

Journal für

# Gynäkologische Endokrinologie

Gynäkologie • Kontrazeption • Menopause • Reproduktionsmedizin

## **Samen-TUNEL-Untersuchung: Ein wichtiger Test für ein IVF-Institut?**

Leberl F, Stadler A, Bulfon S, Boschi A

*Journal für Gynäkologische Endokrinologie 2008; 2 (3)*

*(Ausgabe für Österreich), 19-22*

*Journal für Gynäkologische Endokrinologie 2008; 2 (3)*

*(Ausgabe für Schweiz), 10-14*

**Offizielles Organ der Österreichischen  
IVF-Gesellschaft**

**Offizielles Organ der Österreichischen  
Menopause-Gesellschaft**

Indexed in EMBASE/Scopus/Excerpta Medica

[www.kup.at/gynaekologie](http://www.kup.at/gynaekologie)

Member of the



**Homepage:**

[www.kup.at/gynaekologie](http://www.kup.at/gynaekologie)

**Online-Datenbank mit  
Autoren- und Stichwortsuche**

Krause & Pachernegg GmbH · VERLAG für MEDIZIN und WIRTSCHAFT · A-3003 Gablitz

P. h. b. GZ072037636M · Verlagspostamt: 3002 Parkersdorf · Erscheinungsort: 3003 Gablitz

**Erschaffen Sie sich Ihre  
ertragreiche grüne Oase in  
Ihrem Zuhause oder in Ihrer  
Praxis**

**Mehr als nur eine Dekoration:**

- Sie wollen das Besondere?
- Sie möchten Ihre eigenen Salate,  
Kräuter und auch Ihr Gemüse  
ernten?
- Frisch, reif, ungespritzt und voller  
Geschmack?
- Ohne Vorkenntnisse und ganz  
ohne grünen Daumen?

**Dann sind Sie hier richtig**



# Samen-TUNEL-Untersuchung: Ein wichtiger Test für ein IVF-Institut?

F. Leberl, A. Stadler, S. Bulfon, A. Boschi

**Kurzfassung:** *Einleitung:* Aufgrund männlicher Infertilität werden schon 71 % (IVF-Register 2006) der österreichischen IVF-Versuche als ICSI (Intrazytoplasmatische Spermieninjektion) durchgeführt. Das Spermogramm hat nur eine geringe Vorhersagekraft für den Erfolg dieser Behandlung. Hingegen wird die DNA-Fragmentierung von Spermatozoen als prognostischer Faktor diskutiert. TUNEL („TdT mediated dUTP nick end labeling“) ist, im Zusammenhang mit apoptotischen Vorgängen in Samenzellen, eine übliche Methode zur Feststellung solcher DNA-Strangbrüche.

Ziel dieser Arbeit war, den tatsächlichen Einfluss einer erhöhten Rate TUNEL-positiver Spermatozoen auf die Befruchtungsraten, Entwicklung zu Achtzellern (Tag 3) und Blastozysten (Tag 5) sowie auf die Schwangerschaftsraten zu untersuchen.

*Patienten und Methoden:* Samen von Paaren, welche sich einer künstlichen Befruchtung durch ICSI unterzogen, wurden durch Dichtegradient und darauf folgendes Swim-up aufbereitet, auf Objektträger ausgestrichen und dann mit dem FITC-In Situ Cell Death Detection Kit (Roche) gefärbt. Die Konzentration TUNEL-positiver Spermatozoen wurde am Fluoreszenzmikroskop ausgezählt und in Beziehung zum Schwangerschafts-Outcome gebracht.

*Resultate:* Es wurden Samen von 56 Paaren untersucht. Ein Cut-off von 20 % TUNEL-positiver Spermatozoen wurde festgelegt. In die Gruppe mit hoher

DNA-Fragmentierung fielen 12 Paare (21 %). Diese Gruppe zeigte eine deutlich niedrigere Schwangerschaftsraten (25 %) als die Gruppe mit niedriger DNA-Fragmentierung (57 %).

*Diskussion:* Durch eine erhöhte DNA-Fragmentierung von Spermatozoen wird die Schwangerschaftsraten bei etwa jedem fünften Paar mehr als halbiert. Ähnliche Zusammenhänge wurden auch in anderen Untersuchungen gezeigt. Als weiterführende Studie wäre es interessant zu untersuchen, inwieweit es bei einer Anwendung des Tests schon vor der ICSI und darauf folgender Behandlung des Mannes mit Antioxidantien oder Selektion der Samenzellen durch eine IMSI (Intrazytoplasmatische, morphologisch selektierte Spermieninjektion) zu einer Verbesserung der Schwangerschaftsraten kommen könnte.

**Abstract: Sperm TUNEL Test: Is it relevant for IVF Institutes?** *Introduction:* Because of male infertility in Austria already 71 % of all IVF patients are treated by intracytoplasmic sperm injection (ICSI). The spermogram is not sufficiently predictive for the success of this method. On the other hand DNA-fragmentation in spermatozoa has been discussed as a prognostic factor. TUNEL (TdT mediated dUTP nick end labeling) is a common method for analysing such DNA strand breaks.

The aim of this study was to evaluate the actual influence of an elevated rate of TUNEL-positive spermatozoa on conception rate, development on day 3 (8-cell stage) and day 5 (blastocyst stage) and on pregnancy rate.

*Patients and methods:* Semen of couples undergoing ART (artificial reproductive treatment) by ICSI were prepared by density gradient and following swim-up, spread out on slides and then stained with the FITC-In Situ Cell Death Detection Kit (Roche). The concentration of TUNEL-positive spermatozoa was counted on a fluorescence microscope and then compared with the pregnancy outcome.

*Results:* Semen of 56 couples was analysed. We set a cut-off at 20 % TUNEL-positive spermatozoa. 12 couples (21 %) lay above this level. This group had a clearly lower pregnancy rate (25 %) than the group with little DNA fragmentation (57 %).

*Discussion:* In roughly one fifth of all couples the pregnancy rate was more than halved by DNA fragmentation. A similar connection has also been shown by other authors. There should be further investigation whether testing patients before the ICSI and then treating the man with antioxidants or selecting sperm cells by IMSI (intracytoplasmatic morphologic selected sperm injection) could lead to an elevated pregnancy rate. **J Gynäkol Endokrinol 2008; 18 (3): 19–22.**

## ■ Einleitung

Unfruchtbarkeit wird definiert durch nicht eintretende Schwangerschaft nach einem Jahr ohne Verhütung. Etwa 20 % aller Paare mit Kinderwunsch gelten demnach als infertil und sind die Zielgruppe für eine künstliche Befruchtung (ART) durch In-vitro-Fertilisierung (IVF) oder Intrazytoplasmatische Spermieninjektion (ICSI).

Aufgrund männlicher Infertilität werden in Österreich schon 71 % der ART-Versuche als ICSI durchgeführt [1]. Dies ist relevant, da die Samenzellen bei dieser Methode nach rein morphologischen Kriterien (Morphologie und Beweglichkeit) ausgewählt werden. Sie müssen nicht physiologische Barrieren wie Muttermund und Zona pellucida überwinden und so ihre genetische Integrität unter Beweis stellen.

Üblicherweise wird die Samenzellqualität über ein konventionelles Spermogramm bestimmt, welches Parameter wie Volumen des Ejakulats, Konzentration, Vitalität und Morphologie der Spermatozoen, pH- und Leukozytenzahl beinhaltet. Aber auch gute Werte garantieren keine Schwangerschaft [2].

Ebenso können Funktionstests für Samenzellen, wie Simshühner-Test, Akrosomenreaktion und Hamsterei-Penetrations-

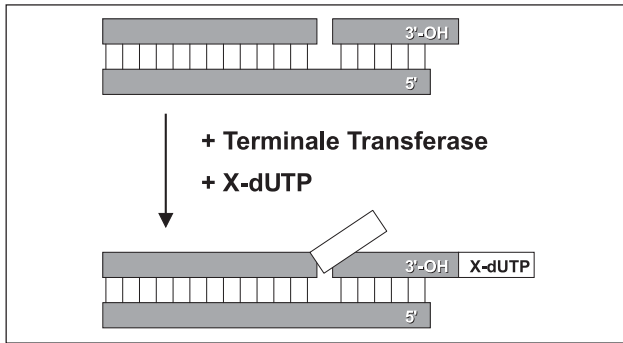
test, keine verlässliche Vorhersage über die Befruchtungsfähigkeit der Spermatozoen liefern [3].

DNA-Strangbrüche werden hingegen als prognostischer Faktor für das ICSI-Outcome diskutiert. Donald P. Evenson [4] stellte 1980 als Erster einen Zusammenhang mit einer geringeren Schwangerschaftsraten fest. Inzwischen hat es zahlreiche Untersuchungen des Einflusses von DNA-Strangbrüchen auf verschiedene Parameter, wie Befruchtungsraten, Embryoentwicklung, Entwicklung zu Blastozysten, Schwangerschafts- und Abortraten, gegeben. Die Ergebnisse sind jedoch nicht eindeutig. Zahlreiche Autoren [5–8] beschreiben bei der ICSI einen negativen Einfluss einer erhöhten DNA-Strangbruchrate der Samenzellen auf das Schwangerschafts-Outcome, während andere [9, 10] diesen Zusammenhang nicht bestätigen können. Bezüglich des Einflusses von DNA-Strangbrüchen auf die anderen Parameter (Befruchtungsraten, Embryoentwicklung, Entwicklung zu Blastozysten) sind die Studienergebnisse noch widersprüchlicher.

DNA-Strangbrüche sind durch verschiedene Tests relativ einfach zu analysieren. Als wichtigste sollen hier der Sperm Chromatine Structure Assay (SCSA) [4], der COMET-Assay [11] und der TUNEL-Assay (Terminale Desoxyribosyl-Transferase (TdT) mediated dUTP Nick End Labeling) [12] genannt werden.

Der TUNEL-Assay misst DNA-Strangbrüche direkt. Eine terminale Transferase hängt modifizierte Nukleotide an die

**Korrespondenzadresse:** Dr. Franciska Leberl, Sterignost – Institut für Kinderwunschbehandlung, A-9020 Klagenfurt, Linsengasse 46, E-Mail: ciska@gmx.at



**Abbildung 1:** TUNEL-Prinzip: Das Enzym Terminale Transferase hängt modifizierte Nucleotide (weiß) an 3'-Enden der Bruchstellen (nicks) oder Enden (ends) des DNA-Doppelstrangs (grau). Die Nucleotide (x-dUTP) sind entweder mit einem Fluorochrom (z. B. FITC) für die fluoreszenzmikroskopische Analyse markiert oder an Biotin oder DIG gekoppelt, was eine Untersuchung am Lichtmikroskop ermöglicht. (Nachdruck aus: Roche Applied Science: Apoptosis, cell death and cell proliferation, 3<sup>rd</sup> edition, mit freundlicher Genehmigung von Roche Diagnostics GmbH)

3'-Enden der Bruchstellen (Abb. 1). Diese Methode ist sowohl für das Lichtmikroskop als auch für das Fluoreszenzmikroskop und das FACS (Zytometer) geeignet.

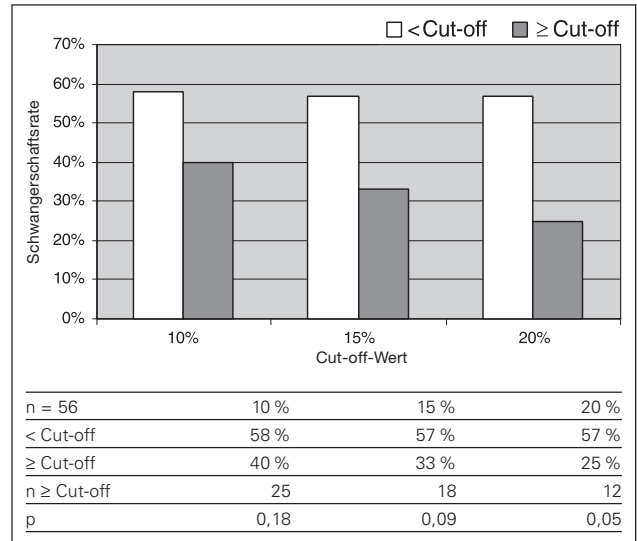
Ziel dieser Arbeit war, den tatsächlichen Einfluss einer erhöhten Rate TUNEL-positiver Spermatozoen auf die Befruchtungsrate, Entwicklung zu Achtzellern (Tag 3) und Blastozysten (Tag 5) sowie auf die Schwangerschaftsrate zu untersuchen, um die Relevanz des TUNEL-Tests für IVF-Institute abschätzen zu können.

### ■ Patienten und Methoden

Samen von Paaren, welche sich einer künstlichen Befruchtung durch ICSI unterzogen, wurden durch den doppelten Dichtegradienten (45 % und 90 % Sperm Grad™, Vitrolife, Ref. 10099, in G-Sperm, Vitrolife Ref. 10070; 300 g, 20 Minuten), zweimaliges Waschen (G-Sperm, Vitrolife, Ref. 10070, 500 g, 5 Minuten) und darauf folgendes Swim-up (G-Fert™, Vitrolife, Ref. 10090, mindestens 15 Minuten) aufbereitet. Waren nach der ICSI noch genügend Samenzellen vorhanden, wurden diese auf einem Objektträger ausgestrichen und luftgetrocknet.

Die Objektträger wurden eine Stunde in 4-%-Paraformaldehydlösung (Sigma-Aldrich, Cat. 25,254-9; 37 % Lösung in Wasser, verdünnt mit PBS) fixiert, zweimal in PBS (Phosphate Buffered Saline, Sigma, Cat. P-5368) gewaschen, bei 2–8 °C für zwei Minuten in frischer 0,1-%-Triton-Lösung permeabilisiert (10 µl Triton X-100, Sigma, Cat. T-8787, in 10 ml 0,1-%-Natriumcitrat-Lösung [1 g Natriumcitrat, Fluka, Cat. 71401, in 1 l H<sub>2</sub>O bidest]) und dann wiederum zweimal in PBS gewaschen.

Die Objektträger wurden um die Probe herum trocken getupft, mit 10 µl TUNEL-Reaktionsgemisch (In Situ-Cell Death Detection Kit – FITC, Roche, Cat. 11 684 795 910) versehen, mit einem Deckglas zugedeckt und in dunkler, feuchter Kammer bei 37 °C eine Stunde lang inkubiert. Nach dreimaligem Waschen in PBS wurde die Probe mit einem Tropfen DAPI-Vectashield (Scabo Scandic, Cat. 01-4893961-7) eingedeckt.



**Abbildung 2:** DNA-Strangbruchrate und Schwangerschaft.

Die Präparate wurden mit einem Fluoreszenzmikroskop (Leica, Ortholux II) untersucht. Wenn möglich, wurden mindestens 200 Samenzellen ausgezählt und der Prozentsatz TUNEL-positiver Samenzellen ermittelt.

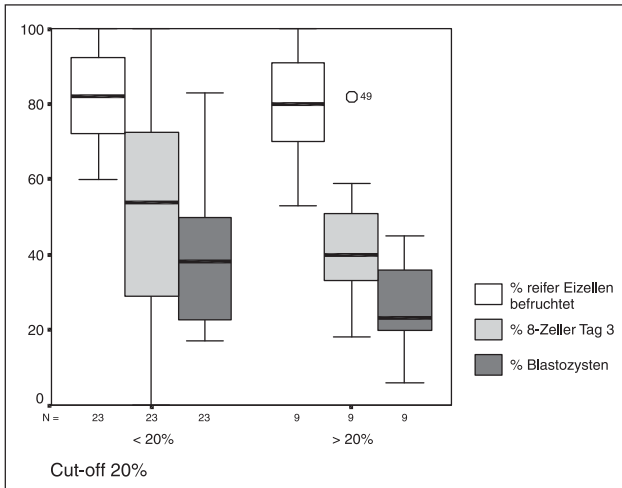
Um aufbereitete Ejakulate mit hoher DNA-Strangbruchrate von solchen mit niedriger DNA-Strangbruchrate unterscheiden zu können, wurden innerhalb der Stichprobe willkürliche Schwellenwerte bei 10 %, 15 % oder 20 % TUNEL-Positivität der Spermproben gesetzt. Die so entstehenden Gruppen wurden bezüglich des Schwangerschafts-Outcomes miteinander verglichen und die Ergebnisse mit dem Chi-Quadratstest auf Signifikanz getestet.

Unter Verwendung des Schwellenwertes von 20 % wurden dann die Mittelwerte der Parameter Befruchtungsrate, Entwicklung zu Achtzellern (Tag 3) und zu Blastozysten (Tag 5) statistisch (U-Test nach Mann und Whitney, SPSS-Programm) miteinander verglichen. Die jeweiligen Raten beziehen sich auf die Anzahl der beimpften Eizellen.

### ■ Ergebnisse

Es konnten Samenzellen von 56 ICSI-Patienten untersucht werden. Schon bei einem Cut-off von 10 % wies die Gruppe mit höherer DNA-Strangbruchrate (grau) eine niedrigere Schwangerschaftsrate (40 %) auf als die Gruppe mit niedrigerer DNA-Strangbruchrate (weiß, 58 % Schwangerschaftsrate) (Abb. 2). Dieser Unterschied in der Schwangerschaftsrate wurde bei steigendem Cut-off immer klarer und war bei einem Schwellenwert von 20 % TUNEL-positiver Spermatozoen mit 25 % (grau) versus 57 % (weiß) knapp an der Signifikanzgrenze (p = 0,051).

Beim Cut-off von 20 % TUNEL-positiver Spermatozoen wurden die Gruppen dann bezüglich der Parameter Befruchtungsrate, Entwicklung zu Achtzellern (Tag 3) und Blastozysten (Tag 5) miteinander verglichen (Abb. 3). Bei der Befruchtungsrate (weiß) war kein Unterschied ersichtlich. Am Tag 3 nach der Befruchtung (hellgrau) hatten sich in der Gruppe mit niedri-



**Abbildung 3:** Boxplot über die Parameter Befruchtungsrate (weiß), Entwicklung zu Achtzellern (hellgrau) und Blastozysten (dunkelgrau), in den Gruppen mit DNA-Strangbruchraten unterhalb bzw. oberhalb des Cut-offs von 20 %.

gerer DNA-Strangbruchrate durchschnittlich 49 % der Embryonen zu Achtzellern entwickelt, in der Gruppe mit hoher DNA-Strangbruchrate nur 41 %. Am Tag 5 (dunkelgrau) unterschieden sich die Mittelwerte in der Blastozystenrate noch mehr (36 % versus 26 %). All diese Unterschiede waren nicht signifikant (Tag 3:  $p = 0,34$ ; Tag 5:  $p = 0,15$ ).

## ■ Diskussion

Die Ergebnisse unserer Untersuchung zeigten zwischen stark und gering TUNEL-positiven Spermaproben (bei einem Cut-off-Wert von 20 %) eine Divergenz der Schwangerschaftsraten (25 % versus 57 %). Dass dieser Unterschied nicht unter der Signifikanzgrenze liegt, könnte auf die recht geringe Fallzahl ( $n = 56$ ) zurückzuführen sein. Benchaib [13] und Borini [7] konnten signifikante Unterschiede feststellen, auch schon bei niedrigeren Cut-offs.

Bei der Befruchtungsrate konnte in dieser Untersuchung kein Unterschied festgestellt werden. Eine Divergenz fällt dann bei den Achtzellern am Tag 3 auf (41 % versus 49 %) und vergrößert sich bei zunehmender Dauer der Embryonenentwicklung: Tag 5: 26 % versus 36 % Blastozystenrate; Schwangerschaftsrate 25 % versus 57 %. Auch Benchaib [13] beobachtete Ähnliches und spricht von einem sogenannten „late paternal effect“. Benchaib [13] konnte zusätzlich zeigen, dass die Abortrate in der Gruppe mit hoher DNA-Strangbruchrate viermal höher war als in der Gruppe mit niedriger DNA-Strangbruchrate.

Die stark reduzierte Schwangerschaftsrate bei hohen TUNEL-Werten (obwohl etwa bei einem Cut-off von 20 % bis zu 80 % der Spermatozoen TUNEL-negativ sind) könnte dadurch erklärbar sein, dass die TUNEL-negativen Spermatozoen auch schon gewisse Schäden aufweisen, welche aber mit dem TUNEL-

Test oder dem SCSA (Sperm Chromatin Structure Assay) noch nicht nachweisbar sind [5].

Umgekehrt stellt sich die Frage, warum es dann bei hohen TUNEL-Werten überhaupt Schwangerschaften gibt. Dies ist sicher abhängig davon, welche DNA-Regionen von Brüchen betroffen sind. Außerdem sind Oozyten bis zu einem gewissen Grad in der Lage, die beschädigte Spermien-DNA zu reparieren [14].

Einerseits um keine Störung der Therapie zu verursachen, andererseits um den TUNEL-Werten während der ICSI möglichst nahe zu kommen und sie so in direkten Zusammenhang mit dem ICSI-Outcome stellen zu können, haben wir den Zustand der übrig gebliebenen Spermatozoen direkt nach der ICSI untersucht. Es wäre jedoch auch wichtig zu untersuchen, inwieweit sich die DNA-Strangbruchrate während der Spermienaufbereitung verändert, um so in weiterer Folge die optimale Aufbereitung des Ejakulats zu entwickeln. Ansätze wären: Kein Pelletieren unselektierter Spermatozoen [15, 16], Verwendung von Medien mit Antioxidantien, magnetische Annexin-V-Säulen [17] etc.

Ein weiteres Ziel wäre es, Ejakulate schon einige Zeit vor der ICSI zu testen, um so bei hohen TUNEL-Werten adäquat reagieren zu können, etwa mit der gezielten Auswahl der zu injizierenden Spermatozoen durch eine IMSI.

Als weitere Therapieoption würde eine mehrwöchige Antioxidantientherapie (Vitamin C, Vitamin E,  $\alpha$ -Liponsäure) infrage kommen. Eine zu hohe Konzentration von Sauerstoffradikalen (ROS) in Nebenhoden und Samenleiter schädigt durch Lipidperoxidation Zellmembranen und DNA der Spermatozoen, was zu behinderter Spermienfunktion und in weiterer Folge zu Apoptose führt [18]. Die DNA der Samenzellen ist besonders anfällig darauf, da Spermatozoen kaum mehr Zytoplasma haben, welches Antioxidantien enthalten würde [19]. Greco und Tesarik [20] konnten die Schwangerschaftsrate durch eine Therapie mit Vitamin C und Vitamin E (je 1 g täglich) beträchtlich steigern.

Die obigen Ergebnisse weisen darauf hin, dass der TUNEL-Test eine wichtige diagnostische Zusatzinformation für IVF-Labors darstellt. Weitere Untersuchungen, etwa die IMSI und die Antioxidantientherapie betreffend, wären wichtig, da diese Methoden zu einer Steigerung der Schwangerschaftsrate führen könnten.

**Literatur:**

1. IVF-Register der ÖBIG. Jahresbericht 2006; 5.
2. Centola GM, Ginsburg KA. Evaluation and treatment of the infertile male. Cambridge University Press, Cambridge, 1996.
3. De Geyter C, De Geyter M, Meschede D, Behre HM. Assisted fertilization. In: Nieschlag E, Behre HM (eds). Andrology: Male reproductive health and dysfunction. Springer, Heidelberg, 2000; 337–65.
4. Evenson DP, Darzynkiewicz Z, Melamed MR. Relation of mammalian sperm chromatin heterogeneity to fertility. Science 1980; 210: 1131–3.
5. Evenson DP, Larson KL, Jost LK. Sperm chromatin structure assay: Its clinical use for detecting sperm DNA fragmentation in male infertility and comparison with other techniques. J Androl 2002; 23: 25–43.
6. Benchaib M, Braun V, Lornage J, Hanj S, Salle B, Lejeune H, Guerin JF. Sperm DNA fragmentation decreases the pregnancy rate in an assisted reproductive technique. Hum Reprod 2003; 18: 1023–8.
7. Borini A, Tarozzi N, Bizzaro D, Bonu MA, Fava L, Flamigni C, Coticchio G. Sperm DNA fragmentation: Paternal effect on early post-implantation embryo development in ART. Hum Reprod 2006; 21: 2876–81.
8. Bungum M, Humaidan P, Axmon A, Spano M, Bungum L, Erenpreiss J, Biwercman A. Sperm DNA integrity assessment in prediction of assisted reproduction technology outcome. Hum Reprod 2007; 22: 174–9.
9. Huang C, Lin DP, Tsao H, Cheng T, Liu C, Lee M. Sperm DNA fragmentation negatively correlates with velocity and fertilization rates but might not affect pregnancy rates. Fertil Steril 2005; 84: 130–40.
10. Li Z, Wang L, Cai J, Huang H. Correlation of sperm DNA damage with IVF and ICSI outcomes: A systematic review and meta-analysis. J Assist Reprod Genet 2006; 23: 367–76.
11. Östling O, Johanson KJ. Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA-damage in individual mammalian cells. Biochem Biophys Res Commun 1984; 123: 291–8.
12. Sun JG, Jurisicova A, Casper RF. Detection of deoxyribonucleic acid fragmentation in human sperm (correlation with fertilization in vitro). Biol Reprod 1997; 56: 602–7.
13. Benchaib M, Lornage J, Mazoyer C, Lejeune H, Salle B, Guerin JF. Sperm deoxyribonucleic acid fragmentation as a prognostic indicator of assisted reproductive technology outcome. Fertil Steril 2007; 87: 93–100.
14. Matsuda Y, Tobar I. Chromosomal analysis in mouse eggs fertilized in vitro with sperm exposed to ultraviolet light and methyl and ethyl methansulfonate. Mutat Res 1988; 198: 131–44.
15. Mortimer D. Sperm preparation techniques and iatrogenic failures of in-vitro fertilization. Hum Reprod 1991; 6: 173–6.
16. Younglai EV, Holt D, Brown P, Jurisicova A, Casper RF. Sperm swim-up techniques and DNA fragmentation. Hum Reprod 2001; 16: 1950–3.
17. Winkle T, Gagsteiger F, Ditzel N. Reduktion von apoptotischen Spermien im Ejakulat mittels MACS-System. J Fertil Reprod 2007; 17 (1): 19–21.
18. Aitken RJ, Clarkson JS, Fishel S. Generation of reactive oxygen species, lipid peroxidation and human sperm function. Biol Reprod 1987; 41: 183–97.
19. Griveau JF, LeLannou D. Effects of antioxidants on human sperm preparation techniques. Int J Androl 1994; 17: 225–31.
20. Greco E, Romano S, Iacobelli M, Ferrero S, Baroni E, Minasi MG, Ubaldi F, Rienzi L, Tesarik J. ICSI in cases of sperm DNA damage: beneficial effect of oral antioxidant treatment. Hum Reprod 2005; 20: 2590–4.

**Dr. Franciska Leberl**

Geboren 1972 in Klagenfurt. Studium der Humanbiologie in Graz, Wien und Glasgow. Dissertation im CCRI St. Anna in Wien, Promotion 2003. 2005 Mitarbeit im Daniel-Swarovski-Forschungsinstitut in Innsbruck. Seit 2006 Mitarbeit bei Sterignost – Institut für Kinderwunschbehandlung in Klagenfurt.



# Mitteilungen aus der Redaktion

## Besuchen Sie unsere zeitschriftenübergreifende Datenbank

[Bilddatenbank](#)

[Artikeldatenbank](#)

[Fallberichte](#)

## 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](#)