

Journal für

Reproduktionsmedizin und Endokrinologie

– Journal of Reproductive Medicine and Endocrinology –

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



Rundspematiden und die klinische Anwendung - gibt es eine Indikation für die Rundspematideninjektion und die In-vitro-Maturation?

Hoepfner AS, Al-Hasani S, Diedrich K, Drechsler T

Jocham D, Schultze-Mosgau A, Schöpfer B

J. Reproduktionsmed. Endokrinol 2004; 1 (1), 33-37

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

Rundspematiden und die klinische Anwendung – gibt es eine Indikation für die Rundspematideninjektion und die In-vitro-Maturation?

A. S. Hoepfner¹, A. Schultze-Mosgau¹, B. Schöpfer¹, T. Drechsler², D. Jocham², K. Diedrich¹, S. Al-Hasani¹

Bei vorliegender Azoospermie im Ejakulat und Hodengewebe besteht die Option der Spermatischeninjektion. Während die Fertilisations- und Schwangerschaftsrate nach ELSI (elongated sperm injection) ähnlich gute Ergebnisse wie die ICSI zeigt, sind die Ergebnisse nach ROSI (round spermatid injection) sehr viel unbefriedigender. Ziel dieser Übersichtsarbeit war es, die Problematik in der klinischen Anwendung, die heutige Relevanz und die Notwendigkeit einer klinischen Indikation der Rundspematideninjektion aufzuzeigen.

Die Hauptproblematik liegt wohl in der Erkennung, Separation und Isolation der Rundspematiden im TESE-Präparat. Es bedarf hierbei guter klinischer Erfahrung des Laborpersonals, diese von anderen „Rundzellen“ zu unterscheiden. So entwickeln sich oftmals unspezifische Fertilisationen durch eben diese „Rundzellen“, welche als Quelle der Verwirrung für Enthusiasten der ROSI dienen dürften. Zudem bedarf es einer zuverlässigen Färbemethode, eine sichere Methode zur Erkennung vitaler Zellen fehlt. Bedenken bestehen zudem hinsichtlich der genetischen Normalität der Rundspematiden, welche als jüngste haploide Vorläuferzellen der Spermatogenese zunächst eine aufwendige Entwicklung durchlaufen müssen, um sich zu reifen Spermatozoen zu entwickeln. Es gibt zur Zeit keinen Weg herauszufinden, ob die ausgewählten immaturren haploiden Zellen genetisch normal sind. Die von einigen Arbeitsgruppen beschriebenen erzielten Schwangerschaften nach In-vitro-Kultivierung von Rundspematiden sind von fraglicher klinischer Relevanz. Bei der angewandten Technik mittels mechanischer Zerkleinerung des extrahierten Hodengewebes und anschließender Kultivierung des gesamten Gewebes fehlt es an Möglichkeiten, eine Existenz von weiteren reiferen Spermatischen bis hin zur Spermatozoe auszuschließen. Techniken anderer Autoren zeigen sich derzeit aufgrund niedrigster Fertilisationsraten und unzureichend entwickelter Kulturmedien nicht indiziert. Zur Zeit ist die Rundspematideninjektion bzw. die Injektion von kultivierten Rundspematiden klinisch nicht relevant. Die Fertilisations- und Schwangerschaftsraten mit Rundspematiden sind unakzeptabel niedrig, die existierenden Kultivierungsmethoden sind unzureichend und es fehlen Methoden zur Sicherung der genetischen Normalität der immaturren injizierten Spermatischen.

Schlüsselwörter: Rundspematiden, ELSI, ROSI, In-vitro-Maturation, Azoospermie

Round Spermatids and Clinical Value – is there any Indication for Round Spermatid Injection and In-Vitro Maturation? In cases of azoospermia due to different reasons like impaired spermatogenesis or obstruction, spermatozoa can be retrieved directly from the testicular tissue and can be injected in the human oocyte using the ICSI-technique (intracytoplasmic spermatid injection). While fertilisation- and pregnancy rates obtained through the ELSI-technique (elongated sperm injection) show similar good results as the ICSI-technique, results after ROSI (round spermatid injection) show limited success with the spermatid microinjection. The intention of this article is to present a survey about the problems concerning the clinical approach of round spermatid injection and to reconsiderate critically the need for ROSI in assisted human reproduction today.

The main concerns relate to the methodology of separation, identification and isolation of round spermatids. A well experienced laboratory team is mandatory to make the correct recognition of round spermatids from other similar looking round cells within the testicular tissue. Findings of development of an unspecific fertilisation of these round cells appear to be a source of confusion for failed enthusiasm. A failed recognition of the round spermatid stage is also due to a reliable staining technique which is lacking until today. In addition, a good technique for identification of vital cells is not available yet. Concerns about the genetic normality of those early male germ cells with one set of haploid chromosomes are expressed. Up to date there is no way to find out about the genetic condition of those cells. From some authors publicised high rates of fertilisation, implantation and delivery due to round spermatid injection seem not to be relevant from our point of view. This is related to the applied technique of mechanically disintegration and homogenization of the individual testicular tissue samples with following cultivation of whole segments of tissue which makes it nearly impossible to exclude the existence of mature spermatids and even spermatozoa in those samples. Other applied various techniques described by other groups show lowest fertilisation and pregnancy rates.

Today the technique of round spermatid injection respectively the injection of cultured round spermatids seems not to be relevant in assisted human reproduction today. Fertilisation- and pregnancy rates are extremely low, existing techniques are not adequate and there is no way to find out about genetic normality of these immature injected male germ cells. **J Reproduktionsmed Endokrinol 2004; 1(1): 33–7.**

Key words: round spermatids, ELSI, ROSI, in-vitro maturation, azoospermia

Verschiedene pathologische Gegebenheiten können zu Abnormitäten in der Spermiogenese führen, welche in extremer Form die Sterilität des Mannes bewirken können. Seit der Einführung der intrazytoplasmatischen Spermatozoeninjektion (ICSI) 1992 durch Palermo et al. wird diese Technik mit gutem Erfolg bei verschiedenen Formen der Oligoasthenoatozoospermie angewendet.

Liegt eine völlige Azoospermie im Ejakulat vor, können die Spermatozoen mittels TESE (testikuläre Spermienextraktion) aus dem Hoden oder Nebenhoden des Mannes gewonnen werden. Diese können dann mit Hilfe der intrazytoplasmatischen Spermatozoeninjektion im Sinne des sogenannten TESE-ICSI-Verfahrens [1] in die Oozyte injiziert werden. Bei einer durch eine testikuläre Störung verursachten Azoospermie (dazu gehören die „nichtobstruktive Azoospermie“, der Reifungsarrest, das „Sertoli-cell-only-Syndrom“, die „post-cryptorchidism tubular atrophy“, die „post-chemotherapy testicular atrophy“, die „post-mumps orchitis“ und das Klinefelter-Syndrom) kann in 60 % der Fälle eine

kleine Anzahl von Spermatozoen durch eine testikuläre Spermienextraktion aus dem Hoden (TESE) gewonnen und erfolgreich im ICSI-Verfahren eingesetzt werden und so zu einer Schwangerschaft führen [2–4].

Es gibt jedoch auch extreme Formen der testikulären Dysfunktion, bei denen weder im Ejakulat noch in den TESE-Präparaten des Patienten Spermien gefunden werden können. Der Anteil dieser Patienten mit der Diagnose einer Azoospermie liegt bei etwa 40 % [5].

Die Spermatischeninjektion mittels elongierter Spermatischen und Rundspematiden

Vor einiger Zeit begann man damit, Spermatischen aus testikulärem Gewebe im ICSI-Verfahren einzusetzen. Die Gruppe um Edwards et al. [6] zeigte erstmals, daß eine Fertilisierung von humanen Oozyten durch testikuläre Spermatischen, gewonnen von Männern mit einem Reifungsarrest auf jeglicher Stufe der Spermatogenese, möglich ist.

Aus der ¹Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Lübeck und der ²Klinik für Urologie, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Lübeck.

Korrespondenzadresse: Prof. Dr. med. vet. Safaa Al-Hasani, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Lübeck, Frauenklinik, Ratzeburger Allee 160, D-23538 Lübeck; E-Mail: sf_alhasani@hotmail.com

Spermatiden sind die ersten haploiden Zellen in der Spermiogenese und haben die zweite meiotische Teilung gerade beendet. Sie scheinen die notwendige Fähigkeit zu besitzen, eine Fertilisation von Oozyten durch eine Mikroinjektion zu gewährleisten. Die Gruppe um Yanagimachi [7] beschrieb die ersten Trächtigkeiten mit Wurf von lebendigen Mäusen nach Injektion von Rundspermatiden im Tiermodell. Dem folgten andere erfolgreiche Beispiele [7, 8].

Die ersten humanen Schwangerschaften durch Spermatiden, gewonnen aus testikulärem Gewebe bzw. Ejakulat, wurden 1995 beschrieben [9, 10]. Es handelte sich dabei um Schwangerschaften durch eine Fertilisation von Oozyten mittels Rundspermatideninjektion (ROSI = round spermatid injection) [10–13] und elongierter Spermatideninjektion (ELSI = elongated spermatid injection) [9, 14]. Kurz darauf folgten die ersten erfolgreichen Fertilisationen durch humane kryokonservierte Spermatiden [15–17]. Inzwischen ist es sogar angeblich zur Schwangerschaft durch Injektion von sekundären Spermatozyten gekommen [18]. Seitdem sind Ergebnisse auch von anderen Gruppen beschrieben worden, die allerdings von unterschiedlichem Erfolg gekrönt waren [15, 19–30].

Verglichen mit den Ergebnissen der testikulären Spermienextraktion ist die Fertilisations- und Schwangerschaftsrate durch Spermatiden allerdings sehr viel niedriger [9, 13, 16, 17, 31]. Die Gründe dafür können vielfältig sein:

Spermatiden sind unreife haploide Keimzellen, die auf dem Weg der Spermiogenese zum reifen Spermatozoon weit am Anfang der morphologischen und biochemischen Veränderungen stehen. So liegt die Fertilisierungsrate durch Spermatiden bei nur etwa 25–50 % [16]. Elongierende und elongierte Spermatiden aber befinden sich schon im letzten Stadium der Spermatogenese. So zeigt die Injektion von elongierten Spermatiden ausreichende Fertilisations- und Implantationsraten, welche ähnlich gut sind wie die Ergebnisse, die mittels Spermatozoeninjektion [23, 32] erzielt werden. Die ELSI gilt inzwischen als etabliertes Verfahren.

Laboranalytische Problematik in der Identifizierung von Rundspermatiden im TESE-Präparat

Im Vergleich zur ELSI zeigt die Rundspermatideninjektion unbefriedigende Ergebnisse [23, 26, 28, 31, 33]. Die Fertilisationsrate ist niedrig, und die gewonnenen Embryonen zeigen eine geringe Implantationsrate, welche nur vereinzelt in einer Schwangerschaft resultiert [14, 34–36]. Das kann verschiedene Gründe haben:

So ist die Erkennung von Spermatiden und Unterscheidung von anderen Zelltypen im Hodengewebspräparat vielleicht das größte Problem. Es finden sich im Hoden des gesunden Mannes normalerweise alle Formen der Spermatiden (Rundspermatiden, elongierende und elongierte Spermatiden) bis hin zum reifen Spermatozoon. Die reifen elongierten Spermatiden ähneln in ihrem Erscheinungsbild sehr einem reifen Spermium. Die Rundspermatiden unterscheiden sich von Lymphozyten, welche einen ähnlichen Durchmesser haben können, durch ihr größeres Nukleus/Zytoplasma-Verhältnis. Zudem sind ihre Kerne rund oder oval und besitzen eine etwas andere Chromatinstruktur. Runde Spermatiden werden von anderen weißen Blutzellen und von anderen Spermiovorstufen (Spermatozyten und Spermogonien) durch ihre geringere Größe unterschieden. Von Erythrozyten werden sie durch ihren Kern und etwas größeren Durchmesser differenziert. Man sollte allerdings bedenken, daß diese Einteilung auf der Beobachtung der normal verlaufenden Spermatogenese beruht. Bei einer abnormen Entwicklung ist eventuell kei-

ne so deutliche Unterteilung zu treffen. Vor allen Dingen ist es bei den Rundspermatiden schwierig, sie aufgrund von morphologischen Charakteristika zu erkennen und von anderen als „Rundzellen“ erscheinenden Zellen zu unterscheiden. Silber und Johnson vermuten, daß es aufgrund dieser Problematik relativ häufig zur Verwechslung der Stadien kommt und die Injektion somatischer oder anderer runder Zellen zu Prozessen führen kann, die einer Fertilisierung und Teilung ähneln [37]. So beschreiben Levan et al. [28] eine Fertilisationsrate von 44 % bei der Rundspermatideninjektion, aber einen folgenden Teilungsarrest von 40,8 % verglichen mit der ICSI (8,2 %). So findet sich im allgemeinen eine höhere Fertilisationsrate im Vergleich zur folgenden Schwangerschaftsrate.

Silber et al. [37] haben aufgrund der Schwierigkeiten, Rundspermatiden zu identifizieren, humane Sertoli-Zell-Nuklei bei Männern mit Azoospermie ohne Anhalt für Spermatozoen im TESE-Präparat in Oozyten injiziert. Es ergab sich eine nichtspezifische Fertilisation mit der Erscheinung von mindestens einem, sogar oft zwei Pronuklei. Am zweiten Tag teilten sich die meisten Oozyten. Die meisten dieser „Embryonen“, die aus dieser pathogenetischen Aktivierung entstanden, waren abnormal. Diese nichtspezifische Aktivierung könnte eine Quelle der Verwirrung für Enthusiasten der ROSI und ROSNI sein. Silber et al. [37] betonen, daß sich sowohl bei der Diagnose eines testikulären Versagens als auch bei Patienten mit normaler Spermiogenese angewandten TESE-ICSI-Prozedur immer eine Fülle von „Rundzellen“ findet. Es ist hierbei sehr schwer, Rundspermatiden von Sertoli-Zellkernen zu unterscheiden. Silber et al. sind hierbei der Auffassung, daß sich immer „Rundzellen“ finden lassen, falls keine Spermatozoen beim Sertoli-cell-only-Syndrom oder bei der Diagnose eines Reifungsarrests im Hodengewebe gefunden werden. Allerdings handelt es sich hierbei nicht um einen Maturationsarrest auf dem Niveau von „Rundspermatiden“ [4, 38–40].

Als ein weiterer Grund für die schlechteren Ergebnisse durch die ROSI wird das Vorhandensein der die Rundspermatiden umgebenden Zytoplasmaschicht diskutiert, welche seine Transformation in den männlichen Vorkern hemmen soll. Ein zusätzliches Problem liegt in der Unterscheidung von vitalen und nichtvitalen Zellen. Zur Zeit existiert keine Färbung, die dieses ermöglicht und so die Fertilisationsrate erhöhen könnte. Yamaka et al. [41] beschreiben die computerassistierte Imageanalyse zur Identifizierung der ROSI – allerdings ist diese in den meisten IVF-Labors nicht etabliert. Mendoza und Tesarik [12] beschreiben drei vereinfachte Färbetechniken (Papanicolaou, die Fluorescein labelled *Pisum sativum* Agglutinin-Bindung und das Antiacrosin Antiserum Labelling) – leider beinhalten aber alle diese Methoden keine Vitalfärbungen. So liegt ein weiteres Problem in der Erkennung vitaler Rundzellen nach Identifizierung derselben.

Existiert ein postmeiotischer Arrest in der Spermiogenese?

Es kam bis 1999 zu acht Schwangerschaften nach Rundspermatideninjektion. Dabei wurden drei durch Rundspermatiden aus Ejakulaten [10, 12, 24, 42] und 5 Schwangerschaften durch Spermatiden aus TESE-Präparaten [21, 23, 26] sowie eine Schwangerschaft durch kryokonservierte Spermatiden erzielt [15]. In allen Fällen, in denen also keine Spermatozoen oder Spermatiden gefunden wurden, zeigte sich in der Anamnese des Patienten durchaus die Darstellung von elongierten Spermatiden oder Spermatozoen im Ejakulat oder dem TESE-Präparat. Im Gegen-

satz dazu ließ sich bisher keine Schwangerschaft nach Injektion mit Rundspermatiden erzielen, wenn sich in der Anamnese des Mannes eine komplette Abwesenheit von elongierten Spermatiden oder Spermatozoen im Ejakulat oder TESE-Präparat gezeigt hatte [18, 20, 23, 25, 26, 32, 43].

Die Studien mit Injektion von Rundspermatiden im Tiermodell erbrachten erstmals durch die Gruppe um Yanagimachi [7] Trächtigkeiten mit konsekutiver Geburt von lebenden Mäusen nach Injektion von Rundspermatiden. Es entwickelten sich allerdings nur 4 geborene Mäuse von insgesamt 475 injizierten Oozyten. Dies entspricht einer Geburtenrate von 1 %.

Die ersten erfolgreichen Versuche einer Spermatideninjektion beim Menschen beschrieben Tesarik et al. bei sieben Patienten mit der Diagnose einer Azoospermie [10, 12, 42]. Nach Tesarik et al. handelte es sich hierbei um Männer, bei denen sich trotz der Abwesenheit von reifen Spermatozoen Rundspermatiden im Ejakulat gezeigt hatten (postmeiotischer Arrest?). Nach Injektion dieser Rundspermatiden in humane Oozyten entwickelten sich bei zwei von diesen sieben Fällen Schwangerschaften mit nachfolgender Geburt. Das würde, verglichen mit der Geburtenrate von Ogura und Yanagimachi, eine große Steigerung der Effizienz bedeuten.

Diese Situation des alleinigen Auffindens von Rundspermatiden in der Abwesenheit von reifen Spermatozoen im Hodengewebe von Männern mit der Diagnose einer Azoospermie kann von Silber et al. [37] nicht bestätigt werden. Diese Aussage steht im Einklang mit einigen anderen Gruppen [15, 21, 35, 44]. Die Gruppe um Silber et al. [37] untersuchte 143 Hodenbiopsien von Männern mit der Diagnose einer nichtobstruktiver Azoospermie. Er legte Wert auf die Färbung der histologischen Schnitte zur Differenzierung der verschiedenen Stadien der Spermatogenese und Spermio-genese. Diese lassen sich so viel einfacher unterscheiden als die ungefärbten histologischen Präparate im TESE-ICSI-Präparat. Es wurden hierbei dem Laborpersonal Photos vorgelegt, um bei der Unterscheidung der gesehenen verschiedenen Typen von „Rundspermatiden“ in den geteilten testikulären Geweben zu helfen. Die histologische Untersuchung dieser Hodengewebsproben ergab, daß sich die arretierte Entwicklung in allen Fällen in der Meiose, im Zygoten- oder Pachyten-Stadium fand. Es wurden keine Rundspermatiden gefunden, außer in solchen Fällen, in denen sich auch elongierte und reife Spermatozoen im Gewebspräparat fanden.

Zudem wurden in den 125 Fällen der Hodenbiopsien mit der zugrundeliegenden Diagnose einer idiopathischen nichtobstruktiven Azoospermie kein Anhalt für einen spermiogenetischen Arrest im Sinne eines Arrestes in der Entwicklung vom runden zum elongierten Spermatid gefunden. Der germinale Defekt der nichtobstruktiven Azoospermie zeigte sich entweder in der Abwesenheit von Keimzellen (Sertoli cell only) oder als eine Störung der Keimzellentwicklung, sich nach der Meiose weiterzuentwickeln (nicht der Reifung vom Rundspermatid zum elongierten Spermatid) [4].

Eine große Studie zeigt, daß die Notwendigkeit eines Gebrauchs von Rundspermatiden eigentlich sehr gering ist [45]. In dieser Studie wurden 1418 Biopsien von 766 subfertilen Männern untersucht. Obwohl 6,6 % der untersuchten Patienten das meist fortgeschrittene Stadium der Spermatogenese in der Histologie aufwiesen, beurteilt durch einen Johnson-Score von sechs oder sieben, war es bei den meisten (86 %, n = 44) möglich, Spermatozoen während der TESE-Prozedur zu finden. Diese Aussage steht in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Silber und Johnson aus dem Jahre 1998. Die von Tesarik et al.

[10, 12, 42] propagierte Existenz des postmeiotischen Arrests erscheint fraglich

Im Gegenteil dazu versicherten 1997 Yoshida et al., die testikuläre Biopsien von 128 Patienten mit nichtobstruktiver Azoospermie untersucht hatten, ICSI mit Rundspermatiden wäre in 3,1 % der Fälle notwendig gewesen. Die Daten von Schulze et al. [45] wiederum zeigen, daß die Spermio-genese lediglich in 26 von 1418 Hodenbiopsien (1,8 %) nur das Rundspermatidenstadium erreichte.

Tesarik [46] führt dagegen aus, daß es zur Zeit unmöglich sei, die definitive Situation festzulegen, in welcher bei Patienten mit der Diagnose einer nichtobstruktiven Azoospermie nur Rundspermatiden, aber keine elongierten Spermatiden oder Spermatozoen im Hoden produziert werden, weil die Ergebnisse der einzelnen Zentren hierzu abhängig von der Behandlungsstrategie des einzelnen Zentrums seien. Zentren, die ROSI anwenden, beenden die Extraktion von Hodengewebe wahrscheinlich eher, sobald sie eine gewisse Anzahl von Rundspermatiden gewonnen haben. Hier kann es also nicht ausgeschlossen werden, daß in den anderen Fällen auch Spermatozoen im TESE-Präparat gefunden würden. Silber et al. [37] bekräftigen, daß sich bei Patienten mit der Diagnose einer Azoospermie meist winzige Foci einer intakten Spermatogenese finden lassen können. Bewiesen wurde dies zudem durch einige quantitative Analysen der Spermatogenese [47–49]. Tesarik gibt hier vor, zwei Möglichkeiten zu haben: eine weitere Zerstörung des Hodengewebes auf der Suche nach Spermatozoen oder eine geringe Effizienz und potentielle Risikofaktoren durch die Rundspermatidenextraktion [46]. So ist es offensichtlich, daß die Fertilisationsrate mit Spermatiden signifikant niedriger ist als mit Spermatozoen [35]. Andererseits muß beachtet werden, daß die TESE zur permanenten Devaskularisation des Hodens führen kann [50]. Wenn man ROSI statt ICSI mit testikulären Spermatozoen anwendet, bedeutet das eine Reduktion der erwarteten Implantationsrate um 50 % [23], würde aber das Risiko der irreparablen testikulären Schädigung senken und das Hodengewebe aufsparen für zukünftige Versuche mit ROSI, wenn die Erfolgsraten hiermit verbessert werden.

Die *In-vitro*-Maturation von Spermatiden

Eine Alternative hinsichtlich der unbefriedigenden Fertilisations- und Schwangerschaftsraten durch die Rundspermatideninjektion wird von einigen Autoren in der *In-vitro*-Maturation der Rundspermatiden gesehen [51–54].

Aslam und Fishel [34] sowie Tesarik et al. [55] haben gezeigt, daß Rundspermatiden unter speziellen *In-vitro*-Kulturbedingungen Flagellae entwickeln und sich zu elongierenden Spermatiden differenzieren können. Tesarik et al. beschreiben, daß die *In-vitro*-Kultur von ganzen testikulären Gewebsproben mit r-FSH (stimuliert die Spermio-genese) und Testosteron (inhibiert die Sertoli-Zell-Apoptose) die Differenzierung von elongierten Spermatiden von primären Spermatozyten auf 1–2 Tage beschleunigen kann [54–58]. Diese Geschwindigkeit steht im Kontrast zur Differenzierungsgeschwindigkeit von normalem testikulärem Gewebe, welches mehr als einen Monat braucht, um die Meiose und Spermio-genese zu durchwandern [59, 60]. Aslam und Fishel [61] beschreiben eine erfolgreiche Kurzzeit-*In-vitro*-Kultur, welche allerdings keinen signifikanten Effekt auf die Fertilisationsrate zeigt.

Im Augenblick ist es vollkommen unklar, ob die Ursache der beschriebenen beschleunigten Reifungen durch eine abnormal verlaufende Maturation bedingt ist oder einfach durch spezielle Kulturmedien beschleunigt werden kann. Andere Autoren hingegen beschreiben eine physiologischere Reifungszeit von 7–12 Tagen von isolier-

ten Rundspermatiden zu elongierten und sogar Spermatozoen auf Vero-Zell-Kulturmedien [62].

Die durch Tesarik et al. [51–54] beschriebenen erzielten Schwangerschaften und Geburten nach Kultivierung von Rundspermatiden erscheinen in ihrer klinischen Relevanz fragwürdig: In der beschriebenen Methodik werden ganze Gewebstücke zur *In-vitro*-Kultur verwendet, anstelle isolierter Spermatozoen. Es werden hierbei mehrere Gewebeproben von beiden Hodenseiten entnommen, mit darauf folgender mechanischer Zerkleinerung der Gewebsteile zu einem Gemisch aus kleinen Tubuli-Seminiferi-Segmenten, freien Zellverbänden und einzelnen Zellen. Diese Gewebeproben werden dann gemischt und kultiviert. Es muß hierbei festgestellt werden, daß anhand der beschriebenen fraglichen Existenz des postmeiotischen Arrests diese Ergebnisse aufgrund der unzureichenden Differenzierungsmöglichkeiten des verwendeten Gewebes klinisch irrelevant erscheinen dürften.

Die Gruppe um Cremades et al. [62] hat ein alternatives Protokoll entwickelt, um eben diese Möglichkeit einer Kontamination durch einen versteckten Fokus von elongierten Spermatozoen oder Spermatozoen zu vermeiden. Hierbei wird durch eine offene testikuläre Biopsie Gewebe entnommen. Anschließend werden im verdünnten Gewebe isolierte Rundspermatiden mit einer Mikropipette aufgenommen und mittels eines Vero-Zell-Kultursystems maturiert. Andere Autoren beschreiben die Isolation der Spermatozoen durch die VSUG (velocity sedimentation under unit gravity) kombiniert mit der „diskontinuierlichen percoll zentrifugation (DPC)“ [35, 61]. Elongierte Spermatozoen werden hier manuell von gemischten Zellsuspensionen testikulärer Biopsien gesammelt. Die Vitalität wird dann durch den Trypan blue exclusion-Test geprüft [34].

Bei den durch ein Vero-Zell-Kultursystem gereiften Spermatozoen zeigt sich allerdings nur eine geringe *In-vitro*-Maturationsrate von Rundspermatiden in normale elongierte Spermatozoen von 5,5 %. Es zeigt sich zudem eine geringe Fertilisationsrate von 40,9 % [62]. Die beschriebene geringe *In-vitro*-Reifungsrate könnte durch ein generell geringeres Entwicklungspotential von kultivierten Rundspermatiden bedingt sein [62, 63]. Es ist zudem bekannt, daß die *In-vitro*-Maturierung in 50–75 % der Fälle nicht erfolgreich und nicht beliebig wiederholbar ist. Zudem variiert der klinische Erfolg von Patient zu Patient [62]. Der Grund, warum sich die Spermatozoen einiger Männer unter Kulturbedingungen weiterentwickeln und andere nicht, ist derzeit unklar [51]. Es finden sich zur Zeit keine optimalen Kulturbedingungen zur Spermatozoenreifung. Die Anwendung des Vero-Zell-Kulturmediums trägt unter Umständen das Risiko einer Transmission von Virusinfekten [62].

Die *In-vitro*-Maturierung von Spermatozoen erscheint zur Zeit aufgrund unzureichender Kultivierungsmethoden mit einem zu 50–75 % zu erwartenden Ausbleiben der Reifung und aufgrund niedriger Fertilisationsraten in der praktischen Anwendung nicht indiziert. Die von Tesarik et al. [51–53, 58, 64] beschriebenen Erfolgsraten der *In-vitro*-Maturierung von Spermatozoen sind aufgrund der kultivierten mechanisch zerkleinerten Gewebeproben hinsichtlich einer fehlenden Differenzierungsmöglichkeit der einzelnen Zellen nicht relevant [37].

Genetische Normalität bei der ROSI, ELSI und Anwendung kultivierter Spermatozoen?

Es gibt zur Zeit keinen Weg herauszufinden, ob die ausgewählten immaturen haploiden Zellen für ELSI oder ROSI genetisch normal sind. Zech et al. [65] beschreiben zwei schwere Fälle von Fehlbildungen bei vier Schwangerschaften,

erzielt durch die ICSI von elongierten Spermatozoen von 14 Patienten mit der Diagnose einer nichtobstruktiven Azoospermie. Bei den Elternteilen der zwei Kinder mit Fehlbildungen lagen normale Karyotypen und unauffällige Familienanamnese hinsichtlich chromosomaler Anomalien vor. Beim ersten Fall handelte es sich hierbei um die Diagnose eines Hydrozephalus, einer Spina bifida und einer Diaphragmatozele mit dem Vorliegen einer Trisomie 9 (47, XY+9). Beim zweiten Fall zeigte sich eine offene lumbosakrale Meningomyelozele (Arnold-Chiari-Syndrom Typ II). Es ist völlig unklar, ob die Spermatozoeninjektion selbst oder eine unbekannt genetische Prädisposition der Grund für diese Beobachtungen sind. Als Erkrankungen, die mit einer unvollständigen genomischen Ausprägung in Zusammenhang stehen, werden zusätzlich das Prader-Willi-Syndrom und das Angelman-Syndrom diskutiert.

Bedenken bestehen auch hinsichtlich der genetischen Normalität der *in vitro* kultivierten Rundspermatiden. *In vitro* kultivierte testikuläre Mausspermatozoen zeigten in einer durchgeführten Studie eine abnormale DNA-Methylierung, zudem wird einigen Fällen eine Apoptose der kultivierten Zellen beobachtet [62]. Die Gründe dafür sind unklar und werden kontrovers diskutiert [60, 66, 67]. Die vorläufigen Ergebnisse lassen nicht erkennen, ob die kultivierten Spermatozoen von Patienten einer nichtobstruktiven Azoospermie eventuell nicht ein starkes Risiko eines schweren genetischen Defektes tragen. Es sollte bei der Anwendung kultivierter isolierter Rundspermatiden zunächst untersucht werden, ob normale chromosomale Bestandteile vorliegen (z. B. mittels Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung [FISH]) und ob die entstehenden Embryonen genetisch normal sind.

Zusätzliche Unsicherheiten hinsichtlich einer Spermatozoeninjektion liegen in der Unreife der Centrosomen der Spermatozoen, der Unvollständigkeit der nukleären Proteinüberleitung, der generellen Unreife des genetischen Materials, der Kurzzeit-*In-vitro*-Kultivierung und hinsichtlich eines eventuellen Mangels von oozytenaktivierenden Substanzen [14, 68]. Alle diese Faktoren könnten auch als zusätzliche Gründe für das unbefriedigende Ergebnis einer Fertilisation von Oozyten durch Mikromanipulation durch Spermatozoen verantwortlich sein.

Schlußfolgerung

Zur Zeit ist die Rundspermatideninjektion bzw. die Injektion von kultivierten Rundspermatiden nicht indiziert. Rundspermatiden sind die jüngsten haploiden Vorläuferzellen der Spermatozoen, die eine aufwendige Entwicklung durchlaufen müssen, um sich zu reifen Spermatozoen zu entwickeln. Die Fertilisations- und Schwangerschaftsraten mit Rundspermatiden sind unakzeptabel niedrig [14, 16, 23, 26, 28, 33–36]. Bedenken hinsichtlich der Erfolgsrate bestehen hauptsächlich bezüglich der Methode der Separation, Isolation und Identifikation der Spermatozoen. Das betrifft zum größten Teil die zur Zeit unzureichend zur Verfügung stehenden sicheren Differenzierungsmethoden der einzelnen Zellen. Die bisher veröffentlichten Erfolge [51–53, 58, 64] hinsichtlich einer *In-vitro*-Kultivierung von Rundspermatiden sind aufgrund der in diesen Fällen angewandten Technik mittels mechanischer Zerkleinerung und daraus folgender unzureichender Differenzierungsmöglichkeit besonders hinsichtlich eines fraglich existierenden postmeiotischen Arrestes zurückhaltend zu betrachten.

Wann immer Spermatozoen gefunden werden (Edwards et al. [6] sahen die Notwendigkeit in 1–2 % aller Fälle von Infertilität), sollten nur die reiferen benutzt werden. Wenn

aber aus irgendeinem Grund nur Rundspematiden gefunden werden, und wenn sich zuvor niemals elongierte Spematiden oder Spermatozoen im Ejakulat oder TESE-Präparat des Patienten gezeigt haben, dann sollten die Patienten über die sehr geringe Möglichkeit eines Schwangerschaftserfolges aufgeklärt werden.

Wir ziehen den Schluß, daß die Möglichkeit, TESE-ICSI anzuwenden und Schwangerschaften bei Paaren mit azoospermischen Männern zu erzielen, mit dem Auffinden kleiner Foci intakter Spermatogenese in den Hoden zusammenhängt, und nicht von unreiferen Formen, wie Rundspematiden. Wenn Patienten sich allerdings doch einer Injektion von unreifen Spermien unterziehen, müssen sie auf jeden Fall über die Risiken eines möglichen Anstiegs von genetischen Schäden durch die Injektion unreifer Spermien (ggf. kultivierter Spematiden) aufgeklärt werden. Die Patienten müssen deutlich über das Risiko einer chromosomalen Fehlbildung und die zur Zeit unzureichende wissenschaftliche Entwicklung auf diesem Gebiet hingewiesen werden [65]. Zudem müssen die Patienten über die niedrige Erfolgsrate informiert sein. Die betroffenen Paare, die sich einem Rundspematideninjektionsprogramm unterziehen, sollten im Detail über die Risikofaktoren in der Anwendung dieser Technik informiert werden. Im IVF/ICSI-Programm der Universitätsfrauenklinik zu Lübeck wird die Methode der Rund- bzw. elongierten Spematideninjektion seit einiger Zeit nicht mehr praktiziert.

Literatur

- Schoysman R, Vanderzwalmen P, Nijs M et al. Pregnancy after fertilisation with human testicular sperm. *Lancet* 1993; 342: 1237.
- Devroey P, Liu J, Nagy Z, Goossens A, Tournaye H, Camus M. Pregnancies after testicular sperm extraction (TESE) and intracytoplasmic sperm injection (ICSI) in non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod* 1995; 10: 1457-60.
- Silber SJ, Van Steirteghem AC, Liu J, Nagy Z, Tournaye H, Devroey P. High fertilization and pregnancy rate after intracytoplasmic sperm injection with sperm obtained from testicle biopsy. *Hum Reprod* 1995; 10: 148-52.
- Silber SJ, Van Steirteghem AC, Nagy Z, Liu J, Tournaye H, Devroey P. Normal pregnancies resulting from testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection for azoospermia due to maturation arrest. *Fertil Steril* 1996; 66: 110-7.
- Küpker W, Al-Hasani S, Johannisson R, Sandmann J, Ludwig M, Jocham D, Diedrich K. The use of cryopreserved mature and immature testicular spermatozoa for intracytoplasmic sperm injection: risks and limitations. *Semin Reprod Med* 2002; 20: 25-35.
- Edwards RG, Tarin JJ, Dean N, Hirsch A, Tan SL. Are spermatid injections into human oocytes now mandatory? *Hum Reprod* 1994; 9: 2217-9.
- Ogura A, Matsuda J, Yanagimachi R. Birth of normal young after electrofusion of mouse oocytes with round spermatids. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 7460-2.
- Sofikitis NV, Toda I, Miyagawa I, Agapitos E. Reproductive capacity of the nucleus of the male gamete after completion of meiosis. *J Assist Reprod Genet* 1994; 11: 335-41.
- Fishel S, Green S, Bishop M, Thornton S et al. Pregnancy after intracytoplasmic injection of spermatid. *Lancet* 1995; 345: 1641-2.
- Tesarik J, Mendoza C, Testart J. Viable embryos from injection of round spermatids into oocytes. *N Engl J Med* 1995; 333: 525.
- Vanderzwalmen P, Lejeune BH, Nijs M, Segal-Bertin G, Vandamme B, Schoysman R. Fertilization of an oocyte micro-inseminated with a spermatid in an in-vitro fertilization programme. *Hum Reprod* 1995; 10: 502-3.
- Tesarik J, Mendoza C. Spermatid injection into human oocytes. I. Laboratory techniques and special features of zygote development. *Hum Reprod* 1996; 11: 772-9.
- Sousa M, Mendoza C, Barros A, Tesarik J. Calcium responses of human oocytes after intracytoplasmic injection of leukocytes, spermatocytes and round spermatids. *Mol Hum Reprod* 1996; 2: 853-7.
- Fishel S, Aslam I, Tesarik J. Spermatid conception: A stage too early, or a time too soon? *Hum Reprod* 1996; 11: 1371-5.
- Antinori S, Versaci C, Dani G, Antinori M, Selman HA. Successful fertilization and pregnancy after injection of frozen-thawed round spermatids into human oocytes. *Hum Reprod* 1997; 12: 554-6.
- Al-Hasani S, Schöpfer B, Küpker W, Sandmann J, Johannisson R, Fornara P, Sturm R, Bals-Pratsch M, Bauer O, Diedrich K. Die intracytoplasmatische Injektion von runden und elongierten Spematiden bei Patienten mit Reifungsarrest der Spermatogenese. *Geburthsh Frauenheilk* 1999; 59: 220-4.
- Al-Hasani S, Ludwig M, Palermo I, Küpker W, Sandmann J, Johannisson R, Fornara P, Sturm R, Bals-Pratsch M, Bauer O, Diedrich K. Intracytoplasmic injection of round and elongated spermatids from azoospermic patients: results and review. *Hum Reprod* 1999; 14: 97-107.
- Sofikitis N, Mantzavinos T, Loutradis D, Yamamoto J, Tarlatzis V, Miyagawa I. Ooplasmic injections of secondary spermatocytes for non-obstructive azoospermia. *Lancet* 1998; 351: 1177-8.
- Mansour RT, Aboulgar MA, Serour GI, Kamal A, Tawab NA, Fahmy I, Amin YM. Pregnancy and delivery after intracytoplasmic injection of spermatids into human oocytes. *Middle East Fertil Soc J* 1996; 1: 223-5.
- Amer M, Soliman E, El-Sadek M, Mendoza C, Tesarik J. Is complete spermiogenesis failure a good indication for spermatid conception? *Lancet* 1997; 350: 116.
- Antinori S, Versaci C, Dani G, Antinori M, Pozza D, Selman HA. Fertilisation with human testicular spermatids: four successful pregnancies. *Hum Reprod* 1997; 12: 286-91.
- Araki Y, Motoyama M, Yoshida A, Araki S. Intracytoplasmic injection with late spermatids: a successful procedure in achieving childbirth for couples in which the male partner suffers from azoospermia due to deficient spermatogenesis. *Fertil Steril* 1997; 67: 559-61.
- Vanderzwalmen P, Zech H, Birkenfeld A, Yemini M, Bertin G, Lejeune B. Intracytoplasmic injection of spermatids retrieved from testicular tissue: influence of testicular pathology, type of selected spermatids and oocyte activation. *Hum Reprod* 1997; 12: 1203-13.
- Barak Y, Kogosowski A, Goldman S, Soffer Y, Gonen Y, Tesarik J. Pregnancy and birth after transfer of embryos that developed from single-nucleated zygotes obtained by injection of round spermatids into oocytes. *Fertil Steril* 1998; 70: 67-70.
- Bernabeu R, Cremades N, Takahashi K, Sousa M. Successful pregnancy after spermatid injection. *Hum Reprod* 1998; 13: 1898-900.
- Kahraman S, Polat G, Samli M, Sözen E, Özgün OD, Dirican K, Özbiçer T. Multiple pregnancies obtained by testicular spermatid injection in combination with intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1998; 13: 104-10.
- Sousa MJ, Barros A, Takahashi K, Liviera C, Silva J, Tesarik J. Clinical efficacy of spermatid conception: analysis using a new spermatid classification scheme. *Hum Reprod* 1999; 14: 1279-86.
- Levrain D, Nahum H, Farhi J, Weissman A. Poor outcome with spermatid injection in azoospermic patients with maturation arrest. *Fertil Steril* 2000; 74: 443-9.
- Vicdan K, Isik AZ, Delibasi L. Development of blastocyst-stage embryos after round spermatid injection in patients with complete spermiogenesis failure. *J Assist Reprod Genet* 2001; 18: 78-86.
- Urman B, Alatas C, Aksoy S, Mercan R, Nuhoglu A, Mumcu A, Isikl Balaban B. Transfer at the blastocyst stage of embryos derived from testicular round spermatid injection. *Hum Reprod* 2002; 17: 741-3.
- Asimakopoulos B, Nikolettos N, Al-Hasani S. Round and elongated spermatid injection in assisted reproduction: should it be used? In: Rafael B, Diederich K, Dudenhausen J-W, Mettler L, Schneider HPG, Shoham Z (eds). The 4th World Congress on Controversies in Obstetrics Gynecology and Infertility. Berlin, Germany, April 24-27. E. Oren Publisher Ltd. International Proceedings Division, Israel, 2003; 95-105.
- Barros A, Bernabeu R, Takahashi K, Oliveira C, Cremades N, Silva J, Sousa M, Tesarik J. Intracytoplasmic injection of ejaculate and testicle spermatids: report on 35 cycles. *Hum Reprod* 1998; 13 (Abstr. Book 1): 154-5.
- Sousa M, Cremades N, Silva J, Oliveira C, Ferraz L, da Silva T, Viana P, Barros A. Predictive value of testicular histology in secretory azoospermic subgroups and clinical outcome after microinjection of fresh frozen-thawed sperm and spermatids. *Hum Reprod* 2002; 17: 1800-10.
- Aslam I, Fishel S. Short-term in-vitro culture and cryopreservation of spermiogenic cells used for human in vitro conception. *Hum Reprod* 1998; 13: 634-8.
- Fishel S, Green S, Hunter A, Lisi F, Rinaldi L, Lisi R, McDermott H. Human fertilization with round and elongated spermatids. *Hum Reprod* 1997; 12: 336-40.
- Tesarik J, Souza M, Greco E, Mendoza C. Spermatids as gametes: indications and limitations. *Hum Reprod* 1998; 13: 89-107.
- Silber SJ, Johnson L. ROSNI und ROSI revisited. *Hum Reprod* 1998; 13: 509-15.
- Johnson L, Petty CS, Neaves WB. A new approach to quantification of spermatogenesis and its application to germinal cell attrition during human spermiogenesis. *Biol Reprod* 1981; 25: 217-26.
- Johnson L, Chaterudi PK, Williams JD. Missing generations of spermatocytes and spermatids in seminiferous epithelium contribute to low efficiency of spermatogenesis in human. *Biol Reprod* 1992; 47: 1091-8.
- Johnson L. Review article. Spermatogenesis and aging in the human. *J Androl* 1986; 7: 331-54.
- Yamanaka K, Sofikitis N, Miyagawa I. Ooplasmic round spermatid nuclear injection procedures as an experimental treatment for nonobstructive azoospermia. *J Assist Reprod Genet* 1997; 14: 55-62.
- Tesarik J. Fertilization of oocytes by injecting spermatozoa, spermatids and spermatocytes. *Rev Reprod* 1996; 1: 149-52.
- Barros A, Takahashi K, Bernabeu R et al. Spermatid intracytoplasmic injection: report on 56 cycles. *Fertil Steril (Abstr Suppl)* 1998; 441.
- Sofikitis N, Toda T, Miyagawa I. Beneficial effects of electrical stimulation before round spermatid injection into rabbit oocytes on fertilization and subsequent embryonic development. *Fertil Steril* 1996; 65: 176-85.
- Schulze W, Thoms F, Knuth UA. Testicular sperm extraction: comprehensive analysis with simultaneously performed histology in 1418 biopsies from 766 subfertile men. *Hum Reprod* 1999; 14: 82-96.
- Tesarik J, Greco F, Mendoza C. ROSI, instruction for use: 1997 update. Round spermatid injection. *Hum Reprod* 1998; 13: 519-23.
- Steinberger E, Tjioe DY. A method for quantitative analysis of human seminiferous epithelium. *Fertil Steril* 1968; 19: 960-70.
- Zuckerman Z, Rodriguez-Rigau LJ, Weiss DB, Chowdhury AK, Smith KD, Steinberger E. Quantitative analysis of the seminiferous epithelium in human testicle biopsies and the relation of spermatogenesis to sperm density. *Fertil Steril* 1978; 30: 448-55.
- Silber SJ, Rodriguez-Rigau L. Quantitative analysis of testicle biopsy: determination of partial obstruction and prediction of sperm count after surgery for obstruction. *Fertil Steril* 1981; 36: 480-5.
- Schlegel PM, Su LM. Physiological consequences of testicular sperm extraction. *Hum Reprod* 1997; 12: 1688-92.
- Tesarik J, Nagy P, Abdelmassih R, Greco E, Mendoza C. Pharmacological concentrations of follicle-stimulating hormone and testosterone improve the efficacy of in vitro germ cell differentiation in men with maturation arrest. *Fertil Steril* 2002; 77: 245-50.
- Tesarik J, Mendoza C, Greco E. In-vitro maturation of immature human male germ cells. *Mol Cell Endo* 2000; 166: 45-50.
- Tesarik J, Balaban B, Isiklar A, Alatas C, Urman B, Aksoy S, Mendoza C, Greco E. In-vitro spermatogenesis resumption in men with maturation arrest: relationship with in vivo-blocking stage and serum FSH. *Hum Reprod* 2000; 15: 1350-54.
- Tesarik J, Bahceci M, Ozcahn C, Greco E, Mendoza C. Restoration of fertility by in vitro spermatogenesis. *Lancet* 1999; 353: 555-6.
- Tesarik J, Greco L, Rienzi L. Differentiation of spermatogenic cells during in vitro culture of testicular biopsy samples from patients with obstructive azoospermia: effect of recombinant follicle stimulating hormone. *Hum Reprod* 1998; 13: 2772-81.
- Tesarik J, Guido M, Mendoza C, Greco E. Human spermatogenesis in vitro: respective effects of follicle stimulating hormone and testosterone on meiosis, spermiogenesis and Sertoli cell apoptosis. *J Clin Endocrinol Metabol* 1998; 83: 4467-73.
- Tesarik J, Mendoza C, Greco E. In vitro differentiation of germ cells from frozen testicular specimens. *Hum Reprod* 2000; 15: 1713-6.
- Tesarik J, Mendoza C, Greco E. The effect of FSH on male germ cells survival and differentiation in vitro is mimicked by pentoxifylline but not insulin. *Mol Hum Reprod* 2000; 6: 877-81.
- Heller CG, Clermont Y. Spermatogenesis in men: an estimate of its duration. *Science* 1963; 140: 184.
- Steele EK, Lewis SEM, McClure M. Science versus clinical adventurism in treatment of azoospermia. *Lancet* 1999; 353: 516-7.
- Aslam I, Fishel S. Evaluation of the fertilization potential of freshly isolated, in-vitro cultured and cryopreserved human spermatids by injection into hamster oocytes. *Hum Reprod* 1999; 14: 1528-33.
- Cremades N, Bernabeu R, Barros A, Sousa M. In vitro maturation of round spermatids using coculture on Vero cells. *Hum Reprod* 1999; 14: 1287-93.
- Balaban B, Urman B, Isiklar A, Alatas C, Aksoy S, Mercan R, Nuhoglu A. Progression to the blastocyst stage of embryos derived from testicular round spermatids. *Hum Reprod* 2000; 15: 1377-82.
- Zech H, Vanderzwalmen P, Papras Y, Lejeune B, Duba E, Schoysman R. Congenital malformations after intracytoplasmic injection of spermatids. *Hum Reprod* 2000; 15: 969-71.
- Tesarik J, Greco E, Cohen-Bacrie P, Mendoza C. Germ cell apoptosis in men with complete and incomplete spermiogenesis failure. *Mol Hum Reprod* 1998; 4: 757-62.
- Print CG, Loveland KL. Germ cell suicide: new insights into apoptosis during spermatogenesis. *Bioessays* 2000; 22: 423-30.
- Aslam I, Fishel S. The use of spermatids for human conception. In: Hanson V, Levy FO and Tasken K (eds). *Signal Transduction in Testicular Cells*. Springer Verlag, Berlin, 1996; 271-86.
- Tesarik J, Greco E, Mendoza C. Assisted reproduction with in-vitro-cultured testicular spermatozoa in cases of severe germ cell apoptosis: a pilot study. *Hum Reprod* 2001; 16: 2640-5.

Mitteilungen aus der Redaktion

Besuchen Sie unsere Rubrik

[Medizintechnik-Produkte](#)



Neues CRTD Implantat
Intica 7 HF-T QP von Biotronik



Artis pheno
Siemens Healthcare Diagnostics GmbH



Philips Azurion:
Innovative Bildgebungslösung

Aspirator 3
Labotect GmbH



InControl 1050
Labotect GmbH

e-Journal-Abo

Beziehen Sie die elektronischen Ausgaben dieser Zeitschrift hier.

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

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

[Bestellung e-Journal-Abo](#)

Haftungsausschluss

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

Bitte beachten Sie auch diese Seiten:

[Impressum](#)

[Disclaimers & Copyright](#)

[Datenschutzerklärung](#)