

Journal für

Reproduktionsmedizin und Endokrinologie

– Journal of Reproductive Medicine and Endocrinology –

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



**24. Jahrestagung der Österreichischen Gesellschaft für
Reproduktionsmedizin und Endokrinologie (OEGRM).**

9.-11.10. 2008, Graz (Abstracts)

J. Reproduktionsmed. Endokrinol 2008; 5 (5), 285-302

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

24. JAHRESTAGUNG DER ÖSTERREICHISCHEN GESELLSCHAFT FÜR REPRODUKTIONSMEDIZIN UND ENDOKRINOLOGIE (OEGRM)

9.–11. 10. 2008, GRAZ



VORWORT

VORWORT

Sehr geehrte Frau Kollegin!
Sehr geehrter Herr Kollege!

Wir freuen uns sehr, Sie zur **24. Jahrestagung der Österreichischen Gesellschaft für Reproduktionsmedizin und Endokrinologie**, die nun schon zum 3. Mal in Graz abgehalten wird, begrüßen zu dürfen.

Bei der Programmgestaltung waren wir bemüht, aktuelle wissenschaftliche Forschungsergebnisse zu vermitteln, insbesondere jedoch der Diskussion zwischen Referenten und Tagungsteilnehmern im Rahmen interaktiver Seminare, einer Fragestunde mit Experten und nach jeder Präsentation ausreichend Zeit einzuräumen, um brennende Fragen zu erörtern.

Im heurigen Jahr gilt es, den 30. Geburtstag von Louise Brown, des ersten Retortenbabys, zu feiern. Zu diesem Anlass konnten wir Peter Brinsden aus Bourn Hall, England, als Referenten gewinnen.

Der Bogen der Themen unserer Jahrestagung spannt sich von interessanten biotechnologischen Erkenntnissen in der Tiermedizin über aktuelle Innovationen im Rahmen der ovariellen Stimulation bei In-vitro-Fertilisierung, der Substitution der Corpus luteum-Phase, der Anwendung des 3D-Ultraschalls im Rahmen der In-vitro-Fertilisierung, der Hyperprolaktinämie, des Polyzystischen Ovarsyndroms bis zu aktuellen Themen in der Andrologie.

Breiter Raum wird genetischen Fragenstellungen, der Umsetzung des Gewebesicherheitsgesetzes in Österreich und dem Thema Kinderwunsch bei Frauen nach Behandlung maligner Erkrankungen eingeräumt.

Im Weiteren ist ein Round Table zum Thema „Reproductive Surgery“ vorgesehen. Ebenso wird über aktuelle rechtsmedizinische Fragestellungen und den letzten wissenschaftlichen Stand der Plazenta-Physiologie und -Pathologie bei Frauen mit Diabetes diskutiert.

Wie schon in den vergangenen Jahren wird auch heuer ein **Wissenschaftspreis** ausgeschrieben, der für die besten vier Vorträge junger Kollegen vergeben wird. An dieser Stelle ist es uns ein besonderes Anliegen, jenen Firmen, die uns im Rahmen der Gestaltung dieser Jahrestagung und bei der Bereitstellung des Wissenschaftspreises unterstützt haben, herzlichst zu danken.

Auch in diesem Jahr können wir, wie wir glauben, ein attraktives Gesellschaftsprogramm anbieten, dessen Höhepunkt ein geselliges Beisammensein im Schloss Gamlitz am Abend des 10. Oktobers ist.

Mit herzlichen kollegialen Grüßen

Univ.-Doz. Dr. Dietmar Spitzer
(Präsident)

Univ.-Prof. Dr. Wolfgang Urdl

Univ.-Prof. Dr. Gottfried Dohr
(Tagungspräsidium)

Univ.-Prof. Dr. Hans Pusch



PROGRAMM

16. EFA-TREFFEN IN GRAZ – WISSENSCHAFTLICHES PROGRAMM

Donnerstag, 9. Oktober 2008

14:00–14:55 Andrologie

Ursache und Nachweis von DNA-Fragmentierungen
N. Zoller (Fa. Anima, Ulm) (25')

Der Halosperm Assay
W. Mahnert (Uniklinik Graz) (15')

Einfluss von Zentrifugation und Kryokonservierung auf die Rate an DNA-Strangbrüchen
M. Moser (LFKK Linz) (15')

14:55–15:30 Pause

15:30–16:05 ISO

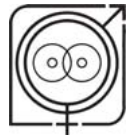
Incubator Management in an Accredited IVF Laboratory
R. Janssens (Universitair Ziekenhuis Brüssel) (30–40')

16:05–17:10 Embryologie

Befruchtungsversagen nach ICSI
T. Ebner (LFKK Linz) (20')

Zona Pellucida Imaging in IVF
D. Kastelic (Kinderwunsch-Institut Dobl) (15')

Time-Lapse Recording of Developmental Kinetics
J. Lemmen (The Fertility Clinic, Kopenhagen) (30')



24. JAHRESTAGUNG DER ÖSTERREICHISCHEN GESELLSCHAFT FÜR REPRODUKTIONSMEDIZIN UND ENDOKRINOLOGIE (OEGRM) – WISSENSCHAFTLICHES PROGRAMM

Donnerstag, 9. Oktober 2008

13:00–13:45 Registrierung

13:45–14:00 Eröffnung
*D. Spitzer (Salzburg),
W. Urdl (Graz)*

14:00–16:30 Interaktive Seminare I

Vorsitz: *G. Tews (Linz),
A. Aburumieh (Melk)*

Neue Aspekte bei der Behandlung der Hyperprolaktinaemie
L. Wildt, Innsbruck (30')

Andrologie für Gynäkologen und Reproduktionsmediziner
H. Pusch, Graz (30')

Aktueller Stand von Diagnostik und Therapie des PCO-Syndroms
W. Urdl, Graz (30')

Zukunftsaspekte der Reproduktionsmedizin
H. Zech, Bregenz (30')

ART und Substitution der Corpus luteum-Phase
D. Spitzer, Salzburg (30')

16:30–17:00 Pause/Besuch der Fachaussstellung

17:00–18:10 Interaktive Seminare II

Vorsitz: *V. Mattle,
B. Seeber (Innsbruck)*

Karzinomrisiko bei assistierter Reproduktion
M. Sommergruber, Linz (20')

Plazenta bei Diabetikerinnen: Die Rolle von Insulin
G. Desoye, Graz (20')

Der Dialog zwischen Oozyte und Granulosazellen
A. Maier, W. Urdl, Graz (15')

Stress und Reproduktion
K. Nouri, Wien (15')

**ab 18:15 Welcome reception/
Vorstandssitzung der
OEGRM**

Freitag, 10. Oktober 2008

08:00–08:15 Begrüßung

*Univ.-Doz. Dr. Dietmar Spitzer (Präsident der OEGRM)
Univ.-Prof. Dr. Wolfgang Urdl (Tagungspräsidium)*

**08:15–09:45 Klinik der assistierten
Reproduktion**

Vorsitz: *W. Urdl (Graz),
D. Spitzer (Salzburg)*

3D ultrasound in PCO-S: from ovulation induction to IVF
A. Szilágyi, Pecz, Ungarn (15')

Die dritte Dimension des Follikelwachstums
M. Murtinger, Bregenz (15')

Use of Recombinant LH during IVF
P. Kovacs, Budapest, Ungarn (15')

Human-Type FSH: Are We Still on the Learning Curve?
M. Dattilo, Lugano, Schweiz (15')

30 years of IVF: The Legacy of Patrick Steptoe and Robert Edwards
P. Brinsden, Bourn Hall, Großbritannien (30')

09:45–10:30 Pause/Besuch der Fachaussstellung

**10:30–12:35 Freie Vorträge,
Fallberichte**

Vorsitz: *M. Sommergruber (Linz), R. Haidbauer (Salzburg)*



Erfahrungen mit unterschiedlichen Stimulations-schemata für IVF – Eine retrospektive Auswertung
S. Mahrouzadeh, J. Hajek, M. Feichtinger, W. Feichtinger, Wien (15')

Der hypogonadotrope Hypogonadismus: Ein Fallbericht
I. Gruber, M. Pichler, M. Klein, St. Pölten (15')

Eintreten und Verlauf einer Schwangerschaft infolge der Behandlung hyperprolaktinämischer Amenorrhoe mit den Dopamin-agonisten Cabergolin und Quinagolid – Ein Fallbericht
E. Grubinger, S. Ruth-Egger, I. Zervomanolakis, V. Mattle, J. Müller, B. Seeber, A. Weinzierl, V. Weiskopf-Schwendinger, Ch. Brezinka, L. Wildt, Innsbruck (15')

Metformin-Wirkung am Ovar beim polyzystischen Ovarsyndrom
D. Kurzthaler, D. Hadziomerovic, V. Mattle, B. Seeber, I. Zervomanolakis, L. Wildt, Innsbruck (15')

Effekte der topischen Anwendung von Glycyrrhizinsäure auf das Unterhautfettgewebe bei gesunden Probanden und PCOS-Patientinnen – Eine Pilotstudie
A. Lunger, I. Zervomanolakis, V. Müller Klingspor, E. Grubinger, J. Müller, V. Mattle, B. Seeber, D. Kurzthaler, L. Wildt, Innsbruck (15')

Thrombophile Gerinnungsstörungen: Vorkommen und Therapieerfolg bei Patientinnen mit Abortus Habitualis
M. Castellan, A. Pithamitsi, J. Müller, B. Seeber, V. Mattle, E. Grubinger, S. Ruth-Egger, L. Wildt, I. Zervomanolakis, Innsbruck (15')

Schwieriger Embryotransfer-Häufigkeit und Outcome

D. Spitzer, H. Haidbauer, C. Corn, J. Stadler, H. Zech, Salzburg (15')

Effekt und Dauer der Lutealunterstützung vor Embryotransfer bei IVF und ICSI
M. Feichtinger, R. Feichtinger, J. Hajek, K. Christ, W. Feichtinger, Wien (15')

12:35–13:15 Verleihung von Ehrenmitgliedschaften, Generalversammlung der OEGRM

13:15–14:00 Pause/Besuch der Fachaussstellung

14:00–14:30 Gewebesicherheitsgesetz
Vorsitz: H. Zech (Bregenz), L. Wildt (Innsbruck)

Das Gewebesicherheitsgesetz für die Reproduktionsmedizin – Bedeutung und Umsetzung in Österreich
R. Pilacek, Wien (30')

14:30–15:30 Fertilität und Krebs
Vorsitz: H. Zech (Bregenz), L. Wildt (Innsbruck)

Fertilität und Krebs: Ein neues Aufgabengebiet für die Reproduktionsmedizin?
T. Strowitzki, Heidelberg, Deutschland (30')

Zum Thema: Ovarian Tissue Banking als fertilitäts-erhaltende Maßnahme
K. Mayerhofer, Wien (15')

Kinderwunsch nach Tumortherapie: Perspektiven und klinische Anwendung
I. Zervomanolakis, Innsbruck (15')

15:30–16:00 Pause/Besuch der Fachaussstellung

16:00–17:20 Biologie und Genetik der assistierten Reproduktion
Vorsitz: W. Feichtinger, M. Hengstschläger (Wien)

Pluripotente Stammzellen aus dem Fruchtwasser
M. Hengstschläger, N. Siegel, A. Valli, M. Rosner, M. Hanneder, Ch. Fuchs, Wien (20')

Erste Ergebnisse einer neuen Chiptechnologie zur Bestimmung aller Chromosomen im Polkörper
W. Feichtinger, M. Hengstschläger, Wien (20')

Impact of Inflammatory Protein Markers in the Diagnosis of Male Infertility
S. Kopa, Budapest, Ungarn (20')

Morphologische Aspekte im kompaktierenden Stadium des Embryo
T. Ebner, Linz (20')

17:20–18:20 Freie Vorträge, Fallberichte – Kinderwunsch und Tumorthapie
Vorsitz: I. Zervomanolakis (Innsbruck), K. Mayerhofer (Wien)

Amenorrhoe nach zytotoxischer Therapie bei Frauen mit Hodgkin- und Nonhodgkin-Lymphomen
S. Foeger, M. Pichler, S. Reifer, E. Gunsilius, G. Gastl, L. Wildt, I. Zervomanolakis, Innsbruck (15')

Amenorrhoe und Infertilität nach Chemotherapie in der Kindheit: Eine retrospektive Studie
M. Pichler, S. Foeger, S. Reifer, G. Kropshofer, B. Meister, T. Müller, L. Wildt, I. Zervomanolakis, Innsbruck (15')

Radiatio im kleinen Becken auf die Ovarfunktion von Patientinnen im reproduktiven Alter. Eine retrospektive Studie
S. Reifer, S. Foeger, M. Pichler, A. Posch, P. Ludas, L. Wildt, I. Zervomanolakis, Innsbruck (15')

Entwicklung eines Perifusionssystems zur In-vitro-Maturation und -Stimulation murinen Ovargewebes
K. Winkler, S. Hofer, I. Berger, L. Wildt, I. Zervomanolakis, Innsbruck (15')



PROGRAMM

Samstag, 11. Oktober 2008

08:00–09:40 Klinik der assistierten Reproduktion

Vorsitz: H. Pusch (Graz), St. Szalay (Klagenfurt)

Andrologist and ART
G. Papp, Budapest, Ungarn (20')

Virologisch-serologische Abklärung vor einer Kinderwunschbehandlung
H. Kessler, Graz (20')

Einfluss von Duftstoffen auf die Spermienmotilität
H. Hatt, Bochum, Deutschland (20')

ART – eine Quelle für Risikoschwangerschaften?
U. Lang, Graz (20')

Die biologische Rolle von LH
R. Felberbaum, Kempten, Deutschland (20')

09:40–10:30 Pause/Besuch der Fachausstellung

10:30–12:15 Freie Vorträge, Fallberichte

Vorsitz: A. Weghofer (Wien), T. Ebner (Linz)

Arguments to Implement the Selection of Spermatozoa at High Magnification before ICSI
P. Vanderzwalmen, A. Stecher, M. Bach, T. Neyer, M. Zintz, H. Zech, N. Zech, Bregenz (15')

The Impact of Fetal Sex on Prematurity in Dichorial-Diamniotic Twin Pregnancies after Assisted Reproduction
A. Weghofer, K. Klein, E. Krampfl, D. Barad, N. Gleicher, Wien, Chicago, USA (15')

Afamin, ein Vitamin-E-Bindungsprotein im Serum und in der Peritonealflüssigkeit von Frauen mit Endometriose
B. Seeber, T. Czech, V. Mattle, E. Grubinger, I. Zervomanolakis, K. Barnhart, L. Wildt, H. Dieplinger, Innsbruck (15')

5 Jahre Polkörperdiagnostik-Erfahrungen, Entwicklungen und Ergebnisse

H. Ch. Duba, M. Maurer, T. Ebner, Linz (15')

Nicht-invasive Pränataldiagnostik auf Basis einzelner Zellen
T. Kroneis, M. Alunni-Fabbroni, E. Petek, G. Dohr, P. Sedlmayr, Graz (15')

Rescue Embryotransfers am Tag 5 – zwei unkonventionelle Kasuistiken
H. P. Steiner, S. Rupp, S. Kniepeiß, H. Veitz, Graz (15')

Der transsexuelle Patient, Innsbrucker Vorgehen
V. Mattle, Innsbruck (15')

12:15–13:15 Fragen an den Reproduktionsmediziner (Anwesenheit der Presse)
Moderation: W. Urdl (Graz)
Teilnehmer: W. Feichtinger (Wien), J. Huber (Wien), D. Spitzer (Salzburg), St. Szalay (Klagenfurt), G. Tews (Linz), L. Wildt (Innsbruck), H. Zech (Bregenz)

13:15–14:00 Pause/Besuch der Fachausstellung/Optional: Fa. Solvay Ultraschall-Workshop
• **Technisch-methodische Einführung zur Ultraschall-Simulation**
• **Die Illusion realen Schallens anhand eines Schall-Modells**
H. Goldberg, Fa. Sonofit, Darmstadt, Deutschland

14:00–15:00 Round Table: „Reproductive Surgery“
Vorsitz: J. Huber (Wien)
Teilnehmer: A. Aburumieh (Melk), G. Freude (Wien), J. Kleinstei (Magdeburg, Deutschland), Ch. Kurz (Wien), K. Mayerhofer (Wien)

15:00–16:45 Freie Vorträge, Fallberichte
Vorsitz: G. Dohr (Graz), M. Moser (Linz)
In Vitro Maturation (IVM) of Oocytes: Embryo Replacement in Fresh or Vitrified Cycles?
P. Vanderzwalmen, P. Frias, A. Stecher, M. Zech, J. Lopez, N. Zech, Bregenz (15')

Correlation Between Morphological Semen Parameters and Sperm Nuclear DNA Damage: Focus on the Nuclear Vacuoles and Patient with Environmental Stress
P. Baborova, P. Uher, A. Stecher, P. Vanderzwalmen, C. Corn, N. Zech, Bregenz (15')

Die Expression von Placenta-Protein 13 ist abhängig vom Differenzierungsgrad trophoblastärer Zelllinien
K. Orendi, M. Gauster, M. Siwetz, H. Meiri, B. Huppertz, Graz (15')

Dezidua-Epithel: Eine Barriere für mononukleäre extravillöse Trophoblasten?
G. Moser, R. Theuerkauf, N. Flieser, B. Huppertz, Graz (15')

Scavenger Receptor Class B Type-I is Differentially Expressed Between Arterial and Venous Endothelial Cells in Human Term Placenta
M. Augsten, Ch. Güllly, U. Hiden, I. Lang, U. Lang, G. Desoye, Ch. Wadsack, Graz (15')

Differentiation Potential of Fetal and Adult Endothelial Cells
A. Schweizer, M. Schwarz, G. Desoye, G. Dohr, K. Tscheliessnigg, I. Lang, Graz (15')

Implantationsrate von kryokonservierten Embryonen
O. Shebl, T. Ebner, M. Sommergruber, A. Sir, G. Tews, Linz (15')

16:45–17:15 Medizin und Recht
Vorsitz: D. Spitzer (Salzburg)

Medizin und Recht: Das Salzburger und das Klagenfurter Urteil
G. Tews, Linz (30')

17:15 Preisverleihung durch die Firma Ferring
Schlussbemerkungen, Farewell

24. JAHRESTAGUNG DER ÖSTERREICHISCHEN GESELLSCHAFT FÜR REPRODUKTIONSMEDIZIN UND ENDOKRINOLOGIE (OEGRM) 9.–11.10.2008, GRAZ (ABSTRACTS *)



ABSTRACTS

In alphabetischer Reihenfolge nach Erstautoren

SCAVENGER RECEPTOR CLASS B TYPE-I IS DIFFERENTIALLY EXPRESSED BETWEEN ARTERIAL AND VENOUS ENDOTHELIAL CELLS IN HUMAN TERM PLACENTA

M. Augsten¹, C. Güllý², U. Hiden¹, I. Lang³, U. Lang¹, G. Desoye¹, C. Wadsack¹
¹Clinic of Obstetrics and Gynaecology, ²Center of Medical Research, ³Institute of Cell Biology, Histology and Embryology, Medical University Graz, Austria

Objectives: Placenta and fetus require considerable amounts of lipids for their growth and various synthesis functions. A proportion of the required lipids is supplied from maternal sources by transfer across the placenta where we identified one keyplayer, the scavenger receptor Class B type I (SR-BI), which serves as high density lipoprotein (HDL) receptor.

Among other functions SR-BI mediates HDL-induced phosphorylation at Ser1177 of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) resulting in eNOS activation and NO synthesis. This mechanism allows HDL to contribute to the regulation of vasotonus in arteries. We hypothesized that placental endothelial cells express SR-BI at levels different between arteries and vein.

Methods: SR-BI was localized in term placental tissue by immunohistochemistry (IHC) and quantified by qRT-PCR in RNA pools isolated from arterial and venous placental vessels. Arterial (ECA) and venous (ECV) endothelial cells were isolated from human term placenta and characterised by immunocytochemistry. SR-BI levels were measured by qRT-PCR and immunoblotting. Binding and uptake to ECA and ECV was measured with ¹²⁵I-labelled HDL₃. HDL₃ isolated from human male or female donors was

used to stimulate Ser1177 phosphorylation of eNOS (immunoblotting) using ionomycin as positive control. Epigenetic expression regulation was studied by methylation-specific PCRs for four CpG-rich regions in the SR-BI gene promoter (SCARB-1). PDZK1 a key adaptor for SR-BI mediated eNOS activation was measured by sqRT-PCR.

Results: Both in situ analyses demonstrated a higher SR-BI expression in arteries than in veins. This differential expression persisted in vitro in the isolated ECA and ECV even after 7 passages of the cells and culture under identical conditions suggesting epigenetic mechanisms regulating SR-BI expression. However, no methylation was found in the regions tested neither in ECA nor in ECV. SR-BI was functional in the cells since HDL₃ cell association (including degradation) was 2-fold higher ($p < 0.05$) in ECA (89.1 ± 0.4 ng HDL₃/mg cell protein) than in ECV (48.6 ± 4.1 ng HDL₃/mg cell protein).

HDL₃ did not induce Ser1177-phosphorylation of eNOS neither in EVA nor in ECV, whereas ionomycin stimulated eNOS phosphorylation in both cell types (ECA 3-fold, ECV 2.5-fold vs control). PDZK1 was detected in ECA and ECV.

Conclusion: SR-BI is expressed at higher levels in endothelial cells from placental arteries than from veins in situ and in vitro. This is not the result of different methylation of SCARB-1 promoter and, hence, unlikely an epigenetic phenomenon. The mechanisms underlying the differential expression, its functional consequences and the specific defect in the signalling pathway between SR-BI and eNOS are currently unknown.

(Supported by grants 10053 to GD, 10896 to UH and 11165 to CW, OENB Jubilee Fund).

CORRELATION BETWEEN MORPHOLOGICAL SEMEN PARAMETERS AND SPERM NUCLEAR DNA DAMAGE: FOCUS ON THE NUCLEAR VACUOLES AND PATIENT WITH ENVIRONMENTAL STRESS

P. Babarova¹, P. Uher¹, A. Stecher², P. Vanderzwalmen², C. Corn³, N. H. Zech⁴

¹Institute for Reproductive Medicine and Endocrinology Pilsen, CR, ²Institute for Reproductive Medicine and Endocrinology, Bregenz, Austria, ³Institute for Reproductive Medicine and Endocrinology, Salzburg, Austria, ⁴Department of Obstetrics, University Hospital Zurich, Switzerland

Introduction: Since ICSI has become an integral part of ART practice it became evident that increased ratios of DNA fragmentation in spermatozoa is one of the main paternal-derived causes of repeated IVF failures. DNA damage is caused by the multiple DNA strand breaks. This is probably the result of programmed cell death or most likely the result of oxidative damage through reactive oxygen species caused by the environmental, chemical, and physical exposures. Even though the contribution of environmental stress on sperm DNA damage was studied, the underlying mechanism remains elusive. To lower the probability of injecting sperm with fragmented DNA, exact morphological criteria were established (e.g. Kruger's criteria). However, selection of the morphologically best sperm under common magnification with such criteria did not reflect into higher pregnancy and delivery rates because some specific morphological malformations remain undetectable. This led to the development of novel technique called MSOME, which permits to observe sperm at high magnification. IMSI (Intracytoplasmic Morphologically selected Sperm) combined MSOME with ICSI seems to be the optimal solution for analyzing sperm at high magnification and choose the best sperm for fertilization. Our center analyzed the correlation between IMSI without the presence of different types of nuclear vacuoles (NV) and the ability of embryos to develop the blastocyst stage and also study the correlation between DNA fragmentation and the presence of NV.

* Abstracts begutachtet und zusammengestellt vom Tagungspräsidium:

– Univ.-Prof. Dr. med. W. Urdl

– Univ.-Prof. Dr. med. G. Dohr

– Univ.-Prof. Dr. med. H. Pusch

Ein alphabetisches Verzeichnis der Erstautoren finden Sie auf Seite 302.



ABSTRACTS

Materials and Methods: IMSI and a sperm chromatin structure assay (SCSA)-acridine orange fluorescence (AOF) analysis was applied in patients with teratozoospermia. For patients who had additionally a known long-term exposure to X-radiation or to chemical compounds a fluorescence in-situ hybridization was added to the analyses.

Results: Our results show that the presence of nuclear vacuoles is associated with increased sperm DNA instability and negatively influences embryo development to the blastocyst stage.

Patients exposed to the X-radiation had increased numerical chromosomal abnormalities in FISH analyses and very high ratios of DNA fragmentation. These patients had also increased amounts of achromatic sperms, sperms with acrosomal pathologies, and sperms with NV. Patients, long-term exposed to chemicals, showed increased sperm neck and head pathologies (mainly acrosomal pathologies) together with NV.

Conclusion: These findings suggest that environmental stress affects germ cell mitosis and meiosis as well as any step of sperm maturation. Studies on patients with environmental stress provide useful information on the origin of DNA damages and pathological sperm morphologies. SCSA-AOF seems to be useful to not only predict the effect of environmental stress on sperms in vitro but also to consult high-risk patients on their options with ART.

THROMBOPHILE GERINNINGSTÖRUNGEN: VORKOMMEN UND THERAPIEERFOLG BEI PATIENTINNEN MIT ABORTUS HABITUALIS

M. Castellan, A. Pithamitsi, J. Müller, B. Seeber, V. Mattle, E. Grubinger, S. Ruth-Egger, L. Wildt, I. Zervomanolakis
Department für Frauenheilkunde, Universitätsklinik für Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin, Medizinische Universität Innsbruck

Einleitung: Gerinnungsstörungen werden als mögliche Ursache für wiederholte Fehlgeburten beobachtet. Eine Untersuchung des Gerinnungsstatus inklusive Thrombophiliediagnostik und Antiphospholipid-Antikörper findet bei

allen Patientinnen nach einem habituellen Abortgeschehen statt. Zu der Therapie von Patientinnen mit Gerinnungsstörungen und Abortus habitualis in ihrer Anamnese gehört die antikoagulative Therapie mittels Einnahme von Acetylsalicylsäure und/oder Enoxaparin. Ziel unserer Studie ist zu untersuchen, ob auffällige Thrombophilieparameter in diesem speziellen Patientinnenkollektiv beobachtet werden. Des Weiteren wird die Wirkung der Therapie auf den Ausgang einer erneuten Schwangerschaft untersucht.

Methoden: Es handelt sich um eine retrospektive Studie einer Gruppe von 47 Patientinnen, die an der Universitätsklinik für Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin Innsbruck wegen wiederholter Fehlgeburten zwischen Mai 2006 und September 2007 vorstellig waren. Der Median beträgt 2,0 Aborte, während der Mittelwert $2,4 \pm 0,95$ Aborte beträgt. Das Durchschnittsalter der Patientinnen liegt bei $33,2 \pm 5,7$ Jahren. Bei den Patientinnen wurde der komplette Gerinnungsstatus inklusive Antithrombin III, Fibrinogen, Protein C, APC-Resistenz, Lupus Anticoagulans, Faktoren VIII, IX, XI, XII, Phospholipidantikörper IgG und IgM sowie Prothrombinantikörper bestimmt.

Resultate: Die Werte von aPTT, Quick und INR waren bei allen Patientinnen im Normbereich. Das Protein C sowie der Faktor IX, die Phospholipid-IgM-Antikörper und Prothrombinantikörper blieben bei allen Patientinnen ebenfalls im Normbereich. Der Faktor XI war erhöht bei 4 Patientinnen (Mittelwert $100,76 \pm 12,12$), während jeweils 4 Patientinnen einen erhöhten Faktor XII (Mittelwert $95,92 \pm 24,4$) bzw. erniedrigte Protein-S-Werte aufwiesen (Mittelwert $77,13 \pm 21,9$). Bei 4 Patientinnen zeigte sich eine erniedrigte APC-Resistenz (Mittelwert $2,8 \pm 0,45$), während die Phospholipid-IgG-Antikörper bei 3 Patientinnen erhöht waren (Mittelwert $4,36 \pm 5,53$). Bei allen 4 Patientinnen mit erniedrigter APC-Resistenz wurde im Institut für Genetik in Innsbruck eine heterozygote Faktor V-Leiden-Mutation nachgewiesen. Somit beträgt der Anteil der Abortus-habitualis-Patientinnen mit einer heterozygoten Faktor V-Leiden-Mutation 8,5 %.

Als Therapie erhielten 13 Patientinnen 100 mg Acetylsalicylsäure (ThromboASS®)

täglich, während 16 Patientinnen Enoxaparin (Lovenox®) gewichtsadaptiert täglich erhielten und 9 Patientinnen sowohl mit Acetylsalicylsäure als auch Enoxaparin behandelt wurden. Nach Eintreten einer erneuten Schwangerschaft wurde bei allen 23 Schwangeren die bereits begonnene Therapie fortgeführt. 9 Patientinnen sind bereits entbunden, während es bei 8 Patientinnen zu einem erneuten Abort kam.

Schlussfolgerung: In unserem Patientinnenkollektiv zeigte sich mit 8,5 % eine erhöhte Rate von heterozygoter Faktor V-Leiden-Mutation im Vergleich zu der normalen Bevölkerung. Die 9 Geburten und die restlichen 14 neu eingetretenen Schwangerschaften unterstreichen die positive Wirkung der antikoagulativen Therapie auf das Austragen einer erneuten Schwangerschaft bei Patientinnen mit Abortus habitualis aufgrund Gerinnungsstörungen.

5 JAHRE POLKÖRPERDIAGNOSTIK – ERFAHRUNGEN, ENTWICKLUNGEN UND ERGEBNISSE

H. C. Duba¹, M. Maurer¹, Th. Ebner²
¹Humangenetische Untersuchungs- und Beratungsstelle, ²Institut für IVF, Landes-Frauen- und Kinderklinik Linz

Einleitung: Seit 2003 wird an der Landes-Frauen- und Kinderklinik Polkörperdiagnostik zur Aneuploidiediagnostik und maternalen Translokationsdiagnostik durchgeführt. Entsprechend einschlägiger Richtlinien [1] wurde die PKD (Polkörperdiagnostik) an 200 unbefruchteten Eizellen experimentell erprobt und etabliert, erst danach wurde die Methodik, unter Einhaltung entsprechender Qualitätssicherungskriterien, dem Patientenkollektiv zugänglich gemacht. Die Untersuchung erfolgt unter strenger Indikationsstellung und wird nicht als generelle Screeningmethode angeboten.

Methoden: Polkörperdiagnostik mittels Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) wurde erstmals 1990 von Yury Verlinsky [2] beschrieben und durchgeführt. Vor allem in Ländern mit strengen gesetzlichen Regelungen ist die Polkörperdiagnostik als Präkonzeptionsdiagnostik im Aufstieg begriffen. Mithilfe eines Multicolour-Sonden-Systems können während einer Hybridisierungs-



runde 5 Chromosomen gleichzeitig untersucht werden. Aufgrund ihrer relativen Häufigkeit in Aborten wurde die Chromosomen 13, 16, 18, 21 und 22 festgelegt. Bei Translokationsträgerinnen wird zusätzlich ein translokationsspezifisches Sondensystem etabliert und jene Chromosomen, die in den Stückaustausch involviert sind, werden in einer eigenen Hybridisierungsrunde analysiert.

Anhand der Signalverteilung kann auf den chromosomalen Status der Eizelle rückgeschlossen, fehlverteilte Eizellen können vom Transfer ausgeschlossen werden.

Resultate: Die statistische Auswertung der bis dato untersuchten Eizellen zeigte eine sehr hohe Fehlverteilungsrates vor allem bei bestimmten Indikationsgruppen. Durch die gezielte Auswahl von genetisch euploiden Eizellen konnte eine Steigerung der Schwangerschaftsrates bei der internen Patientenklientel erzielt werden. Besonderes Augenmerk wurde weiters auf die Ursache von nicht beurteilbaren Polkörpern gelegt, durch Adaptionen des Protokolls und der Entnahmebedingungen konnte die Ausfallsquote deutlich vermindert werden.

Schlussfolgerungen: Polkörperdiagnostik ist eine anspruchsvolle Analyse-methode, die einer gewissen Einarbeitung in die Thematik, strengen Qualitätskriterien, akkuraten Auswertung und sehr guter Zusammenarbeit zwischen IVF und Genetik bedarf. Durch Erfüllung der genannten Kriterien lässt sich die Genauigkeit der Methodik verbessern und eine höhere Aussagekraft erzielen. Die Ergebnisse der Untersuchung zeigten, dass für eine bestimmte Patientenklientel mit spezifischen Indikationen ein vorteilhafter Effekt der Polkörperdiagnostik vorhanden ist. Ergänzend zur PKD soll die Sinnhaftigkeit neuerer Methoden (z. B. Gen-Chip-Technologie, Array-CGH) diskutiert werden.

Literatur:

1. Mitteilungen der Gesellschaft (inkl. Konsensuspapier). J Reproduktionsmed Endokrinol 2005; 2: 53–65.
2. Verlinsky Y, Cieslak J, Freidine M, Ivakhnenko V, Wolf G, Kovalinskaya L, White M, Lifchez A, Kaplan B, Moise J. Polar body diagnosis of common aneuploidies by FISH. J Assist Reprod Genet 1990; 13: 157–62.

EFFEKT UND DAUER DER LUTEALUNTERSTÜTZUNG VOR EMBRYOTRANSFER BEI IVF UND ICSI

M. Feichtinger, R. Feichtinger, J. Hajek, K. Christ, W. Feichtinger
Wunschbaby Zentrum – Institut für Kinderwunsch, Wien

Die Lutealphasenunterstützung mittels Progesterongabe oder dessen Analoga und ggf. zusätzliche Östrogengabe im Zuge von IVF und ICSI ist üblich, wobei die optimale Dosierung und der richtige Beginnzeitpunkt noch nicht genau etabliert sind. Neueste Studien am Eizellspendemodell haben gezeigt, dass Schwangerschafts- und Implantationsraten nach Embryotransfer höher waren, wenn die Lutealphasenunterstützung später als üblich begonnen wurde [1]. Ursächlich ist möglicherweise ein zu früh aufgebautes Endometrium bei früher Lutealphasenunterstützung gleich nach der Follikelpunktion. Folglich sollte bei späterem Beginn der Progesterongabe und daraus resultierender, kürzer andauernder Lutealphasenunterstützung ein Effekt auf das Outcome der IVF-/ICSI-Behandlung ersichtlich sein.

Unsere Patientinnen wurden in einer randomisierten, prospektiven Studie im Rahmen der IVF-/ICSI-Behandlung mit unterschiedlichen Stimulationsprotokollen behandelt. In Gruppe 1 begann die Lutealunterstützung einen Tag nach Follikelpunktion, in Gruppe 2 fünf Tage danach. Bei den beiden untersuchten Gruppen gab es keine Unterschiede betreffend Alter und durchschnittlichem Körpergewicht der Patientinnen, Zahl der gewonnenen Eizellen und Zahl der durchgeführten Transfers. Bei der Auswertung mit einem Standardstatistikprogramm wurde die klinische Schwangerschaftsrates verglichen.

Erste Ergebnisse versprechen sowohl eine höhere Schwangerschaftsrates als auch eine verringerte Fehlgeburtenrate bei späterer Lutealphasenunterstützung.

Dies könnte tatsächlich durch eine bessere Synchronisierung der Endometriumtransformation mit der Zygotenentwicklung begründet sein.

Literatur:

1. Adams J et al. Early administration of additional vaginal progesterone support has a

detrimental effect on implantation rates in embryo recipient cycles. Fertil Steril 2007; 88 (Suppl 1): 24.

AMENORRHOE NACH ZYTOTOXISCHER THERAPIE BEI FRAUEN MIT HODGKIN- UND NON-HODGKIN-LYMPHOMEN

S. Foeger¹, M. Pichler¹, S. Reifer¹, E. Günsilius², G. Gastl², L. Wildt¹, I. Zervomanolakis¹

¹Department Frauenheilkunde, Universitätsklinik für Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin, ²Abteilung für Hämatologie & Onkologie, Universitätsklinik für Innere Medizin, Medizinische Universität Innsbruck

Einleitung: Hodgkin-Lymphome zählen zu den bösartigen Tumorerkrankungen des Adulten mit den höchsten Heilungschancen. Zu den bekannten Langzeitfolgen zytotoxischer Therapien gehört die Gonadotoxizität mit einhergehender weiblicher Infertilität sowie vorzeitigem Klimakterium und der daraus resultierenden Einschränkung der Lebensqualität. Ziel dieser Arbeit war die Untersuchung der Frauen, welche aufgrund eines malignen Lymphoms eine Chemotherapie nach aktuellen Standards erhielten, in Hinblick auf ihr vorzeitiges Klimakterium infolge einer therapieinduzierten frühzeitigen Amenorrhoe. Weiters sollten fertilitäts-erhaltende Maßnahmen während der Therapie und stattgehabte Schwangerschaften nach Abschluss derselben befragt und dokumentiert werden.

Methoden: Im Rahmen dieser retrospektiven Studie konnten 63 Patientinnen zwischen 18 und 50 Jahren rekrutiert und per Post angeschrieben werden. Von diesen erklärten sich 26 Frauen bereit, an der Studie teilzunehmen, davon 17 Patientinnen mit Hodgkin- und 9 Patientinnen mit Non-Hodgkin-Lymphom. Das Durchschnittsalter bei Erstdiagnose betrug 30 Jahre, während das Alter zum jetzigen Zeitpunkt 35 Jahre betrug. Diese Probanden wurden daraufhin mittels eines halbstandardisierten Fragebogens bzgl. Zyklus, klimakterischer Beschwerden, fertilitäts-erhaltender Maßnahmen, Kinderwunsches und Schwangerschaften nach Abschluss der Therapie befragt.



ABSTRACTS

Resultate: Von den Befragten gaben 10 (38 %) der Frauen an, während der Therapie fertilitätserhaltende Maßnahmen im Sinne einer GnRH-Analogagabe bekommen zu haben, während bei 8 Patientinnen (30 %) zusätzlich eine Kryokonservierung von Ovargewebe vorgenommen wurde. Nach Abschluss der Chemotherapie sei bei 19 (73 %) Patientinnen die Menstruation langfristig ausgeblieben. Einen konkreten Kinderwunsch gaben 10 (38 %) der insgesamt 26 Probandinnen an. Eine Schwangerschaft stellte sich bei 5 (19 %) der Frauen ein, wobei 2 davon im Abort endeten.

Schlussfolgerung: Da sowohl Hodgkin- als Non-Hodgkin-Lymphome im Gegensatz zu anderen Malignomen meist sehr empfindlich auf eine Chemotherapie reagieren, können viele Patienten langfristig gute Therapieergebnisse oder Heilung erreichen. Hier gilt es insbesondere, die zukünftige Ovarfunktion der Patientinnen im Kindes- oder reproduktiven Alter nach Beendigung der Chemotherapie möglichst zu bewahren, um einerseits einem möglichen späteren Kinderwunsch entgegenzukommen und andererseits, um vorzeitige klimakterische Beschwerden im Rahmen einer iatrogenen prämenstruellen Ovarialinsuffizienz zu vermeiden.

DER HYPOGONADOTROPE HYPOGONADISMUS: EIN FALLBERICHT

*I. Gruber, M. Pichler, M. Klein
Kinderwunschanambulanz, Abteilung für
Frauenheilkunde und Geburtshilfe,
Landeskrankenhaus St. Pölten*

Einleitung: Der hypogonadotrope Hypogonadismus stellt eine seltene Form der Anovulation dar. Bei dieser Form der Erkrankung fehlt die pulsatile Ausschüttung des GnRHs. Diese Patienten stellen für die Kinderwunschsprechstunde eine besondere Herausforderung dar.

Material und Methode: Die 31-jährige Patientin wurde erstmalig im Juli 2007 in unserer Kinderwunschanambulanz vorgestellt. Anamnestisch fand sich eine primäre Amenorrhoe. Die durchgeführten Hormonbefunde wiesen auf einen primären hypogonadotropen Hypogonadismus hin. Als Vortherapie hatte die Patientin Stimulationsversuche mit

Clomiphen und niedrig dosiertem rFSH beim niedergelassenen Facharzt erhalten.

Beim Partner stellte sich eine subklinische Varikozele links mit einem OAT-II-Syndrom im Spermogramm dar. Als Standardtherapie wurden 2 Stimulationsversuche mit rFSH, uFSH und rLH sowie anschließender ICSI durchgeführt. Nach dem Fehlen von Eizellen nach der 2. Stimulationsbehandlung wurde die Therapie trotz eingeschränktem Spermogramm, im März 2008, zugunsten einer pulsatilen GnRH-Zufuhr abgeändert.

Ergebnisse: Das GnRH wurde mittels einer computergesteuerten Pumpe („Zyclomat“, Ferring GmbH, Kiel) in 90-minütigem Abstand an die Zirkulation abgegeben. Alle 10 Tage erfolgte die Auffüllung des Hormonreservoirs in der Pumpe. Zu diesem Zeitpunkt wurde auch der therapeutische Erfolg durch eine Sonographie und eine Hormonanalyse (E2, LH, P) ermittelt.

Nach 3 ovulatorischen Zyklen trat eine spontane intrauterine Schwangerschaft auf.

Zusammenfassung: Die pulsatile GnRH-Gabe ist in erster Linie eine reine Substitutionstherapie bei endogenem GnRH-Mangel. Bei guter Compliance der Patientin lassen sich auch bei mäßig eingeschränktem Spermogramm durchaus spontane Schwangerschaften erzielen.

EINTRETEN UND VERLAUF EINER SCHWANGERSCHAFT INFOLGE DER BEHANDLUNG HYPERPROLAKTINÄMISCHER AMENORRHOE MIT DEN DOPAMINAGONISTEN CABERGOLIN UND QUINAGOLID – EIN FALLBERICHT

*E. Grubinger¹, S. Ruth-Egger¹,
I. Zervomanolakis¹, V. Mattle¹, J. Müller¹,
B. Seiber¹, A. Weinzierl², V. Weiskopf-
Schwendinger², C. Brezinka², L. Wildt¹
¹Universitätsklinik für Gynäkologische
Endokrinologie und Reproduktions-
medizin, ²Universitätsklinik für Gynäko-
logie und Geburtshilfe, Medizinische
Universität Innsbruck*

Einleitung: Prolaktin-produzierende Adenome der Hypophyse sind mit einer Prävalenz von 500/Mio. die häufigsten hormonproduzierenden Tumore. Durch

die östrogenstimulierte Hyperplasie der Hypophyse stellt die Behandlung von Prolaktinomen vor, während und nach der Schwangerschaft eine wichtige Aufgabe für den Geburtshelfer dar. Mit der Einführung der Dopaminagonisten als pharmakologische Substanzklasse bietet sich eine gezielte Möglichkeit der Therapie.

Methoden: Es wird der Fall einer 29-jährigen Patientin mit einem Makroprolaktinom dargestellt. Die Nulligravida stellte sich zur Abklärung einer sekundären Amenorrhoe mit vorausgegangener Oligomenorrhoe wegen Kinderwunsch an unserer Klinik vor. Auswärts zeigte sich in der Hormonanalyse eine Hyperprolaktinämie mit einem Prolaktinwert von 116 µg/l. Als morphologisches Korrelat konnte ein Makroprolaktinom von 1,5 cm Durchmesser durch eine Kernspintomographie (MRI) diagnostiziert werden. Dieses infiltrierte den Sinus cavernosus einseitig und verdrängte konsekutiv den Hypophysenstiel.

Resultate: Infolge der initialen Behandlung mit dem Dopaminagonisten Cabergolin (Dostinex®, Pfizer Österreich) kam es zur spontanen Schwangerschaft ohne vorausgegangene Menstruation. Diese stellten wir bei Erstvorstellung an unserer Klinik in der 8. SSW fest. Der aktuelle Prolaktinwert lag bei 135,0 µg/l. Bei intakter Gravidität wurde wegen Kontraindikation von Cabergolin die Behandlung auf Quinagolid (Norprolac®, Ferring Österreich) umgestellt.

Im Konsens mit neurologischer, neurochirurgischer und radiologischer fachärztlicher Meinung wurde eine monatliche Prolaktinkontrolle, eine dreimonatliche Perimetrie und eine MRI-Verlaufs-kontrolle durchgeführt. Letztere zeigte in der 24. SSW eine Größenpersistenz des Tumors. Die Patientin war stets beschwerdefrei. Im Verlauf der Schwangerschaft war eine deutliche Prolaktinzunahme auf bis zu 186 µg/l nachzuweisen.

Anhand regelmäßiger Fetometrien diagnostizierten wir ein Small for Gestational Age- (SGA-) Kind mit fehlendem Wachstum ab der 34. SSW, sodass die Indikation zur Geburtseinleitung in der 37. SSW gestellt wurde. Die Patientin wurde von einem Mädchen mit 1570 g, Apgar-Score 9/10/10 und Nsa-pH von 7,19 entbunden. Das Kind musste post-



partal von der neonatologischen Intensivstation übernommen werden. Durch die genetische Abklärung wurde eine Zystische Fibrose des Kindes diagnostiziert, eine autosomal-rezessive Stoffwechselerkrankung, die keinen Zusammenhang mit unserer Therapie hat.

Der postpartale Verlauf zeigte sich auf mütterlicher Seite völlig unauffällig mit problemloser Laktation und fehlender klinischer Beschwerdesymptomatik. Auch das MRI ergab an Größe und Ausdehnung ein stabiles Hypophysenadenom. Unmittelbar postpartal lag das Prolaktin bei 112,5 µg/l. Das Mädchen entwickelte einen Mekoniumileus und musste eine Woche postpartal mit Verdacht auf Darmperforation laparotomiert werden. Der Verdacht bestätigte sich nicht. Die weitere 5-wöchige intensivmedizinische Behandlung war im Rahmen der Grunderkrankung und der Frühgeburtlichkeit indiziert.

Schlussfolgerung: Im Falle einer Hyperprolaktinämie bei Kinderwunsch stellt die Dopaminagonistenbehandlung eine erfolgreiche Therapieoption dar. Der Schwangerschaftsverlauf wie auch Geburt und Laktation von Patientinnen mit Prolaktinomen erfordert jedoch je nach Form und Ausdehnung des Tumors eine interdisziplinäre endokrinologische, geburtshilfliche, neurologische, neurochirurgische und ophthalmologische Verlaufsbeobachtung.

NICHT-INVASIVE PRÄNATALDIAGNOSTIK AUF BASIS EINZELNER ZELLEN

T. Kroneis¹, M. Alunni-Fabroni², E. Petek³, G. Dohr¹, P. Sedlmayr¹

¹Institut für Zellbiologie, Histologie und Embryologie, Medizinische Universität Graz, Österreich, ²Olympus Life Science Research Europa, München, Deutschland, ³Institut für Humangenetik, Medizinische Universität Graz, Österreich

Einleitung: Eine Diagnostik, die auf der Analyse weniger Zellen basiert, stellt große Anforderungen an die Richtigkeit der generierten Daten. Dies gilt im Besonderen für eine auf fötalen Zellen basierende, nicht-invasive Pränataldiagnostik (NIPD), da einerseits die Anzahl des Analysenmaterials mit 1–6 fötalen Zellen pro Milliliter maternalen Blutes sehr gering ist und andererseits derzeit

verwendete Marker nur die Isolation und Detektion eines Bruchteils der fötalen Zellfraktion erlauben. Weitere Probleme bei der Analyse seltener Zellen ergeben sich aus der Kontamination mit falsch positiven (maternalen) Zellen. Folglich ist eine verlässliche Diagnostik nur unter dem Aspekt der Einzelzellanalyse vertretbar.

Unter Verwendung unterschiedlicher Marker, geeignet zur Isolation und Detektion potenziell fötaler Zellen, konnten wir zeigen, dass eine molekulargenetische Analyse einzelner Zellen mittels DNA-Profiles nicht nur möglich ist, sondern auch eine Unterscheidung von fötalen und maternalen Zellen erlaubt.

Methoden: Zellsuspensionen, gewonnen aus fötalem (Chorionzotten) und maternalem (Dezidua) Gewebe ein und derselben Interruption, wurden auf Membranobjektträger zytozentrifugiert und die Zellen auf dem Objektträger fixiert. Erythroblasten und Trophoblastzellen wurden mittels geeigneter Antikörper-Immunfluoreszenz gefärbt und an einem Fluoreszenzmikroskop automatisch detektiert (Axiophot M 200, Zeiss und RCDetect, MetaSystems). Potenziell fötale und maternale Zellen wurden mittels Laser (LMPC, PALM Microlaser Technologies) auf spezielle Objektträger (AmpliGrid, Olympus Life Science Research Europa) mikrodissektiert. Unter Verwendung der AmpliGrid-Technologie wurden die Einzelzellen auf dem Objektträger lysiert, deren DNA in einem Volumen von 1,5 µl mittels Multiplex-PCR (PowerPlex 16 System, Promega) amplifiziert und das DNA-Profil über eine Kapillarelektrophorese (3730 DNA Analyzer, ABI) analysiert.

Resultate: Von insgesamt 33 amplifizierten Einzelzellen zeigten 24 ein eindeutiges DNA-Profil, wobei die PCR-Effizienz im Schnitt bei 75 % des vollen Profils (16 plex, 32 loci) lag. Sieben Amplifikationen schlugen fehl, je eine war nicht aussagekräftig bzw. im DNA-Profil widersprüchlich. In Fluoreszenz-negativen Zellen, isoliert aus der gegen fötale Zellen (Trophoblastzellen) gefärbten Zellfraktion, konnte der maternale Ursprung mittels DNA-Profil nachgewiesen werden. DNA-Profile Fluoreszenz-negativer Zellen der Deziduafraktion zeigten ebenfalls maternales Profil.

Schlussfolgerung: Wir konnten zeigen, dass einzelne fixierte und gefärbte Zellen auf einen Objektträger mikrodissektiert und in einem Volumen von 1,5 µl amplifiziert werden können. Die aus der Multiplex-PCR resultierenden DNA-Profile erlauben die Unterscheidung zwischen fötalen und maternalen Zellen. Das ist insofern von großer Bedeutung, da es bis dato keine Möglichkeit der Identifikation fötaler Zellen unabhängig von Geschlecht und Zelltyp gibt. Die Methode kann neben der Unterscheidung zwischen genetisch nicht identen Zellen auch zur Evaluierung neuer Marker für die Anreicherung und Detektion fötaler Zellen verwendet werden.

Die Arbeiten wurden mit finanzieller Unterstützung des „Special Non-invasive Advances in Fetal and Neonatal Evaluation (SAFE) Network of Excellence (LSHB-CT-2004-503243)“ des 6. EU Rahmenprogramms durchgeführt.

METFORMINWIRKUNG AM OVAR BEIM POLYZYSTISCHEN OVARSYNDROM

D. Kurzthaler¹, D. Hadziomerovic², V. Mattle¹, B. Seeber¹, I. Zervomanolakis¹, L. Wildt¹

¹Department für Frauenheilkunde, Universitätsklinik für Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin, Medizinische Universität Innsbruck, Österreich, ²Universitätsfrauenklinik Ulm, Deutschland

Einleitung: Der genaue Wirkungsmechanismus von Metformin im Rahmen des PCO-Syndroms wird immer noch kontrovers diskutiert. Um zu überprüfen, ob Metformin unabhängig von seiner Auswirkung auf die Insulinresistenz die Plasmaspiegel von Androgenen senkt, untersuchten wir in einer doppelblinden, randomisierten, placebokontrollierten Studie, ob die Kurzzeiteinnahme von Metformin zu einer Verminderung der LH-induzierten Androgenproduktion des Ovars in vivo führt.

Methoden: 17 Probandinnen mit PCOS (nach Rotterdam-Kriterien) wurden randomisiert einer Wirkstoff- oder Placebogruppe zugeordnet. Vor und nach einer 2-tägigen Medikationseinnahme wurden im Rahmen eines LH-Stimulationstests (75 I.E. Luveris; 75 min. Testdauer)



ABSTRACTS

die Konzentrationen der Messparameter Gesamttestosteron, freies Testosteron, SHBG, Androstendion, 17α -OHP und DHEAS in 15-minütigen Abständen bestimmt und jeweils die „area under the curve“ berechnet.

Resultate: In der Wirkstoffgruppe mit Metformin ($n = 9$) konnte nach nur 2-tägiger Anwendung eine signifikante Reduktion der AUC von Gesamttestosteron und freiem Testosteron festgestellt werden ($-9,50 \pm 5,64 \mu\text{g} \times 75 \text{ min/l}$; $p = 0,001$ bzw. $-27,08 \pm 26,91 \text{ pg} \times 75 \text{ min/l}$; $p = 0,017$). Unter Placebo ($n = 8$) konnten bis auf eine signifikante Abnahme der AUC für SHBG ($-351,38 \pm 369,54 \text{ nmol} \times 75 \text{ min/l}$; $p = 0,031$) keine Veränderungen mit statistischer Signifikanz registriert werden. Bei Anwendung eines linearen Modells bei Messwiederholungen konnte ein statistisch signifikanter Einfluss der Therapieform Metformin auf die Veränderung der AUC_{Gesamt-Testosteron} festgestellt werden ($p = 0,019$).

Schlussfolgerung: Die Anwendung von Metformin führt im Gegensatz zu Placebo zu einer Verminderung der Androgenproduktion des Ovars auf LH-Stimulation. Dieser Effekt von Metformin ist unabhängig von der Veränderung der Insulinresistenz oder BMI und tritt innerhalb von wenigen Tagen ein. Daraus ergeben sich Hinweise auf einen weiteren neuartigen Wirkungsmechanismus von Metformin bei der Behandlung des PCO-Syndroms.

EFFEKTE DER TOPISCHEN ANWENDUNG VON GLYCYRRHIZINSÄURE AUF DAS UNTERHAUTFETTGeweBE BEI GESUNDEN PROBANDEN UND PCOS-PATIENTINNEN – EINE PILOTSTUDIE

A. Lunger, I. Zervomanolakis, V. Müller Klingspor, E. Grubinger, J. Müller, V. Mattle, B. Seeber, D. Kurzthaler, L. Wildt
Department Frauenheilkunde, Universitätsklinik für Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin, Medizinische Universität Innsbruck

Einleitung: Cortisol ist an Vorgängen der Fetteinlagerung und -verteilung beteiligt. Das Ausmaß wird durch die Aktivität des Enzyms 11β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Typ 1 (11β -OHSD) bestimmt. Funktionelle Enzymdefekte

wurden bei polyzystischem Ovar-syndrom (PCOS) nachgewiesen.

Glycyrrhizinsäure (GS), ein Wirkstoff des Süßholzes (Lakritze), blockiert 11β -OHSD und verringert dadurch die Kortisolaufnahme in die Adipozyten. In der Folge werden die Fettzellen in ihrer Differenzierung und Ausreifung gehemmt.

Oral verabreicht werden neben einer mineralokortikoiden Hauptwirkung im Sinn eines Pseudohyperaldosteronismus antiandrogene, insulinsensibilisierende bzw. fettreduzierende Effekte beobachtet. Topisch appliziert konnte durch Armanini et al. eine Reduktion des Unterhautfettgewebes am Oberschenkel nachgewiesen werden. Ziel unserer Studie war es, diese fettreduzierende Wirkung von GS am Oberschenkel bei gesunden Probandinnen und PCOS-Patientinnen zu untersuchen, speziell im Hinblick auf mögliche Eignung als adjuvante Lokalthherapie bei PCOS.

Methoden: In die prospektive placebo-kontrollierte Studie wurden 30 freiwillige Probandinnen (16 Gesunde und 14 mit PCOS) eingeschlossen und unter einfacher Verblindung einer Test- oder Placebogruppe zugeordnet. Vor und nach einem Monat Anwendung einer ausreichenden Menge 2 % Enoxolone Creme (PO 12[®], Boehringer Ingelheim, Deutschland) bzw. Placebo am umfangsstärkeren Oberschenkel wurden der Durchmesser des Unterhautfettgewebes (10 MHz Hochfrequenzultraschall, Siemens Sonoline Adara) und der Oberschenkelumfang an einem definierten Messpunkt bestimmt. Um eventuell auftretende systemische mineralokortikoide Nebenwirkungen zu erfassen, wurden zusätzlich Körpergewicht, BMI, Körperzusammensetzung (bioelektrische Impedanz Analyse; BODYGRAM, AKERN S.r.l. Bioresearch, Italien), Blutdruck, Plasma-Renin-Aktivität, Aldosteron, Cortisol und Testosteron bestimmt.

Resultate: In allen Gruppen kam es zu einer Reduktion/geringeren Zunahme des Unterhautfettgewebes im Vergleich zum unbehandelten Oberschenkel (Kontrollgruppe $-0,5 \pm 0,8 \text{ mm}$ vs. $+0,2 \pm 1,4 \text{ mm}$; PCOS $+0,2 \pm 0,7 \text{ mm}$ vs. $+0,5 \pm 0,8 \text{ mm}$). Der Oberschenkelumfang veränderte sich entweder nicht oder nahm analog am unbehandelten Bein stärker zu (Kontrolle $+0,2 \pm 1,4 \text{ cm}$ vs. $+0,2 \pm$

$1,4 \text{ cm}$; PCOS $+1,3 \pm 1,0 \text{ cm}$ vs. $+1,1 \pm 1,1 \text{ cm}$). Trotz einer in der Mehrzahl der Fälle beobachteten Reduktion war kein Ergebnis statistisch signifikant im Vergleich mit Placebo. Die Werte der Hormon- und anthropometrischen Parameter unterschieden sich nicht signifikant von den Ausgangswerten. Subjektiv hatte die Mehrheit der Probandinnen den Eindruck einer Reduktion; 82 % der Verumgruppe und 77 % der Placebogruppe gaben an, die Creme weiterverwenden zu wollen.

Schlussfolgerung: Topische Anwendung von GS scheint in der untersuchten Form aufgrund der vorliegenden Datelage eine bestimmte, allerdings nicht-signifikante Wirkung auf subkutane Fettansammlungen zu zeigen. Weitere Untersuchungen sind geplant, um die Ergebnisse zu bestätigen und den Einfluss höherer Wirkstoffkonzentration, längerer Anwendungsdauer und jahreszeitlicher Abhängigkeit der Ergebnisse zu untersuchen.

DNA-FRAGMENTIERUNG – EIN NEUER PARAMETER ZUR ABKLÄRUNG MÄNNLICHER STERILITÄT

W. Mahnert, J. Auner, A. Natmessnig
Klinische Abteilung für Gynäkologische Endokrinologie und Fortpflanzungsmedizin, Universitätsklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, LKH-Universitätsklinikum Graz

Einleitung: Ein hoher Prozentsatz der idiopathischen Fälle der Kinderwunschbehandlung ist auf eine Schädigung der DNA (DNA-Fragmentierung) der Spermien zurückzuführen. Für Untersuchungen an unserem Patientengut war die Methode der Wahl der „Halosperm“, ein Spermien Chromatin Dispersions-(SCD-) Test. Er war zum Zeitpunkt der Einführung der einzige zertifizierte Test am Markt. Werden mit diesem Test mehr als 30 % Spermien mit fragmentierter DNA nachgewiesen, reduziert sich die Wahrscheinlichkeit, mit einem gesunden Partner ein Kind zu zeugen, auf weniger als 10 % [1, 2].

Material und Methode: Samenproben, die im Rahmen des SpermioGRAMMS untersucht werden, werden mit dem neuen Test evaluiert. Der Testkit ist bei

**Tabelle 1:** W. Mahnert et al. HALOSPERM Ergebnisse (03–08/2007)

n = 68	Klassisches Spermogramm		
	normal	leicht pathologisch*	pathologisch**
DNA-Fragmentierung < 30 % (= normal)	n = 10 14,7 %	n = 17 25 %	n = 5 7,4 %
DNA-Fragmentierung > 30 % (= pathologisch)	n = 7 10,3 %	n = 17 25 %	n = 12 17,6 %

* medikamentöse Therapie des Mannes möglich, ev. IUI vor IVF; ** nur IVF/ICSI möglich

Laboratorios Indas, S.A.U. (E-Mail: indas@indas.es), Madrid, Spanien erhältlich.

Ergebnisse: 68 Samenproben wurden vorläufig ausgewertet. Setzt man den Grenzwert für einen normalen Befund auf mehr als 70 % nicht-fragmentierte Spermien, gelten nur 35 der untersuchten Männer als normal. Das folgende Diagramm setzt die DNA-Fragmentierung in Relation zu den klassischen Spermienparametern. Im Diagramm wird ein Spermogramm als pathologisch bezeichnet, wenn nach Grenzwerten des ÖBIG nur mehr eine IVF/ICSI für eine Kinderwunschbehandlung infrage kommt (**Tab. 1**).

Diskussion: 35 % der nach klassischen Parametern normalen bzw. leicht pathologischen Spermogramme der untersuchten Männer in unserer Andrologieambulanz (Kinderwunschpartner) zeigen mehr als 30 % DNA-Fragmentierung und haben damit eine sehr schlechte Prognose, mit ihrem Partner ein Kind zu zeugen. Eine IVF erhöht die Chancen durch eine erhöhte Zahl an befruchteten Eizellen. Ob eine Auswahl der Spermien nach morphologischen Kriterien mit hochauflösenden Mikroskopen kombiniert mit bildgebenden Verfahren (IMSI) bei Paaren mit erhöhter DNA-Fragmentierung der Spermien zu einer Verbesserung der IVF-Behandlung führt, wird divers diskutiert.

Literatur:

1. Evenson DP, Jost LK, Marshall D, Zinaman MJ, Clegg E, Purvis K, de Angelis P, Claussen OP. Utility of the sperm chromatin structure assay (SCSA) as a diagnostic and prognostic tool in human fertility clinic. *Hum Reprod* 1999; 14: 1039–49.
2. Larson KL, De Jonge CJ, Barnes AM, Jost LK, Evenson DP. Sperm chromatin structure assay parameters as predictors of failed pregnancy following assisted reproductive techniques. *Hum Reprod* 2000; 15: 1717–22.

ERFAHRUNGEN MIT UNTERSCHIEDLICHEN STIMULATIONSSCHEMATA FÜR IVF – EINE RETROSPEKTIVE AUSWERTUNG

S. Mahrouzadeh, J. Hajek, M. Feichtinger, W. Feichtinger
Wunschbaby Zentrum – Institut für Kinderwunsch, Wien

Im Zeitraum von Jänner 2000–Dezember 2007 wurden im Wunschbaby Zentrum – Institut für Kinderwunsch in Wien insgesamt 7020 IVF-/ICSI-Behandlungszyklen durchgeführt.

Basierend auf unserer langjährigen Tätigkeit im Bereich der assistierten Reproduktionsmedizin überblicken wir eine heterogene Klientel.

Sie inkludiert sowohl Patientinnen, die sich nach 1- bis 2-jährigem Kinderwunsch aufgrund vorliegender Befunde zur ersten IVF-Behandlung entschließen, als auch Paare, welche sich nach zahlreichen frustrierten verlaufenen Versuchen an unser Institut wenden.

Um die Kinderwunschbehandlung der einzelnen Patientenpaare möglichst individuell zu planen, kommen unterschiedliche Stimulationsschemata zur Anwendung.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die meist angewandten Stimulationsprotokolle, zu welchen das Long-Protokoll, die Kombination aus Clomiphren mit FSH/LH bzw. HMG, das Antagonistprotokoll, das PCO-Protokoll nach Rosenwaks, das Short-Protokoll, das Flare-up-Protokoll und das Ultra-Long-Protokoll zählen, retrospektiv zu analysieren und einander gegenüberzustellen.

Verglichen wurden die Parameter Anwendungshäufigkeit, OHSS-Inzidenz

(Anzahl der Follikel > 15) und die klinische Schwangerschaftsrate. Weiters wurde die Relevanz des Alters der Patientin für die Schwangerschaftsrate geprüft.

Die Auswertung ergab, dass zur ovariiellen Stimulation mit Abstand am häufigsten das Long-Protokoll mit n = 2175 (30,98 %) und die Kombination von Clomiphren mit FSH/LH bzw. HMG n = 2117 (30,16 %) angewandt wurden, wobei sich das Durchschnittsalter der Patientinnen nicht wesentlich unterschied (33,96 vs. 32,67 Jahre).

Die höchste Schwangerschaftsrate pro Transfer konnte beim Long- und PCO-Protokoll nach Rosenwaks verzeichnet werden (40,3 % vs. 40,5 %), jedoch wiesen diese beiden Protokolle die höchste OHSS-Rate auf (8,42 % bzw. 16,78 %). Für die Kombination von Clomiphren mit FSH/LH bzw. HMG spricht die äußerst niedrige OHSS-Inzidenz (1,61 %).

Rückschlüsse aus Ergebnissen sind insofern limitiert, da die Protokolle wie oben erwähnt den Patienten entsprechend, je nach Zahl der Versuche, Hormonstatus, u. a. angepasst wurden.

DER TRANSSEXUELLE PATIENT, INNSBRUCKER VORGEHEN

V. Mattle
Klinik für Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin, Medizinische Universität Innsbruck

Die psychiatrische Diagnose Transsexualität wird bei kontrasekuel identifizierten Personen gestellt und stellt die extremste Form einer Geschlechtsidentitätsstörung dar. Neben psychiatrischen und psychotherapeutischen Interventionen sowie der operativen Angleichung an das gewünschte Geschlecht ist die gegengeschlechtliche Hormontherapie ein bedeutender Pfeiler des Behandlungsprozesses. Sie hat weit reichende, meist irreversible Konsequenzen. Die Hormontherapie supprimiert die genuinen, aber unerwünschten sekundären Geschlechtscharakteristika und induziert, mehr oder weniger ausgeprägt, die Ausbildung der Geschlechtsmerkmale des gewünschten anderen Geschlechts. Nach der hormonell induzierten äußerlichen Angleichung an das gewünschte Geschlecht und der operativen Ge-



ABSTRACTS

schlechtskonversion muss eine Hormontherapie lebenslang fortgesetzt werden.

Das Innsbrucker Vorgehen bei transsexuellen Patientinnen beinhaltet folgende Schritte: Nach Freigabe der Patienten für die Hormontherapie durch ein psychiatrisches Gutachten erfolgt die Erstvorstellung an unserer Ambulanz. Nach Ausschluss von internistischen und endokrinologischen Erkrankungen sowie von intersexuellen Phänomenen und Risikofaktoren einer Hormontherapie kann die endokrine Therapie eingeleitet werden. Wir behandeln bei Mann-zu-Frau-Transsexuellen mit einem GnRH-Analogen zur hormonellen Kastration, zusätzlich werden Östrogene, v. a. transdermal, und Cyproteronacetat verabreicht. Die häufigsten unerwünschten Begleiterscheinungen sind depressive Verstimmung, Hyperprolaktinämie und eine Transaminasenerhöhung.

Bei Frau-zu-Mann-Transsexuellen wird ebenso ein GnRH-Analogen zur hormonellen Kastration alle 4 Wochen verabreicht und zusätzlich Testosteronundecanoat 1000 mg i. m.-Depot. Zu den häufigsten unerwünschten Nebenwirkungen gehören Akne und eine Transaminasenerhöhung.

Nach Einleitung der Hormontherapie führen wir in der Regel alle 3–6 Monate endokrinologische Kontrollen durch, nach erfolgreicher Operation reichen meist jährliche Untersuchungen.

Die hormonelle Behandlung transsexueller Patienten sollte unter intensiver interdisziplinärer Kooperation gynäkologischer Endokrinologen mit Psychiatern/ Psychotherapeuten, Operateuren und Hausärzten erfolgen. Wichtig ist auch der Aufbau eines Vertrauensverhältnisses zwischen behandelnden Endokrinologen und transsexuellem Patient.

DEZIDUA-EPIHEL: EINE BARRIERE FÜR MONOKLEÄRE EXTRAVILLÖSE TROPHOBLASTEN?

G. Moser, R. Theuerkauf, N. Flieser, B. Huppertz
Institut für Zellbiologie, Histologie und Embryologie, Medizinische Universität Graz

Einleitung: Das Invasionsverhalten des Trophoblasten während der Implan-

tion unterscheidet sich von dem während der nachfolgenden Plazentabildung. Während der Implantation wird das Deziduaepithel vom multinukleären Snyzytiotrophoblast penetriert. Später in der Schwangerschaft sind auch mononukleäre Trophoblastzellen in der Lage, in maternale Gewebe zu invadieren. Ziel dieser Arbeit ist, Modellsysteme für die Untersuchung des Invasionsverhaltens extravillöser Trophoblastzellen zu etablieren.

Methoden: Deziduastücke (6.–12. SSW) wurden entweder sofort (direkte Konfrontation – kein Epithel) oder nach 72-stündiger Vorkultur (indirekte Konfrontation – mit Epithel) mit Zotten von derselben Plazenta kokultiviert. Während der Vorkultur für die „indirekte Konfrontation“ reepithelialisierten die Deziduastücke. Alle Konfrontationskulturen wurden nach 72 Stunden immunhistochemisch mit Antikörpern gegen HLA-G und Zytokeratin 7 ausgewertet.

Resultate: Bei beiden Modellsystemen (direkte und indirekte Konfrontation) verwachsen Dezidua und Zotten miteinander. Die Adhäsion der Gewebe resultierte immer in der Bildung von Zellsäulen mit Migration und/oder Invasion von mononukleären Trophoblasten. Die immunhistochemische Färbung gegen HLA-G und Zytokeratin 7 zeigte Migration und geringe Invasion der Trophoblasten bei der indirekten Konfrontation. Die direkte Konfrontation bestätigte eine starke Invasion der Trophoblasten in das Deziduastroma.

Schlussfolgerung: Das invasive Potenzial von mononukleären extravillösen Trophoblasten sinkt offensichtlich im direkten Kontakt mit einem Deziduaepithel, verglichen mit der direkten Konfrontation mit Deziduastroma. Es scheint, als ob mononukleäre extravillöse Trophoblasten nicht in der Lage sind, Deziduaepithel zu durchdringen. Die hier entwickelten Modellsysteme sind ein gut geeignetes Werkzeug, um Invasion und Regulation der Invasion von extravillösen Trophoblasten zu untersuchen.

DIE EXPRESSION VON PLAZENTAPROTEIN 13 IST ABHÄNGIG VOM DIFFERENZIERUNGSGRAD TROPHOBLÄSTERER ZELLINIEN

K. Orendi¹, M. Gauster¹, M. Siwetz¹, H. Meiri², B. Huppertz¹
¹Institut für Zellbiologie, Histologie & Embryologie, Medizinische Universität Graz, Österreich, ²Diagnostic Technologies Ltd, Yokneam, Israel

Einleitung: Plazentaprotein 13 (PP13) ist ein erfolgversprechender Marker für die Vorhersage der Präeklampsie im ersten Trimenon der Schwangerschaft. PP13 wird in der Plazenta nur vom Syncytiotrophoblasten exprimiert. Um die Regulation dieser Expression weitergehend zu erforschen, wurden trophoblastäre Zelllinien anstelle von primären Trophoblasten für Kulturen verwendet, da diese nach der Isolation nicht mehr proliferieren. Hier wurde die Expression von PP13 auf RNA- und Proteinebene vor und nach Stimulation der Differenzierung mit Forskolin genauer untersucht.

Methoden: Von Trophoblasten abstammende Zelllinien (BeWo, Jar, Jeg-3, AC1M59, ACH3P) wurden für 72 h bei 37 °C und 20 % Sauerstoff mit und ohne Zugabe von 20 µM Forskolin kultiviert. Die Kulturüberstände wurden zur Bestimmung der PP13-Freisetzung gesammelt. Aus Zelllysaten wurden RNA und Protein zur weiteren Bestimmung gewonnen. Die isolierte RNA wurde mit PP13-spezifischen Primern mittels semi-quantitativer RT-PCR und quantitativer Real-Time-RT-PCR analysiert. Die Zelllysate wurden mit Delfia Assays auf deren PP13-Gehalt vermessen. Zur morphologischen Betrachtung der Zellen wurden diese auf Chamber Slides unter denselben Bedingungen kultiviert, in Aceton fixiert und immunhistochemisch wie auch mittels Immunfluoreszenz mit Antikörpern gegen PP13, bhCG (Differenzierungsmarker) und Desmoplakin (Zellgrenzenmarker zum Sichtbarmachen von Synzytien) gefärbt.

Resultate: Ohne Forskolin-Stimulation wurde PP13 in keiner der getesteten Zelllinien auf RNA-Ebene exprimiert. Nach Stimulation mit Forskolin zeigten BeWo-, AC1M59- und Jar-Zellen eine klare PP13-Expression auf RNA-Ebene, wohingegen die Expression bei Jeg-3-



und ACH3P-Zellen beinahe unverändert niedrig blieb. Auf Proteinebene zeigte die Bestimmung von PP13 mittels Delfia einen ähnlichen Verlauf. In Kulturüberständen konnte PP13 nicht nachgewiesen werden, was darauf schließen lässt, dass dieses Protein von den Zellen nicht sezerniert wird. Morphologisch gesehen deutete die Immunfluoreszenzfärbung mit bhCG und Desmoplakin auf eine höhere Rate an Zelldifferenzierung und synzytialer Zellfusion in mit Forskolin behandelten BeWo- und AC1M59-Zellen im Vergleich zu deren Kontrollen hin.

Schlussfolgerung: Von Trophoblasten abstammende Zelllinien dienen als wichtiger Ersatz für primäre Trophoblastkulturen. Eine Behandlung dieser Zellen mit Forskolin führt in BeWo- und AC1M59-Zellen zu Zellfusionen. Die Expression von PP13 scheint dem Differenzierungsmaß und damit Fusionsgrad in diesen Zelllinien zu folgen. Bei Jar-Zellen ist auch unabhängig von Fusionsvorgängen eine erhöhte PP13-Expression nachweisbar. Diese Daten weisen darauf hin, dass die Expression von PP13 in diesen Zelllinien der Situation in vivo ähnelt. Daher können diese Zelllinien zur Untersuchung verschiedener Aspekte der trophoblastären Differenzierung vor allem während der frühen Plazenta-bildung verwendet werden.

RADIATIO IM KLEINEN BECKEN AUF DIE OVARFUNKTION VON PATIENTINNEN IM REPRODUKTIVEN ALTER – EINE RETROSPEKTIVE STUDIE

S. Reifer¹, S. Foeger¹, M. Pichler¹, A. Posch², P. Lukas², L. Wildt¹, I. Zervomanolakis¹
¹Department für Frauenheilkunde, Universitätsklinik für Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin, ²Universitätsklinik für Strahlentherapie und Radioonkologie, Medizinische Universität Innsbruck

Einleitung: Eine Radiotherapie im kleinen Becken kann eine vorübergehende oder permanente dauerhafte Schädigung der Ovarialfunktion mit Folge der Amenorrhoe, vorzeitiger Menopause und Infertilität verursachen. Ziel unserer Studie war die Beobachtung der Langzeitfolgen einer solchen Therapie in Bezug auf die Reproduktionsfähigkeit bei Patientinnen, die sich aufgrund einer

malignen Erkrankung einer Radiotherapie an der Universitätsklinik für Strahlentherapie unterzogen haben.

Methoden: In dieser retrospektiven Studie wurden 89 Patientinnen zwischen 18 und 50 Jahren eingeschlossen. Die Patientinnen erhielten einen Fragebogen mit Fragen bezüglich ihres Menstruationszyklus, Einnahme von Ovulationshemmern bzw. Hormonersatztherapie, Kinderwunsches, ausgetragener Schwangerschaften sowie eventuell vorhandener klimakterischer Beschwerden. Von den 22 Patientinnen, die den Fragebogen ausgefüllt haben, entsprechend einer Rücklaufquote von 24,7 %, litten 13 an einem Zervixkarzinom, während bei 2 ein Analkarzinom, bei 3 ein Lymphom und bei 3 ein Sarkom diagnostiziert wurde. Zum Zeitpunkt des Therapiebeginns lag das Durchschnittsalter der Patientinnen bei 32 Jahren, während das jetzige Durchschnittsalter 41 Jahre beträgt.

Resultate: 20 von 22 Patientinnen (90,9 %) blieben nach Abschluss der Therapie amenorrhöisch, wobei 14 Patientinnen (65 %) eine permanente Amenorrhoe aufwiesen. 44,4 % der Patientinnen (8/18) erhielten Ovulationshemmer bzw. Hormonpräparate als Hormonersatztherapie sowohl zur Kontrazeption als auch aufgrund von klimakterischen Beschwerden. Kinderwunsch besteht bei 5 Patientinnen (26,3 %), wobei 4 Patientinnen eine Schwangerschaft bis zur Geburt austragen konnten und 4 (18,2 %) mindestens einen Abort erlitten. 2 Patientinnen erhielten sowohl eine Transposition der Ovarien als auch eine Kryokonservierung vom Ovargewebe als fertilitätserhaltende Maßnahmen vor Beginn der Radiotherapie, ohne dass bislang eine Schwangerschaft bei diesen Patientinnen erzielt werden konnte.

Schlussfolgerung: Unsere Ergebnisse weisen auf ein erhöhtes Risiko einer strahlentherapieinduzierten Amenorrhoe bei Patientinnen mit bestrahlungsbedürftigen Karzinomen im kleinen Becken hin. Sowohl die Transposition der Ovarien als auch die Kryokonservierung von Ovargewebe vor Radiatio bieten sich als fertilitätserhaltende Therapieoptionen bei diesen Patientinnen an. Die Abortrate von 18,2 % unterstützt die bereits in mehreren Studien beobachtete erhöhte Abortrate nach Radiatio im klei-

nen Becken und wird durch die Auswirkung der Bestrahlung auf den Uterus erklärt.

DIFFERENTIATION POTENTIAL OF FETAL AND ADULT ENDOTHELIAL CELLS

A. Schweizer¹, M. Schwarz², G. Desoye³, G. Dohr¹, K. Tscheliessnigg², I. Lang¹
¹Institute of Cell Biology, Histology & Embryology, ²Division of Transplantation Surgery, ³Clinic of Obstetrics/Gynecology, Medical University of Graz

Objectives: Recently, the human placenta has been recognized as a potential source of stem and progenitor cells [1]. Fibroblastoid-shaped multipotent placental stem cells devoid of endothelial and trophoblastic markers were shown to differentiate into adipocytes and osteoblasts [2]. In contrast, the current knowledge about the plasticity of placental endothelial cells is very limited. Therefore, we studied the differentiation potential of fetal arterial (f-AEC) and venous endothelial cells (f-VEC) from the human placenta under hypoxic, adipogenic and osteogenic conditions and compared it with the phenotype of adult arterial (a-AEC) and venous endothelial cells (a-VEC) from different human vascular beds (ilia, mesenteries).

Methods: Endothelial cells were isolated by enzymatic perfusion of fetal and adult blood vessels and cultured under standard (20 % O₂), hypoxic (2 % O₂), adipogenic and osteogenic conditions. Morphological changes were evaluated by phase contrast microscopy. The generation times and population doubling times, the proliferative activity and the cell viability were determined using standard procedures [3]. Adipogenic and osteogenic differentiation of the cells were demonstrated by Oil Red O and Alizarin Red S staining, respectively.

Results: f-AEC and a-AEC show a polygonal phenotype forming classical cobblestone monolayers under standard culture conditions, whereas f-VEC and a-VEC are more spindle-shaped cells growing closely apposed to each other. VEC have shorter generation and population doubling times than AEC. Under hypoxic conditions, all cell types increase in their cell size, become polygonal-shaped with a wide spread cyto-



ABSTRACTS

plasm and show a reduced proliferation potential. The viability is increased in f-AEC and f-VEC during 1d to 7d incubation under hypoxic conditions. The viability of a-AEC and a-VEC is increased after 1d incubation, but decreases after several days of incubation under hypoxic conditions.

Adipogenic and osteogenic induction resulted in more than 50 % of the f-VEC differentiated into adipocytes or osteoblasts, respectively. In contrast, f-AEC, a-VEC and a-AEC did not contain any or only very few lipid droplets and calcium deposits after induction treatment.

Conclusion: These data provide evidence for the plasticity of endothelia derived from fetal and adult tissues. Hypoxia clearly induced morphological and functional changes on all endothelial cell types studied. In contrast, only f-VEC showed adipogenic and osteogenic differentiation potential, thus indicating their role as tissue-resident endothelial progenitors during embryonic development with a possible benefit for regenerative cell therapy.

References:

1. Parolini O, Soncini M. Human Placenta: a Source of Progenitor/Stem Cells? *J Reproduktionsmed Endokrinol* 2006; 3: 117–26.
2. Yen BL, Huang HI, Chien CC, Jui HY, Ko BS, Yao M, Shun CT, Yen ML, Lee MC, Chen YC. Isolation of multipotent cells from human term placenta. *Stem Cells* 2005; 23: 3–9.
3. Freshney RI. *Culture of Animal Cell: A Manual of Basic Technique*. Wiley Press Ltd., New Jersey, 2005.

AFAMIN, EIN VITAMIN-E-BINDUNGSPROTEIN IM SERUM UND IN DER PERITONEALFLÜSSIGKEIT VON FRAUEN MIT ENDOMETRIOSE

B. Seeber, T. Czech, V. Mattle, E. Grubinger, I. Zervomanolakis, K. Barnhart, L. Wildt, H. Dieplinger
Klinik für Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin, Medizinische Universität Innsbruck

Einleitung: Endometriose ist mit vermehrtem oxidativen Stress sowie vermehrtem Abbau von Antioxidanzien, besonders in der Peritonealhöhle, assoziiert. Vitamin E als Teil des antioxidati-

ven Systems schützt die Zellen vor den toxischen Wirkungen der Reactive Oxidant Species (ROS). Wir nehmen an, dass die Konzentration von Afamin, dem Vitamin-E-Bindungsprotein, in der Peritonealflüssigkeit und möglicherweise auch im Serum bei Frauen mit Endometriose erniedrigt ist. Deshalb untersuchten wir die Einsatzmöglichkeit von Afamin als diagnostischen Marker für Endometriose im Vergleich zu CA-125.

Material und Methoden: Perioperativ wurde von 242 Frauen, die sich aufgrund von Schmerzen und/oder Infertilität, bilateraler Tubenligation oder anderen benignen Ursachen einer Laparoskopie unterzogen haben, Serum und Peritonealflüssigkeit gesammelt. Zur Bestimmung des quantitativen Gehalts von Afamin und CA-125 im Serum wurden Enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) durchgeführt. Ebenso wurden die Afaminkonzentration und der gesamte Proteingehalt in der Peritonealflüssigkeit bestimmt.

Resultate: Bei 143 Studienteilnehmerinnen wurde Endometriose diagnostiziert (66 Stage I, 22 Stage II, 21 Stage III, 34 Stage IV), 99 Teilnehmerinnen zeigten keinen Hinweis auf Endometriose. 31 der 99 Endometriose-freien Teilnehmerinnen unterzogen sich einer Tubenligation, sie waren symptomfrei und keine andere Pathologie wurde bei der Laparoskopie aufgefunden.

Im Serum verhält sich die Afaminkonzentration von Frauen mit Endometriose ähnlich derer von Frauen ohne Endometriose ($63,36 \mu\text{g/ml} \pm 1,50$ vs. $63,86 \mu\text{g/ml} \pm 1,61$; $p = 0,83$). Ebenso konnten keine Unterschiede der Afaminkonzentrationen nach Aufteilung in Gruppen, abhängig vom Stadium, im Serum gefunden werden.

In der Peritonealflüssigkeit von Frauen mit Endometriose jedoch konnten im Vergleich zu Frauen ohne Endometriose signifikant erniedrigte Afaminkonzentrationen festgestellt werden ($25,87 \mu\text{g/ml} \pm 1,41$ vs. $31,91 \mu\text{g/ml} \pm 1,88$; $p = 0,012$). Nach Aufteilung des Kollektivs in weitere Subgruppen in Abhängigkeit vom Stadium zeigten sich signifikante Konzentrationsunterschiede zwischen den Gruppen ($p = 0,022$); Frauen mit einem Endometriosestadium III wiesen die niedrigste Afaminkonzentration auf, während die Kontrollgruppe die höch-

ten Level in der Peritonealflüssigkeit zeigten.

Bei der Anwendung von ROC-Kurven ergab sich für PF-Afamin eine AUC von 0,631 (95 %-CI: 0,534–0,728; $p = 0,009$). Im Vergleich dazu ergab sich für CA-125 im Serum eine AUC von 0,592 (95 %-CI: 0,511–0,672; $p = 0,033$). Die Afaminkonzentrationen in der Peritonealflüssigkeit korrelieren mit den Serum-Afaminlevels (Pearson $r = 0,29$; $p = 0,0006$), allerdings nicht mit den CA-125-Konzentrationen im Serum ($r = -0,031$; $p = 0,72$).

Schlussfolgerung: Bei Frauen mit Endometriose konnten signifikant erniedrigte Afaminkonzentrationen im Serum gefunden werden, die Spiegel scheinen in Abhängigkeit vom Stadium zu sinken. Dieses Ergebnis unterstützt die Vermutung, dass oxidativer Stress und Reactive Oxidant Species (ROS) in der Peritonealhöhle von Endometriosepatientinnen präsent sind. Weitere Studien werden nötig sein, um die mögliche Rolle von Vitamin E in der Therapie von Endometriose zu evaluieren.

Interessanterweise korrelieren die Afaminkonzentrationen weder im Serum noch in der Peritonealflüssigkeit mit den CA-125-Konzentrationen. Obwohl weder die Sensitivität noch die Spezifität vom Serumafamin für einen diagnostischen Marker ausreicht, so können uns die Ergebnisse dieser Studie doch helfen, die Pathophysiologie der Endometriose besser zu verstehen.

IMPLANTATIONSRATE VON KRYOKONSERVIERTEN EMBRYONEN

O. Shebl, T. Ebner, M. Sommergruber, A. Sira, G. Tews
IVF-Unit an der Landesfrauen- und Kinderklinik Linz

Einleitung: Die Anzahl der durchgeführten Zyklen mit kryokonservierten Embryonen ist seit Jahren im Steigen. Die Methode hat es ermöglicht, die Rate der transferierten Embryonen zu senken und damit die Häufigkeit der Mehrlingschwangerschaften zu verringern. Wir haben uns gefragt, wie sich die Implantationsrate von kryokonservierten Embryonen im Vergleich zu der von frischen Embryonen verhält.



Methode: In einer retrospektiven Studie untersuchten wir alle Kryozyklen an unserer Abteilung von 2005–2007 und stellten dieser Gruppe eine auf Alter, Anzahl transferierter Embryonen und Qualität dieser Embryonen abgestimmte Gruppe gegenüber. Ziel war der Vergleich der Implantationsrate.

Ergebnisse: 190 Kryozyklen konnten identifiziert werden. Bei 162 Zyklen war nach dem Wärmen ein für einen Transfer geeigneter Embryo vorhanden (85,3 %). Durchschnittlich konnten $1,5 \pm 0,5$ Embryonen transferiert werden. Die Implantationsrate war signifikant höher in der Kontrollgruppe als in der Studiengruppe (31,3 % vs. 44,8 %; $p < 0,01$).

Schlussfolgerung: Die Implantationsrate von kryokonservierten Embryonen ist signifikant geringer als die von vergleichbaren frischen Embryonen. Obwohl mit dem Kryokonservieren von Embryonen und der damit verbundenen Reduktion der Anzahl der transferierten Embryonen eine Reduktion der Mehrlingsschwangerschaften möglich ist, muss der Verlust der potenziellen Implantationswahrscheinlichkeit berücksichtigt werden. Dies ist bei der Beratung von Paaren mit mehr als 1 zum Transfer zur Verfügung stehenden Embryo zu beachten.

SCHWIERIGER EMBRYOTRANSFER – HÄUFIGKEIT UND OUTCOME

D. Spitzer, H. Haidbauer, C. Corn, J. Stadler, H. Zech
IVF-Zentren Prof. Zech, Salzburg

Einleitung: Die Frage, ob die Schwierigkeit des Embryotransfers das Outcome beeinflusst, wird in der Literatur kontrovers diskutiert. Niedrige Fallzahlen, unterschiedliche Definitionen und uneinheitliche Patientenselektionen werden als mögliche Ursache dafür genannt. Ziel unserer retrospektiven Untersuchung war es, mögliche negative Einflüsse durch schwierige Embryotransfers (Sondierung des Zervikalkanals [CK] oder/und Anhaken der Portio) auf die klinische Schwangerschaftsrate (klin. SSR), Abortrate (Ab-Rate) und Baby take home-Rate + Ongoing (BTH + Ongoing-SSR) fest zu stellen.

Methode: Es wurden 510 konsekutive Embryotransfers (ET), die von 2 erfahre-

Tabelle 2: D. Spitzer et al.

	ET gesamt	ET 1+2	ET 3	ET 4
Klin. SSR	510	447 (88 %)	43 (8 %)	20 (4 %)
Ab-Rate	178 (35 %)	158 (35 %)	14 (32 %)	6 (30 %)
BTH + Ongoing-SSR	34 (19 %)	33 (21 %)	0	1 (17 %)
	144 (28 %)	125 (28 %)	14 (32 %)	5 (25 %)

nen Reproduktionsmedizinern durchgeführt wurden, analysiert. In einem Zyklus vor dem Embryotransfer wurde eine CK-Kanal-Dehnung und Messung der Uterussondenlänge durchgeführt. Der Transfer erfolgte mit einem weichen Wallace Embryo-Transferkatheter und, wenn erforderlich, wurde ein Wallace Malleable Stylet verwendet. Die Qualität des Embryotransfers wurde durch den Arzt nach einem Punktesystem mit 1 bis 4 (1 = leicht, 2 = Verwendung der Führung, 3 = Verwendung des Stylets, 4 = Anhaken d. Portio) bewertet. Als „schwierig“ wurde der Transfer 3 + 4 angesehen.

Ergebnisse: Von 510 ETs nach IVF/ICSI erfolgten 418 (82 %) an Tag 5, 84 (16 %) an Tag 3 und 8 (2 %) an Tag 2 oder 4. Weder das Durchschnittsalter (35–36 Jahre) noch die Anzahl der transferierten Embryonen (1,89–1,95) unterschied sich signifikant zwischen den einzelnen Schwierigkeitsgruppen. **Tabelle 2** stellt die klin. SSR, die Ab-Rate und die BHT + Ongoing-SSR in den einzelnen ET-Gruppen dar.

„Schwierige“ Transfers (ET 3 + 4) fanden in 12 % statt, davon 1/3 mit Anhaken der Portio. Die klin. SSR war tendenziell niedriger bei ET 3 + 4, während die Abortursrate nicht negativ beeinflusst wurde. Die BTH + Ongoing-SSR war nur bei ET 4 erniedrigt.

Diskussion: Die Implantation nach einer IVF-/ICSI-Behandlung wird durch eine Vielzahl von Faktoren beeinflusst. Die Embryotransfertechnik ist ein äußerst wichtiger Aspekt und der subjektive Eindruck des Durchführenden ein häufig unberücksichtigter Faktor. Verschiedene Autoren empfehlen die Sondierung des CK in einem Vorzyklus [Abusheikha N et al., 1999; Prapas N et al., 2004]. Wir verwenden diese Technik und haben damit in 4 % ETs, in denen das Anhaken der Portio erforderlich ist. Nur in diesen Fällen haben wir eine Abnahme der BTH + Ongoing-SSR festgestellt, was durch die mögliche Auslösung von Kon-

traktionen bzw. Blutungen (Blut an der Katheterspitze) erklärbar ist.

RESCUE EMBRYOTRANSFERS AM TAG 5 – 2 UNKONVENTIONELLE KASUISTIKEN

H.-P. Steiner, S. Rupp, S. Kniepeiß, H. Veitz
Institut für In-vitro-Fertilisation und Endokrinologie, Graz

Für den Erfolg einer IVF-Behandlung sind die verschiedensten Faktoren ausschlaggebend. Neben der Sterilitätsursache, dem Alter der Frau, der Anzahl der transferierten Embryonen und deren Qualität, ist auf einen möglichst atraumatischen Embryotransfer und optimale Laborbedingungen zu achten. Die Komplexität der Behandlung erlaubt, speziell bei Patienten mit schwierigem Verlauf, oft keine exakte Zuordnung des Problems. Eine Verbesserung der Situation erfolgt durch Austausch von einzelnen Faktoren, z. B. Stimulation, ICSI statt normaler Insemination, Laborbedingungen, Tag des Embryotransfers etc., die aber erst bei einem weiteren IVF-Versuch zum Einsatz kommen. Oft vergehen mehrere Versuche, bis der entscheidende Faktor gefunden ist.

Anhand von 2 unterschiedlichen Kasuistiken, bei denen ein Rescue-Embryotransfer am 5. Tag stattgefunden hat, wird gezeigt, dass einerseits bei drohendem Scheitern des Versuchs wegen fehlender Embryonenweiterentwicklung Kryoembryonen vom Tag 3 sehr wohl zu einer Schwangerschaft führen können (Fall 1) und andererseits das Durchführen eines zweiten ETs am 5. Tag, nachdem der Transfer am 3. Tag sowie auch vorherige Transfers sehr schwer gegangen sind, zwar ungewöhnlich, aber dennoch in diesem Fall die optimalste Entscheidung war (Fall 2).

Conclusio: Im ersten Fall musste möglichst rasch reagiert werden. Innerhalb desselben Versuches wurden Embryo-



ABSTRACTS

nen, die am 3. Tag eingefroren wurden, am 5. Tag aufgetaut und mit Erfolg transferiert. Die Beobachtung, dass es den Embryonen in der Gebärmutter in diesem Fall besser gegangen ist als in der Kultur, hinterfragt die oft als optimal angepriesenen Blastozystenkulturen und bewege uns zu einem Wechsel der Medien.

Im zweiten Fall wurde eine routinemäßige 3D-Darstellung des Endometriums sowie die Durchführung eines Mock-Transfers vorab durchgeführt, wobei es Probleme bei der Passage des inneren Muttermundes gab.

Die Entscheidung, zweimal zu transferieren – am 3. und am 5. Tag – ist äußerst ungewöhnlich, da aber in diesem Fall, nach vorhergehenden schweren Transfers, der erste ET wenig erfolgversprechend verlaufen ist und die weiteren Embryonen sich überraschend gut weiterentwickelt haben, wurde statt einer Cryo ein weiterer ET durchgeführt. Die Lösung dieses Problems gelang erst im 3. IVM-Zyklus. Beide Rescue-Ets führten in unseren Fällen zu neuen Erkenntnissen.

Rasche Änderungen innerhalb eines IVF-Versuches können notwendig sein bzw. sind Geduld und Flexibilität gefragt, falls nicht sofort erkannt wird, wie das Problem gelöst werden kann.

IN-VITRO-MATURATION (IVM) OF OOCYTES: EMBRYO REPLACEMENT IN FRESH OR VITRIFIED CYCLES?

P. Vanderzwalmen¹, P. Frias², A. Stecher¹, M. Zech¹, J. Lopez², N. Zech¹
¹Institute for Reproductive Medicine and Endocrinology, Austria, ²National Center of fertility and sterility (CENALFES), Cochabamba, Bolivia

Introduction: About 30–35 % of infertile women with polycystic ovary syndrome (PCOS) who undergo IVM treatment achieve clinical pregnancies. However, in spite of these encouraging results, implantation rates tend to be lower than in conventional IVF programs. Such observations raise concerns regarding the implantation of embryos generated from IVM oocytes. If the tendency is to implement IVM as an alternative to con-

ventional IVF, not only for PCOS patients, then it has to be proven to have comparable implantation rates (IR) following IVM. Embryo quality and/or endometrial quality may explain this reduction in the IR.

The aim of our study was to analyse if an improvement in the results could be noticed if embryos generated from IVM oocytes are cryopreserved and replaced in a further estradiol/progesterone supplemented frozen-thawed transfer cycle.

Material and Methods: Thirty four IVM cycles were performed on patients diagnosed with PCOS. For priming Stimulation, patients received 150 IU of recombinant FSH on days 4, 5 and 6 of their cycle. They received 10.000 IU of HCG on day 8. Oocyte retrieval was done 36 h later if patients had at least 2 follicles of 10 mm and an endometrium of at least 9 mm. Immature oocytes were cultured in Maturation media from IVM Kit media from Sage (Day 0). Twenty four to 30 h later ICSI was performed and culture in Global media was continued until fresh transfer on day 3 or 5. For aseptic vitrification, blastocysts were exposed in three steps to increasing mixture of Ethylene glycol – DMSO. They were then loaded in a gutter of a hemi-straw, inserted in a larger straw before welding and then plunged in LN2.

Fifteen patients that were allocated to the vitrification group, received Estradiol-Valerate and vaginal progesterone.

Results: In the fresh transfer group, 19 IVM cases were performed with 85 % of MII oocytes and 75 % of fertilization. After transfer of an average of 2.8 embryos on day 3, 3 ongoing pregnancies and 1 birth (21 %) were obtained resulting in an implantation rate (IR) of 11 %. In the vitrified group, 15 IVM cycles resulted in the maturation of 89 % of immature oocytes. A total of 69 % of zygotes were obtained and cultured to the fifth day. After 5 days of culture, 40 blastocysts (49 %) were vitrified. After warming and a 24 hour period of culturing, 65 % of the blastocysts survived and were transferred (1.6 blastocyst per transfer). A total of 10 ongoing pregnancies was obtained (67 %) resulting in an IR of 50 %.

Conclusions: Our studies show that an improvement in the results could be

noticed if embryos – generated from IVM oocytes – are vitrified in aseptic conditions and replaced in a further estradiol/progesterone supplemented frozen-thawed transfer cycle.

ARGUMENTS TO IMPLEMENT THE SELECTION OF SPERMATOZOA AT HIGH MAGNIFICATION BEFORE ICSI

P. Vanderzwalmen^{1,2}, A. Stecher¹, M. Bach¹, T. Neyer¹, M. Zinst¹, H. Zech¹, N. Zech¹

¹Institute for Reproductive Medicine and Endocrinology, Austria, ²Centre Hospitalier Inter Regional Cavell, Bruxelles – Braine l alleud, Belgium

Selection of spermatozoa during ICSI procedure is performed at a rather low magnification of 200–400× with Hoffman Modulation interferential contrast (HMC) optics. Using such optical tools, selection of spermatozoa has severe limitations. This has been one of the major concerns related to ICSI as the sperm selection process, occurring during normal IVF in presence of cumulus cells, is totally bypassed. The exchanging of HMC by Nomarski differential interferential contrast and examination at high magnification, has allowed a better observation of sperm cells in real time. Using “motile-sperm organelle-morphology examination” MSOME, “normal spermatozoa” exhibit a large panel of nucleus malformations in terms of shape, size and presence of vacuoles and are normally not selected. However, a more accurate selection of spermatozoa means that it is not always possible to find spermatozoa morphologically completely normal. Several studies reported that the existence of large vacuoles in the nuclei of spermatozoa dramatically reduces the proportion of good quality embryos reaching the blastocyst stage and logically influence the pregnancy (PR) and implantation (IR) rates. Moreover, higher rates of abortion is also noticed.

As a consequence, the pending and crucial question concerns their meaning, origin and the further impact on embryo quality and downstream consequences on embryo development and – more concerning – the progeny.



Can we assume that there is a connection between chromatin defect – DNA damage and the presence of nuclear vacuoles? Two recent papers [Garolla 2008, Franco 2008], reinforce the concept that an association between large vacuoles and secondary and tertiary DNA structure damages in sperm nucleus exists.

What are the consequences of DNA damage? According to the reports of Aitken [2007], the negative effect of sperm DNA fragmentation may affect the next generation [Aitken, 2007]. Furthermore a recent work of Fernandez-Gonzalez (2008) in the mouse model demonstrated that DNA-fragmented spermatozoa in ICSI can generate effects that emerge during later life, such as aberrant growth, premature aging, abnormal behaviour, and mesenchymal tumors.

Even though there is a strong “in vivo” selection after embryo transfer, we must be cautious, in order to lower the mentioned potential risks.

In few words, one of the most frequent questions regarding IMSI relates to its indications: should we perform IMSI to all the patients? Another debate raises the question of what we should do for patients carrying 100 % large vacuoles in their sperm samples. Even though there is no real proof in the human species on the abnormal outcome generated by spermatozoa carrying vacuoles, this ultra-morphology technique has to be added as an additional tool for ICSI, knowing the consequence of possible DNA damage for offspring [Carrell, 2008]. Shall we continue the attempt with the patient's sperm or propose the option of sperm donation? The establishment of new classification criteria, based on an assessment system, seems a valuable approach to determine a threshold limit for making the right therapeutic decision. In conclusion, sperm selection before ICSI seems more and more unavoidable whatever the screening technique (hyaluronic binding test) is, in order to lower the potential risks detailed here. Analysis of semen samples on an ultramorphologic scale for the presence of vacuoles should therefore be recommended to patients before ICSI.

THE IMPACT OF FETAL SEX ON PREMATURITY IN DICHORIAL-DIAMNIOTIC TWIN PREGNANCIES AFTER ASSISTED REPRODUCTION

A. Weghofer, K. Klein, E. Krampfl, D. Barad, N. Gleicher
Department of Obstetrics, Gynecology and Fetal Maternal Medicine, Medical University Vienna

Objective: Male fetal sex has in singleton pregnancies been reported associated with increased risk for preterm birth, whether conception occurred spontaneously or via assisted reproduction. Whether such association also exists in twin pregnancies, conceived through assisted reproduction remains to be investigated and was subject of this study.

Materials and Methods: One-hundred and thirty dichorial-diamniotic (DC/DA) twin pregnancies, conceived through assisted reproduction, were retrospectively analyzed for maternal age, gestational age at time of delivery, indication and mode of delivery, neonatal weight, neonatal length, APGAR and neonatal cord blood pH immediately after delivery. All women delivered at the Department of Fetal-Maternal Medicine at the Medical University of Vienna, Austria. Pregnancies with fetal malformations and oocyte donation cycles were excluded from analysis.

Results: At the time of delivery, study subjects were at a mean age of 33.3 ± 4.3 years (range, 23–44 years). Delivery occurred at a mean gestational age of 34.3 ± 3.2 weeks. Pregnancies with one or two female fetuses were at significantly higher risk for preterm birth than male twin pregnancies ($p < 0.05$). Pregnancies with one male and one female fetus had, however, the highest risk for prematurity ($p < 0.05$). The association remained significant after multi regression analysis for potentially co-founding factors, such as maternal age or estimated prenatal weight. Neither mode of, nor indication for delivery differed based on fetal gender. After correction for gestational age at delivery, female and male fetuses presented with comparable weight, length and APGAR.

Conclusions: Dichorial-diamniotic twin pregnancies with one or two female

fetus(es) are associated with a significantly higher risk for preterm birth than DC/DA pregnancies with exclusively male fetuses. Though various theories have been proposed in the literature to explain the increased risk for prematurity according to fetal sex, none has received convincing support. These findings might, therefore, shed additional light on the mechanisms of immune tolerance during pregnancy.

ENTWICKLUNGEN EINES PERFUSIONSSYSTEMS ZUR IN-VITRO-MATURATION UND -STIMULATION MURINEN OVARGEWEBES

K. Winkler, S. Hofer, I. Berger, L. Wildt, I. Zervomanolakis
Department für Frauenheilkunde, Universitätsklinik für Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin, Medizinische Universität Innsbruck

Einleitung: Alternative Methoden zur Sterilitätsbehandlung gewinnen in der Reproduktionsmedizin immer mehr an Bedeutung. Unter anderem dank verbesserter Radio- bzw. Chemotherapie-regimen immer mehr junge Frauen von Krebserkrankungen geheilt werden können, was jedoch zur Folge hat, dass viele dieser Tumorpatientinnen eine verfrühte Ovarialinsuffizienz mit konsekutiver Sterilität erleiden. Ein neuer, vielversprechender Ansatz ist die Kryokonservierung ganzer Ovargewebestücke, um den Gewinn fertilisierbarer Eizellen aus diesem Gewebe zu einem späteren Zeitpunkt zu ermöglichen.

Bei onkologischen Patientinnen wurde bisher versucht, das vor Chemotherapiebeginn laparoskopisch entnommene und kryokonservierte Ovargewebe nach erfolgreicher Beendigung der Therapie zu retransplantieren. Jedoch kann bei diesem Verfahren nie mit vollständiger Sicherheit ausgeschlossen werden, dass mit dem Ovargewebe nicht auch vitale Tumorzellen retransplantiert und somit Rezidive provoziert werden.

Im Unterschied dazu ist es Ziel unseres Projektes, ein neuartiges Perfusions-system zu entwickeln, das eine In-vitro-Reifung und -Stimulation des Ovar-gewebes ermöglicht, um fertilisierbare Eizellen vollständig in vitro zu generieren.



ABSTRACTS

Methoden: Nach Konstruktion des Perifusionssystems wurde zu dessen Austestung und Etablierung das Mausmodell gewählt. Die Ovarien präpubertärer weiblicher alb/c-Mäuse wurden entnommen und umgehend in die Kulturkammern des Systems transferiert. Mittels einer 24-Kanal-Peristaltikpumpe wurde Medium kontinuierlich während des gesamten Versuchs durch die Kulturkammern gepumpt. Zeitgleich wurde das Gewebe mittels Zyklomatpumpen (Zyklomat®, Ferring, Deutschland) stimuliert. Diese führten dem Gewebe Urofollitropin (Fostimon®, IBSA, Schweiz) in physiologischen zirchoralen Pulsen zu. Das aus den Kulturkammern abfließende Medium wurde über 24 Stunden gesammelt, um den darin enthaltenen Östradiolspiegel, als Marker für das Ansprechen des Gewebes auf die Stimula-

tion, mittels RIA zu ermitteln (ESTR-US-CT, Cis Bio International, Frankreich). Zudem wurde das Gewebe nach 11 Tagen in Kultur histologisch aufgearbeitet.

Resultate: Es zeigte sich in 3 der Kulturkammern ein Östradiolanstieg bis zu Tag 5 der Stimulation, was auf eine Östradiolproduktion des Gewebes als Antwort auf die Stimulation schließen lässt. Ab Tag 6 der Stimulation sank das Östradiol in allen Kammern. In der Histologie zeigten sich Follikel mit Ausbildung einer mehrschichtigen Granulosazellschicht.

Schlussfolgerung: Die Ergebnisse unseres Pilotexperiments zur Austestung des neu entwickelten Perifusionssystems lassen annehmen, dass das System zur In-vitro-Kultur murinen Ovargewebes

geeignet ist. Gelingt es, das entwickelte Perifusionssystem zu etablieren, könnte die Fertilität onkologischer Patientinnen erhalten bleiben, ohne sie dem Risiko eines Rezidivs durch Replantation oder der hormonellen Stimulation zur Gewinnung von Eizellen auszusetzen. Zudem könnte die Möglichkeit der vollständigen Follikulogenese in vitro auch in der Sterilitätsbehandlung nicht-onkologischer Patientinnen Anwendung finden, da auch in diesem Fall die Gewinnung fertilisierbarer Eizellen nach einmaliger laparoskopischer Gewebeentnahme ermöglicht wird, ohne die Patientinnen einer hormonellen Stimulation mit nachfolgenden Follikelpunktionen unterziehen zu müssen. Die Risiken einer ovariellen Überstimulation und mehrmaliger Follikelpunktionen könnten erfolgreich vermieden werden.

VERZEICHNIS DER ERSTAUTOREN IN ALPHABETISCHER REIHENFOLGE

Augsten M	289	Kroneis T	293	Reifer S	297
Baborova P	289	Kurzthaler D	293	Schweizer A	297
Castellan M	290	Lunger A	294	Seeber B	298
Duba HC	290	Mahnert W	294	Shebl O	298
Feichtinger M	291	Mahrouzadeh S	295	Spitzer D	299
Foeger S	291	Mattle V	295	Steiner H-P	299
Gruber I	292	Moser G	296	Vanderzwalmen P	300 (2)
Grubinger E	292	Orendi K	296	Weghofer A	301
				Winkler K	301

Mitteilungen aus der Redaktion

Besuchen Sie unsere Rubrik

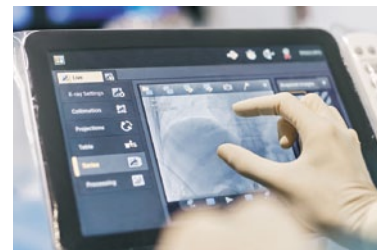
[Medizintechnik-Produkte](#)



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](#)