entwicklungspathologie, Bonn, Deutschland

The packaging of paternal DNA in the sperm cell nucleus and its protection during transit is a crucial aspect of correct sperm function. Histones are therefore replaced by sperm specific protamines leading to chromatin hypercondensation and shielding of the paternal DNA.

The two mammalian protamines (PRM1 & PRM2) have been studied extensively and are crucial to sperm function. However, there still is a missing piece in the puzzle of sperm chromatin hypercondensation: the processing of PRM2. While otherwise very similar to PRM1, PRM2 is produced as a longer pre-protein and then processed. Thereby, the functionally unexplored cleaved domain of PRM2 (cP2) is separated from the mature domain of PRM2 (mP2). It has been shown that this processing is imperative for proper chromatin condensation, but the function of this cleaved domain is still unknown.

We therefore studied the involvement of cP2 in chromatin condensation during spermiogenesis by generating and analyzing two PRM2 domain-specific KO lines. The mP2Δ line expresses only the cP2 domain, while the cP2Δ line expresses only the mP2 domain.

Fertility tests revealed that mP2Δ heterozygous males retain normal fertility compared to the wildtype, but homozygous are infertile. Remarkably, heterozygous cP2Δ males were already infertile. DNA extracted from caudal sperm is completely fragmented in the infertile genotypes but intact in heterozygous mP2Δ males. Nucleus shape is only slightly altered in heterozygous mP2Δ males, while cP2Δ males show a stronger alteration. However, all genotypes show a reduced nuclear size compared to the wildtype with homozygous animals having the smallest nuclei. Complete KO of either domain seems to lead to a reduction in relative nuclear protamine content. Heterozygous males of either domain show incomplete PRM2 processing. And surprisingly, loss of cP2 seems to lead to a flip in the PRM ratio.

Detailed analyses are ongoing but so far, we can conclude that cP2 is essential. Additionally, we hypothesize that cP2 might coordinate the interaction between PRM1 and PRM2 (and potentially histones) and/or the incorporation of PRMs during chromatin condensation.

By deciphering the role of the cP2 domain and the functional differences between PRM1 and 2 we can gain new insight into the organization and protection of the paternal genome. And, importantly, we can advance our understanding of the involvement of protamine-mediated DNA reorganization in male infertility.

OP2

FMRP-associated microRNA expression in the human ovary in distinct FMR1-related genotypes

A. Vilkaite[1], X. P. Nguyen[1], B. Messmer[1], K. Hinderhofer[2], T. Strowitzki[1], J. Rehnitz[1]
[1]Department of Gynecological Endocrinology and Fertility Disorders, University Women's Hospital, Heidelberg, Germany; [2]Institute of Human Genetics, University Heidelberg, Laboratory of Molecular Genetics, Heidelberg, Germany

Introduction Premutation of the fragile X mental retardation 1 (FMR1) gene can cause fragile X associated premature ovarian insufficiency (FXPOI). This is due to a CGG trinucleotide expansion, leading to elevated FMR1 expression and reduced RNA-binding FMR protein (FMRP) levels. Within the ovary, FMR1/FMRP are mainly expressed in granulosa cells (GCs). GCs are located in close proximity to the oocyte and are surrounded by follicular fluid, creating a close molecular network within the follicle. It is suggested that normal CGG-repeat numbers, deviating from the middle range ($n \leq 25$ and $35 \leq n \leq 55$), also impact follicular development, ovarian response and FMR1 expression levels. FMRP associates with microRNAs – small non-coding RNAs that participate in translational regulation. miR-125b and miR-132 are related to FMRP in neural cells and play a role in cell morphology, but this connection has yet to be researched in the ovary.

Methods 28 patients with different ovarian response undergoing ovarian stimulation were divided into 6 genotype groups based on their biallelic CGG-repeat numbers. We extracted DNA from peripheral blood leukocytes to determine the CGG-repeat length and RNA from GCs and FF. TaqMan MicroRNA Assay was used for cDNA synthesis and qPCR. Statistical analysis was done with the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method, Student's t-test and ordinary one-way ANOVA.

Results We developed a protocol for miRNA extraction and relative expression level quantification for GCs and FF. For the first time, FMRP interaction with miR-125b and miR-132 was researched in different compartments of the human ovary. A significant increase in miR-125b levels has been observed in GCs of patients with heterozygous normal/high CGG-repeat-length compared to normal/normal genotype ($p = 0.0288$). miR-132 expression levels seem to have a similar increase. In addition, miR-132 shows a tendency towards lower expression levels in poor ovarian responders compared to normal responders. FF samples are currently under investigation.

Conclusion High CGG-repeat number alleles may impact the FMRP interaction with miR-125b and miR-132 in ovarian follicles. Since these miRNAs have been shown to be involved in the regulation of mTOR pathway, which regulates cell growth and proliferation, their interaction with FMRP might provide valuable insight into pathogenetic mechanisms of FXPOI and other follicular development disorders. However, further investigations are necessary and we are continuing to work on that.

Klinische Embryologie/ Reproduktionsbiologie/ Grundlagenforschung/ Stammzellen

OP3

Single cell RNA sequencing analysis unravels alterations of the human spermatogonial stem cell compartment in patients with impaired spermatogenesis

S. Di Persio[1], T.Tekath[2], L. M. Siebert-Kuss[1], J.-F. Cremers[3], J. Wistuba[1], X. Li[4], G. Meyer zu Hörste[4], H. CA. Drexler[5], M. J. Wyrwoll[6], F. Tüttelmann[6], M. Dugas[2], S. Kliesch[3], S. Schlatt[1], S. Laurentino[1], N. Neuhaus[1]
[1]Centre of Reproductive Medicine and Andrology, Institute of Reproductive and Regenerative Biology, University Hospital of Münster, Münster, Germany; [2]Institute of Medical Informatics, University Hospital of Münster, Münster, Germany; [3]Centre of Reproductive Medicine and Andrology, Department of Clinical and Surgical Andrology, University Hospital of Münster, Germany; [4]Department of Neurology with Institute of Translational Neurology, University Hospital of Münster, Germany; [5]Bioanalytical Mass Spectrometry Unit, Max Planck Institute for Molecular Biomedicine, Germany; [6]Institute of Reproductive Genetics, University of Münster, Germany

The spermatogonial stem cell (SSC) compartment supports lifelong sperm production. The human SSC system can be categorized into two morphologically distinct subpopulations, the reserve stem cells (Adark) – characterized by tightly compacted chromatin – and the self-renewing stem cells (Apale) – characterized by more relaxed chromatin. The use of single cell RNA sequencing (scRNA-seq) technology facilitated a more thorough characterization of the human SSC compartment and identified PIWIL4 and EGR4 as markers of the most undifferentiated human SSCs at RNA and protein level. So far, it has not been possible to link the two classification systems. This study sought to investigate the functionality and the regulation of SSCs in a situation in which sperm production is impaired. We analyzed testicular tissues from cryptozoospermic patients (Crypto), which present less than 0.1 million sperm in the ejaculate and compared them to patients diagnosed with obstructive azoospermia but qualitatively and quantitatively normal spermatogenesis (Normal). Combining scRNA-seq (>30.000 cells; n = 6) and histomorphometric analyses (n=12), we found increased numbers of $PIWIL4^+$ cells in Crypto patients, which mostly showed an Apale morphology. Intriguingly, we observed a transcriptional switch within the SSC compartment driven by the increased and prolonged expression of the transcription factor EGR4. Among the 500 genes regulated by EGR4, we identified the chromatin-associated transcriptional repressor UTF1, which was downregulated at both, RNA and protein level. Histomorphometrical analyses showed that the majority of Adark spermatogonia in the normal group were UTF1+ (78.4%), and that their number was reduced in Crypto patients. In conclusion, we hypothesize that EGR4 activation results in decreased UTF1 expression, leading to a more relaxed chromatin status in the SSCs. Due to these changes, SSCs may fail to maintain or to form a reserve SSC population, rendering these tissues more susceptible to cytotoxic damage. These findings suggest that Crypto patients are at a disadvantage, as fewer cells safeguard their germline genetic integrity. These identified spermatogonial regulators will be highly interesting targets to uncover novel genetic causes of male infertility.

Grants This work was supported by the German Research Foundation CRU326 (grants to N.N., S.L., and F.T. as well as a pilot project to S.D.P. and S.L.) and by Innovative Medizinische Forschung (grant to S.D.P.).

Männliche Infertilität, Hypogonadismus und erektile Dysfunktion

OP4

Genetic architecture of severe spermatogenic failure and male infertility: Time to advance standard of care

C. Friedrich[1], M. Wyrwoll[1], M. Vockel[2], A.-K. Dicke[1], N. Rotte[1], E. Pohl[1], J. Emich[1], N. Köckerling[1], M. Wöste[4], C. Ruckert[2], R. Wabschke[1], J. Seggewiss[2], S. Ledig[2], A.-C.Tewes[2], Y. Stratis[2], J. Wistuba[3], C. Krallmann[3], S. Kliesch[3], A. Röpke[2], B. Stallmeyer[1], F. Tüttelmann[1]
[1]Institute of Reproductive Genetics, University of Münster, Münster, Germany; [2]Institute of Human Genetics, University of Münster, Münster, Germany; [3]Centre of Reproductive Medicine and Andrology, University Hospital Münster, Münster, Germany; [4]Institute of Medical Informatics, University Hospital Münster, Münster, Germany

Half of all infertility cases, affecting 10–15% of couples, arise from male factors like crypto- and azoospermia (very few or no sperm in the semen). The well-established genetic causes include Klinefelter syndrome (KS, karyotype 47,XXY) and Y-chromosomal AZF microdeletions for quantitative spermatogenic failure (SPGF) and CFTR mutations for obstructive azoospermia (OA). However, although gene mutations are expected to explain most remaining cases, no respective analyses have yet informed clinical practice.

To address this, since 2017, we prospectively included crypto- and azoospermic men attending the Centre of Reproductive Medicine and Andrology (CeRA, Münster) into our Male Reproductive Genomics (MERGE) study. After excluding known conditions leading to SPGF (e.g., testicular tumors and/or previous gonadotoxic therapy) and ruling out chromosomal aberrations and AZF deletions, we offered exome sequencing, analyzed 63 genes with at least limited clinical validity based on our recent review of 596 genes, and strictly assessed variants according to ACMG-AMP guidelines.

Out of 681 men, we identified 20 patients (2.9%) with OA carrying causal variants in CFTR or ADGRG2. In 39 patients (5.7%) with SPGF, variants in 21 genes were identified as (likely) pathogenic. The most commonly affected genes were TEX14 (5 cases), NR5A1 (4 cases) and AR, M1AP, SYCP2 (each 3 cases). Segregation analyses helped in assessing the pathogenicity of some variants, highlighted by a de novo variant in DMRT1. Including CFTR and ADGRG2, 21 of the genes in which pathogenic variants were identified, reach a clinical validity of at least moderate evidence according to ClinGen criteria.

The sequencing performed here offers a substantial diagnostic yield on top of that of current genetic tests. Further, some findings are immediately relevant for infertility counselling/treatment, as they can predict the success of treatments like testicular biopsy with the aim of sperm extraction (TESE). Overall, panel/exome sequencing now provides sufficiently strong evidence to be included in diagnostic workups of men with crypto- and azoospermia. Including more genes and functional assessments of variants of uncertain significance (VUS) will quickly increase relevant diagnostic findings.

OP5

Unravelling M1AP's role in mammalian fertility

N. Rotte[1], J. Dunleavy[2], M. J. Wyrwoll[1], S. Kliesch[3], F. Tüttelmann[1], M. O'Bryan[2], C. Friedrich[1]
[1]Institute of Reproductive Genetics, Münster, Germany; [2]School of BioSciences, Melbourne, Australia; [3]Centre of Reproductive Medicine and Andrology, Münster, Germany

Infertility affects around 10–15% of couples. Although frequently suspected, a genetic cause often remains unidentified. Using whole exome sequencing (WES), we recently identified bi-allelic variants in M1AP – encoding meiosis 1-associated protein – in men originating from four independent cohorts and one consanguineous family [Wyrwoll et al., AJHG 2020]. The common phenotype was severely impaired spermatogenesis, commonly associated with meiotic arrest and azoo- or cryptozoospermia. Fittingly, a published M1ap-deficient mouse indicated meiotic disturbances, oligozoospermia, and infertility [Arango et al., Biol Rep 2013]. Since this model is no longer available for in-depth characterisation, we generated a novel M1ap knockout (KO) mouse to unravel molecular processes of the observed meiotic failure.

Using CRISPR/Cas9 gene editing, a homozygous M1ap KO mouse was generated. Analyses of 12-week postnatal mice included validation of litter size, daily sperm production, body and testicular weight, and histological examinations of sperm and testes (n = 5). Results were compared to infertile men carrying bi-allelic, (likely) pathogenic variants in M1AP (n = 6). Men exhibiting intact spermatogenesis after vasectomy (n = 24) served as controls.

KO mice appeared normal but exhibited subfertility, decreased daily sperm production, and low testicular weight. Histological investigation using PAS staining revealed a maturation arrest at the spermatocyte phase and the presence of germ cells with signs of apoptosis, including condensed, crescent shaped or fragmented nuclei. Similar patterns were observed in men with variants in M1AP, including predominant meiotic arrest and different states of apoptotic germ cells within the testicular tubules.

Subsequent analyses will focus on the impact of M1AP loss during murine and human meiosis, elucidating meiotic processes and fertility disturbances in general. Moreover, the mouse model enables investigation of 1) pre- and postnatal function of M1AP, 2) age-dependent effects of germ cell loss, and 3) consequences for offspring by utilising artificial reproductive techniques, e.g. for cryptozoospermic men. As a long-term goal, we aim at enabling well-informed treatment decisions and improved patient counselling.

Grants This work was carried out within the frame of the DFG-funded Clinical Research Unit 326 'Male Germ Cells: from Genes to Function'. The first two authors contributed equally to this work.

Sexualmedizin, Varia

OP6

Feasibility study of a blended-care online program for psychological support during infertility treatment

S. Schulze[1], A. Bachmann[1], L. M. Pfadenhauer[2], N. Sänger[3]
[1]Zentrum für Frauenheilkunde und Geburtshilfe Uniklinik Frankfurt, Frankfurt am Main, Germany; [2]Institute for Medical Information Processing, Biometry and Epidemiology and Pettenkofer School of Public Health, München, Germany; [3]Frauenklinik Universitätsklinikum Bonn, Bonn, Germany

Background Infertility patients have a high need for information and psychological support. While state-funded counseling is available the majority of patients does not get access. One of the reasons are waiting times for sessions after sign-up and physical access. We designed a blended-care solution with an online information program and video chat counseling in both an individual and group setting (psychologist-let self-help groups). Participants were able to select interventions in a self-directed and stepwise manner as needed. The study evaluates user-friendliness and effectiveness in supporting patients in order to determine feasibility of integration into standard care.

Materials and Methods Patients in infertility treatment of two German university hospitals were invited to participate. We used a mixed-method pre-post design with structured interviews and self-report questionnaires, including validated scales such as "Fertility Quality of Life" (FertiQoL) and "WHO5" (life satisfaction). In addition, we obtained participant characteristics. For the quantitative analysis, our main endpoint was a subjective self-report rating of efficacy and user-friendliness of the program. Our hypothesis was that our blended-care support is helpful for patients and that they want to and like to use the program.

Results Of the 210 invited participants 100 registered for the program. So far, 32 baseline interviews and 5 follow-up interviews were conducted, and we obtained questionnaire data from more than 40 participants. The participants' age ranged from 29 to 48 years (mean = 36y). Only three participants were male. On average, participants had been trying to conceive for 3.25 years and 9% stated

to already have at least one child. Lastly, fertility treatment had negative impact on the participants' relationships in 61% of the cases. Preliminary analyses showed a considerable psychological strain due to infertility and its treatment: 81% of the participants felt "sad and depressed", 49% felt only "partly able to cope with their problems of infertility". Relationships with health care professionals was rated "not satisfying" by 53%. The subjective efficacy of the program was rated as at least "very helpful" by 50%.

Our blended care concept is well accepted by the participants. They report a good usability and subjective effectiveness of the program. Continuation accompanied by a more rigorous assessment of efficacy and effectiveness is feasible.

Autorenverzeichnis
(nur Erstautoren)

A
Aden N. L. ... 249
Arévalo L. ... 262

B
Baston-Büst D. ... 254
Batz F. ... 252, 259
Brüggemann J. ... 248

D
Di Persio S. ... 263

E
Eggersmann T. ... 262

F
Figura M. ... 250

G
Greither T. ... 249, 261
Griesinger G. ... 262
Günther D. ... 254

H
Hauser A. ... 252
Huerta M. ... 258

K
Koehler U. ... 248
Kuchta M. A. ... 253

L
Lanbach J. ... 260
Laurentino S. ... 252

M
Mahner S. ... 252
Merges G. E. ... 258
Muller M. ... 259

N
Neumann K. ... 261
Nordhoff V. ... 256

P
Pflanzer D. ... 253

R
Rager C. ... 253
Rotte N. ... 264

S
Schallmoser A. ... 254
Schiffer C. ... 258
Schülke L. C. ... 251
Schulze S. ... 264
Siebert-Kuss L. ... 250
Stallmeyer B. ... 264

T
Tang Y. ... 255
Trapphoff T. ... 249

U
Umer N. ... 256

V
Vedrines O. ... 255
Vilkaite A. ... 263
von Brandenstein M. ... 258
von Versen-Höynck F. ... 261

W
Wischmann T. ... 259

Z
Zippl A.-L. ... 260

Mitteilungen aus der Redaktion

Besuchen Sie unsere Rubrik

☑ **Medizintechnik-Produkte**

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

Artis pheno
Siemens Healthcare Diagnostics GmbH

Philips Azurion:
Innovative Bildgebungslösung

Aspirator 3
Labotect GmbH

InControl 1050
Labotect GmbH

e-Journal-Abo

Beziehen Sie die elektronischen Ausgaben dieser Zeitschrift hier.

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

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

☑ **Bestellung e-Journal-Abo**

Haftungsausschluss

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

Bitte beachten Sie auch diese Seiten:

Impressum **Disclaimers & Copyright** **Datenschutzerklärung**