

Abstractband

10. DVR Kongress

Back to the future



20.-22. SEPTEMBER 2023

**WORLD CONFERENCE CENTER
BONN**



Ausschließlich zur privaten/persönlichen Nutzung der Teilnehmer des 10. DVR KONGRESSES.

Alle Rechte vorbehalten, Copyright.

Die Vervielfältigung einzelner Texte ist nur mit Erlaubnis des Autors gestattet.

Unverkäufliches Exemplar.

Impressum

HERAUSGEBER

bsh medical communications GmbH, Düsseldorf

VERANTWORTLICH FÜR DEN REDAKTIONELLEN INHALT

Prof. Dr. med. Jean-Pierre Allam, Universitätsklinikum Bonn

PD Dr. rer. nat. Verena Nordhoff, Universitätsklinikum Münster

Prof. Dr. med. Nicole Sänger, Universitätsklinikum Bonn

LAYOUT, SATZ:

Dipl.-Grafik-Des. Ilka Lange

Alle Rechte, wie Nachdruck, auch von Abbildungen, Vervielfältigungen jeder Art, Vortrag, Funk, Tonträger- und Fernsehsendungen sowie Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen, auch auszugsweise, nur mit schriftlicher Zustimmung der Veranstalter. Für Programmänderungen, Umbesetzungen von Referaten und Verschiebungen oder für Ausfälle von Veranstaltungen kann keine Gewähr übernommen werden.

STAND: September 2023



ÜBERSICHT

[Klicken Sie auf den Postertitel]

Session 1 • Hoden und Spermien

Mittwoch, 20. September 2023 • 16:15 – 18:00 Uhr

Moderation: Jean-Pierre Allam, Bonn; Hans-Christian Schuppe, Gießen

SEITE

PO 1.1	The ZZS complex protein SP016 during male meiosis <i>M. D. Runkel, N. Rotte, S. Kliesch, F. Tüttelmann, C. Friedrich, Münster (GER)</i>	9
PO 1.2	Einfluss von Antispermien-Antikörpern (ASA) im Ejakulat auf die klinische Schwangerschaftsrate bei einer in vitro Fertilisation (IVF)-Behandlung <i>T. Trapphoff, Dortmund (GER); S. Hirschmann, Witten (GER); S. Dieterle, Dortmund (GER)</i>	10
PO 1.3	BRD9 inhibition as potential treatment option for testicular germ cell tumors <i>A. Hansen, K. Funke, L. Arévalo, H. Schorle, Bonn (GER)</i>	12
PO 1.4	Elucidating the interplay of M1AP and the ZZS components in male meiosis <i>N. Rotte, P. Hauser, B. Stallmeyer, S. Kliesch, F. Tüttelmann, C. Friedrich, Münster (GER)</i>	14
PO 1.5	Die Motilität der Spermien aus dem Hodengewebe hat einen Einfluss auf die Erfolgsraten einer TESE-ICSI <i>T. Pock, K. Fechtmann, E. Plester, T. Sperlbaum, H. M. Behre, S. Kliesch, V. Nordhoff, Münster (GER)</i>	15
PO 1.6	Tertiary lymphoid organs develop in the cauda epididymidis following infection with uropathogenic Escherichia coli <i>H. Hasan, C. Pleuger, S. Bhushan, D. Ai, W. Peng, E. Wahle, Gießen (GER); K. L. Loveland, Clayton (AUS); A. Meinhardt, Gießen (GER); M. P. Hedger, Clayton (AUS); M. Fijak, Gießen (GER)</i>	17
PO 1.7	Das Abstract wurde nicht zur Veröffentlichung freigegeben.	
PO 1.8	Das Abstract wurde nicht zur Veröffentlichung freigegeben.	
PO 1.9	Cylicins: a structural component of the sperm calyx indispensable for male fertility in mice and human <i>A. Kovacevic, S. Schneider, M. Mayer, Bonn (GER); A.-K. Dicke, Münster (GER); L. Arevalo, Bonn (GER); S. A. Koser, S. Young, C. Brenker, S. Kliesch, Münster (GER); G. Kirfel, Bonn (GER); T. Strünker, F. Tüttelmann, Münster (GER); H. Schorle, Bonn (GER)</i>	19
PO 1.10	Das Abstract wurde nicht zur Veröffentlichung freigegeben.	
PO 1.11	Pregnancy after intracytoplasmic injection of acephalic spermatozoon <i>C. Ori, D. Makri, M. Franz, H. Bralo, J. Marcon, S. Mahner, V. von Schönfeldt, C. J. Thaler, München (GER)</i>	21
PO 1.12	The effect of gender-affirming hormone therapy on the spermatogonial cell compartment in trans women <i>F. Sieg, K. Schiwon, S. Di Persio, F. Schneider, J. Wistuba, S. Kliesch, S. Schlatt, N. Neuhaus, Münster (GER)</i>	23
PO 1.13	Erhöhte DNA-Fragmentierung in Spermien: Verbesserte Schwangerschaftsrate durch Hyaluronselektion bei der ICSI <i>B. Wetzka, Freiburg (GER); Y. Ersoy, Singen (GER); A. Hanjalic-Beck, A. Ochsner, Freiburg (GER)</i>	25



ÜBERSICHT

[Klicken Sie auf den Postertitel]

Session 1 • Hoden und Spermien

Mittwoch, 20. September 2023 • 16:15 – 18:00 Uhr

Moderation: Jean-Pierre Allam, Bonn; Hans-Christian Schuppe, Gießen

SEITE

- | | | |
|----------------|---|-----------|
| PO 1.14 | Testicular inflammatory response and fibrotic remodeling are regulated by activin A and macrophages in experimental autoimmune orchitis
<i>M. Fijak, W. Peng, A. Kepsch, T. O. Kracht, H. Hasan, Gießen (GER); R. Wijayarathna, Clayton (AUS); E. Wahle, C. Pleuger, S. Bhushan, Gießen (GER); S. Günther, Bad Nauheim (GER); A. C. Kauerhof, Gießen (GER); A. Planinić, Zagreb (HRV); D. Fietz, H.-C. Schuppe, M. Wygrecka, Gießen (GER); K. L. Loveland, Clayton (AUS); D. Ježek, Zagreb (HRV); A. Meinhardt, Gießen (GER); M. P. Hedger, Clayton (AUS)</i> | 27 |
| PO 1.15 | Ageing is associated with transcriptional alterations in human testis with full spermatogenesis
<i>S. Laurentino, Y. Wang, S. Berres, H. Krenz, A. Körtje, A. Henrich, N. Terwort, N. Neuhaus, S. Kliesch, J. Wistuba, J. Gromoll, Münster (GER)</i> | 29 |
| PO 1.16 | Translational development and evaluation of a novel in vitro diagnostic test for CatSper-related male infertility
<i>S. Young, C. Brenker, C. Krallmann, V. Nordhoff, S. Schiffer, S. Kliesch, C. T. Strünker, Münster (GER)</i> | 30 |
| PO 1.17 | T cells in testicular germ cell tumors: New evidence of functional contributions by rare subsets
<i>D. Fietz, A. Pilatz, Gießen (GER); K. Loveland, Melbourne (AUS); J. Guo, Beijing (CHN); H.-C. Schuppe, R. Islam, J. Heyer, C. Pleuger, Gießen (GER); S. Kliesch, Münster (GER)</i> | 32 |
| PO 1.18 | Spermatozoal RNA expression as predictor of ART fertilization rates
<i>T. Greither, D. Handke, I. Hoffmann, H. M. Behre, Halle/Saale (GER)</i> | 34 |



ÜBERSICHT

[Klicken Sie auf den Postertitel]

Session 2 • Ovar und Endometrium

Mittwoch, 20. September 2023 • 16:15 – 18:00 Uhr

Moderation: Jan-Steffen Krüssel, Düsseldorf; Verena Nordhoff, Münster

SEITE

PO 2.1	Supplementation of mitochondria from endometrial mesenchymal stem cells (EnMSCs) improves oocyte quality in aged mice <i>Q. Zhang, J.-X. Hao, B.-W. Liu, Y.-C. Ouyang, J.-N. Guo, M.-Z. Dong, Z.-B. Wang, F. Gao, Y.-Q. Yao, Beijing (CHN)</i>	36
PO 2.2	Cryostorage of human ovarian tissue: Evaluating the storage and disposal pattern of a 22-year period with 2475 patients <i>A. Schallmoser, R. Eienkel, C. Färber, V. Hüren, N. Emrich, J. John, N. Sängner, Bonn (GER)</i>	37
PO 2.3	Can vitrification of human ovarian tissue replace slow freezing ? A comparison in angiogenic potential and apoptotic changes. <i>A. Schallmoser, R. Eienkel, C. Färber, V. Hüren, N. Emrich, J. John, N. Sängner, Bonn (GER)</i>	39
PO 2.4	The impact of phospholipid liposomes on endometrial cell proliferation and decidualization <i>A. Jasarevic, S. Fayezi, J. Jauckus, A. Germeyer, T. Strowitzki, Heidelberg (GER)</i>	41
PO 2.5	Differential Characteristics Of Vaginal Versus Endometrial Microbiota In 71 Infertile Patients. <i>A. Polifke, A. von Schwedler, R. Gulba, R. Bensmann, A. Diltthey, Düsseldorf (GER); N. N. R. Nassar, Essen (GER); P. Finzer, Düsseldorf (GER)</i>	43
PO 2.6	Hohe FSH-Konzentration beeinträchtigt VEGF-Sekretion von humanem Ovarialgewebe in vitro. <i>R. Eienkel, A. Schallmoser, N. Sängner, Bonn (GER)</i>	45
PO 2.7	Filamin A in the human ovary: sites of expression, regulation and possible interaction partners <i>Y. Jiang, Planegg-Martinsried (GER); K. Caban, T. Fröhlich, München (GER); M. Höfner, Planegg-Martinsried (GER); D. Berg, U. Berg, München (GER); A. Müller-Taubenberger, A. Mayerhofer, H. Welter, Planegg-Martinsried (GER)</i>	47
PO 2.8	microRNA miR-29C regulated invasiveness and viability of endometriotic cells in vitro by targeting CDK6 and COL4A2 <i>M. Götte, T. Wentges, H. El-Shorafa, S. Schäfer, L. Kiesel, B. Greve, Münster (GER)</i>	49
PO 2.9	Impact of cytokines on proreceptive gene expression and trophoblast adhesion in a novel 3D model of the window of implantation <i>M. Götte, U. Obermeyer, H. El-Shorafa, M. Heukamp, Münster (GER); M. Franchi, Bologna (ITA)</i>	51
PO 2.10	Functional analysis of the histidine N-methyltransferase SETD3 in endometriosis <i>M. Götte, M. Poloczec, Münster (GER); C. L. M. Ludwig, Dummerstorf (GER); M. Pouttanen, Turku (FIN); L. Kiesel, S. D. Schäfer, Münster (GER); J. Weitzel, Dummerstorf (GER)</i>	53
PO 2.11	Role of the Musashi-Notch pathway in the pathogenesis of endometriosis <i>M. Götte, T. Strauß, N. Achmad, B. Greve, L. Kiesel, S. D. Schäfer, Münster (GER)</i>	55



ÜBERSICHT

[Klicken Sie auf den Postertitel]

Session 2 • Ovar und Endometrium

Mittwoch, 20. September 2023 • 16:15 – 18:00 Uhr

Moderation: Jan-Steffen Krüssel, Düsseldorf; Verena Nordhoff, Münster

SEITE

- | | | |
|----------------|---|----|
| PO 2.12 | Einfluss des Corpus luteum Peptids Relaxin auf die Eigenschaften humaner endometrialer Stromazellen
<i>F. von Versen-Höyneck, S. Meier, C. Springer, K. Richter, B. Schröder-Heurich, Hannover (GER)</i> | 57 |
| PO 2.13 | The Dummerstorf high-fertility mouse line 1 – a worldwide unique model for increased female reproductive performance
<i>C. L. M. Ludwig, Dummerstorf (GER); S. Bohleber, Bonn (GER); R. Lapp, A. Rebl, Dummerstorf (GER); E. K. Wirth, Berlin (GER); M. Langhammer, Dummerstorf (GER); U. Schweizer, Bonn (GER); M. Michaelis, J. M. Weitzel, Dummerstorf (GER)</i> | 59 |
| PO 2.14 | Modelling the oviduct epithelium in vitro: oxygen level and media regime influence functional parameters of oviduct epithelial cells cultured at the air-liquid interface
<i>J. Huo, J. Schoen, A. N. Eren, S. Chen, Berlin (GER)</i> | 61 |
| PO 2.15 | Näher an der Realität – Proteomveränderungen durch Endometriales Scratching bei fertilen Frauen
<i>I. Scheliga, D. M. Baston-Büst, J.-S. Krüssel, A. Bielfeld, Düsseldorf (GER)</i> | 63 |
| PO 2.16 | Reproduktive Gesundheit nach Krebserkrankung – Ergebnisse einer Befragungsstudie mit standardisiertem Fragebogen nach Fertilitätsprotektion nach Kryokonservierung von Ovargewebe oder Oozyten
<i>D. Madej, J. Schaar, P. Wimberger, M. Goeckenjan, Dresden (GER)</i> | 65 |
| PO 2.17 | Do different protocols for endometrial preparation before frozen embryo transfer (FET) have different pregnancy or birth rates?
<i>M. Amrani, Wiesbaden (GER); W. Wiliem, Mainz (GER); J. Limberg, R. Seufert, Wiesbaden (GER); C. Skala, Mainz (GER)</i> | 67 |
| PO 2.18 | Überprüfung der individuellen endometrialen Rezeptivität im programmierten vs. natürlichen Zyklus
<i>P. Edimiris, D. M. Baston-Büst, A. P. Bielfeld, J.-S. Krüssel, Düsseldorf (GER)</i> | 69 |



ÜBERSICHT

[Klicken Sie auf den Postertitel]

Session 3 • Stimulation und Modellsysteme

Mittwoch, 20. September 2023 • 16:15 – 18:00 Uhr

Moderation: Georg Griesinger, Lübeck; Nicole Sängler, Bonn

SEITE

PO 3.1	Nanoparticle tracking analysis for monitoring exosome secretion from an immortalized ovarian granulosa cell model <i>S. Oehms, S. Fayezi, T. Strowitzki, A. Germeyer, Heidelberg (GER)</i>	71
PO 3.2	Association between early embryo morphological assessment and pregnancy rate <i>D. Makri, C. Ori, L. Sela, S. Mahner, C. J. Thaler, V. von Schönfeldt, München (GER)</i>	73
PO 3.3	Nicotinic receptor alpha 7 in the human ovary and cultured granulosa cells <i>P. Seibenhausen, K. Eubler, N. Kreitmair, Planegg-Martinsried (GER); U. Berg, D. Berg, München (GER); A. Mayerhofer, Planegg-Martinsried (GER)</i>	75
PO 3.4	Stimulatory Potential of Granulosa Cell-Derived Exosomes on Endometrial Stromal Cell Proliferation <i>H. Wolff von Gudenberg, S. Fayezi, J. Jauckus, T. Strowitzki, A. Germeyer, Heidelberg (GER)</i>	76
PO 3.5	Bewertung der Inzidenz von totalem Fertilisationsversagen (TFF) nach konventioneller IVF (cIVF) und dem Ergebnis nachfolgender Zyklen mit intrazytoplasmatischer Spermieninjektion (ICSI) <i>L. Nanassy, B. Schöpfer, M. Depenbusch, A. Schultze-Mosgau, T. K. Eggersmann, R. A. F. Hiller, G. Griesinger, Lübeck (GER)</i>	78
PO 3.6	Multinucleation is not equal to Multinucleation: A time-lapse analysis about multinucleation and its impact on ART outcomes <i>C. Staib, J. Westermann, A. Woehl Wenigerkind, M. Schwab, Wuerzburg (GER)</i>	80
PO 3.7	Slow-freezing versus Vitrification in 2PN-stage zygotes <i>C. Ori, D. Makri, A. Honke, N. Rogenhofer, C. J. Thaler, V. von Schönfeldt, München (GER)</i>	81
PO 3.8	The composition of the vaginal microbiome in women undergoing frozen thawed embryo transfer cycles in IVF: a prospective cohort study <i>S. Graspentner, M. Lupatsii, K. Neumann, A. Masuch, M. Depenbusch, A. Schultze-Mosgau, T. K. Eggersmann, J. Rupp, G. Griesinger, Lübeck (GER)</i>	83
PO 3.9	Können wir monozygote Zwillinge beim single embryo Transfer (SET) vorhersehen? Erfahrungen aus dem UniKiD von 2015-2021 zu Geburten von monozygoten Zwillingen nach Transfer einer Blastozyste <i>D. M. Baston-Büst, P. Edimiris, I. Scheliga, A. P. Bielfeld, J. Hirchenhain, J.-S. Krüssel, Düsseldorf (GER)</i>	85
PO 3.10	Variabilität im Spontanzyklus – Analyse einer prospektiven Langzeit-Kohortenstudie <i>M.-N. Malliou-Becher, Heidelberg (GER); P. M. Ruf, München (GER); T. Strowitzki, P. Frank-Herrmann, Heidelberg (GER)</i>	87
PO 3.11	Quality of life during fertility treatment and acceptance of a blended care online psychosocial support program <i>A. Bachmann, S. Schulze, Frankfurt (GER); L. M. Pfadenhauer, München (GER); N. Sängler, Bonn (GER)</i>	89



ÜBERSICHT

[Klicken Sie auf den Postertitel]

Session 3 • Stimulation und Modellsysteme

Mittwoch, 20. September 2023 • 16:15 – 18:00 Uhr

Moderation: Georg Griesinger, Lübeck; Nicole Sängler, Bonn

SEITE

- | | | |
|----------------|--|------------|
| PO 3.12 | Erfahrungen von Single-Frauen mit der Kinderwunschbehandlung in einem universitären Kinderwunschzentrum
<i>R. Dittrich, I. Hoffmann, M. W. Beckmann, L. Lotz, Erlangen (GER)</i> | 91 |
| PO 3.13 | Haben Symptomatik und Abstand einer SARS-CoV2-Infektion des Paares Einfluss auf den Verlauf einer assistierten Reproduktion?
<i>M. Goeckenjan, K. Glaß, V. Eckstein, I. Trinkaus, P. Wimberger, Dresden (GER)</i> | 93 |
| PO 3.14 | Unterdosiert der Follitropin-Delta-Algorithmus Frauen mit hohem Körpergewicht und erhöhtem Risiko für ein schwaches Ansprechen der Ovarien auf die ovarielle Stimulation?
<i>L. I. da Costa Hackstein, Lübeck (GER); K. Neumann, Hamburg (GER); T. Eggersmann, M. Depenbusch, A. Schultze-Mosgau, R. A. Hiller, G. Griesinger, Lübeck (GER)</i> | 95 |
| PO 3.15 | Ein neues Kryo-ET-Protokoll zur Terminierung der Embryoübertragung im ovulatorischen Zyklus
<i>T. Eggersmann, N. Hamala, R. A. F. Hiller, M. Depenbusch, A. Schultze-Mosgau, Lübeck (GER); P. Edimiris, A. Bielfeld, J.-S. Krüssel, D. M. Baston-Büst, Düsseldorf (GER); S. Tauchert, Saarbrücken (GER); S. von Otte, W. Junkers, Kiel (GER); G. Griesinger, Lübeck (GER)</i> | 97 |
| PO 3.16 | Angst vor Einschränkung der Fertilität – eine der Hauptursachen für die Zurückhaltung bei der Covid-19 Impfung bei Kinderwunschpatientinnen
<i>F. von Versen-Höyneck, J. Kern, C. Schippert, D. Fard, Hannover (GER); A. P. Bielfeld, Düsseldorf (GER)</i> | 100 |
| PO 3.17 | Die konsequente Anwendung des Deutschen Mittelweges (DMW) mit single embryo transfer führt im Vergleich zum D-I-R-Durchschnitt zu keiner Verschlechterung der Schwangerschaftsraten, aber zu signifikanter Reduktion der Mehrlingsgeburten
<i>J.-S. Krüssel, J. Hirchenhain, D. M. Baston-Büst, P. Edimiris, I. Scheliga, J. Bender-Liebenthron, A. Bielfeld, Düsseldorf (GER)</i> | 102 |



The ZZS complex protein SPO16 during male meiosis

M. D. Runkel¹, N. Rotte¹, S. Kliesch², F. Tüttelmann¹, C. Friedrich¹

¹Westfälische Wilhelms-Universität (DEU), Institut für Reproduktionsgenetik;

²Universitätsklinikum Münster (DEU), Centrum für Reproduktionsmedizin und Andrologie

Infertility affects one in six people worldwide but to this date, most of the underlying causes remain unknown. In 2020, we identified bi-allelic (likely) pathogenic variants in M1AP – encoding meiosis 1 associated protein – resulting in crypto-/azoospermia. Furthermore, a recent mouse study described the interaction of M1AP with the murine ZZS complex (SHOC1-TEX11-SPO16) that stabilises designated crossover sites to ensure correct homologous recombination. A loss of any of one of these three ZZS proteins leads to severe spermatogenic failure and complete meiotic arrest in mouse models. Similarly, human male infertility has been described for variants in SHOC1 and TEX11 in addition to M1AP. Moreover, a homozygous loss-of-function variant in SPO16 was recently published as cause for female infertility due to premature ovarian insufficiency, assuming an autosomal recessive inheritance. In our study, we aim to investigate the interplay of the human ZZS complex with M1AP, and in this part of the project we focused on SPO16 and its involvement in human spermatogenic failure.

Protein-protein interaction of human SPO16 and M1AP was investigated in vitro in HEK293T cells by co-immunoprecipitation and Western blotting. In parallel, exome sequencing data from our Male Reproductive Genomics (MERGE) cohort including >2,400 men, mainly affected by crypto- /azoospermia, was screened for rare (minor allele frequency, MAF <0.01, gnomAD) coding variants in SPO16. Besides the population database, gnomAD was used to determine the presumed inheritance of variants in this gene.

First, we demonstrated the interaction of human M1AP and SPO16 by co-immunoprecipitation. In a subsequent screen of the MERGE cohort, no bi-allelic variants in SPO16 have been identified. We only found single heterozygous variants (MAF <0.001) in nine men, including one missense, two stop-gained, three synonymous, and three splice-region variants. Phenotypes of these men broadly ranged from Sertoli cell-only to complete meiotic arrest up to quantitatively reduced complete spermatogenesis, but also multiple morphological abnormalities of the sperm flagella (MMAF). Presumably, these heterozygous variants are not causal for the observed broad spectrum of diverse phenotypes. In accordance, the calculated gene constraint in gnomAD results in a pLI score of 0 and an observed/expected ratio (o/e score) of 0.67 (CI 0.38-1.25), reflecting SPO16's tolerance to loss-of-function in a heterozygous state and supporting an autosomal-recessive inheritance.

In summary, we substantiated that M1AP is a co-actor of the human ZZS-complex supporting the hypothesis of a putative role of SPO16 also in the context of human male infertility. Taken our own and publicly available genetic, functional, and knockout model data together, we propose SPO16 as a strong candidate gene for human spermatogenic failure following an autosomal-recessive mode of inheritance. Considering the small size of the SPO16 gene (558 bp) and, therefore, less prone to be mutated, screening larger cohorts will likely be required to identify the first human male SPO16 case. This work was supported by the DFG Clinical Research Unit 326 ‚Male Germ Cells‘.



Einfluss von Antispermien-Antikörpern (ASA) im Ejakulat auf die klinische Schwangerschaftsrate bei einer in vitro Fertilisation (IVF)-Behandlung

T. Trapphoff¹, S. Hirschmann², S. Dieterle¹

¹Kinderwunschzentrum Dortmund (DEU); ²Universität Witten/Herdecke (DEU)

Antispermien-Antikörper (ASA) im Ejakulat werden mit Störungen der Spermienkapazitation und Akrosomenreaktion, der Spermien-Eizellbindung, höherem oxidativen Stress und höherer DNA-Fragmentierung in Verbindung gebracht. Derzeit ist unklar, ob der Nachweis von ASA im Ejakulat einen Einfluss auf die Ergebnisse bei einer in vitro Fertilisation (IVF)-Behandlung hat. Studien deuten darauf hin, dass es keinen Zusammenhang zwischen hohen ASA-Werten im Ejakulat und niedrigeren Schwangerschaftsraten nach einer IVF-Behandlung gibt, während andere Studien widersprüchliche Daten zeigen. In dieser retrospektiven Studie wurde ein möglicher Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein von ASA im Ejakulat und der klinischen Schwangerschaftsrate pro Eizellenentnahme bei einer IVF-Behandlung untersucht.

Für die retrospektive Datenanalyse wurden 4291 IVF-Behandlungen des Kinderwunschzentrums Dortmund aus den Jahren 2015-2020 eingeschlossen. Es wurde nur die erste IVF-Behandlung pro Patientin berücksichtigt. Der Nachweis von ASA im Ejakulat erfolgte bei allen Patienten routinemäßig durch den mixed antiglobulin reaction (MAR)-Test. Bei einer Spermienagglutination $\geq 50\%$ wurde der Patient als ASA-positiv gewertet. Die Patientenkohorte wurde in eine Kontrollgruppe (MAR Test: $< 50\%$ Spermienagglutination) und eine Studiengruppe (MAR Test: $\geq 50\%$ Spermienagglutination) eingeteilt. Der primäre Endpunkt war die klinische Schwangerschaftsrate pro Eizellentnahme. Sekundäre Endpunkte waren die Befruchtungsrate, Lebendgeburtenrate und das vollständige Fertilisationsversagen. Die statistische Analyse wurde mit dem Fishers Exact-Test, dem T-Test und dem Mann-Whitney-U-Test durchgeführt. In dieser Studie wurden p-Werte als deskriptiv und statistisch signifikant für p-Werte $< 0,05$ angesehen.

In die Studiengruppe wurden 159 IVF-Zyklen mit Nachweis von ASA im Ejakulat und einer Spermienagglutination $\geq 50\%$ eingeschlossen, während die Kontrollgruppe aus 4132 IVF-Zyklen mit einer Spermienagglutination unter 50% im Ejakulat bestand. Es gab keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich Durchschnittsalter und BMI zwischen beiden Gruppen. Die Anzahl der Eizellen pro Eizellenentnahme war nicht unterschiedlich zwischen der Studiengruppe (MW 7,9 \pm 2,6 Standardabweichung) und Kontrollgruppe (MW 8,1 \pm 2,2 Standardabweichung). Die Befruchtungsrate war in beiden Gruppen vergleichbar (Studiengruppe: 51 %; CI.95: 43,2–58,7 % vs. Kontrollgruppe: 49,3 %; CI.95: 47,7–50,8 %; p-Wert: 0,65). Die durchschnittliche Anzahl an Tag 3 bzw. Tag 5 Embryonentransferen war in beiden Gruppen nicht unterschiedlich. Die Rate an vollständigem Fertilisationsversagen in der ASA-positiven Gruppe (15 %; CI.95: 9,4–20,5 %) war vergleichbar zur ASA-negativen Gruppe (10,5 %; CI.95: 9,6–11,4 %; p-Wert: 0,08). Die klinische Schwangerschaftsrate (Studiengruppe: 46,5 %; CI.95: 38,7–54,2 % vs. Kontrollgruppe: 38,7 %; CI.95: 37,2–40,2 %; p-Wert: 0,04) und Lebendgeburtenrate (Studiengruppe: 42,1 %; CI.95: 34,4–49,7 % vs. Kontrollgruppe: 33,6 %; CI.95: 32,2–35,1 %; p-Wert: 0,03) waren in der ASA-positiven Gruppe höher als in der ASA-negativen Gruppe.

Bei Patienten, die sich einer IVF-Behandlung unterzogen, waren die Befruchtungsrate und Rate an vollständigem Fertilisationsversagen nicht signifikant unterschiedlich zwischen der Kontroll- und Studiengruppe, wobei die klinische Schwangerschaftsrate und Lebendgeburtenrate in der ASA-positiven Gruppe höher als in der ASA-negativen Gruppe war. Die Ergebnisse zeigen, dass das Vorhandensein von ASA im Ejakulat mit einer Spermienagglutination $\geq 50\%$ die Erfolgsraten bei einer IVF-Behandlung insgesamt nicht negativ beeinträchtigt.



Session 1 • Hoden und Spermien

PO 1.2



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

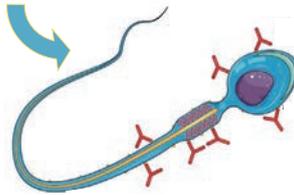
Einfluss von Antispermien-Antikörpern (ASA) im Ejakulat auf die klinische Schwangerschaftsrate bei einer *in vitro* Fertilisation (IVF)-Behandlung

Tom Trapphoff (Kinderwunschzentrum Dortmund)
Sophia Hirschmann (Universität Witten/Herdecke)*
Stefan Dieterle (Kinderwunschzentrum Dortmund)

Einleitung:

Antispermien-Antikörper (ASA) im Ejakulat (e.g., durch Störungen der Blut-Hoden-Schranke, Traumata, Prostatitis und Orchitis)

(modifiziert nach mycro-appointment.com
* Aktuelle Promotionsarbeit (vorläufige
Datenwertung)



ASA im Ejakulat korrelieren mit Störungen:

- Spermienkapazitation
- Akrosomenreaktion
- Spermien-Eizellbindung
- Oxidativer Stress
- DNA-Fragmentierung

Ausgangslage und Fragestellung:

- IVF Behandlung bei ASA im Ejakulat erfolgversprechend? (oder gleich Indikation für ICSI Behandlung?)
- Aktuelle Datenlage kontrovers

Frage: Einfluss von ASA im Ejakulat auf klinische SS-Rate nach IVF Behandlung?



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Material und Methoden:

- Retrospektive Datenanalyse (2015-2020 KWZ Dortmund)
- 4291 IVF Behandlungen (nur erster Zyklus)
- ASA Nachweis durch *mixed antiglobulin reaction* (MAR)-Test
- Kontrollgruppe (MAR Test: <50% Spermienagglutination = MAR-negativ)
- Studiengruppe (MAR Test: ≥50% Spermienagglutination = MAR-positiv)
- Primärer Endpunkt: klinische Schwangerschaftsrate pro Eizellentnahme (mit Nachweis von verwendungsfähigen Eizellen)
- Sekundäre Endpunkte: Befruchtungsrate, Lebendgeburtenrate, vollständiges Fertilisationsversagen
- (deskriptive) Statistik: Fishers Exact-Test, T-Test, Mann-Whitney-U-Test (signifikant für p-Werte <0,05)



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Ergebnisse:

Basisparameter (BMI, Alter, ET Tag, Anzahl transferierte Embryonen) nicht unterschiedlich zwischen Kontroll- und Studiengruppe

	Kontrollgruppe (MAR-negativ)	Studiengruppe (MAR-positiv)	p-Wert
Follikelpunktionen	n= 4132	n=159	-
Befruchtungsrate (2PN/gewonnene EZ)	49,3 % CI.95: 47,7–50,8 %	51 % CI.95: 43,2–58,7	n.s.
Vollständiges Fertilisationsversagen (≤0 2PN/FP)	10,5 % CI.95: 9,6–11,4	15 % CI.95: 9,4–20,5 %	n.s.
Klinische SS-Rate pro FP	38,7 % CI.95: 37,2–40,2 %	46,5 % CI.95: 38,7–54,2 %	p=0,04
Lebendgeburtenrate pro FP	33,6 % CI.95: 32,2–35,1 %	42,1 % CI.95: 34,4–49,7 %	p=0,03

Diskussion und Schlussfolgerungen:

- Befruchtungsrate und Rate an Fertilisationsversagern (obwohl leicht erhöht) nicht signifikant unterschiedlich
- Vorhandensein von ASA im Ejakulat (Spermienagglutination ≥50%) beeinträchtigt die Erfolgsraten bei einer IVF Behandlung insgesamt nicht negativ
- ASA im Ejakulat = direkte Indikation für ICSI Behandlung
- Einschränkungen: Datenanalyse retrospektiv und Stichprobengröße in Studiengruppe gering



BRD9 inhibition as potential treatment option for testicular germ cell tumors

A. Hansen¹, K. Funke¹, L. Arévalo¹, H. Schorle¹

¹University Hospital Bonn (DEU), Department of Developmental Pathology, Institute of Pathology

Testicular germ cell tumors (TGCT) represent the most common tumor in young men. While curation rates are high, 15-20 % of patients with metastatic non-seminomas develop resistance to chemotherapy. In prostate cancer, glioblastoma and breast cancer using inhibitors of BET proteins (BRDT, BRD2, BRD3 and BRD4) interfering with the epigenetic landscape was already shown to be effective. The bromodomain protein BRD9 is an epigenetic reader modulating gene expression by recruiting transcription factors. BRD9, a member of the SWI/SNF chromatin remodeling complex, showed significantly increased protein levels in acute myeloid leukemia (AML) cells, overexpression in cervical cancer and high expression in malignant rhabdoid tumor (MRT) cells.

BRD9 expression in TGCT cell lines was determined by meta-analysis of microarray data and on protein level by Western Blot. XTT-assay was performed to evaluate the impact of I-BRD9 treatment on viability of cells. Cell cycle arrest as well as apoptosis rate were analyzed by FACS after 24 and 48 hours of treatment with I-BRD9. 3'mRNA-sequencing was performed after 24 and 48 hours of I-BRD9 treatment to determine differentially expressed genes caused by inhibition of BRD9.

TGCT cell lines showed strong decrease in viability after treatment with I-BRD9 whereas the control cell line was hardly affected. FACS analysis revealed increased apoptosis and cell cycle arrest in G1-phase in TGCT cells treated with I-BRD9. Analysis of 3'mRNA-sequencing data showed downregulation of pluripotency markers such as NANOG and KLF4 in TGCT cell lines after 24 and 72 hours of I-BRD9 treatment. Inhibition of BRD9 led to exit of pluripotency and upregulation of genes associated with neuronal differentiation.

I-BRD9 strongly reduces viability, initiates cell cycle arrest and apoptosis in TGCT cells while control cells remain mostly unaffected. Further, transcriptomic data indicate exit of pluripotency and differentiation towards the neuronal fate. The data suggest I-BRD9 as an effective treatment option for TGCTs, especially in the situation of cisplatin resistance.



Session 1 • Hoden und Spermien

PO 1.3



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

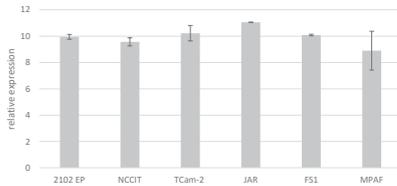
BRD9 inhibition as potential treatment option for testicular germ cell tumors

Aylin Hansen, Kai Funke, Lena Arévalo and Hubert Schorle
Department of Developmental Pathology, Institute of Pathology, University Hospital Bonn, Germany

Testicular germ cell tumors

- » Most prevalent tumor in young men (15-35 years)
- » High curation rates of 95 %
- » 15-20 % resistant to the treatment

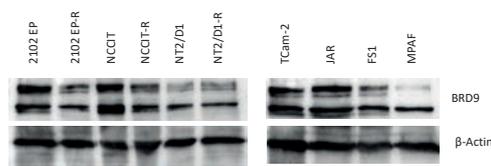
➔ Investigation of alternative treatment options like epigenetic drugs



Bromodomain-containing protein 9 (BRD9)

- » BRD9 is overexpressed in many different malignant cancer types
- » component of chromatin remodelling complex

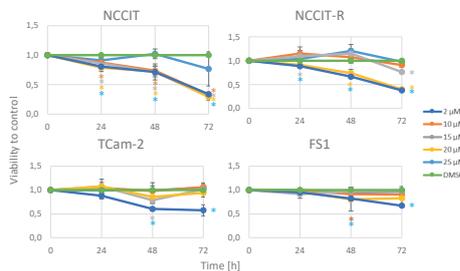
➔ Investigation of BRD9 inhibitor I-BRD9 in TGCT cell lines



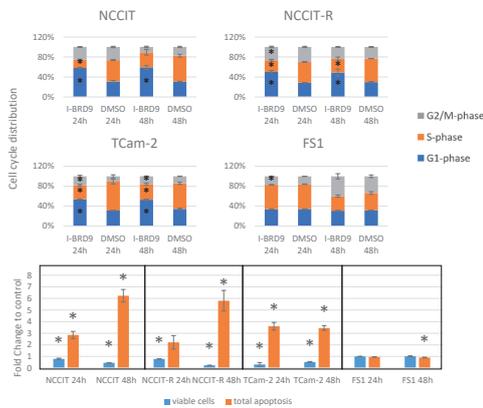
10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Viability assay



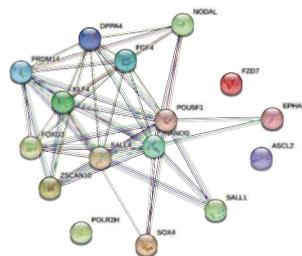
Cell cycle analysis and apoptosis



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

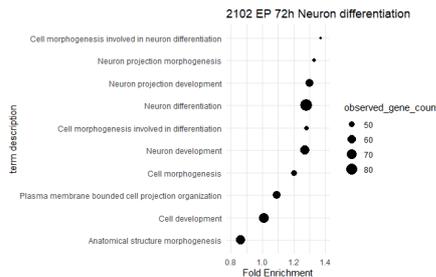
Transcriptome analysis



Discussion:

- » I-BRD9 leads to reduction of viability, induction of apoptosis and G1 cell cycle arrest
- » Exit of pluripotency and induction of neuronal differentiation

➔ BRD9 inhibitor possible alternative treatment option for TGCTs





Elucidating the interplay of M1AP and the ZZS components in male meiosis

N. Rotte¹, P. Hauser¹, B. Stallmeyer¹, S. Kliesch², F. Tüttelmann¹, C. Friedrich¹

¹Universität Münster (DEU), Institut für Reproduktionsgenetik;

²Universitätsklinikum Münster (DEU), Centrum für Reproduktionsmedizin und Andrologie

Meiosis is a crucial step in spermatogenesis and the basis of genetic diversity through homologous recombination and the formation of haploid gametes. Disturbances can lead to meiotic arrest and infertility. In 2020, we described genetic variants in M1AP, encoding meiosis 1 associated protein, causing severely impaired spermatogenesis. In a recent mouse study, M1AP was identified as part of the highly conserved ZZS complex stabilising recombination intermediates. In humans, this complex is built by SHOC1, SPO16, and TEX11, but the contribution of M1AP to ZZS complex function is unknown. Thus, we aimed to compare men with loss-of-function (LoF) variants in the ZZS genes with men expressing a disturbed M1AP protein. For this, detailed histological phenotyping of human testicular tissue was combined with in vitro interaction studies.

Exome data of our Male Reproductive Genomics (MERGE) cohort including >2,400 men, mainly affected by crypto- or azoospermia, was screened for bi-allelic rare (minor allele frequency, MAF <0.01, gnomAD) LoF variants in M1AP, SHOC1, SPO16, or hemizygous rare (MAF <0.001, gnomAD) LoF variants in TEX11. Testicular phenotypes were assessed by PAS, γ H2AX, H3S10p, TUNEL, and CREM staining. Putative protein-protein interaction was analysed by in vitro co-immunoprecipitation.

We identified nine azoospermic and four cryptozoospermic men with homozygous LoF variants in M1AP. Besides, two men with bi-allelic LoF variants in SHOC1, and nine men with hemizygous LoF variants in TEX11 were detected, sharing azoospermia and severe spermatogenic failure. So far, no case with bi-allelic LoF variants in SPO16 was determined. Further testicular phenotyping was only possible for M1AP (N = 7) and TEX11 cases (N = 4) due to the limited material. A broad phenotypic spectrum was observed: TUNEL assay showed significantly increased apoptosis in all cases. Analysis of prophase I progression by γ H2AX staining in TEX11 men indicated meiotic arrest at the zygotene level. In contrast, M1AP disturbance was accompanied by prophase I completion and the presence of intact H3S10p positive / γ H2AX negative metaphase I cells, hinting towards a metaphase I arrest. However, the majority of metaphase I cells maintained γ H2AX expression and exhibited aberrant chromosomes. Specifically, equatorial plate alignment was impaired and proper segregation failed. Still, occasional cells escaped these disturbances and developed into elongated spermatids present in individual tubules. For one M1AP man, testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection (TESE-ICSI) was successful and led to the birth of a healthy child with a normal karyotype. Moreover, protein-protein interaction of human M1AP and TEX11 was demonstrated by co-immunoprecipitation.

Our data support the hypothesis of an interplay between M1AP and TEX11 in humans. However, disturbance of TEX11 corresponds to a more severe phenotype, namely azoospermia due to complete meiotic arrest. On the contrary, genetic variants in M1AP are associated with crypto- or azoospermia and a TESE success of 27%. Thus, we propose a rather supporting role of M1AP for the human ZZS complex. Ongoing experiments include validation of these findings in situ and co-immunoprecipitation of M1AP with SHOC1 or SPO16. This work was supported by the DFG Clinical Research Unit 326 'Male Germ Cells'.



Session 1 • Hoden und Spermien

PO 1.5

Die Motilität der Spermien aus dem Hodengewebe hat einen Einfluss auf die Erfolgsraten einer TESE-ICSI

T. Pock¹, K. Fechtmann¹, E. Plester¹, T. Sperlbaum², H. M. Behre², S. Kliesch¹, V. Nordhoff¹

¹Universitätsklinikum Münster (DEU), Abteilung für Klinische und Operative Andrologie;

²Universitätsklinikum Münster (DEU), Kinderwunschzentrum UKM

Eine testikuläre Spermienextraktion (TESE) mit anschließender intrazytoplasmatischer Spermieninjektion (ICSI) ist für jedes IVF-Labor eine Herausforderung. Insbesondere bei Vorliegen einer nicht-obstruktiven Azoospermie, bei der aufgrund einer primären Hodenschädigung nur wenige und überwiegend immotile Spermien verfügbar sind. Der Erfolg der TESE-ICSI hängt in hohem Maß von dem Aufbereitungsverfahren, einer guten Selektion der Spermien mit häufig eingeschränkter morphologischer Qualität, oder der Verwendung besonderer Behandlungstechniken, wie z.B. dem Laser-Test zur Identifikation von vitalen, aber immotilen Spermien, oder der Zugabe von Motilitätsinduktoren ab. Daher sind die Anforderungen an die fachliche Kompetenz und Fertigkeiten des IVF Laborteams bei der Durchführung der TESE-ICSI hoch.

Es wurden insgesamt 360 TESE-ICSI Zyklen der Jahre 2019 bis 2022 identifiziert, in denen mindestens eine Eizelle gewonnen werden konnte. Die Aufbereitung der TESE-Proben erfolgte bei guten Ausgangswerten mechanisch, bei eingeschränkter Qualität der Proben ausschließlich mittels Collagenaseverdau. Zur Detektion der Vitalität wurden immotile Spermien einem Lasertest unterzogen. Für die weitere Analyse wurden die 360 Zyklen in drei Gruppen unterteilt. In der ersten Gruppe (G1; n=230) wurde mindestens ein bewegliches Spermium am Tag der ICSI gefunden und alle Eizellen entweder nur mit motilen, oder mit motilen und lasertesteten immotilen Spermien injiziert. In Gruppe 2 (G2; n=125) konnten nur immotile Spermien gefunden, mit dem Laser auf Vitalität getestet und für die ICSI verwendet werden. Bei fünf Paaren konnten am Tag der ICSI keine Spermien gefunden (G3; n=5) und somit keine Injektion durchgeführt werden. Zusätzlich wurden alle embryologischen und weiteren klinischen Daten für die Auswertung der Erfolgsraten erhoben.

Die durchschnittliche Eizellanzahl war in allen Gruppen mit 10-12 Eizellen ähnlich. Während in G1 die Befruchtungsrate bei 56,8% lag, wurde in G2 nur eine Rate von 27,2% erreicht. In G1 kam es in 3,9% der Fälle zu keiner Befruchtung, während in G2 bei 21,6% kein Vorkernstadium zu beobachten war. Die Transferrate lag bei 82,6% (G1) und 59,2% (G2), wobei eine inadäquate Entwicklung der Embryonen bis Tag 5 der häufigste Grund für nicht durchgeführte Transfers war. Die Spermien suchzeiten nahmen stetig zu: so lag die mittlere Suchzeit bei $45,3 \pm 36,3$ min in G1, bei $82,6 \pm 48,1$ min in G2 und in der dritten Gruppe waren es $103,0 \pm 30,4$ min. Die klinische Schwangerschaftsrate lag bei 28,9% in G1 und bei 10,8% in G2.

Paare, bei denen nicht für alle Eizellen motile Spermien vorhanden sind, profitieren von der Lasertestung der immotilen Spermien und haben ähnliche Erfolgsraten wie mit einer ICSI aus Nativejakulat (31,3%; DIR 2021). Die langen Suchzeiten bei den Paaren mit ausschließlich immotilen Spermien zeigen jedoch, wie hoch der Aufwand für dieses Patientenkollektiv ist. Auch wenn die Befruchtungs- und Schwangerschaftsraten bei Immotilität der Spermien geringer sind, stellt die TESE-ICSI für diese Paare weiterhin eine wichtige Option und oft die einzige homologe Therapie im Bereich der assistierten Reproduktion dar.



Session 1 • Hoden und Spermien

P0 1.5



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Die Motilität der Spermien aus dem Hodengewebe hat einen Einfluss auf die Erfolgsraten einer TESE-ICSI

T. Pock¹, K. Fechtmann¹, E. Plester¹, T. Sperlbaum², H.M. Behre², S. Kliesch¹, V. Nordhoff¹
¹Centrum für Reproduktionsmedizin und Andrologie, Abteilung für Klinische und Operative Andrologie, Universitätsklinikum Münster, Münster
²Kinderwunschzentrum, Universitätsklinikum Münster, Münster

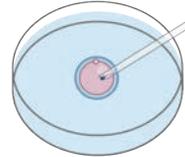
Im Fall einer Azoospermie ist die Durchführung einer testikuläre Spermienextraktion (TESE) der einzige Weg, um im Rahmen einer assistierten Reproduktions-Therapie genügend Spermien für eine intrazytoplasmatische Spermieninjektion (ICSI) zu erhalten.

Wichtig für eine erfolgreiche TESE-ICSI Behandlung:

- Art der TESE-Aufbereitung (mechanisch/enzymatisch)
- Identifikation motiler Spermien
- Identifikation vitaler Spermien (z.B. Lastertestung oder Motilitätsinduktoren)

Welche Rolle spielt die Motilität der Spermien bei den Befruchtungsrate im Rahmen einer TESE-ICSI Behandlung? Spiegeln sich lange Suchzeiten und der personelle Aufwand des IVF-Labors im Endergebnis wieder?

**ICSI
 Intrazytoplasmatische
 Spermieninjektion**

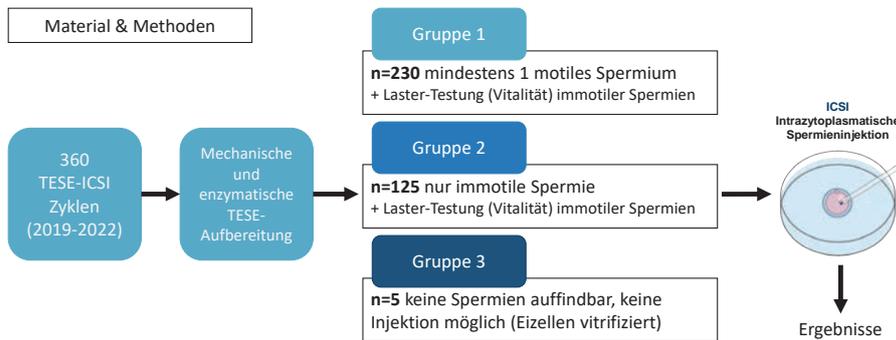


Poster zu Abstract: Die Motilität der Spermien aus dem Hodengewebe hat einen Einfluss auf die Erfolgsraten einer TESE-ICSI | T. Pock, K. Fechtmann, E. Plester, T. Sperlbaum, H.M. Behre, S. Kliesch, V. Nordhoff



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn



Poster zu Abstract: Die Motilität der Spermien aus dem Hodengewebe hat einen Einfluss auf die Erfolgsraten einer TESE-ICSI | T. Pock, K. Fechtmann, E. Plester, T. Sperlbaum, H.M. Behre, S. Kliesch, V. Nordhoff



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Ergebnis & Fazit

- Gruppe 1**
 n=230 mindestens 1 motiles Spermium
 + Lastertestung (Vitalität) immotiler Spermien
- Gruppe 2**
 n=125 nur immotile Spermien
 + Lastertestung (Vitalität) immotiler Spermien
- Gruppe 3**
 n=5 keine Spermien auffindbar, keine
 Injektion möglich (Eizellen vitrifiziert)

Befruchtungsrate: 56,8 % Keine Befruchtung: 3,9 %
 Spermien suchzeit: 45,3 min Embryotransfer-Rate: 82,6 %

Klinische Schwangerschaftsrate 28,9%
 Entspricht annähernd der Erfolgsrate bei nativem Ejakulat

Befruchtungsrate: 27,2 % Keine Befruchtung: 21,6 %
 Spermien suchzeit: 82,6 min Embryotransfer-Rate: 59,2 %

Klinische Schwangerschaftsrate 10,8%
 Hoher Aufwand, verminderte Erfolgsraten, aber eine Chance auf Erfolg gegeben

Spermien suchzeit: 103,0 min

Poster zu Abstract: Die Motilität der Spermien aus dem Hodengewebe hat einen Einfluss auf die Erfolgsraten einer TESE-ICSI | T. Pock, K. Fechtmann, E. Plester, T. Sperlbaum, H.M. Behre, S. Kliesch, V. Nordhoff



Tertiary lymphoid organs develop in the cauda epididymidis following infection with uropathogenic *Escherichia coli*

H. Hasan¹, C. Pleuger¹, S. Bhushan¹, D. Ai¹, W. Peng¹, E. Wahle¹, K. L. Loveland², A. Meinhardt¹, M. P. Hedger², M. Fijak¹

¹Justus-Liebig-Universität Gießen (DEU), Department of Anatomy and Cell Biology;

²Hudson Institute of Medical Research Clayton (AUS), Centre for Reproductive Health

Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) is a pathogen commonly isolated from male urogenital tract infections, including epididymitis. In human and mouse models, the cauda epididymidis is predominantly affected. We report here for the first time the detection of tertiary lymphoid organs (TLO) in the mouse cauda epididymidis after infection with UPEC.

Following ligation of the vas deferens in C57BL/6J mice, either PBS (sham control) or UPEC (strain CFT073) were bilaterally injected into the vas deferens. Mice were sacrificed 1, 3, 5, 10, 14, 18, 21 and 28 days (n=3 - 5 animals per time point) after infection. Immunofluorescence was utilized as a main tool to localize and visualize different cell types and mediators responsible for TLO formation, organization and maintenance. The expression of TLO mediators and chemokines was analyzed by qPCR. To monitor and quantify B cell presence in normal and infected cauda epididymidis, flow cytometry was employed.

Our results show elevated mRNA expression of the TNF/lymphotoxin (LT) ligand-receptor family members, which play critical roles in high endothelial venule formation. Determination of the mRNA expression of the TLO associated chemokine ligands Cxcl13, Ccl19 and Ccl21 in the cauda epididymidis revealed significantly elevated expression (~80-, 30-, 70-fold, respectively) 14 days post-infection (p.i.). Immunofluorescence examination showed distinct organized zones of B and T cells, high endothelial venules, proliferating B cells as well as isotype-switched plasma cells from day 14 p.i. The presence of isotype switched B cells was confirmed by flow cytometric analysis. These changes were not detected in the caput or corpus of UPEC infected epididymis.

The occurrence of TLO in inflamed epididymidis is previously unrecognized and was demonstrated by characteristic TLO-associated features and critical mediators. Therefore, in acute bacterial infection, the epididymidis harbors an ectopic lymphoid organ that we assume may control not only local adaptive B cell responses but also the cellular composition and function of other epididymal immune cells.



Session 1 • Hoden und Spermien

PO 1.6



10. DVR KONGRESS

JUSTUS-LIEBIG-UNIVERSITÄT GIESSEN

Molecular Pathogenesis of Male Reproductive Diseases IRTB

MONASH University

20. – 22. September 2023
WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

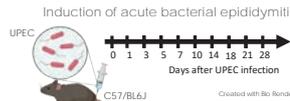
Tertiary lymphoid organs develop in the cauda epididymidis following infection with uropathogenic *Escherichia coli*

Hasan Hiba¹, Pleuger Christiane¹, Bhushan Suchanshu¹, Ai Dingding¹, Peng Wei¹, Wahle Eva¹, Loveland Kate L.^{2,3}, Meinhardt Andreas^{1,2}, Hedger Mark P.^{2,3}, Fijak Monika¹
¹Department of Anatomy and Cell Biology, Justus Liebig University of Giessen, Aulweg 123, 35392 Giessen, Germany ²Centre for Reproductive Health, Hudson Institute of Medical Research, Clayton, Australia ³Department of Molecular & Translational Sciences, Monash University, Clayton, Australia

Male urinary tract infections (UTI) are linked to impaired reproductive function.

Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC):

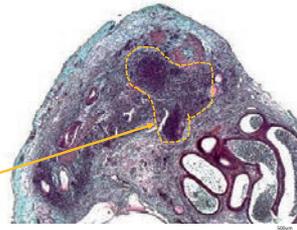
- causative agent in more than 60% of UTIs,
- a prevalent infection with potentially severe complications,
- 44% of patients experience isolated pain in the cauda epididymidis,
- 40% of patients have impaired fertility



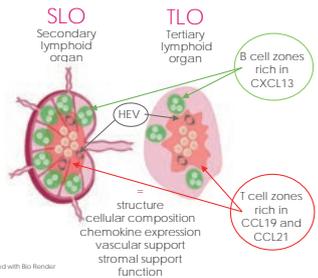
After infection, fundamentally disparate immune responses and associated immunopathologies were observed in different epididymal regions.

Cauda epididymidis is the site where structures resembling lymph nodes were found after infection with UPEC.

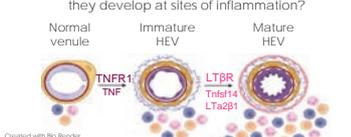
Cauda epididymidis 28 day post-UPEC infection



What are the structures that resemble lymph nodes and develop at sites of inflammation?

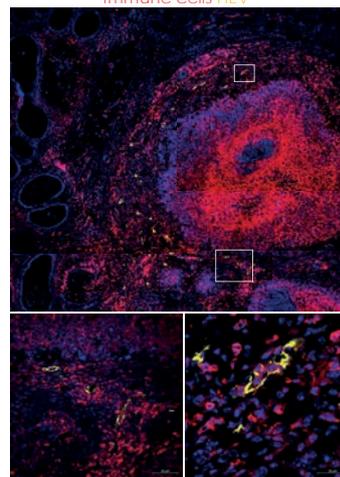
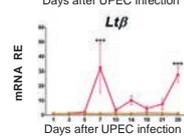
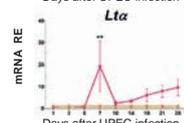
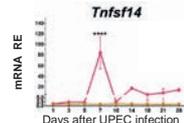
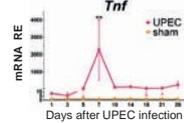


What are high endothelial venules (HEV) and how do they develop at sites of inflammation?



- Portals specially adapted for trafficking of massive amounts of lymphocytes.
- Develop postnatally in non-lymphoid organs during chronic inflammation

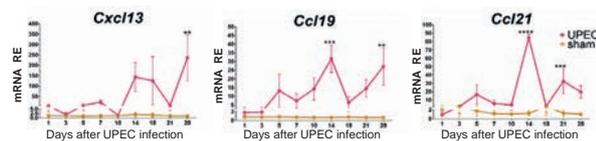
Gene expression of mediators essential for HEV formation and maturation is increased after UPEC infection in the cauda epididymidis



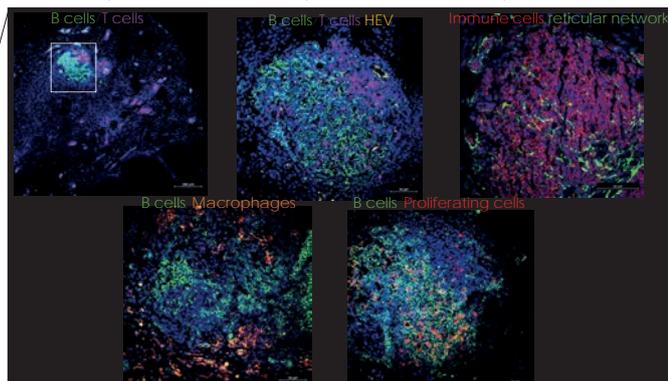
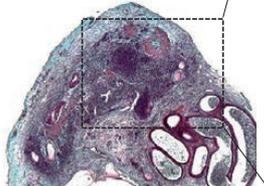
Cauda epididymidis 14 days post UPEC-infection

UPEC-infected cauda epididymidis shows the presence of multiple TLO components

Altogether, our preliminary data show that several players and mediators associated with TLO are present in the cauda epididymidis following UPEC infection



Cauda epididymidis 28 days post UPEC-infection





Cylicins: a structural component of the sperm calyx indispensable for male fertility in mice and human

A. Kovacevic¹, S. Schneider², M. Mayer³, A.-K. Dicke⁴, L. Arevalo¹, S. A. Koser⁴, S. Young⁵, C. Brenker⁵, S. Kliesch⁵, G. Kirfel⁶, T. Strünker⁵, F. Tüttelmann⁴, H. Schorle¹

¹Universitätsklinikum Bonn (DEU), Institut für Pathologie;

²University of Bonn (DEU), Bonn Technology Campus, Core Facility "Gene-Editing";

³University of Bonn (DEU), Life and Medical Sciences Institute, Department for Immunology and Environment;

⁴University of Münster (DEU), Institute of Reproductive Genetics;

⁵University Hospital Münster (DEU), Centre of Reproductive Medicine and Andrology;

⁶University of Bonn (DEU), Institute for Cell Biology

The postacrosomal calyx of the sperm contains cytoskeletal proteins such as Cylicins. There are two Cylicins in mammals: X-linked Cylicin 1 and autosomal Cylicin 2. Cylicins are characterized by repetitive, lysine-rich tripeptides and are actin binding proteins that serve as cytoskeletal regulators in the acrosomal region of round spermatids and the postacrosomal region of mature sperm. However, the precise role of Cylicins remains to be elucidated.

In order to study the function of Cylicins, we established Cylc1 and Cylc2 mouse lines using CRISPR/CAS9 gene editing. Furthermore, these lines were combined to obtain Cylc1/2 double deficient mouse line, in order to study the effect of combined deficiency. Adult male mice were mated with wild type females for fertility analysis. Detailed morphological analysis of testicular tissues as well as mature sperm was performed.

While Cylc1-/Y males are subfertile, with epididymal sperm number and vitality unaltered, male Cylc2-/-, Cylc1-/Y Cylc2+/- and Cylc1-/Y Cylc2-/- mice are sterile, with severely reduced epididymal sperm count. Detailed morphological analysis of the sperm revealed that Cylc2 deficiency causes coiling of the flagellum and its wrapping around the sperm head, defects in the calyx portion of PT, acrosome detachment from the nuclear envelope and retention of the cytoplasmic residue. Consequently, Cylc2 deficient sperm displayed reduced motility. Interestingly, Cylc1-/Y Cylc2+/- males show a similar phenotype suggesting that Cylicins compensate for each other and two alleles of Cylicins are required for proper sperm function. Severe morphological anomalies were observed in Cylc1-/Y Cylc2-/- spermatozoa. α -tubulin and HOOK1 staining showed that the manchette of Cylc2-/-, Cylc1-/Y Cylc2+/- and Cylc1-/Y Cylc2-/- spermatids assembles properly but elongates excessively and fails to be dissolved during the maturation of the cells. Localization of other calyx specific proteins such as Calicin and actin-capping protein 3 was altered in Cylc deficient sperm cells, suggesting that Cylicins might be indispensable for proper calyx organization. Interestingly, whole exome sequencing revealed the presence of variants in both Cylc1 and Cylc2 genes in one infertile patient. Close inspection of semen samples showed that morphological anomalies of the sperm observed in mice, such as wrapping of the tail, acrosome detachment and loss of calyx structure are similarly present in human.

Due to the expression pattern and the phenotype of the Cylicin deficient mice, we speculate that Cylicins are required for the integrity of PT during spermiogenesis and in mature sperm and are thus necessary for structural stability of the head-midpiece junction and localization of the acrosome.



Session 1 • Hoden und Spermien

PO 1.9

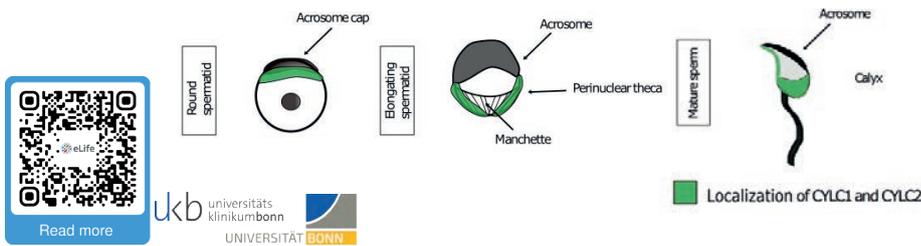


10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

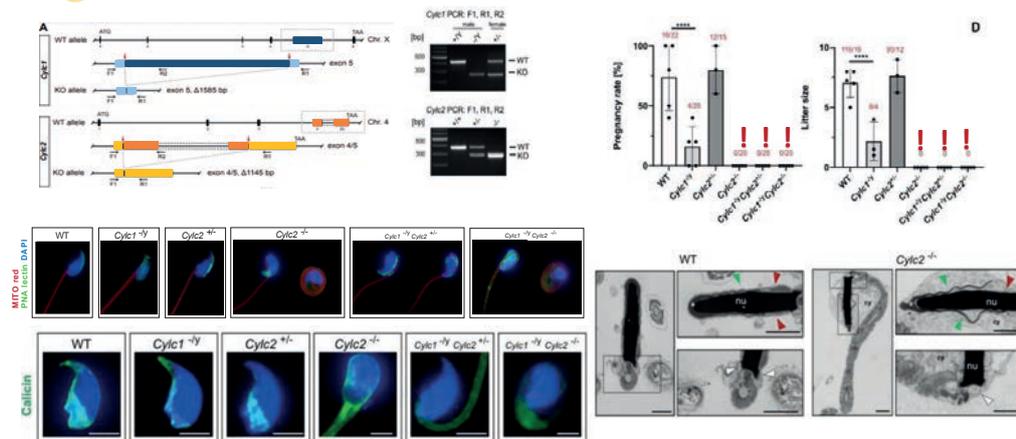
Cylicins: a structural component of the sperm calyx indispensable for male fertility in mice and human

Andiela Kovacevic, Simon Schneider, Michelle Mayer, Ann-Kristin Dicke, Lena Arévalo, Samuel Young, Sophie Koser, Frank Tüttelmann, Timo Strünker, Gregor Kirfel, and Hubert Schorle



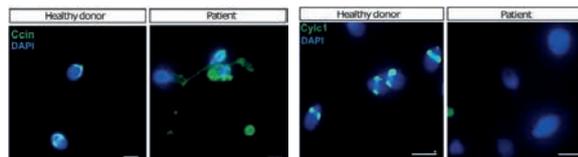
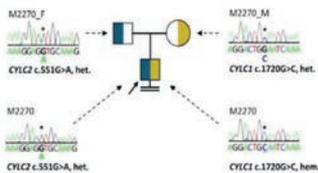
10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

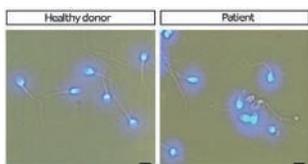


10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn



9% motile sperm
1% morphologically normal sperm cells
ICSI: 17 out of 18 oocytes fertilized but no pregnancy occurred



Take home message...

- Cylicins are sperm cytoskeletal regulators required for normal sperm morphology
- Male mice lacking 2 or 3 functional *Cyloc* alleles are infertile
- Loss of Cylicins in human leads to male infertility as well



Pregnancy after intracytoplasmatic injection of acephalic spermatozoon

C. Ori¹, D. Makri¹, M. Franz¹, H. Bralo¹, J. Marcon², S. Mahner¹, V. von Schönfeldt¹, C. J. Thaler¹

¹LMU Klinikum (DEU), Hormon- & Kinderwunschzentrum der LMU;

²LMU Klinikum (DEU), Urologische Klinik und Poliklinik

Teratozoospermia is characterized by the presence of sperm with abnormal morphology that affects their size and shape, including alterations on the head, midpieces or tails. These abnormalities disrupt the ability of spermatozoa to progressively move forward and/or fertilize the oocyte leading to male infertility. The causes of teratozoospermia are mostly unknown; however, genetics, chronic diseases, and infections, as well as lifestyle and medication include some of the factors linked to this condition. Acephalic spermatozoa syndrome (ASS) constitutes a rare severe type of teratozoospermia with genetic origin, where the semen is composed of predominantly headless spermatozoa. Various genetic alterations associated with ASS have been identified thanks to the development of whole-exome and Sanger sequencing technologies, with SUN5 being the first gene identified in 2016 as disease-causing for ASS.

A couple of 34 (f) and 43 (m) years of age presented in our clinic after 3 failed ICSI attempts elsewhere with either complete or partial fertilization failure due to severe teratozoospermia. Upon semen analysis, we found only headless spermatozoa with rarely found detached heads. On current ICSI cycle, ovarian stimulation was performed using an agonist protocol. After ovulation induction and by using transvaginal follicle aspiration 4 oocytes were retrieved, of which 3 were mature (MII). Fresh semen was processed with a microfluidic-based device. We observed that almost 100% of spermatozoa either presented as “pinheads” or had residual cytoplasmic droplet instead of a head. After intensive examination of the sample, we identified extremely rare heads separated from the tails, but still attached next to them in a structure reminding of excess residual cytoplasm. Those were used for ICSI.

One MII was regularly fertilized – with 2 pronuclei (2PN) and a second polar body, one remained unfertilized and the third one was degenerated. The embryo was cultured for 3 days exhibiting regular blastomere divisions and classified as EEVA positive. On day 3, the embryo was successfully transferred into the uterus and 14 days later, serum - hCG was 835 IU/L. At 5+6 weeks of gestation, a positive intrauterine embryo with positive heart beat was documented by transvaginal ultrasound. Currently, the pregnancy is at 10+2 weeks of gestation with normal development.

ICSI provides a potent and promising treatment for couples suffering from acephalic spermatozoa-related male infertility conditions. However, due to the specimen's phenotypic similarity to ASS syndrome, as well as the plethora of different genetic mutations identified in infertile men with ASS among which are several “variants of unknown severity” (VUS), we strongly advised for detailed genetic analysis with the results currently pending.



Session 1 • Hoden und Spermien

PO 1.11

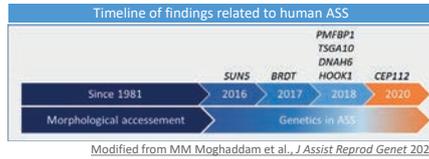
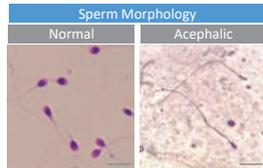
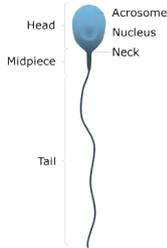


10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

“Pregnancy after intracytoplasmatic injection of acephalic spermatozoon”

C. Ori, D. Makri, M. Franz, H. Bralo, J. Marcon, V. v. Schönfeldt and C. J. Thaler



- ART is the only method to achieve pregnancy
- Head-tail separation in testis or epididymis
- Genetic origin of ASS - sperm head-tail junction integrity
- Pathogenicity of more variants is pending
- Risk of children with congenital malformations?
e.g. one child was born with left ear dysplasia & mild hearing loss (1/3, SUN5 mut)
(Moghaddam et al., J Assist Reprod Genet 2021)

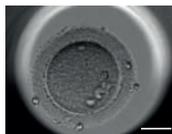


10. DVR KONGRESS

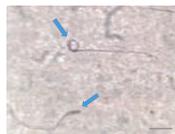
20. – 22. September 2023
WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Materials and Methods

34 y.o.
Ovarian stimulation: Agonist
Oocyte retrieval: transvaginal follicle aspiration (3x MII)



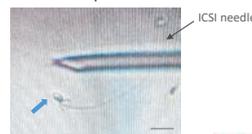
43 y.o.
*Sperm preparation: microfluidic-based device (100% irregular morphology)



*with 100% irregular sperm morphology in 2 previous spermiograms

Cytogenetics: karyotyping revealed normal set of male chromosomes (46, XY)
Molecular genetics: no deletion observed for the investigated loci of the AZF-region

After intensive examination of sperm prep: Spermatozoon used for ICSI

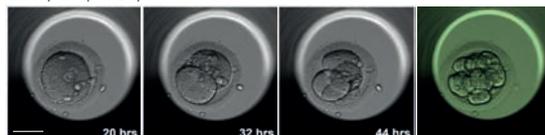


10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Results

EmbryoScope TL System



Embryo culture from day 0 to day 3



Test 14 days after transfer

5 + 6 weeks



10 + 2 weeks → On going..

Discussion and conclusions

- ICSI ideal for couples suffering from acephalic spermatozoa-related male infertility conditions
- similarity to ASS syndrome
- multiple genetic mutations found in infertile men with ASS incl., “variants of unknown severity” (VUS)
- Offspring with(out) (the) genetic defect(s)

detailed genetic analysis strongly suggested





Session 1 • Hoden und Spermien

PO 1.12

The effect of gender-affirming hormone therapy on the spermatogonial cell compartment in trans women

F. Sieg¹, K. Schiwon¹, S. Di Persio¹, F. Schneider², J. Wistuba¹, S. Kliesch¹, S. Schlatt¹, N. Neuhaus¹

¹Uniklinik Münster (DEU), Centrum für Reproduktionsmedizin und Andrologie;

²St. Franziskus-Hospital Münster (DEU)

Trans women receive gender-affirming hormone therapy (GAHT) and are offered gender-affirming surgery (GAS) to achieve transition between the sex assigned at birth and gender identity. Analyzing the impact of GAHT on testicular tissues in trans women revealed a reduction of the advanced germ cell stages, reduced numbers of MAGEA4 positive (pan spermatogonial marker) but a higher proportion of UTF1+ undifferentiated spermatogonia. These data suggest alterations not only in the numbers but also in the composition of the spermatogonial compartment. Recently, single-cell RNA sequencing studies have identified further spermatogonial subpopulations based on the expression of the marker genes PIWIL4, FGFR3, NANOS3, GFRA1 and KIT. While PIWIL4+ cells are considered to be at the origin of the germ cell differentiation process (state 0), state 1 spermatogonia are characterized by expression of GFRA1 and state 2 spermatogonia by expression of KIT. The latter spermatogonial subtypes are considered to also display the highest proliferative activity. Studies describing how these cell populations change in transwomen receiving GAHT are lacking. The aim of this study was to evaluate the alterations in the spermatogonial cell compartment, in testicular tissue sections from trans women under GAHT compared to controls.

25 age matched (mean: 28.1 yr) trans women, who underwent comparable GAHT regimens (10 or 12.5 mg cyproterone acetate and estrogens) and 8 adult men (mean: 34.5 yr) with complete spermatogenesis serving as controls were included in the study. Immunohistochemical staining was performed on one testicular tissue section per individual for the spermatogonial markers MAGEA4, UTF1, PIWIL4, FGFR3 and NANOS3, respectively. For each marker, the number of positive cells per tubular cross-section was determined in 25 round tubules per individual. In addition, the marker combinations GFRA1/MKI67/MAGEA4 and KIT/MKI67/MAGEA4 were evaluated using immunofluorescence stainings, in order to determine the proliferation rate of state 1 and state 2 spermatogonia. 400 MAGEA4+ cells per individual were quantified and the proportion of KIT+/GFRA1+ was determined. Finally, the MKI67+ cells among the KIT+/GFRA1+ cells were evaluated. Mann-Whitney U-test and Spearman correlation were used for the statistical analyses.

The total number of MAGEA4+ spermatogonia and interestingly, the proportion of PIWIL4+ spermatogonia within the MAGEA4+ spermatogonia were reduced in trans women compared to controls ($p < 0.001$). In contrast to that, the relative proportion of UTF1+, FGFR3+ and NANOS3+ spermatogonia was comparable. Regarding the trans women's age, the number of spermatogonia per tubule correlated negatively with the age at start of GAHT ($p < 0.01$) and the age on the day of GAS ($p < 0.001$). The treatment duration correlated negatively with the proportion of PIWIL4+ ($p < 0.01$) and NANOS3+ spermatogonia ($p < 0.05$). Preliminary data of the immunofluorescence stainings in trans women ($n=3$), revealed a similar ratio of KI67+ cells within reduced proportions of GFRA1+/KIT+ cells, compared to the controls.

GAHT affects the total number of spermatogonia as previously described and it seems to affect specifically the PIWIL4+ spermatogonia that are considered the most undifferentiated spermatogonia. Therefore trans women should be counseled with regard to fertility preservation options rather sooner than later following initiation of GAHT.



Session 1 • Hoden und Spermien

PO 1.12



10. DVR KONGRESS

Gerne auch Bilder / Statistiken / etc.

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Abstract title / authors:

The effect of gender-affirming hormone therapy on the spermatogonial cell compartment in trans women

F. Sieg, K. Schiwon, S. Di Persio, F. Schneider, J. Wistuba, S. Kliesch, St. Schlatt, N. Neuhaus

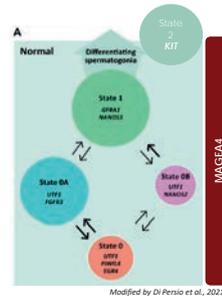
Introduction:

-> Gender-affirming hormone therapy (GAHT) and gender-affirming surgery (GAS) are provided to trans women

-> Single-cell RNA sequencing: => Identified specific transcriptional states
 => Differentiation based on marker expression

-> Under the impact of GAHT: => Decrease of advanced germ cells and MAGEA4+ spermatogonia
 => Increased porportion of UTF1+ (undifferentiated) spermatogonia
 => Alteration in number and composition of the spermatogonial compartment

Aim: Assess the effects of GAHT on testicular tissues of treated trans women compared to controls



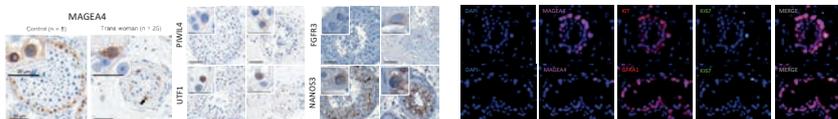
10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Material and methods:

Cohorte: 25 trans women (mean: 28.1 yr) + 8 controls (mean 34.5 yr)

GAHT regime: cyproterone acetate (10 or 12.5 mg) + estrogens



Quantification:

Number of positive cells per tubular cross-section was determined in 25 round tubules per individual

Quantification:

1. 400 MAGEA4+ cells were quantified
2. Proportion of KIT+/GFRA1+ was determined
3. MKI67+ cells among the KIT+/GFRA1+ cells were evaluated

-> Comparing **marker expression** in trans women to controls

-> Evaluate **proliferation rate** in state 1 and 2

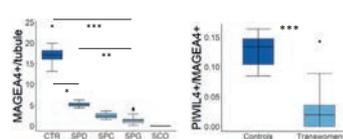


10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Results:

1. Number of MAGEA4+ spermatogonia and the proportion of PIWIL4+ spermatogonia decreased
2. Negative correlation between age at start / duration of treatment and number of spermatogonia
3. Immunofluorescence staining: ratio of KI67+ cells similar within reduced proportions of GFRA1+ and KIT+ spermatogonia compared to controls



Discussion and conclusion:

-> Total number of spermatogonia decreased => specifically PIWIL4+ cells

=> Early counsels of trans women with regard to fertility preservation options are essential

* p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001



Erhöhte DNA-Fragmentierung in Spermien: Verbesserte Schwangerschaftsrate durch Hyaluronselektion bei der ICSI

B. Wetzka¹, Y. Ersoy², A. Hanjalic-Beck¹, A. Ochsner¹

¹CERF (DEU); ²Kinderwunsch Bodensee (DEU)

Zunehmend wird auch die Bedeutung des Mannes bei der ungewollten Kinderlosigkeit in den Fokus genommen. Die bisherigen Ejakulatparameter Motilität, Konzentration und Morphologie nach WHO sind eher deskriptiv. Eine bedeutende funktionelle Rolle für die Fertilisierung der Eizelle und Embryonenentwicklung bzw. Schwangerschaftsrate spielt wahrscheinlich die DNA-Fragmentierung in humanen Spermien (SDF), da eine Erhöhung des SDF mit verminderter Fertilisierung und Implantation und erhöhter Abortrate in Verbindung gebracht werden konnte. Ziel der Studie war, den Effekt einer erhöhten SDF und der Anwendung einer Spermienauswahl mittels Hyaluronsäure-Selektion auf den Outcome nach einer In-Vitro-Fertilisation kombiniert mit intracytoplasmatischer Spermieninjektion (ICSI) zu untersuchen. Bei der Anwendung von Hyaluronsäure-angereicherten Medien zur Spermienauswahl ohne vorherige Analyse der SDF konnte in den meisten Studien kein Benefit beobachtet werden.

In die Studie eingeschlossen wurden Paare (n=212), bei denen im Ejakulat ein erhöhter DNA-Fragmentationsindex (DFI >25%) mittels DNA-Durchflusszytometrie festgestellt wurde (Synlab Labor Leinfelden). Ausschlusskriterium war Alter der Frau >40 Jahre, da dies das Ergebnis der IVF-ICSI zu stark beeinflusst hätte. Die Beurteilung der subhaploiden Zellkerne erfolgte durch Propidiumjodid (PI)-Markierung. Das SpermSlow™ Medium enthält Hyaluronsäure, an welche reife Spermien wesentlich besser binden als unreife. Die im SpermSlow™ gebundenen Spermien wurden dann für die ICSI ausgewählt. Bei 131 Paaren (DFI-Mittelwert 50,8%, Alter der Frau 33,9 Jahre) wurde SpermSlow™ vor der ICSI eingesetzt, bei 81 Paaren (DFI-Mittelwert 51%, Alter der Frau 33,4 Jahre) erfolgte die ICSI mit der üblichen Spermienaufbereitung (SilSelect®). Zur Bewertung des Outcomes nach Anwendung des SpermSlow™ wurden die Schwangerschaftsrate, die Befruchtungsrates und die Morphologie der sich entwickelnden Embryonen ermittelt.

Mit Hilfe des SpermSlow™ konnte bei Ejakulatproben mit hochgradiger DFI eine signifikant höhere Schwangerschaftsrate (p-Wert: 0.00184) mittels In-vitro-Fertilisation und ICSI erreicht werden als ohne Einsatz der Hyaluronsäure (39% vs. 19%). In der Altersgruppe < 30 Jahre lag die Schwangerschaftsrate mit Hyaluronsäureselektion bei 40% (n=14), ohne bei 22% (n=20), in der Altersgruppe 30-35 Jahre mit bei 39% (n=64), ohne bei 17% (n=43), in der Altersgruppe 36-40 Jahre mit bei 36% (n=47), ohne bei 20,5% (n=24). Die Höhe des DFI zeigte zudem einen Trend zur negativen Beeinflussung der Schwangerschaftsrate (p=0,16), der in diesen Altersgruppe relevanter ist als das Alter der Frau (p=0,81). Die Befruchtungsrates und die Embryonenmorphologie unterschieden sich nicht durch die Anwendung von SpermSlow™.

Die Auswahl von Spermien mittels SpermSlow™ führte zu einer verbesserten Schwangerschaftsrate nach einer In-vitro-Fertilisation mit ICSI bei Paaren mit erhöhtem DFI. Diese Ergebnisse unterstützen die Anwendung der Hyaluronsäureselektion von Spermien für die ICSI bei erhöhtem DFI. Allerdings besteht noch kein Standardverfahren mit entsprechenden Normwerten zur Bestimmung des SDF bzw. DFI, so dass die Ergebnisse zwischen unterschiedlichen Nachweismethoden bzw. Laboren noch nicht wirklich vergleichbar sind, was den routinemäßigen Einsatz einschränkt.



Session 1 • Hoden und Spermien

PO 1.13



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Erhöhte DNA-Fragmentierung in Spermien: Verbesserte Schwangerschaftsrate durch Hyaluronselektion bei der ICSI

B. Wetzka*, Y. Ersoy^o, A. Hanjalic-Beck*, A. Ochsner*
 * CERF, Freiburg; ^o Kinderwunsch Bodensee Sigen

Einleitung:

In den letzten Jahren wurden zunehmend weitere Untersuchungsmöglichkeiten des Ejakulats publiziert, die teilweise auch in das aktuelle WHO-Handbuch mitaufgenommen wurden (1). Die primär zu analysierenden Ejakulatparameter Motilität, Konzentration und Morphologie sind eher deskriptiv. Eine bedeutende funktionelle Rolle für die Fertilisierung der Eizelle und Embryonenentwicklung bzw. Schwangerschaftsrate scheint die DNA-Fragmentierung in humanen Spermien (SDF) zu spielen, da eine Erhöhung des SDF mit verminderter Fertilisierung und Implantation und erhöhter Abortrate in Verbindung gebracht werden konnte (2).

Ziel der retrospektiven Studie war, den Effekt einer Spermienauswahl mittels Hyaluronsäure-Selektion bei Paaren mit erhöhten DNA-Fragmentationsindex (DFI) auf den Outcome nach einer IVF-ICSI zu untersuchen. Bei der Anwendung von Hyaluronsäure-angereicherten Medien zur Spermienauswahl ohne vorherige Analyse der SDF konnte kein Benefit beobachtet werden (3).

1. WHO Handbuch zur Samenanalyse 6. Auflage 2022. 2. West R et al. 2022: Sperm selection with hyaluronic acid improved life birth outcomes in older couples. Hum Reprod 37:1106-1125. 3. Boston-Büst et al. Welche Zusatzinformation bringt die PICSI wirklich? Gynäkologie 54:181-185.



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Material und Methoden:

- N=212 Paare, Ejakulat mit DNA-Fragmentationsindex (DFI) >25%
- **Ausschlusskriterium:** Alter der Frau >40 Jahre,
- **DFI:** bestimmt mittels DNA- Durchflusszytometrie (Synlab Labor Leinfelden), Beurteilung der subhaploiden Zellkerne durch Propidiumjodid (PI)-Markierung. Angabe als subhaploide Zellkerne:alle Zellkernex100%, 10000 Spermien untersucht (4).
- **SpermSlow™ Medium:** enthält Hyaluronsäure, an welche reife Spermien wesentlich **stärker** binden als unreife. Die im SpermSlow™ gebundenen Spermien wurden dann für die ICSI ausgewählt.
- N=131 Paare (DFI-Mittelwert 50,8%, Alter der Frau 33,9 Jahre) mit SIISelect® und SpermSlow™ vor der ICSI
- N=81 Paaren (DFI-Mittelwert 51%, Alter der Frau 33,4 Jahre) nur mit SIISelect® vor der ICSI
- **Outcome:** Schwangerschaftsrate, Befruchtungsrate und die Morphologie der Embryonen

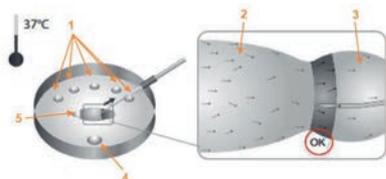


Abb. 1: Durchführung der Spermienauswahl mittels SpermSlow™
 1: Kulturmedium pro Oozyte
 2: Verbindungstropfen (Kulturmedium)
 3: Erster SpermSlow™-Tropfen
 4: Aufnahmetropfen (SpermSlow™)
 5: Sperma-Suspension
 (Manuel Cooper Surgical Fertility & Genomic Solutions, Ver. 9: 2019)

4. Gröbner et al., Flow cytometric detection of subhaploid nuclei in human sperm as a measure of DNA fragmentation. J Biol Regul 29:317-326



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Ergebnisse:

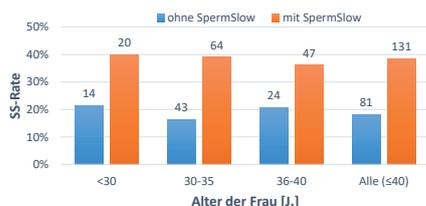


Abb.2: SS-Rate in Abhängigkeit des weiblichen Alters bei DFI-Werten ≥25% mit/ohne SpermSlow™, n= Zyklenzahl. P=0,0018.

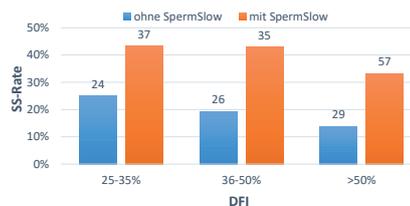


Abb.3: SS-Rate in Abhängigkeit vom DFI-Wert mit/ohne SpermSlow™ (Alter der Frau ≤40 Jahre), n= Zyklenzahl. P=0,16 für DFI, p=0,81 für Alter der Frau

Diskussion und Schlussfolgerungen:

Die Auswahl von Spermien mittels SpermSlow™ führte zu einer signifikant verbesserten Schwangerschaftsrate nach einer IVF-ICSI bei Paaren mit erhöhtem DFI. Zudem zeigte der DFI des Partners bei Frauen <40 Jahren einen Trend zur stärkeren Beeinflussung der SS-Rate als das Alter der Frau. Es fand sich kein Einfluss auf Fertilisationsrate und Embryonenmorphologie. **Diese Ergebnisse deuten auf den Nutzen einer Hyaluronsäureselektion von Spermien für die ICSI bei erhöhtem DFI hin.** Allerdings erschweren die fehlenden Standardverfahren für die SDF-Bestimmung die Vergleichbarkeit der Ergebnisse und schränken den routinemäßigen Einsatz in der Praxis ein.



Testicular inflammatory response and fibrotic remodeling are regulated by activin A and macrophages in experimental autoimmune orchitis

M. Fijak¹, W. Peng¹, A. Kepsch¹, T. O. Kracht¹, H. Hasan¹, R. Wijayarathna², E. Wahle¹, C. Pleuger¹, S. Bhushan¹, S. Günther³, A. C. Kauerhof¹, A. Planinić⁴, D. Fietz⁵, H.-C. Schuppe⁶, M. Wygrecka⁷, K. L. Loveland², D. Ježek⁴, A. Meinhardt¹, M. P. Hedger²

¹Justus Liebig University of Giessen (DEU), Institut für Anatomie und Zellbiologie;

²Hudson Institute of Medical Research, Clayton, Victoria (AUS), Centre for Reproductive Health

³Max Planck Institute for Heart and Lung Research, Bad Nauheim (DEU), ECCPS Bioinformatics and Deep Sequencing Platform;

⁴University of Zagreb (HRV), School of Medicine, Department of Histology and Embryology;

⁵Justus Liebig University of Giessen (DEU), Institut für Veterinär-Anatomie, -Histologie und -Embryologie;

⁶Justus Liebig University of Giessen (DEU), Klinik und Poliklinik für Urologie, Kinderurologie und Andrologie;

⁷University of Giessen and Marburg Lung Center, Giessen (DEU), Center for Infection and Genomics of the Lung

Testicular inflammation induced by bacteria, viruses, or sterile inflammation (including autoimmune diseases) is a significant cause of male infertility. Experimental autoimmune-orchitis (EAO), a mouse model of chronic testicular inflammation reflects the pathological changes observed in some cases of human spermatogenic disturbances. Pro-inflammatory and pro-fibrotic mediators, such as CCL2 and activin A are increased during EAO and correlate with immune cell infiltration and fibrosis. Activin A is produced mainly by Sertoli cells and plays multiple biological roles in inflammation, immunity, and fibrosis. CCL2 together with its receptor CCR2 mediate leukocyte trafficking and recruits macrophages. Therefore, we aimed to investigate the role of the activin A/CCL2-CCR2/macrophage axis in the development of testicular fibrosis.

EAO was induced by active immunization with testicular antigens and the testes were collected 50 days after the first immunization. The progression of EAO was compared in WT and Ccr2^{-/-} mice as well as in mice overexpressing follistatin (FST), displaying reduced activin bioactivity. Human testicular biopsies from patients with impaired spermatogenesis, testicular fibrosis, and inflammation and control biopsies revealing normal intact spermatogenesis were also included. The influence of activin A on CCR2 and fibrotic mediator expression in macrophages was investigated using bone marrow-derived macrophages (BMDMs) as a surrogate of testicular macrophages, generated in the presence of macrophage-colony stimulating factor.

In the absence of Ccr2 testicular inflammation and fibrosis were reduced as documented by lower numbers of immune cells expressing ECM proteins (fibronectin, collagen I) and decreased production of collagen, matrix metalloproteinases (MMPs), as well as inflammatory mediators (Il-10, Ccl2, and Inhba). Inhibition of activin A in vivo by overexpression of FST during EAO decreased testicular fibrosis and expression of collagen I by testicular macrophages. Furthermore, analysis of testicular biopsies from patients with impaired spermatogenesis and fibrotic alterations demonstrated that fibronectin expression was increased in testicular macrophages. In BMDMs, activin A stimulated expression of genes involved in ECM organization (fibronectin, MMP, PDGF). In the presence of activin A the expression of CCR2 was upregulated in BMDMs. Moreover, activin A enhanced the migratory ability of macrophages in response to CCL2 stimulation. These effects were abolished by addition of FST.

CCR2 and activin A regulate the development of fibrosis during testicular inflammation and underline the crucial pro-fibrotic function of macrophages in inflammation-associated fibrotic remodeling in EAO.



Session 1 • Hoden und Spermien

PO 1.14



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023

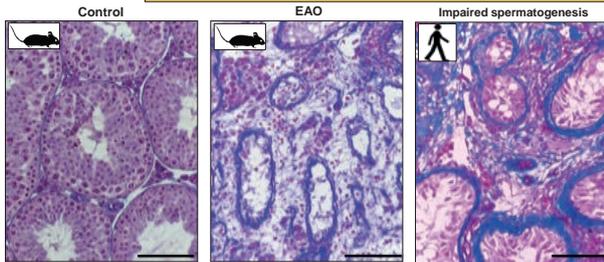
WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Testicular inflammatory response and fibrotic remodeling are regulated by activin A and macrophages in experimental autoimmune orchitis

Peng Wei, Kepsch Artem, Kracht Till O., Hasan Hiba, Wijayarathna Rukmal, Wahle Eva, Pleuger Christiane, Bhushan Sudhanshu, Günther Stefan, Kauerhof A. Christine, Planinić Ana, Fietz Daniela, Schuppe Hans-Christian, Wygrecka Malgorzata, Loveland Kate L., Ježek Davor, Meinhardt Andreas, Hedger Mark P., Fijak Monika

Department of Anatomy and Cell Biology, Justus-Liebig-University Giessen Germany

Are immune cells involved in the development of testicular fibrosis?



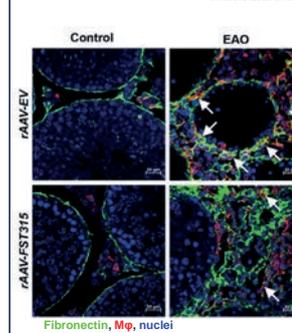
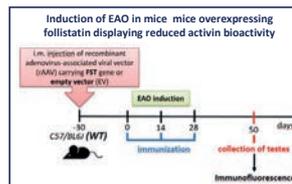
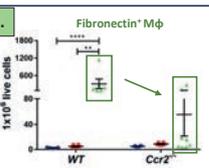
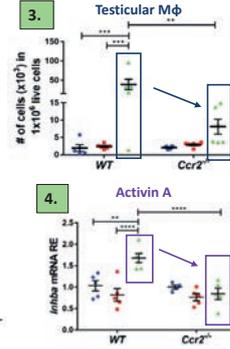
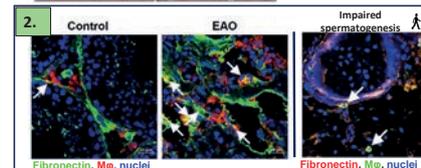
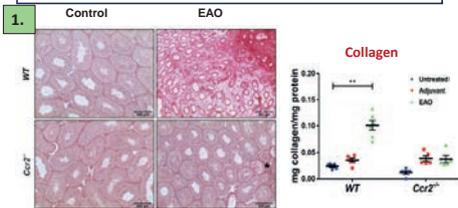
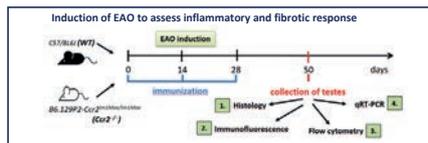
Kauerhof et al., 2019, Hum Reprod

EAO = Experimental Autoimmune Orchitis

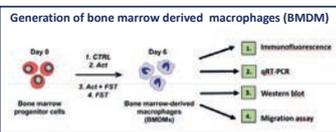
- Destruction of the testicular structure
- Infiltration of the interstitium by leukocytes Loss of germ cells.
- Elevated levels of pro-inflammatory mediators (CCL2, TNF, and activin A)
- Fibrosis

CCL2 and its receptor CCR2 play a critical role in the trafficking of immune cells to sites of injury.

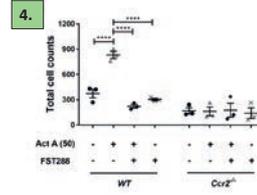
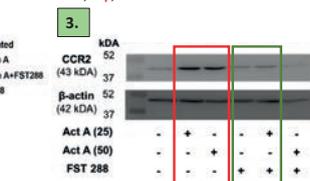
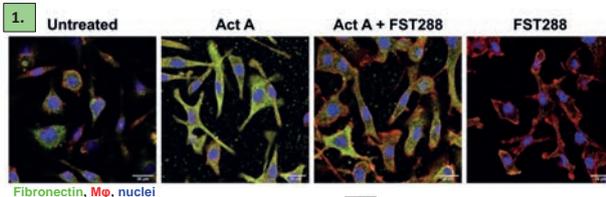
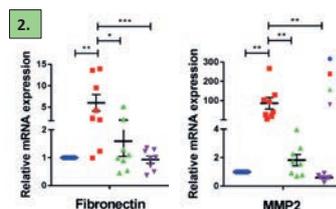
Ccr2 deficiency reduces inflammatory and fibrotic response in EAO testis



Activin A upregulates fibronectin and CCR2 in BMDMs and induces the migration of macrophages



Act = Activin A
FST = Follistatin



CCR2 and activin A regulate the development of fibrosis during testicular inflammation and underline the crucial pro-fibrotic function of macrophages in inflammation-associated fibrotic remodeling in EAO.





Ageing is associated with transcriptional alterations in human testis with full spermatogenesis

S. Laurentino¹, Y. Wang¹, S. Berres¹, H. Krenz², A. Körtje¹, A. Henrich¹, N. Terwort¹, N. Neuhaus¹, S. Kliesch¹, J. Wistuba¹, J. Gromoll¹

¹University of Münster (DEU), University Hospital of Münster, Center of Reproductive Medicine and Andrology;

²University of Münster (DEU), University Hospital of Münster, Institute of Medical Informatics

Men are able to produce sperm throughout their entire adult life but, in spite of this, ageing has detrimental effects on male fertility, namely decreased sperm quality and lower spermatogenic efficiency. For example, increasing age is associated with increased levels of DNA fragmentation in sperm and, in order to maintain spermatogenic output at normal levels, more spermatogonia need to exit quiescence and enter spermatogenesis. Spermatogenesis is associated with precise regulation of gene expression, however the transcriptional changes occurring in testis in response to the ageing process have not yet been elucidated clearly.

In order to answer this question, we performed whole transcriptome analysis in testicular biopsies with qualitatively normal spermatogenesis from young (24-31 years, n=4), middle-aged (38-45 years, n=3), and aged men (54-75 years, n=6). We performed bioinformatic analyses including differential gene expression analysis, pathway analysis, and gene ontology. Moreover, we evaluated the protein expression of differentially expressed genes by immunohistochemistry.

We identified 104 differentially expressed genes between the different age groups. Ingenuity pathway analysis revealed an enrichment in genes involved in several processes, including ferroptosis ($p < 0.01$), an iron-dependent cell death pathway, characterised by an imbalanced redox balance. Moreover, when evaluating genes showing time-dependent expression patterns, we could identify five clusters of genes. Gene ontology analysis of these clusters indicates that genes involved in the regulation of DNA damage repair change their expression during ageing in testis.

Our study indicates that increased oxidative stress might also be involved in testicular ageing. Importantly, pathways involved in DNA damage repair seem to be differentially expressed with age, which is in accordance with the increased genomic instability and DNA damage found in sperm with age. Future studies should clarify mechanisms and pathways counteracting the detrimental effects of ageing to the male germline and sperm.



Translational development and evaluation of a novel in vitro diagnostic test for CatSper-related male infertility

S. Young¹, C. Brenker¹, C. Krallmann¹, V. Nordhoff¹, S. Schiffer¹, S. Kliesch¹, C. T. Strünker¹

¹University of Münster (DEU), Centrum für Reproduktionsmedizin und Andrologie

Infertility affects approximately 15% of couples trying to conceive. About 30% of infertile men display semen parameters within the reference range, suggesting that either a female or unexplained male factor, such as sperm dysfunction, underlie a couple's infertility. It has long been suspected that such sperm dysfunctions might involve defects in the sperm-specific CatSper channel, which controls sperm's swimming behavior. In a recent publication (pre-print), we identified several patients with CatSper dysfunction and demonstrated that CatSper is indeed essential for fertilization by enabling sperm to penetrate the protective egg coat. Medical histories of affected patients corroborate this finding by showing that not only natural conception, but also insemination and IVF treatments failed, while only ICSI succeeded. In that study, we introduced the "CatSper-Activity-Test" as a diagnostic prototype to aid in assessing CatSper function in large patient cohorts. With the present study, we transform the CatSper-Activity-Test from a scientific discovery into a medical application in diagnostics.

Assessment of CatSper function using the CatSper-Activity-Test depends on translating CatSper activity into a visible motility response, achieved by exposing sperm to a defined chemical environment. Therefore, implementation of the test into routine diagnostics depends on the availability of safe, effective, and CE-certified chemical test solutions for patient care within the European Union. We engineered an in vitro diagnostic device to serve these needs. To evaluate its performance characteristics, a validation study was conducted. We recruited a cohort of 4 diseased and 61 healthy patients and assessed CatSper activity with both the CatSper-Activity-Test and a standard Ca²⁺-fluorometric assay. We determined the test's sensitivity, specificity, positive and negative predictive values, and overall accuracy. Shelf-life and stability studies were conducted to determine the device's reliability over time, while usability studies assessed the compatibility of the test within the environment of a routine diagnostic laboratory.

The CatSper-Activity-Test demonstrated high diagnostic performance, exhibiting a sensitivity of 100% and a specificity of 98.3%, thus indicating its ability to accurately identify patients both with functional and dysfunctional CatSper, respectively. The positive predictive value was 100%, and the negative predictive value was 80%. The overall accuracy of the device was 98.5%, suggesting high diagnostic efficacy. Furthermore, the device exhibited a shelf life of >12 months with consistent performance and stability throughout the study duration, even under various transport and storage conditions. Usability assessment revealed that performing the CatSper-Activity-Test was safe and straightforward, required only minimal training, and is, therefore, suitable for routine diagnostics with a positive benefit-to-risk-ratio.

This study presents the successful translation of a scientific finding into a medical application for the accurate and efficient assessment of CatSper function to supplement diagnostic male-infertility workups. The test solutions demonstrated excellent diagnostic performance, stability, and usability, ultimately acquiring the CE-label as an in vitro diagnostic according to the European Union's regulatory framework. We foresee widespread clinical adoption of the CatSper-Activity-Test as a valuable tool for healthcare professionals in the accurate and timely diagnoses of CatSper-related male infertility, thereby sparing affected couples the burden of insemination and/or IVF treatment attempts doomed to fail.



Session 1 • Hoden und Spermien

PO 1.16



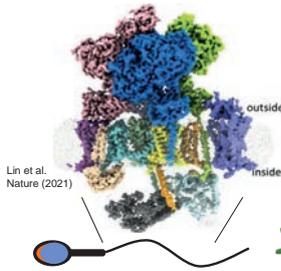
10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Translational development and evaluation of a novel *in vitro* diagnostic test for CatSper-related male infertility

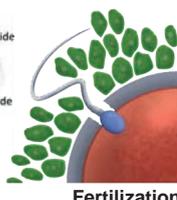
S. Young¹, C. Brenker¹, C. Krallmann¹, V. Nordhoff¹, S. Schiffer^{1*}, S. Kliesch^{1*}, T. Strünker^{1*}
¹University of Münster, Centre of Reproductive Medicine and Andrology, Münster, Germany. *Equal contribution

The CatSper-channel complex

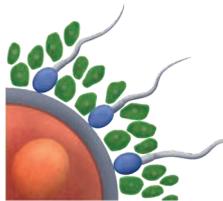


Ren et al. Nature (2001); Quill et al. PNAS (2003); Strünker et al. Nature (2011), Williams et al. Hum. Rep. (2015); (2018); Luo et al. Hum. Rep. (2019); Young & Schiffer et al... Strünker JCI (2023) (in revision)

CatSper-intact



CatSper-defect



CatSper-related infertility:

- Undetectable by semen analysis
- Affects ~ 1 in 100 infertile men with normozoospermia
- Most common cause of “unexplained” male infertility known to date
- IUI/IVF failure; requires ICSI



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

The CatSper-Test as simple as 1, 2, 3!

1. Add 20 µl ejaculate

CATflux Buffer

2. Incubate

60 minutes

3. Observe motility

Standard light-microscope



CatSper-intact:
 Immotile sperm



CatSper-defect:
 Motile sperm

To be performed in the course of a semen analysis

Young & Schiffer et al... Strünker J. Clinical Investigation (2023) (in revision)



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Clinical performance evaluation according to EU regulations: diagnostic sensitivity and specificity

	CatSper-intact men (true CatSper positive)	CatSper-deficient men (true CatSper negative)
Men (n)	61	4
Positive	60	0
Negative	1	4
Sensitivity	100%	
Specificity		98.3%
Accuracy		98.5%
Positive predictive value	100%	
Negative predictive value		80%

- CatSper-related infertility is undetectable by semen analysis, leads to IUI and IVF failure, and requires ICSI
- The CatSper-Test enables early diagnosis of CatSper-related male infertility and evidence-based treatment
- Excellent diagnostic sensitivity and specificity with a shelf-life of at least one year
- CE-certified medical device: CATflux Buffers for the CatSper-Test commercially available in the EU





T cells in testicular germ cell tumors: New evidence of functional contributions by rare subsets

D. Fietz¹, A. Pilatz², K. Loveland³, J. Guo⁴, H.-C. Schuppe¹, R. Islam¹, J. Heyer¹, C. Pleuger¹, S. Kliesch⁵

¹Justus-Liebig-Universität Gießen (DEU); ²Universitätsklinikum Gießen;

³Hudson Institute of Medical Research, Clayton (AUS);

⁴State Key Laboratory of Stem Cell and Reproductive Biology (CHN); ⁵Universitätsklinikum Münster

Testicular cancer accounts for about 1% of newly diagnosed cancer in young men (aged 14-44 years) and overall incidence rate is steadily increasing world-wide with regional peaks. Testicular germ cell tumors (TGCT) are the most common testis cancer types, arise from pre-invasive germ cell neoplasia in situ (GCNIS) and can be broadly divided into seminoma (SE) and non-seminoma, e.g. embryonic carcinoma (EC). Although TGCT is one of the most curable cancers with a 5-year survival rate of >95%, around 15-20% of patients will relapse after initial therapy and require further treatment with poor prognosis. Immuno-based therapies, that have been established for other cancer entities, such as checkpoint inhibitors, fail in case of TGCT due to a poor understanding of the immune microenvironment. It is known that T cells represent the major component of tumor infiltrating lymphocytes (TIL) in TGCT, but the presence of rarer subtypes, such as regulatory (Treg) and follicular helper T (Tfh) cells has not been investigated here, despite these cells exhibit an influence on tumor progression and prognosis in other tumor entities.

To analyze TIL and their subsets, we followed three approaches: a) immunohistochemistry on a retrospective patient cohort to analyze composition and distribution of TIL using a panel of human testis biopsies with preserved spermatogenesis without (n=10) or with immune infiltrates (n=12), GCNIS with and without lymphocytic infiltrates (n=15, each), SE (n=28), and EC (n=10); b) flow cytometry on a prospective patient cohort using samples from different locations of the tumor-bearing and contralateral testis (SE n=12, EC n=6); c) single cell RNAseq (normal testis n=3, pooled and TGCT n=4).

All approaches, despite using different and heterogeneous patient samples, showed that the immune cell environment it shifted from a macrophage-dominated immune environment in normal testis to a T cell-dominated milieu in TGCTs, especially in SE. Further, immunohistochemical analysis showed that rarer T cell subtypes such as Treg and Tfh cells were more abundant in SE samples than compared to other sample groups from the retrospective patient cohort. Flow cytometry using the prospective Giessen TGCT cohort on fresh human testicular specimens from different areas of tumor-bearing and contralateral testis revealed the highest percentage of T cells in tumor-centers of SE compared to other localizations and samples. Also analysis of scRNA-seq datasets confirmed T cells to be the most abundant immune cell type in TGCT. Deeper analysis detected Treg and Tfh signature molecules to be highly expressed in TGCT.

Overall, this study describes the complexity of TIL in TGCTs and provides first indications of the functional potential importance of rarer T cell subtypes and their signaling molecules in the immune environment of TGCT. Funded by DFG IRTG 1871/P2.



Spermatozoal RNA expression as predictor of ART fertilization rates

T. Greither¹, D. Handke¹, I. Hoffmann¹, H. M. Behre¹

¹University Medicine Halle (Saale) (DEU), Center for Reproductive Medicine and Andrology

Background: Spermatogenesis is tightly regulated by the spatial expression of different phase-specific RNA transcripts over the differentiation course from spermatogonia to mature spermatozoa. The aim of this study was the analysis of spermatogenesis-specific RNA transcripts in mature spermatozoa used for assisted reproductive treatments (ART) and the association to clinical parameters such as fertilization success.

Material and Methods: From 168 patients, aliquots of the motile sperm fraction used for ART were collected, and total RNA was extracted. The RNA was transcribed via reverse transcription reaction, and the cDNA pre-amplified according to the manufacturer's protocol (Standard BioTools, San Francisco, CA, USA). 65 spermatogenesis-related genes, which were previously identified to be associated with impaired male fertility (see Greither et al., Cytogenet Genome Res. 2020; Greither et al., Andrology 2023), were quantified in the patients samples using the BioMark HD system (Standard BioTools). Six reference genes were quantified in parallel, of which ACTB, RHOQ and GAPDH were expressed homogeneously and therefore were used in combination for the normalization of gene expression.

Results: Gene expression of spermatogenesis-related genes in mature spermatozoa was heterogeneous, with high and constant expressions of SAG, LDHC, HORMAD, NRIP1, DMRT3, ODF1 or AKAP4, but also low expressions of VASA, CYLC1, TEX11, PRSS21, ASZ1, TNP1 and RNF17. In the group of patients (n = 104) with higher fertilization rates, spermatozoal expression of DAZL, DNAJC5B, AKAP4, CFAP251 and ODF1 was significantly lower than in the spermatozoa of patients with fertilization rates below 50% (n = 64; Mann-Whitney U Test).

Conclusion: Spermatogenesis-related transcript expression in mature spermatozoa may mirror the physiological differentiation course and might be used as predictor for ART success in future.



Session 1 • Hoden und Spermien

PO 1.18



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Abstract Titel / Autoren:

Spermatozoal RNA expression as predictor of ART fertilization rates

Thomas Greither, Diana Handke, Ivan Hoffmann, Hermann M. Behre

Introduction:

- Spermatogenesis tightly regulated by the spatial expression of different phase-specific RNA transcripts
- Data on biological and prognostic role of sperm-bound RNA transcripts still scarce
- Aim of this study was the analysis of spermatogenesis-specific RNA transcripts in mature spermatozoa used for assisted reproductive treatments (ART)



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Material and Methods:

1. 168 patient samples (spermatozoal RNA from motile fraction/ swim-up used for an ART cycle; see Giebler et al., IJMS 2021)

2. Pre-Amplification reaction for 62 genes associated with male fertility (see Greither et al., Cytogenet Genome Res. 2020; Greither et al., Andrology 2023) and six reference genes (marked in orange)

(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
VASA	HORMAD1	KCNV2	ODF1	NR1P1	SPEM1
ZPBP	MBD3L1	SPATA31D3	CT45A7	Control	Control
NANOG	Pou4F2	LDHC	SAG	SMC1B	CZorf16
BOILL	TXNDC2	SPEM3	LIR1	Control	Control
OC14	GAPDH5	MBD3L1	SPAT51	REL	CYLC1
SLC1A6	ROPN1L	LIP1	HPRT	Control	Control
TDRD5	DMRTB1	ACTN3	TEX11	ACTL9	SPATA31E1
DNAI1	LNK1	ZBTB32	GAPDH	Control	Control
DND1	UBE2U	ZBTB32	FKBP6	CCIN	PRSS21
BNC1	CYLC2	HERVFC1-env	PPIA	Control	Control
DAZL	DNAIC5B	AKAP4	TEX37	CFAP65	TRPM1
SOX30	CFAP126	HERVK-gag	ACTNB	Control	Control
HEMGN	BRDT	DMRT3	AS21	CFAP251	RNF17
DMRT1	CCDC173	OC2	SLC35B3	Control	Control
HOKD9	TNFP1	DDX4	NR081	DNAH1	SHCBP1L
EXD1	SPATA48	OC2s	RHOQ	Control	Control

3. IFC set-up in a BioMark HD system (Standard BioTools)

4. Array run (~9,200 rxns/run) and statistics (reference gene score: ACTN, RHOQ, GAPDH)

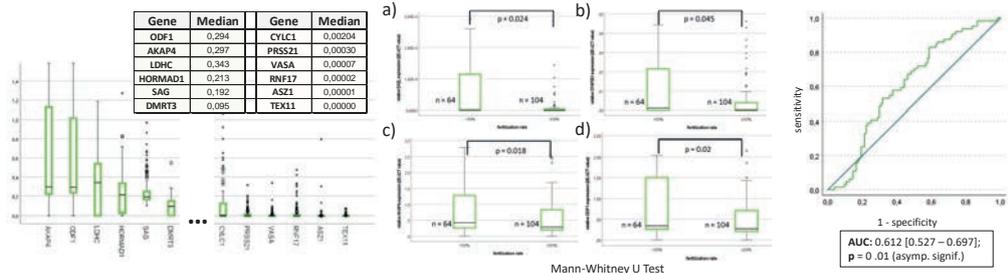


10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Results:

- Higher expression of ODF1 and AKAP4, lower expression of ASZ1 and TEX11 in mature spermatozoa.
- Lower expression of (a) DAZL, (b) CFAP251, (c) AKAP4 and (d) ODF1 in spermatozoa used for ART cycles with $\geq 50\%$ fertilization rate
- Moderate predictive value of a 4-gene risk score for low fertilization rates in ART



Conclusions:

Spermatogenesis-related transcript expression in mature spermatozoa may mirror the physiological differentiation course and might be used as predictor for ART success in future.



Session 2 • Ovar und Endometrium

PO 2.1

Supplementation of mitochondria from endometrial mesenchymal stem cells (EnMSCs) improves oocyte quality in aged mice

Q. Zhang¹, J.-X. Hao¹, B.-W. Liu¹, Y.-C. Ouyang¹, J.-N. Guo¹, M.-Z. Dong¹, Z.-B. Wang¹, F. Gao¹, Y.-Q. Yao¹

¹Medical School of Chinese People's Liberation Army General Hospital, (CHN)

Maternal aging is one of the major causes of reduced ovarian reserve and low oocyte quality in elderly women. Decreased oocyte quality is the main cause of age-related infertility. Mitochondria are multifunctional energy stations that determine the oocyte quality. The mitochondria in aging oocytes display functional impairments with mtDNA damage, which leads to reduced competence and developmental potential of oocytes. To improve oocyte quality, mitochondrial supplementation is carried out as a potential therapeutic approach. However, the selection of suitable cells as the source of mitochondria remains controversial.

We cultivated endometrial mesenchymal stem cells (EnMSCs) from aged mice and extracted mitochondria from EnMSCs. To improve the quality of oocytes, GV oocytes were supplemented with mitochondria via microinjection. And MII oocytes from aging mice were fertilized by intracytoplasmic sperm injection (ICSI) combining EnMSCs mitochondria microinjection.

In this study, we found that the mitochondria derived from EnMSCs could significantly improve the quality of aging oocytes. Supplementation with EnMSC mitochondria significantly increased the blastocyst ratio of MII oocytes from aging mice after intracytoplasmic sperm injection (ICSI). We also found that the birth rate of mitochondria-injected aging oocytes was significantly increased after embryo transplantation.

Our study demonstrates that supplementation with EnMSC-derived mitochondria can improve the quality of oocytes and promote embryo development in aging mice, which might provide a prospective strategy for clinical treatment.



Session 2 • Ovar und Endometrium

PO 2.2

Cryostorage of human ovarian tissue: Evaluating the storage and disposal pattern of a 22-year period with 2475 patients

A. Schallmoser¹, R. Einkenkel¹, C. Färber¹, V. Hüren¹, N. Emrich¹, J. John¹, N. Sängler¹

¹University Hospital Bonn (DEU), Department of Gynecological Endocrinology and Reproductive Medicine, Bonn, Germany

Cryopreservation of ovarian tissue is one feasible option to preserve fertility in female cancer patients ahead of gonadotoxic therapy. The purpose of this study was to evaluate parameters like age, indication for ovarian tissue cryopreservation (OTC), storage characteristics and the pattern of sample disposal.

The relevant parameters of a single university center were revised and digitalized in the period from 2019 to 2021. To assess the patient motivation of storage, patients were contacted by letter, e-mail and telephone calls.

2475 patients with stored ovarian tissue were analyzed in the time period between 2000 and 2021, the response rate of contact calls and letters was 28.8% (224/777). When storage ended (n=1155), patients stored for 4.2 years, mean age was 33 years, indications were breast cancer (53%) and lymphoma (17.5%). We observed that 2.5% had a transplantation on site, 10.3% transferred their tissue to another cryobank while 11.5% deceased. The majority of this group (75.7%) ended their storage due to pregnancy (49.1%), no desire to have children (25.9%), too expensive storage fees (8.9%), death (8.5%), recurrence of cancer (8.5%), no partner (4%) and fear of surgery in the future (3.1%). 6.7% regretted the end of storage retrospectively.

The pregnancy rate of 49.1%, resulting from ovarian tissue that was not removed during surgery for scheduled OTC supports the clinical approach of removing and cryopreserve only 25-50% of one ovary. We propose to implement interdisciplinary counseling not only prior to fertility preservation but also when end of storage is intended.



Session 2 • Ovar und Endometrium

PO 2.2



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Kryokonservierung von Eierstockgewebe: Auswertung der Lagerdaten von 2475 Patientinnen über einen Zeitraum von 22 Jahren



A. Schallmoser¹, R. Eienkel¹, C. Färber¹, V. Hüren¹, A. Pougin¹, N. Emrich¹, J. John, N. Säger¹
¹University Hospital of Bonn, Germany, Department of Gynecological Endocrinology and Reproductive Medicine, Bonn, Germany.

Einleitung:

Die Kryokonservierung von Ovargewebe ist eine wesentliche Methode zur weiblichen Fertilitätsprotektion. Das Ziel dieser Studie war das Lagerverhalten und die Motivation zur Lagerungsbeendigung unserer Patientinnen (n2475) im zeitlichen Verlauf (22 Jahre) auszuwerten.



Andreas Schallmoser¹
 Director IVF-Laboratory and Cryobank
 andreas.schallmoser@ukbonn.de

¹University Hospital Bonn, Germany



10. DVR KONGRESS

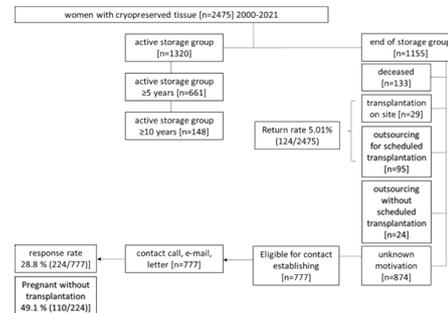
20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn



Material und Methoden:

Die Parameter der Kryobank der reproduktionsmedizinischen Abteilung am UKB wurden nach einer vollständigen Inventur 2019-2020 digitalisiert und umfassend ausgewertet. Die Datenabfrage wurde mit dem Programm MedITEX (CRITEX) durchgeführt, die statistische Auswertung erfolgte mit SPSS (IBM). Um die Motivation der Patientinnen zur Lagerbeendigung zu erheben, wurden die Patientinnen per Brief, E-Mail und Telefon kontaktiert. Die Lagerdaten von 2475 Patientinnen mit kryokonserviertem Ovargewebe wurden analysiert, ausgewertet und interpretiert.

Ergebnisse:



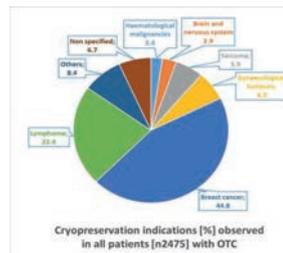
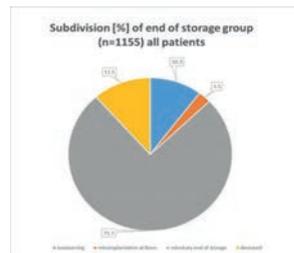
10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn



Ergebnisse:

- Patientenbefragung zur Lagerbeendigung:**
- Schwangerschaft auf natürlichem Weg: 49,1%
 - Kein Kinderwunsch: 25,9%
 - Lagergebühren zu teuer: 8,9%
 - Verstorben: 8,5%
 - Rezidiv: 8,5%
 - Kein Partner: 4%
 - Angst vor OP in der Zukunft: 3,1%
 - Bedauern der Lagerbeendigung: 6,7%



Schlussfolgerung:

Die Schwangerschaftsrate [49,1%] auf natürlichem Weg unterstützt den operativen Ansatz ~50% eines Ovars zu entnehmen. Wir empfehlen eine interdisziplinäre Beratung bei Absicht die Lagerung zu beenden.





Can vitrification of human ovarian tissue replace slow freezing ? A comparison in angiogenic potential and apoptotic changes.

A. Schallmoser¹, R. Einkenel¹, C. Färber¹, V. Hüren¹, N. Emrich¹, J. John¹, N. Sängler¹

¹University Hospital Bonn (DEU), Department of Gynecological Endocrinology and Reproductive Medicine, Bonn, Germany

Vitrification of ovarian tissue is a promising alternative approach to slow freezing. Few empirical investigations have been focused on the determination of angiopoietic factors expressed in tissue culture after cryopreservation and thawing with this two freezing methods.

Hypoxic tissue culture for 48 hours was conducted with fresh, thawed slow frozen or rapid warmed vitrified ovarian cortex tissue from 20 patients. Tissue culture supernatants were determined regarding cytokine expression profiles of angiogenin, angiopoietin-2, epidermal growth factor (EGF), basic fibroblast growth factor (bFGF), heparin binding epidermal growth factor (HB-EGF), hepatocyte growth factor (HGF), Leptin, Platelet-derived growth factor B (PDGF-BB), placental growth factor (PLGF) and vascular endothel growth factor A (VEGF-A) via fluoroimmunoassay. Apoptotic changes were assessed by TUNEL staining of tissue sections.

In all tissue samples angiogenic factors were secreted. Comparing the angiogenic expression profiles of vitrified/rapid warmed tissue with slow frozen/thawed tissue samples, significant differences in levels of bFGF (P 0.037), HGF (P 0.005), PLGF (P 0.012), VEGF-A (P 0.030) were detected, besides a borderline difference regarding angiopoietin-2 (P 0.086) expression. Tissue staining for nicked DNA (TUNEL) revealed that both slow freezing/thawing and vitrification/rapid warming caused an increase in the signal, which was higher for slow freezing/thawing than for vitrification/rapid warming, but not significantly different.

Ovarian cortex tissue cryopreserved and thawed with both methods expresses different profiles of angiopoietic factors potentially contributing to the revascularisation capacity of the tissue, besides ensuring tissue integrity.



Session 2 • Ovar und Endometrium

PO 2.3



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Vergleich des angiopoietischen Potentials von Ovargewebe nach Vitrifikation und Slow Freezing



A. Schallmoser¹, R. Einkenkel¹, C. Färber¹, V. Hüren¹, N. Emrich¹, J. John, N. Sängers¹
¹University Hospital of Bonn- Germany, Department of Gynecological Endocrinology and Reproductive Medicine, Bonn, Germany.

Einleitung:

Slow Freezing von Ovargewebe wird als Standardverfahren angesehen, während die Vitrifikation als vielversprechende Alternative eingestuft wird.¹ Die Forschungsgruppen um Suzuki² (Japan) und Silber³ (USA) haben bisher 4 Geburten aus vitrifiziertem Ovargewebe publiziert.^{2,3}

Literatur
1. TheESHRE Guideline Group on Female Fertility Preservation, Richard A Anderson, Frédéric Amant, Didi Braat, Arianna D'Angelo, Susana M Chuva de Sousa Lopes, Isabelle Demestre, Sandra Dwek, Lucy Frith, Matteo Lambertini, Caroline Maslin, Mariana Moura-Ramos, Daniela Nogueira, Kenny Rodriguez-Wallberg, Nathalie Vermeulen. ESHRE guideline: female fertility preservation. Hum Reprod Open. 2020; 2020(4)
2. Suzuki, N., Yoshioka, N., Tabei, S., Sugihira, Y., Tamura, M., Hashimoto, S., Morimoto, Y., Kawamura, K. Successful fertility preservation following ovarian tissue vitrification in patients with primary ovarian insufficiency. Hum Reprod 2015, 30, 608-615, doi:10.1093/humrep/deu333.
3. Silber, S.J.; DeRosa, M.; Goldsmith, S.; Fan, Y.; Castleman, L.; Melnick, J. Cryopreservation and transplantation of ovarian tissue: results from one center in the USA. J Assist Reprod Genet 2018, 35, 2205-2213, doi:10.1007/s10815-018-1315-1.



Andreas Schallmoser¹
Director IVF-Laboratory and Cryobank
andreas.schallmoser@ukbonn.de
¹University Hospital Bonn, Germany



Open Access | Published: 09 August 2023
Comparison of angiogenic potential in vitrified vs. slow frozen human ovarian tissue
Andreas Schallmoser¹, Rebekka Einkenkel, Cara Färber, Veronika Hüren, Nicola Emrich, Julia John & Nicole Sängers¹
Scientific Reports | 13: Article number: 12885 (2023) | [View this article](#)
183 Accesses | 8 Altmetric | [Metrics](#)

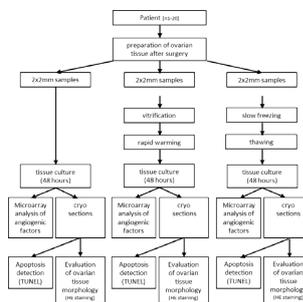
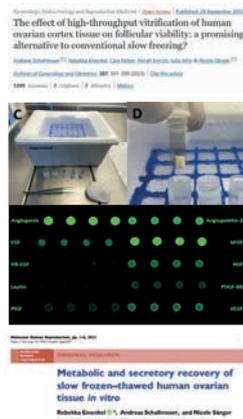


10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Material und Methoden:

- Slow Freezing, Vitrifikation
- Gewebekultur mit reduziertem Sauerstoff (48h)
- Analytik von angiopoietischen Faktoren: angiogenin, angiopoietin-2, epidermal growth factor (EGF), basic fibroblast growth factor (bFGF), heparin binding epidermal growth factor (HB-EGF), hepatocyte growth factor (HGF), Leptin, Platelet-derived growth factor B (PDGF-BB), placental growth factor (PLGF), vascular endothelial growth factor A (VEGF-A)
- Apoptotisches profiling (TUNEL)
- Hematoxylin/Eosin (HE) Färbung
- Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) Färbung



Metabolic and secretory recovery of slow frozen-thawed human ovarian tissue *in vitro*
Rebekka Einkenkel¹, Andreas Schallmoser, and Nicole Sängers



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

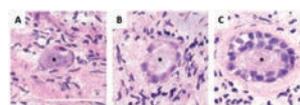
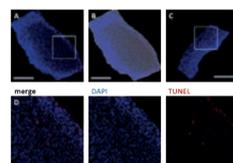
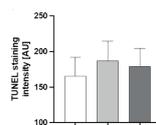
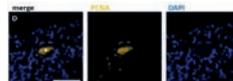
Ergebnisse:

- Expression von angiopoietischen Faktoren
- Apoptotisches profiling
- Auswertung HE Schnitte
- PCNA Staining

Keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Einfrierverfahren.

Schlussfolgerung:

Ergänzend zu den bereits publizierten Ergebnissen gehen wir davon aus, dass beide Methoden zumindest gleichwertig sind.



Parameter	fresh	thawed after slow freezing	rapid warmed after vitrification	*P value (one-tailed, two-tailed, two-tailed, two-tailed)
Angiogenin	2398.4 (1000)	2398.2 (1000)	2098.4 (1000)	0.8051
Angiogenin 2	5199.3 (1000)	5199.3 (1000)	4998.4 (1000)	0.8051
bFGF	5199.3 (1000)	5199.3 (1000)	4998.4 (1000)	0.240
HGF	3144.7 (1000)	3144.7 (1000)	2713.3 (1000)	0.6177
PDGF-BB	282 (1000)	282 (1000)	282 (1000)	<0.0000
PLGF	106.3 (1000)	106.3 (1000)	106.3 (1000)	0.1185
VEGF-A	1298.3 (1000)	1298.3 (1000)	1098.4 (1000)	0.8185

*P-values are with Dunnett's multiple-comparison



The impact of phospholipid liposomes on endometrial cell proliferation and decidualization

A. Jasarevic¹, S. Fayezi¹, J. Jauckus¹, A. Germeyer¹, T. Strowitzki¹

¹Universitätsfrauenklinik Heidelberg (DEU), Gynäkologische Endokrinologie und Fertilitätsstörungen

Successful implantation is a crucial step in achieving a healthy pregnancy, relying on the coordinated processes of embryo implantation and endometrial stromal cell decidualization. Recent research has shed light on the significant role of extracellular vesicles in embryo implantation and endometrial disorders. In addition, liposomes, hydrophobic, bilayer phospholipids forming artificial spherical vesicles, have gained considerable attention as effective carriers for delivering pharmaceutical drugs and essential nutrients to the endometrium. Phospholipids are the primary components used in the preparation of liposomes. In this study, our aim was to investigate the direct effects of phospholipid liposomes on endometrial stromal cells in terms of proliferation and decidualization.

To simulate endometrial cells, we employed immortalized human endometrial stromal cells (t-HESC) as a model. We generated phospholipid liposomes as artificial extracellular vesicles using sonication. The influence of liposomes on cell proliferation was examined by seeding t-HESC cells and treating them with various doses of liposomes. After 72 hours of incubation, we assessed proliferation using the Cell Counting Kit-8. To investigate the impact of liposomes on the proliferation of decidualized cells, we induced in vitro decidualization by treating the cells with liposomes in conjunction with a decidualization cocktail containing cAMP, estradiol, and medroxyprogesterone acetate for six days. Decidualization was confirmed by assessment of the secreted prolactin in the supernatant of the cells.

Treatment with phospholipid liposomes did not significantly change endometrial cell proliferation compared to the untreated condition (1.53-fold at 100µM, p=0.42). Conversely, phospholipid liposomes decreased the production of prolactin compared to the control group (-34.9% at 50µM, p=0.04).

Our findings suggest that supplementing with phospholipid liposomes does not modulate cell proliferation while inhibiting decidualization. This is supported by the decreased levels of prolactin observed in liposome-treated cells during in vitro decidualization. These findings highlight the effect of surface phospholipids, independent of cargo, on implantation and have potential applications in designing therapeutic strategies for liposome-based delivery to endometrial cells.



Session 2 • Ovar und Endometrium

PO 2.4



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Einfluss von Phospholipid-Liposomen auf die Proliferation und Dezidualisierung von Endometriumzellen

Amina Jasarevic, Shabnam Fayezi, Julia Jauckus, Thomas Strowitzki, Ariane Germeyer

Einleitung:

- **Dezidualisierung** endometrialer Stromazellen als **Voraussetzung** für eine erfolgreiche Implantation
- Extrazelluläre Vesikel (z.B. Exosomen, Liposomen) haben großen Einfluss auf die Implantation und Erkrankungen des Endometriums
- **Liposomen**: könnten als Vehikel für den Transport von Stoffen genutzt werden

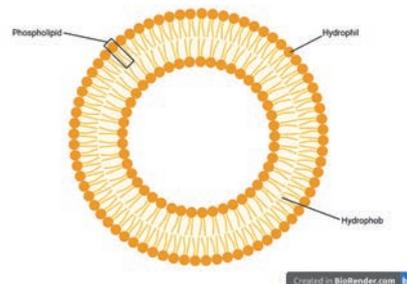


10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Material und Methoden:

- **Modell**: t-HESC (immortalisierte humane endometriale Stromazellen)
- **Herstellung** von zwei verschiedenen Phospholipid-Liposomen durch **Sonifikation**
- **Proliferation**: Ermittlung durch Cell Counting Kit-8 (CCK8)
 - Einmalige Behandlung mit Liposomen, 72h Inkubation
- **Dezidualisierung**: Messung der **Prolaktinspiegel** im Medium der behandelten Zellen
 - In-vitro Dezidualisierung : Estradiol, cAMP, Medroxyprogesteronacetat
 - Dreimalige Behandlung mit Liposomen
 - Dauer: 6 Tage, Mediumwechsel an Tag 3



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Ergebnisse:

- **Proliferation**: Keine signifikante Veränderung
- **Dezidualisierung**: **Signifikante Reduktion** der Prolaktinausschüttung (-34.9% bei 50µM, p=0.04)

Diskussion und Schlussfolgerungen:

- **Phospholipid-Liposomen beeinflussen die Implantation durch Beeinträchtigung der Dezidualisierung**
- Liposomen aufgrund ihres negativen Einflusses per se als Transportvehikel zum jetzigen Zeitpunkt eher ungeeignet
- **Welche Möglichkeiten gibt es um den negativen Einfluss der Liposomen zu reduzieren?**



Session 2 • Ovar und Endometrium

PO 2.5

Differential Characteristics Of Vaginal Versus Endometrial Microbiota In 71 Infertile Patients.

A. Polifke¹, A. von Schwedler², R. Gulba², R. Bensmann³, A. Diltthey², N. N. R. Nassar⁴, P. Finzer²

¹Labor dus.ana (DEU), Praxis für med. Mikrobiologie und Laboratoriumsmedizin;

²Universitätsklinikum Düsseldorf (DEU), Institut für med. Mikrobiologie und Krankenhaushygiene;

³ZOTZ / KLIMAS MVZ Düsseldorf-Centrum GbR (DEU); ⁴novum – Zentrum für Reproduktionsmedizin (DEU)

Female reproductive tract microbiota is associated with different gynecological disorders, such as endometriosis or chronic endometritis, and may affect reproductive outcome. However, it remains to be clarified if the vaginal or the endometrial microbial community is more suitable for diagnostic purposes. The endometrial microbiome probes are acquired by trans-cervical sampling using a “pipelle”, which could lead to contamination of the endometrial probe with slid through vaginal microbiota. Therefore, this retrospective study aims to compare microbiota of vaginal smear and endometrial biopsies acquired trans-cervically by pipelle, in an unselected group of 71 infertile outpatients treated in an IVF clinic.

The study was conducted at “novum, Zentrum für Reproduktionsmedizin”, Essen / Duisburg, Germany. 71 patients (mean age: 35 years (range 26 – 42), mean body mass index (BMI): 24,5 (range 18,8 to 38,7), provided both vaginal swab and endometrial biopsy samples between February 2020 and March 2021. 20 patients were diagnosed with chronic endometritis, 15 with endometriosis. 40 study participants were found to have undergone past miscarriages. After DNA extraction the V1-V2 region of the 16S rDNA was sequenced using MiSeq system (Illumina Inc. San Diego, CA, USA). Sequencing data analysis including raw read filtering, clustering into Operational Taxonomic Units (OTUs), followed by calculation of alpha diversity was carried out using the CLC Microbial Genomic Workbench 12.0.3 (Qiagen, Hilden, Germany). Statistical analyses were carried out using the implemented workflows of the CLC Microbial Genomic Workbench or excel.

Vaginal and endometrial microbiota vary significantly. Both show essentially two separable distributions with the endometrial microbiome being of higher diversity, grouping more disperse and representing a polymicrobial community. Abundance analyses showed high correlation between vaginal and endometrial samples for the different *Lactobacillus* sp. (*L. crispatus*, *L. jensenii*, *L. gasserie* and *L. iners*), but also for *G. vaginalis*. However, a group of non-lactobacilli was enlarged in the endometrial group, encompassing mainly *Corynebacterium* sp., *Staphylococcus* sp., *Prevotella* sp. and *Propionibacterium* sp. Classification of both microbiotas yielded conflicting data. Whereas 11,3 % of patients were grouped into Community State Types (CST) IV, which indicates clinical signs of bacterial vaginosis, 32,4 % of women were found to display a non-lactobacillus dominated (NLD, which is less than 90% abundance) endometrial microbiome, known to be indicative for unfavorable reproductive outcome. Adjustment of vaginal classification schemas by the 90% dominance criterion or introduction of diversity metrics did not lead to concordance with the endometrial results, underlining in addition differences of both microbiotas.

This study could show that the microbiome of endometrial biopsy samples – although trans-cervically acquired – differs significantly from their vaginal counterpart and may detect the group of women with an unfavorable reproductive outcome prognosis more precisely.



Session 2 • Ovar und Endometrium

PO 2.5



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Differential Characteristics Of Vaginal Versus Endometrial Microbiota In 71 Infertile Patients.

Alina Polifke², Annika von Schwedler¹, Rebecca Gulba¹, Ralf Bensmann³, Alexander Dilthey¹, Najib N. R. Nassar⁴ and Patrick Finzer^{1,2}

¹ Institut für Medizinische Mikrobiologie und Krankenhaushygiene Universitätsklinikum Düsseldorf, Germany, ² dus.ana, Praxis für medizinische Mikrobiologie und Laboratoriumsmedizin, Düsseldorf, Germany, ³ ZOTZ / KLIMAS MVZ Düsseldorf-Centrum GbR, Düsseldorf, Germany, ⁴ novum, Zentrum für Reproduktionsmedizin, Essen, Germany

Einleitung:

- **Microbiota in the female reproductive tract** is linked to various **gynecological disorders**
 - E.g. endometriosis, chronic endometritis and can impact reproductive outcomes
- It is unclear **whether the vaginal or endometrial** microbial community is more suitable for **diagnostic purposes**.
 - Endometrial microbiome may contain contamination from the vaginal microbiota due to trans-cervical sampling using a "pipelle"
- This **retrospective study** aims to **compare the microbiota of vaginal smears and endometrial biopsies** obtained trans-cervically by pipelle in a group of 71 infertile outpatients treated at an IVF clinic.



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

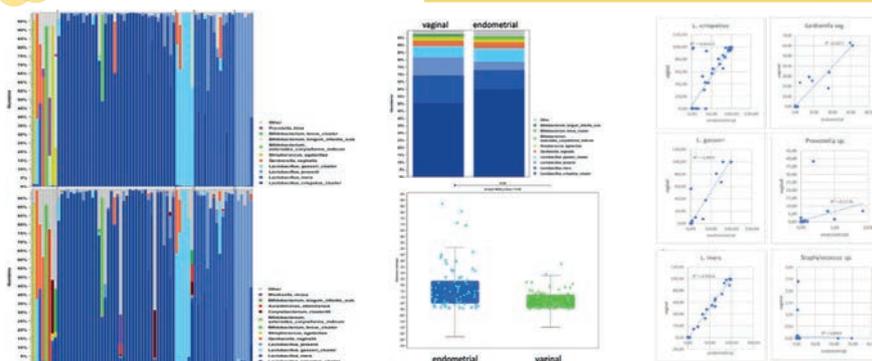
Material und Methoden:

- The study took place at "novum, Zentrum für Reproduktionsmedizin" in Essen/Duisburg, Germany
- **A total of 71 patients participated**
 - mean age: **35 years** (range 26-42)
 - mean body mass index (BMI): **24.5** (range 18.8 to 38.7)
 - 20 were diagnosed with **chronic endometritis**
 - 15 with **endometriosis**
 - 40 participants had a **history of miscarriages**
- The patients provided **both vaginal swab and endometrial** biopsy samples between February 2020 and March 2021
- The **DNA** from the samples was extracted, and the **V1-V2 region of the 16S rDNA** was sequenced using the **MiSeq system from Illumina Inc.** in San Diego, CA, USA
- The sequencing data was analyzed using the **CLC Microbial Genomic Workbench 12.0.3** from Qiagen in Hilden, Germany
 - raw read filtering → clustering into Operational Taxonomic Units (OTUs) → calculation of alpha diversity & principal coordinate Analysis
 - Statistical analyses were performed using the implemented workflows of the CLC Microbial Genomic Workbench or Excel



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn



Diskussion und Schlussfolgerungen:

- This study demonstrates that the microbiome of **endometrial biopsy samples**, obtained through trans-cervical sampling, **differs significantly from the vaginal** microbiome.
- This difference allows for a **more accurate identification** of women with an **unfavorable reproductive outcome prognosis**.



Session 2 • Ovar und Endometrium

PO 2.6

Hohe FSH-Konzentration beeinträchtigt VEGF-Sekretion von humanem Ovarialgewebe in vitro.

R. Einenkel¹, A. Schallmoser¹, N. Sanger¹

¹Universitatsklinikum Bonn (DEU), Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin

Die Kryokonservierung von Ovarialgewebe ist eine wichtige Option zum Fertilitatserhalt. Patientinnen, bei denen eine gonadotoxische Therapie geplant wird, kann ein Stück Ovar entfernt, im Labor aufgearbeitet und kryokonserviert werden, um es nach Ende der Therapie wieder transplantiert zu bekommen. Der transplantierte Ovarialkortex kann anschließend seine Funktion wieder aufnehmen. Der Erfolg ist maßgeblich von der Vaskularisierung des transplantierten Gewebes abhängig. Es dauert etwa 7-10 Tage bis eine vollständige Blutversorgung aufgebaut ist. Durch die Phase der Unterversorgung und den Reperfusionsschaden, der durch die wiederkehrende Sauerstoffversorgung und der Entstehung von reaktiven Sauerstoffspezies geschieht, kommt es zu einem Verlust von ca. 70 % der Follikel. Humaner Ovarialkortex sekretiert spontan VEGF – ein Schlüsselfaktor für die Vaskularisierung. Welche Faktoren die VEGF-Sekretion beeinflussen, ist bisher kaum beforscht.

Humanes Ovarialgewebe von 8 Patientinnen wurde aufgetaut und in vitro in Kultur genommen. Zum Kulturmedium wurde entweder 0; 1 oder 10 ng/mL rekombinantes humanes FSH zugesetzt. Dies entsprach 0; 17,5 bzw. 175 mIU/mL FSH, also neben der Behandlungskontrolle einer prä-menopausalen Serumkonzentration und einer Konzentration, die den post-menopausalen Serumlevel ibersteigt. Die VEGF-, IL-8, HIF und FSHR-Expression wurde mittels ELISA und/oder Immunhistochemie (IHC)-Färbungen iberpruft.

Humanes Ovarialgewebe braucht etwa 48 h, um sich nach der Kryokonservierung und dem Auftau metabolisch zu erholen. In diesen 48 h nimmt auch die VEGF-Sekretion stetig zu. Neben endothelialen Strukturen exprimieren vor allem Follikel und die enthaltenen Oozyten VEGF. Der Zusatz von 17,5 mIU/mL FSH führte zu keiner statistisch signifikanten Änderung der VEGF-Sekretion. In der IHC konnte ein leichter, nicht signifikanter Anstieg beobachtet werden. Die Sekretion von IL-8 wurde ebenfalls leicht, nicht signifikant erhöhet. Allerdings führt die Zugabe der hohen FSH-Konzentration von 175 mIU/mL zu einer signifikant eingeschränkten VEGF-Sekretion um etwa 23 % ($p=0,016$) verglichen mit der Kontrolle ohne FSH. Außerdem führte es zu einer signifikanten Reduktion der Expression von FSHR in der IHC-Färbung.

Ovarielle Insuffizienz, die durch gonadotoxische Therapien frühzeitig hervorgerufen werden kann, geht mit einem hypergonadotropen FSH-Level einher. Unsere in vitro-Daten zeigen, dass eine hohe FSH-Konzentration einschränkend auf die VEGF-Sekretion und damit auf das Vaskularisierungspotential des Ovarialgewebes wirken kann. Eine Hormonersatztherapie könnte die Vaskularisierung nach der Transplantation unterstützen und den Verlust der Follikel verringern. Zusammenfassend hat FSH in vitro einen regulierenden Einfluss auf humanes Ovarialgewebe und insbesondere auf den angiopoetischen Faktor VEGF. Hohe FSH-Konzentrationen wirken in vitro einschränkend auf die VEGF-Sekretion und damit auch das Vaskularisierungspotential von humanem Ovarialgewebe.



Session 2 • Ovar und Endometrium

PO 2.6



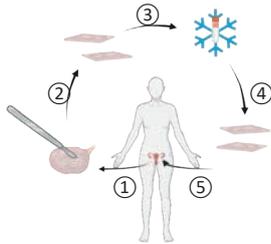
10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Hohe FSH-Konzentration beeinträchtigt VEGF-Sekretion von humanem Ovarialgewebe *in vitro*.



Eininkel R, Schallmoser A, Sängner N.
Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin, Universitätsklinikum Bonn



- ① Explantation
- ② Aufarbeitung
- ③ Kryokonservierung
- ④ Auftau
- ⑤ Replantation



Schallmoser A, Eininkel R, Färber C, Emrich N, John J, Sängner N. The effect of high-throughput vitrification of human ovarian cortex tissue on follicular viability: a promising alternative to conventional slow freezing? Arch Gynecol Obstet. 2022

- Revaskularisierung
- 5-7 Tage
 - Eingeschränkte Versorgung
 - Reperfusionsschaden
 - Verlust von ca. 70 % Follikel



Emrich NEA, Reichenbach L, Schallmoser A, Sängner N. Fertilitätsprotektion vor keimzellschädigender Therapie. Journal Onkologie. 2022 Sep 16
Schallmoser A, Eininkel R, Färber C, Hüren V, Pougin A, Emrich N, John J, Sängner N. Cryostorage of human ovarian tissue: evaluating the storage and disposal pattern over a 22-year period in 2475 patients. Reprod Biomed Online. 2023 May 27:103239.

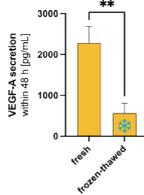
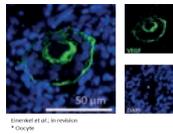


10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

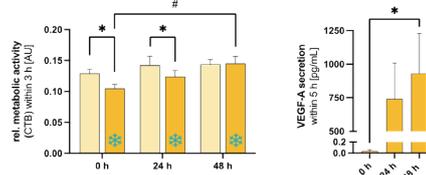


Spontane Sekretion von VEGF-A



Erholung nach dem Auftau

Eininkel R, Schallmoser A, Sängner N. Metabolic and secretory recovery of slow frozen-thawed human ovarian tissue *in vitro*. Mol Hum Reprod. 2022 Nov 30;28(12):gac037.



Welchen Einfluss nimmt FSH?



In vitro-Kultur +/- FSH

- 1 ng/mL FSH (17,5 mIU/mL)
- 10 ng/mL FSH (175 mIU/mL)
- Aufgetautes Gewebe → Vgl. Replantation
- ELISA
- Immunhistofluoreszenz



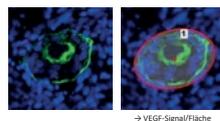
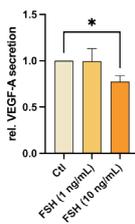
10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn



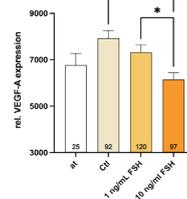
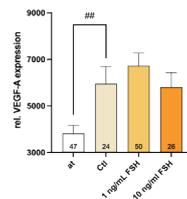
VEGF-Sekretion
ELISA

VEGF-Expression
IHF



Primordialfollikel

Wachsende Follikel
Primär- und Sekundärfollikel



at – after thawing
Ctl – control without FSH

→ Hohe FSH-Konzentration senkt VEGF-Sekretion von Ovarialgewebe → Eingeschränkte Revaskularisierung?

→ Wachsende Follikel exprimieren mehr VEGF als Primordialfollikel und reagieren stärker auf FSH-Level

→ Hohe FSH-Konzentration senkt VEGF-Expression von wachsenden Follikeln

Sollte FSH vor der Replantation gesenkt werden?



Session 2 • Ovar und Endometrium

PO 2.7

Filamin A in the human ovary: sites of expression, regulation and possible interaction partners

Y. Jiang¹, K. Caban², T. Fröhlich², M. Höfner¹, D. Berg³, U. Berg³, A. Müller-Taubenberger¹, A. Mayerhofer¹, H. Welter¹

¹Ludwig-Maximilian-University (LMU) (DEU), Biomedical Center (BMC), Cell Biology, Anatomy III;

²Ludwig-Maximilian-University (LMU) (DEU), Laboratory for Functional Genome Analysis LAFUGA, Gene Center

³Fertility Centre A.R.T. Bogenhausen (DEU)

Filamin A (FLNA) cross-links actin filaments and is a well-characterized cytoskeletal protein. Moreover, it functions as an intracellular signaling scaffold, orchestrating pathways associated with cell differentiation, development and morphogenesis. While the role of FLNA in various organs and related tumors has been explored, its presence in the ovary, a very dynamic organ, and its involvement in its functions have remained unexplored.

Cell culture of IVF-derived human granulosa cells (GCs) and KGN cells; qPCR, Western blot, immunoprecipitation, mass spectrometry, immunohistochemistry, immunocytochemistry

Data mining uncovered expression of FLNA in the human ovary, particularly in granulosa cells of follicles, but also in the corpus luteum, which was confirmed by immunohistochemistry. Furthermore, we found that the expression of FLNA is sustained in cultured human IVF-derived GCs, allowing us to explore its regulation and interaction partners. A regulation of FLNA by human chorionic gonadotropin (hCG) and forskolin was detected in cultured IVF-GCs. In addition, mass spectrometry (MS) and Western blot analysis indicated a regulation by hypoxia. Expression was also observed in KGN cells, a well-studied granulosa cell tumor cell line serving as a model for proliferating GCs. Similar to cultured IVF-GCs, FLNA expression was regulated by hCG and forskolin in KGN cells. To study the interaction partners of FLNA in GCs and KGNs we performed immunoprecipitation (IP) studies followed by MS. The interacting proteins identified in GCs include among others filamin B, cholesterol side-chain cleavage (CYP11A1), a crucial enzyme involved in steroidogenesis, as well as two mitochondrial associated proteins: heat shock cognate 71 kDa protein (HSPA8) and mitochondrial stress-70 protein (HSPA9). In KGN cells, in addition to filamin B, a different set of interaction partners was detected.

In conclusion, FLNA is expressed by cells of the human ovary, IVF-GCs and KGN cells. Initial results indicate that both cell types show similar regulation by forskolin and hCG. Yet different sets of interaction partners of FLNA were revealed by IP/MS. Further studies are required to define the roles of FLNA in the human ovary. (Supported by DFG project number 491030536).



Session 2 • Ovar und Endometrium

PO 2.7



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Filamin A in the human ovary: sites of expression, regulation and possible interaction partners

Y Jiang¹, K Caban², T Fröhlich², M Höfner¹, D Berg³, U Berg³, A Müller-Taubenberg¹, A Mayerhofer¹ and H Welter¹

¹Biomedical Center (BMC), Cell Biology, Anatomy III, Ludwig-Maximilian University of Munich (LMU), D-82152 Planegg, Germany

²Laboratory for Functional Genome Analysis LAFUGA, Gene Center, LMU, 81375 Munich, Germany

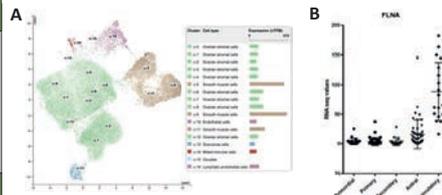
³Fertility Centre A.R.T. Bogenhausen, 81675 Munich, Germany

Introduction

- Filamin A (FLNA) is an actin-binding protein
- FLNA is also a binding platform for various factors, orchestrating multiple signal pathways
- Data mining revealed presence of FLNA in human ovary
- Function in the reproductive system, especially in the ovary is unknown

Aims

- Confirmation of FLNA expression and localization in the human ovary
- FLNA expression, regulation in cell models: IVF-derived granulosa cells (GCs) and KGN cell line
- Identification of interaction partners of FLNA in both cell types



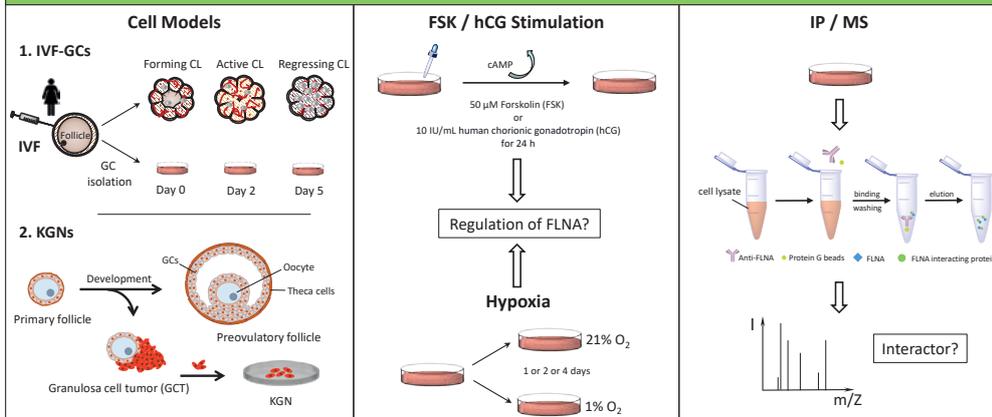
Data mining about FLNA expression in the human ovary reveals expression of FLNA in stromal cells, granulosa cells, fibroblasts, endothelial cells and smooth muscle cells. During follicular development the levels of FLNA transcript in granulosa cells increases with the progression of follicular development. (A) RNA single cell data of human ovary adapted from Human Protein Atlas. (<https://www.proteinatlas.org/ENSG00000196924-FLNA/single-cell-type/ovary>, 01.08.2023) (B) Granulosa cells derived from fresh ovarian tissue subjected to single cell RNA-sequencing. Data adapted from Zhang Y, Yan Z, Qin Q, et al. Transcriptome Landscape of Human Folliculogenesis Reveals Oocyte and Granulosa Cell Interactions. *Mol Cell*. 2018;72(6):1021-1034.e4.



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

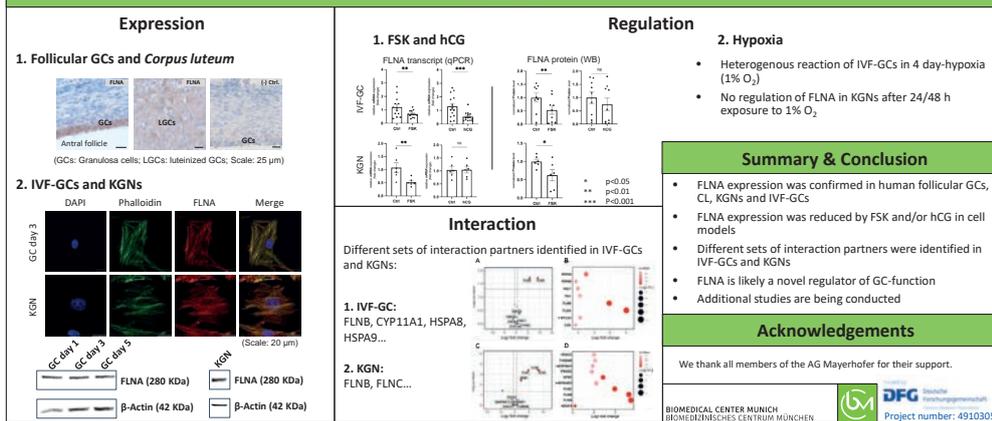
Material and Methods



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Results





Session 2 • Ovar und Endometrium

PO 2.8

microRNA miR-29C regulated invasiveness and viability of endometriotic cells in vitro by targeting CDK6 and COL4A2

M. Götte¹, T. Wentges¹, H. El-Shorafa¹, S. Schäfer¹, L. Kiesel¹, B. Greve²

¹Universitätsklinikum Münster (DEU), Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe;

²Universitätsklinikum Münster (DEU), Klinik für Strahlentherapie-Radioonkologie

Endometriosis is a hormone-dependent disease characterized by ectopic growth of endometrial tissue outside the uterus, resulting in pain and reduced fertility in affected patients. Recent studies point at a role of microRNAs – small posttranscriptional regulators of gene expression – in the pathogenesis of endometriosis. Among these, miR-29c is downregulated in the ectopic endometrium. Previous studies suggest roles in regulating proliferation, apoptosis, invasion and progesterone resistance, but the molecular mechanisms are not fully clear.

Primary endometriotic stroma cells of a 35yr ASRM stage III patient and immortalized endometriotic 12Z cells were used for in vitro experiments following transfection with miRNA-29c or control reagent. Gene expression was analysed by real-time qPCR. Changes at the protein level were analysed by Western blotting. Cell migration was investigated by scratch wound healing assay, invasive growth by Matrigel assay and cell viability by MTT assay. The cell cycle was analyzed by flow cytometry.

In miR-29c transfected cells a down-regulation in the expression of TCFL-1, TCFL-2, PTEN, Col4A2 and CDK6 could be observed ($p < 0.01$). For CDK6, down-regulation could be confirmed by Western blotting. While there a significant difference couldn't be detected in scratch assays, a reduction in invasive growth of transfected cells by 40% could be observed in Matrigel assay ($p < 0.05$). Transfected cells also showed a reduced cell viability by 25% ($p < 0.01$).

Our data confirm an important role of miR-29c in regulating the viability and invasive growth of endometriotic cells and expand the list of regulatory targets to several transcriptional regulators, regulators of proliferation and of basement membrane constituents. miR-29c emerges as a potential tool to modulate the pathogenesis of endometriosis.



Session 2 • Ovar und Endometrium

PO 2.8



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

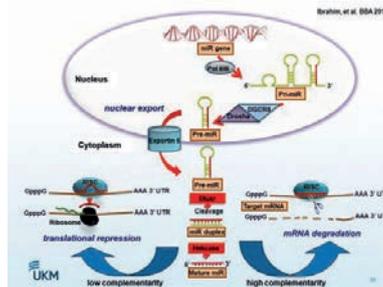
microRNA miR-29c regulated invasiveness and viability of endometriotic cells in vitro by targeting CDK6 and COL4A2

Martin Götte, Theresa Wentges, Heba El-Shorafa, Sebastian D. Schäfer, Ludwig Kiesel, Burkhard Greve
 Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Universitätsklinikum Münster

Endometriosis is a hormone-dependent disease characterized by ectopic growth of endometrial tissue outside the uterus, resulting in pain and reduced fertility in affected patients.

Recent studies point at a role of microRNAs – small posttranscriptional regulators of gene expression – in the pathogenesis of endometriosis. Among these, miR-29c is downregulated in the ectopic endometrium.

Previous studies suggest roles in regulating proliferation, apoptosis, invasion and progesterone resistance, but the molecular mechanisms are not fully clear.



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

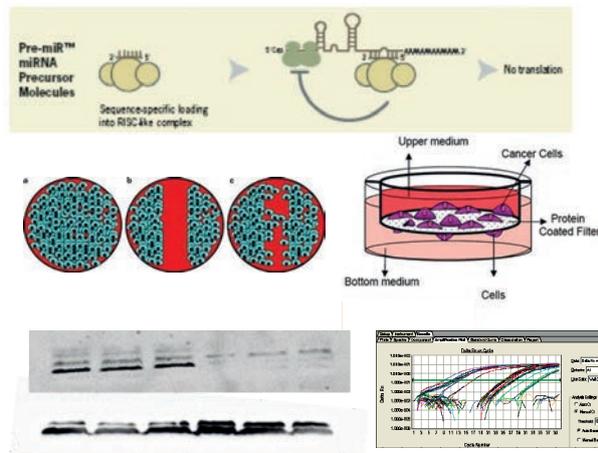
Material und Methoden:

Primary endometriotic stroma cells of a 35yr ASRM stage III patient and immortalized endometriotic 12Z cells were used for in vitro experiments following transfection with miRNA-29c or control reagent.

Gene expression was analysed by real-time qPCR. Changes at the protein level were analysed by Western blotting.

Cell migration was investigated by scratch wound healing assay, invasive growth by Matrigel assay and cell viability by MTT assay.

The cell cycle was analyzed by flow cytometry.



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Ergebnisse:

In miR-29c transfected cells a down-regulation in the expression of TCFL-1, TCFL-2, PTEN, Col4A2 and CDK6 could be observed (p<0.01).

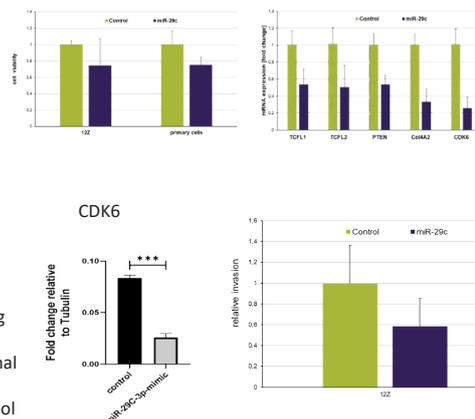
For CDK6, down-regulation could be confirmed by Western blotting.

While there a significant difference couldn't be detected in scratch assays, a reduction in invasive growth of transfected cells by 40% could be observed in Matrigel assay (p<0.05).

Transfected cells also showed a reduced cell viability by 25% (p<0.01).

Diskussion und Schlussfolgerungen:

Our data confirm an important role of miR-29c in regulating the viability and invasive growth of endometriotic cells and expand the list of regulatory targets to several transcriptional regulators, regulators of proliferation and of basement membrane constituents. miR-29c emerges as a potential tool to modulate the pathogenesis of endometriosis.





Impact of cytokines on proreceptive gene expression and trophoblast adhesion in a novel 3D model of the window of implantation

M. Götte¹, U. Obermeyer¹, H. El-Shorafa¹, M. Heukamp¹, M. Franchi²

¹Universitätsklinikum Münster (DEU), Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe;

²University of Bologna (ITA)

Endometrial receptivity is an important factor for successful embryo implantation. The endometrium is receptive during the window of implantation (WOI), where embryo adhesion and invagination can occur. This phenotype results from molecular changes in the endometrium, regarding ovarian hormones, growth and transcription factors, lipids and cytokines. We recently established a novel 3D in vitro model for mimicking the human endometrium. Here, we evaluate the impact of defined cytokine stimulation on the expression of genes with relevance to the WOI. Furthermore, we study the influence on embryo implantation using trophoblast cell lines.

The 3D model of the endometrium was established using the immortalized stromal cell line ST-T1b on collagen coated 96well-plates as a stromal compartment. Subsequently this layer was coated with matrigel, followed by the addition of either Ishikawa or RL95 cells as the epithelial component. Cell morphology was studied by immunofluorescence microscopy and scanning electron microscopy. Cells were stimulated with the cytokines EGF, IGF and IL-6, respectively. Gene expression changes were studied by qPCR. Embryo implantation was studied measuring adhesion of spheroids generated from HTR8/Svneo cells.

The stimulation of the 3D model with the cytokines resulted in complex changes in gene expression, with EGF being most effective. Notably cytokine stimulation had an effect on the number of attached spheroids: The cytokines IGF and IL6 significantly reduced spheroid attachment. The cytokine EGF enhanced spheroid attachment only in the Ishikawa model.

Our study demonstrates that EGF has a profound effect on the expression of genes relevant for the WOI in our in vitro model. With respect to embryo implantation, EGF, IGF and IL6 demonstrated differential effects. Overall, our study demonstrates the suitability of our novel in vitro model to study the impact of specific cytokines on gene expression changes and embryo implantation in vitro.



Session 2 • Ovar und Endometrium

PO 2.9

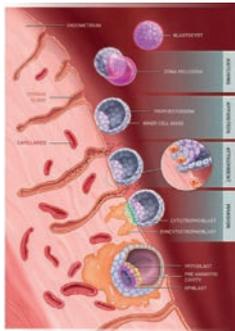


10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Impact of cytokines on proreceptive gene expression and trophoblast adhesion in a novel 3D model of the window of implantation

Martin Götte, Ulla Obermayer, Heba El-Shorafa, Mariam Heukamp, Marco Franchi
 Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Universitätsklinikum Münster; University of Bologna



Endometrial receptivity is an important factor for successful embryo implantation. The endometrium is receptive during the window of implantation (WOI), where embryo adhesion and invagination can occur. This phenotype results from molecular changes in the endometrium, regarding ovarian hormones, growth and transcription factors, lipids and cytokines. We recently established a novel 3D in vitro model for mimicking the human endometrium. Here, we evaluate the impact of defined cytokine stimulation on the expression of genes with relevance to the WOI. Furthermore, we study the influence on embryo implantation using trophoblast cell lines.



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

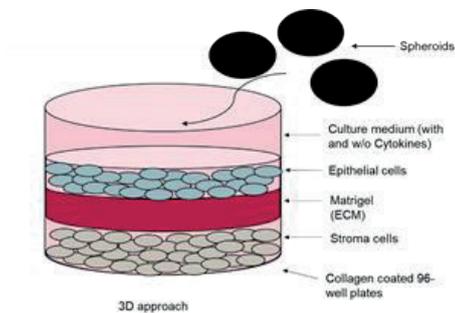
Material und Methoden:

The 3D model of the endometrium was established using the immortalized stromal cell line ST-T1b on collagen coated 96well-plates as a stromal compartment.

Subsequently this layer was coated with matrigel, followed by the addition of either Ishikawa or RL95 cells as the epithelial component

Cell morphology was studied by immunofluorescence microscopy and scanning electron microscopy. Cells were stimulated with the cytokines EGF, IGF and IL-6, respectively.

Gene expression changes were studied by qPCR. Embryo implantation was studied measuring adhesion of spheroids generated from HTR8/Svneo cells.

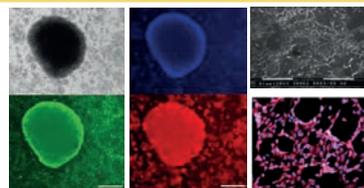


10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

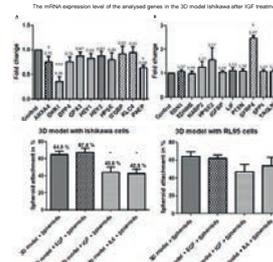
Ergebnisse:

The stimulation of the 3D model with the cytokines resulted in complex changes in gene expression, with EGF being most effective. Notably cytokine stimulation had an effect on the number of attached spheroids: The cytokines IGF and IL6 significantly reduced spheroid attachment. The cytokine EGF enhanced spheroid attachment only in the Ishikawa model.



Diskussion und Schlussfolgerungen:

Our study demonstrates that EGF has a profound effect on the expression of genes relevant for the WOI in our in vitro model. With respect to embryo implantation, EGF, IGF and IL6 demonstrated differential effects. Overall, our study demonstrates the suitability of our novel in vitro model to study the impact of specific cytokines on gene expression changes and embryo implantation in vitro.





Functional analysis of the histidine N-methyltransferase SETD3 in endometriosis

M. Götte¹, M. Poloczek¹, C. L. M. Ludwig², M. Pouttanen³, L. Kiesel¹, S. D. Schäfer¹, J. Weitzel²

¹Universitätsklinikum Münster (DEU), Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe;

²Research Institute for Farm Animal Biology (FBN) (DEU), Institute of Reproductive Biology;

³University of Turku (FIN), Research Centre for Integrative Physiology and Pharmacology, Institute of Biomedicine

Endometriosis is associated with pain and reduced fertility. Here, we investigate the effects of alterations in the expression of SETD3, an actin-specific histidine N-methyltransferase, on cytoskeletal function and endometriotic cell motility.

SETD3 expression in human tissue was analyzed using EndometDB, and evaluated in the uteri of the superfertile Dummerstorf mouse line FL1 by qPCR. SETD3 function in human endometriotic 12Z and primary cells were studied using siRNA. Cell motility, contractility, invasiveness, morphology and gene expression were analyzed by rt-PCR, western blotting, immunofluorescence, scratch wound assay, collagen contraction assay and matrigel invasion assay, respectively.

SETD3 gene expression was slightly increased in deep endometriotic lesions, and downregulated 1.6-fold in the uteri of superfertile mice. In vitro, immunofluorescence did not reveal major changes in cytoskeletal morphology. Only moderate changes in cytoskeletal element gene expression were observed, whereas SETD3 depletion resulted in a delay in cell motility in a scratch assay, in a reduction in invasiveness of 12Z cells, and in a reduced capability to contract collagen gels.

SETD3 affects invasive growth, cell motility and contractility of endometriotic cells in-vitro and could be related to the pathogenesis of (deep) endometriosis. SETD3 downregulation in the uteri of superfertile mice may indicate a possible link to infertility.



Session 2 • Ovar und Endometrium

PO 2.10



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

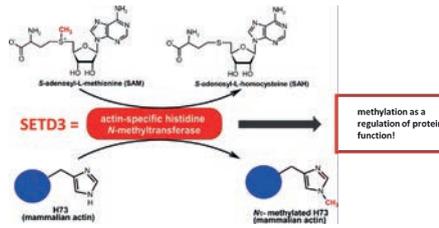
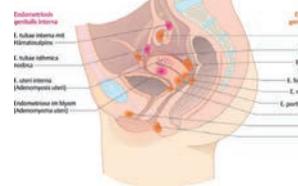
Functional analysis of the histidine N-methyltransferase SETD3 in endometriosis

Martin Götte, Melanie Poloczek, Carolin Lisa Michaela Ludwig, Matti Pouttanen, Ludwig Kiesel, Sebastian D. Schäfer, Joachim Weitzel
 Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Universitätsklinikum Münster; Research Institute for Farm Animal Biology (FBN), Dummerstorf

Einleitung:

Endometriosis is associated with pain and reduced fertility.

Here, we investigate the effects of alterations in the expression of SETD3, an actin-specific histidine N-methyltransferase, on cytoskeletal function and endometriotic cell motility.



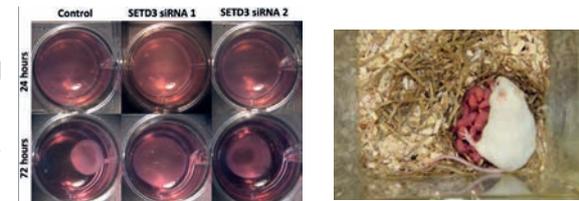
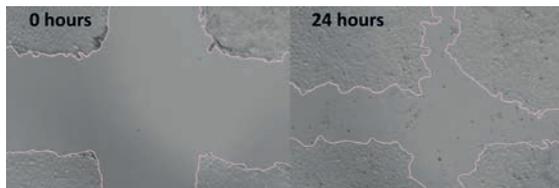
10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Material und Methoden:

SETD3 expression in human tissue was analyzed using EndometDB, and evaluated in the uteri of the superfertile Dummerstorf mouse line FL1 by qPCR.

SETD3 function in human endometriotic 12Z and primary cells were studied using siRNA. Cell motility, contractility, invasiveness, morphology and gene expression were analyzed by rt-PCR, western blotting, immunofluorescence, scratch wound assay, collagen contraction assay and matrigel invasion assay, respectively.



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

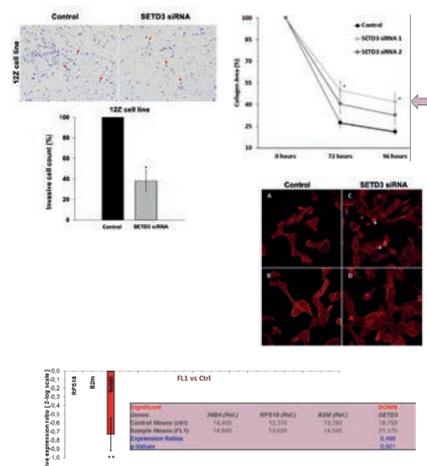
Ergebnisse:

SETD3 gene expression was slightly increased in deep endometriotic lesions, and downregulated 1.6-fold in the uteri of superfertile mice.

In vitro, immunofluorescence did not reveal major changes in cytoskeletal morphology. Only moderate changes in cytoskeletal element gene expression were observed, whereas SETD3 depletion resulted in a delay in cell motility in a scratch assay, in a reduction in invasiveness of 12Z cells, and in a reduced capability to contract collagen gels.

Diskussion und Schlussfolgerungen:

SETD3 affects invasive growth, cell motility and contractility of endometriotic cells in-vitro and could be related to the pathogenesis of (deep) endometriosis. SETD3 downregulation in the uteri of superfertile mice may indicate a possible link to infertility.





Session 2 • Ovar und Endometrium

PO 2.11

Role of the Musashi-Notch pathway in the pathogenesis of endometriosis

M. Götte¹, T. Strauß¹, N. Achmad¹, B. Greve², L. Kiesel¹, S. D. Schäfer¹

¹Universitätsklinikum Münster (DEU), Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe;

²Universitätsklinikum Münster (DEU), Klinik für Strahlentherapie-Radioonkologie

The RNA-binding protein Musashi-1 is an important modulator of notch signaling, and it is overexpressed in endometriosis, a disease related to pain and infertility in women. Stem cells may promote the pathogenesis of the disease due to their unlimited replicative potential and high developmental plasticity. In this study, we aimed to investigate the role of both human Musashi homologues (MSI-1 and MSI-2) in the pathogenesis of endometriosis using an in vitro system.

Immortalized endometriotic 12-Z cells and primary endometriotic stroma cells were treated with Musashi-1- and Musashi-2-siRNA. Subsequently, the impact on cell proliferation, cell apoptosis, cell necrosis, spheroid formation, stem cell phenotype and the Notch signaling pathway was studied in vitro.

Musashi-1/2-double-knockdown increased apoptosis and necrosis and reduced stem cell gene expression, cell proliferation, and the formation of spheroids. Musashi silencing increased the expression of the anti-proliferation mediator p21.

Our findings suggest the therapeutic potential of targeting the Musashi-Notch axis. We conclude that the Musashi genes have an impact on Notch signaling and the pathogenesis of endometriosis through the downregulation of proliferation, stemness characteristics and the upregulation of apoptosis, necrosis and of the cell cycle regulator p21.



Session 2 • Ovar und Endometrium

PO 2.11



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

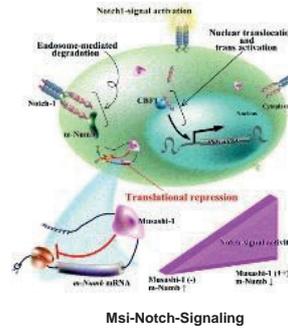
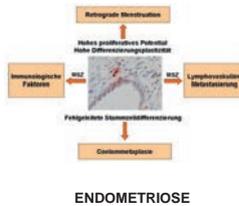
Role of the Musashi-Notch pathway in the pathogenesis of endometriosis

Martin Götte, Theresa Strauß, Nurjannah Achmad, Burkhard Greve, Ludwig Kiesel, Sebastian D. Schäfer
 Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Universitätsklinikum Münster

The RNA-binding protein Musashi-1 is an important modulator of notch signaling, and it is overexpressed in endometriosis, a disease related to pain and infertility in women.

Stem cells may promote the pathogenesis of the disease due to their unlimited replicative potential and high developmental plasticity.

In this study, we aimed to investigate the role of both human Musashi homologues (MSI-1 and MSI-2) in the pathogenesis of endometriosis using an in vitro system.

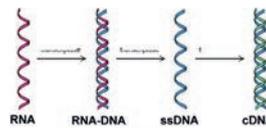


10. DVR KONGRESS

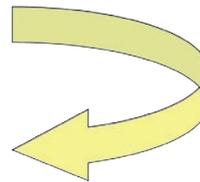
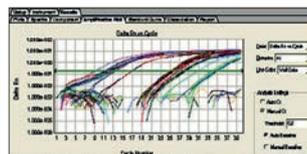
20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Material und Methoden:

- Immortalized endometriotic 12-Z cells and primary endometriotic stroma cells were treated with Musashi-1- and Musashi-2-siRNA.



- Subsequently, the impact on cell proliferation, cell apoptosis, cell necrosis, spheroid formation, stem cell phenotype and the Notch signaling pathway was studied in vitro.



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Ergebnisse:

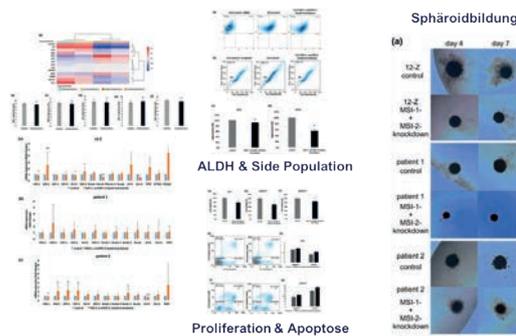
Musashi-1/2-double-knockdown increased apoptosis and necrosis and reduced stem cell gene expression, cell proliferation, and the formation of spheroids.

Musashi silencing increased the expression of the anti-proliferation mediator p21.

Diskussion und Schlussfolgerungen:

Our findings suggest the therapeutic potential of targeting the Musashi-Notch axis. We conclude that the Musashi genes have an impact on Notch signaling and the pathogenesis of endometriosis through the downregulation of proliferation, stemness characteristics and the upregulation of apoptosis, necrosis and of the cell cycle regulator p21.

Msi1/Msi2-siRNA knockdown hemmt den Stammzellphänotyp von Endometriosezellen





Session 2 • Ovar und Endometrium

PO 2.12

Einfluss des Corpus luteum Peptids Relaxin auf die Eigenschaften humaner endometrialer Stromazellen

F. von Versen-Höyneck¹, S. Meier¹, C. Springer¹, K. Richter¹, B. Schröder-Heurich¹

¹Medizinische Hochschule Hannover (DEU), Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe

Patientinnen, die sich einem Kryoeibotransfer in einem artifiziellen Zyklus unterziehen, haben im Vergleich zum Eibotransfer in einem natürlichen Zyklus ein doppelt so hohes Risiko für eine Präeklampsie. Dies kann mit dem Fehlen des Gelbkörpers in einem artifiziellen Kryozyklus zusammenhängen, der in der Frühschwangerschaft wichtige Hormone wie Östrogen und Progesteron produziert. Diese Hormone werden während artifizierender Kryozyklen zugeführt, was bei anderen Produkten des Corpus luteum, wie z. B. Relaxin (RLX), nicht der Fall ist. Bei Frauen mit Spontankonzeption, die eine Präeklampsie entwickelten, wurden niedrige mütterliche Relaxinspiegel festgestellt. Der direkte Zusammenhang zwischen RLX und dem Auftreten einer Präeklampsie ist jedoch weitgehend ungeklärt. Wir gingen der Frage nach, ob RLX wichtige Faktoren, die in der Pathophysiologie der Präeklampsie bedeutsam sind, beeinflusst. Dazu haben wir die Dezidualisierung sowie die Freisetzung pro- und antiangiogener Faktoren durch primäre humane endometriale Stromazellen (hESC), primäre Dezidualzellen (pD) und hTERT-immortalisierte hESC (T hESC) untersucht.

Primäre hESC wurden aus Biopsien von Frauen ohne Endometriumpathologie isoliert, pD-Zellen aus Biopsien der Basalplatte der Plazenta unkomplizierter Schwangerschaften und T-hESCs wurden erworben (ATCC). Die Zellen wurden entweder mit 0,5 mM zyklischem Adenosinmonophosphat (cAMP) oder einem Cocktail aus 10 nM Östradiol, 1 µM Progesteron und 0,5 mM cAMP (EPC) dezidualisiert und mit 0; 0,3 oder 1 ng/ml RLX behandelt. RNA wurde am Tag 0 und Tag 12 aus allen drei Zelltypen isoliert. mRNA-Expressionsniveaus von Dezidualisierungsmarkern (Prolaktin (PRL), Insulin-like Growth Factor Binding Protein 1 (IGFBP1)) sowie pro- und antiangiogenen Faktoren (vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor (VEGF); plazentarer Wachstumsfaktor (PIGF); lösliche Fms -ähnliche Tyrosinkinase-1 (sFlt-1) und Endoglin (ENG)) wurden durch quantitative Realtime-Polymerasekettenreaktion (qRT-PCR) bestimmt, N=3 biologische Replikate.

Während es in der cAMP-Behandlungsgruppe keinen Anstieg der Dezidualisierungsmarker PRL (p=0,99) und IGFBP1 (p=0,95) gab, zeigten hESC nach der EPC-Behandlung einen signifikanten Anstieg sowohl von PRL (p=0,0003) als auch von IGFBP1 (p=0,0001). Die RLX-Behandlung in den mit EPC behandelten hESC und pD erhöhte die mRNA-Expressionsniveaus von PRL und IGFBP1 (beide p < 0,05) sowie die Expression des proangiogenen Markers VEGF (P = 0,05). Eine vergleichende Analyse mit T hESC zeigte einen moderaten Effekt auf VEGF und PIGF. Für die IGFBP1- und PRL-mRNA-Expressionsniveaus wurde kein Effekt von RLX festgestellt. Das mRNA-Expressionsniveau des antiangiogenen Markers ENG stieg in der EPC-Gruppe sowohl in primären hESC (P=0,04) als auch in T-hESC (P=0,01) nach der Behandlung mit 0,3 ng/ml RLX im Vergleich zur Kontrolle. Das ENG-mRNA-Expressionsniveau stieg in pD dosisabhängig an, nicht jedoch in hESC und T hESC. Die RLX-Behandlung mit 1 ng/ml cAMP dezidualisierten hESC steigerte die mRNA-Expressionsniveaus von VEGF (P = 0,002) und PIGF (P = 0,02) nur in hESC, nicht jedoch in T hESC oder pD, signifikant.

Unsere Pilotstudie zeigt, dass RLX die Dezidualisierung verbessert und pro- und antiangiogene Faktoren in drei verschiedenen menschlichen endometrialen Stromazellmodellen beeinflusst. Unsere Ergebnisse bilden die Grundlage für weitere Studien, die den Zusammenhang zwischen niedrigen mütterlichen RLX-Werten und dem Auftreten einer Präeklampsie klären. Dies könnte zur Entwicklung verbesserter Vorhersagemodelle und neuer Behandlungsmöglichkeiten in der assistierten Reproduktion führen, die das Risiko einer Präeklampsie reduzieren, z.B. in artifiziellen Kryozyklen.



Session 2 • Ovar und Endometrium

PO 2.12



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Einfluss des Corpus luteum Peptids Relaxin auf die Eigenschaften humaner endometrialer Stromazellen

S. Meier, C. Springer, K. Richter, B. Schröder-Heurich, F. von Versen-Höynck
 Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Arbeitsgruppe Reproduktionsmedizin und Molekulare Perinatologie,
 Medizinische Hochschule Hannover

Einleitung:

- etwa Verdoppelung des Präeklampsierisikos bei HRT-Auftauzyklen im Vergleich zu Kryo-Embryotransfer im natürlichen Zyklus in Beobachtungsstudien
- Möglicher Zusammenhang mit dem Fehlen des Corpus luteum und Corpus luteum Sekretionsprodukten (z.B. Relaxin (RLX)) wird diskutiert
- bei Präeklampsie-Patientinnen wurden niedrige mütterliche RLX-Werte festgestellt
- aktuelle Studien zeigen eine gestörte Dezidualisierung als mögliche frühe Komponente in der Pathophysiologie

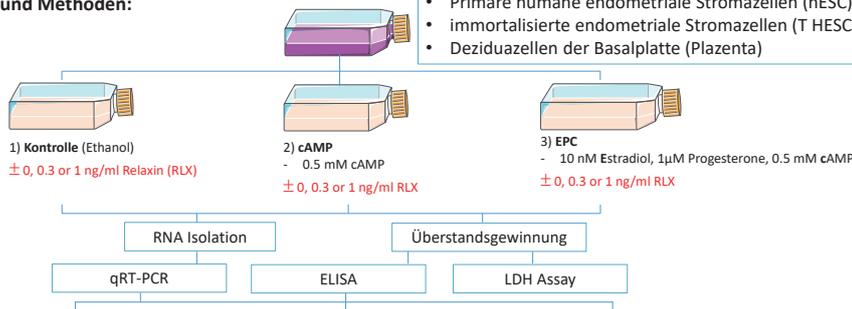
→ Ziel: Untersuchung der Rolle von Relaxin für die Dezidualisierung



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Material und Methoden:



- Primäre humane endometriale Stromazellen (hESC)
- immortalisierte endometriale Stromazellen (T HESC)
- Dezidualzellen der Basalplatte (Plazenta)

Dezidualisierungsmarker

- Prolaktin (PRL)
- Insulinähnliches Wachstumsfaktor-bindendes Protein 1 (IGFBP1)

Pro-angiogene Faktoren:

- vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor (VEGF)
- Plazenta Wachstumsfaktor (PlGF)

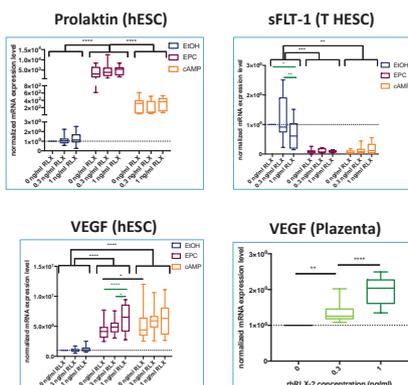
Anti-angiogene Faktoren:

- lösliche Fms-ähnliche Tyrosinkinase-1 (sFlt-1)
- Endoglin (ENG)



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn



Ergebnisse:

- Dezidualisierung mit EPC effektiver als mit cAMP
- Anti-angiogenes sFlt1 sinkt durch Dezidualisierung
- Pro-angiogene Wirkung von RLX (VEGF ↑)

Diskussion und Schlussfolgerungen:

- RLX beeinflusst pro-angiogene Faktoren
- Grundlage für weitere Studien zur Aufklärung des Zusammenhangs zwischen niedrigen mütterlichen RLX-Werten und dem Auftreten von Präeklampsie
- zukünftig Entwicklung verbesserter Vorhersagemodelle und neuer Behandlungsmöglichkeiten in der assistierten Reproduktion, z.B. in HRT-Kryozyklen.



The Dummerstorf high-fertility mouse line 1 – a worldwide unique model for increased female reproductive performance

C. L. M. Ludwig¹, S. Bohleber², R. Lapp¹, A. Rebl¹, E. K. Wirth³, M. Langhammer¹, U. Schweizer², M. Michaelis¹, J. M. Weitzel¹

¹Forschungsinstitut für Nutztierbiologie (FBN) (DEU), Institut für Reproduktionsbiologie;

²Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn (DEU), Institut für Biochemie und Molekularbiologie (IBMB);

³Charité – Universitätsmedizin Berlin (DEU), Department of Endocrinology and Metabolism

The development and maturation of ovarian follicles is a complex and highly regulated process, which is essential for successful ovulation. During recent decades, several mouse models provided insights into the regulation of folliculogenesis. In contrast to the commonly used transgenic or knockout mouse models, the Dummerstorf high-fertility mouse line 1 (FL1) is a worldwide unique selection experiment for increased female reproductive performance. FL1 mice are selected for the litter size and the birth weight of the entire litter for more than 200 generations. During the selection process, FL1 mice almost doubled the number of pups per litter compared to the unselected control mouse line with no signs of growth retardation in the offspring.

To get insights into the cellular mechanisms leading to the high-fertility phenotype, granulosa cells were isolated from antral follicles and used for mRNA sequencing. To obtain a global picture of how the phenotype is achieved gonadotropins, growth factors and other hormones associated with follicular development were analyzed.

FL1 females are characterized by various alterations on endocrine and molecular levels, which have the potential to improve the follicular development. FSH and IGF1 levels are significantly decreased in FL1 females, LH levels are elevated. No differences were found in insulin, prolactin and oxytocin levels in FL1 mice compared to the control mouse line. The results of the mRNA sequencing approach revealed that numerous genes, which are involved in important gonadotropin, apoptotic and metabolic signaling pathways in granulosa cells, are differentially expressed in granulosa cells of FL1 mice.

We showed that an overlap of different signaling pathways reflects the crosstalk between gonadotropin and growth factor signaling pathways, follicular atresia in FL1 mice is decreased due to improved granulosa cell survival and by improving the efficiency of intracellular signaling, glucose metabolism and signal transduction, FL1 mice have several advantages in reproductive performance and therefore almost doubled the number of ovulated oocytes. Thus, this worldwide unique mouse model can provide new insights into different factors leading to improved follicular development and has the potential to improve our understanding of high-fertility. The understanding of these mechanisms and their interplay might be of fundamental interest for the understanding of proper fertility in human.



Session 2 • Ovar und Endometrium

PO 2.13



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

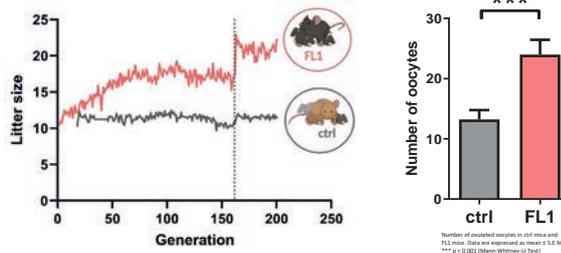
The Dummerstorf high fertility mouse line 1 – a worldwide unique model for increased female reproductive performance

Carolin Lisa Michaela Ludwig¹, Simon Bohleber², Rebecca Lapp¹, Alexander Rebl¹, Eva Katrin Wirth³, Martina Langhammer¹, Ulrich Schweizer¹, Marten Michaelis¹ and Joachim M. Weltzig¹

¹Research Institute for Farm Animal Biology (FBN), Dummerstorf, Germany
²Institut für Biochemie und Molekularbiologie (IBMB), Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, Bonn, Germany
³Charité - Universitätsmedizin Berlin, corporate member of Freie Universität Berlin, Humboldt-Universität zu Berlin, Department of Endocrinology and Metabolism, 10115 Berlin, Germany; DZHK (German Centre for Cardiovascular Research), partner site Berlin

Background

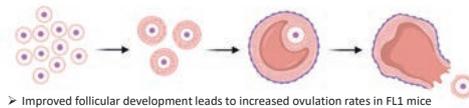
The Dummerstorf high fertility mouse line 1 (FL1) is a worldwide unique selection experiment for increased female reproductive performance and high fertility. FL1 females almost doubled the number of pups per litter compared to the unselected control mouse line (ctrl) and show no signs of growth retardation in the offspring. While ctrl mice ovulate approximately 13 oocytes, FL1 mice are able to ovulate 24 oocytes. Recent studies indicate that the follicular development is improved in FL1 females (Ludwig et al. 2022).



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Hypothesis of increased ovulation rate



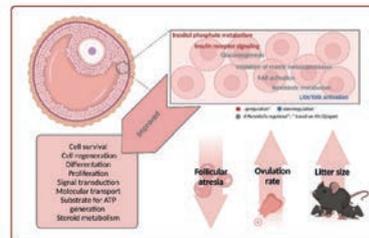
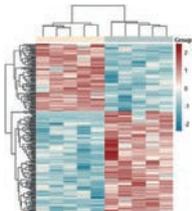
Methods

To get insights into the cellular mechanisms leading to the high fertility phenotype, granulosa cells were isolated from antral follicles for mRNA sequencing. Furthermore, endocrine factors associated with follicular development were analyzed

Transcriptome analysis

- Follicular atresia is decreased in FL1 mice due to the modulation of multiple genes and signaling pathways associated with the process of apoptosis, cellular survival and regeneration
- By improving the efficiency of intracellular signaling, glucose and inositol phosphate metabolism and signal transduction, FL1 mice have advantages in reproductive performance and therefore increased the ovulation rate

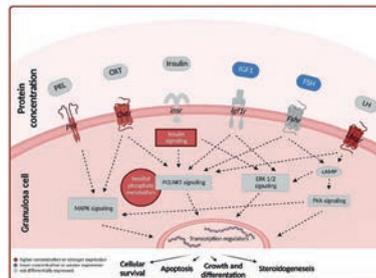
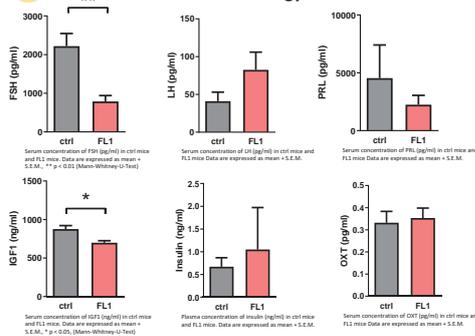
Hierarchical clustering dendrogram of differentially expressed genes (log₂ FC) in FL1 mice and ctrl mice. High and low expression clusters are represented by red and blue color, respectively (see scale on the right image)



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Endocrinology



➢ FL1 females are characterized by various alterations on hormonal and molecular levels, which have the potential to improve the crosstalk between different intracellular signaling pathways in granulosa cells

Summary and conclusion

- During the selection process, FL1 mice developed a strategy to improve follicular development
- Low FSH levels can not be attributed to low ovulation rates, but have to be considered in connection with local signaling pathways in the ovary and other endocrine parameters
- This worldwide unique high fertility model can provide new insights into many different aspects of female reproductive fitness and can improve our understanding of the achievement of high fertility



Modelling the oviduct epithelium in vitro: oxygen level and media regime influence functional parameters of oviduct epithelial cells cultured at the air-liquid interface

J. Huo¹, J. Schoen¹, A. N. Eren¹, S. Chen¹

¹Leibniz Institute for Zoo and Wildlife Research (IZW), Berlin (DEU)

The oviduct plays a critical role in reproduction as gamete storage and maturation, fertilization, and early embryonic development occur in its epithelium-lined luminal compartment. The oxygen (O₂) level within the oviduct is presumably crucial for maintaining a functional micro-environment for reproductive processes and is an often neglected variable when investigating oviduct functions through cell culture models. In line with this, lowering O₂ levels during in vitro embryo culture after IVF or ICSI has been shown to influence the embryonic phenotype and improve embryo quality in several species. To investigate the impact of divergent O₂ levels on oviduct epithelium functions in vitro, we cultured porcine oviduct epithelial cells (POEC) at the air-liquid interface (ALI) using two previously published media regimes and subjected them to reduced (5% O₂) and standard (not controlled, approx. 18% O₂) conditions in a humidified incubator maintained at 5% CO₂.

POEC (N = 5 donors) were cultured at the ALI for three weeks using a one-step (one medium during complete culture duration, 1S) and a two-step approach (divergent media for proliferation and maintenance phase of culture, 2S) under 5% or 18% O₂, respectively. The architecture of the epithelium (number of secretory cells, cellular height, and average diameter of cells) was analysed using histomorphometry. Transepithelial electrical resistance (TEER) was measured to evaluate epithelial barrier formation. Protein concentration in the luminal fluid created by the epithelia (oviductal fluid surrogate, OFS) was determined by MicroBCA. OVGP1, a glycoprotein specifically secreted by the oviduct epithelium, was detected in the OFS via immunoblot. Additionally, RT-qPCR was applied to quantify the expression of oviduct-related marker genes, including mucins (MUC16, OVGP1), hormone receptors (PGR, ESR1) and proliferation markers (Ki67, PCNA).

Our findings revealed that ALI-cultured oviduct epithelial cells resembled tissue-like morphology (monolayer formation with columnar shaped ciliated and non-ciliated cells) and formed an appropriate epithelial barrier with moderate TEER (400 - 800 Ω ·cm²) under all tested culture conditions. However, both the O₂ level and the media regime had pronounced effects on

- morphology (2S regime increased cell height, $P < 0.01$),
- cell composition (18% O₂ as well as 2S regime led to lower percentage of secretory cells, $P < 0.05$),
- production of OFS (higher volume and total protein amount under 18% O₂, $P < 0.01$) and OVGP1 content in OFS (lower concentration under 2S regime, $P < 0.05$) and
- expression of hormone receptors (ESR1 reduced under 18% O₂ ($P < 0.05$) as well as 2S regime ($P < 0.01$)).

These results highlight the impact of culture conditions on functional characteristics of oviduct epithelial cells in vitro, which potentially influence the outcome and reproducibility of experiments employing these culture systems. O₂ availability is an often neglected variable in cell culture procedures. To date, 5% CO₂ and atmospheric O₂ are the standard conditions employed for the vast majority of cell cultures. The actual O₂ availability for the cultured cells and its comparability with the “normoxic” range of the specific cellular environment in vivo are often still overlooked.



Session 2 • Ovar und Endometrium

PO 2.14

PO 2.14

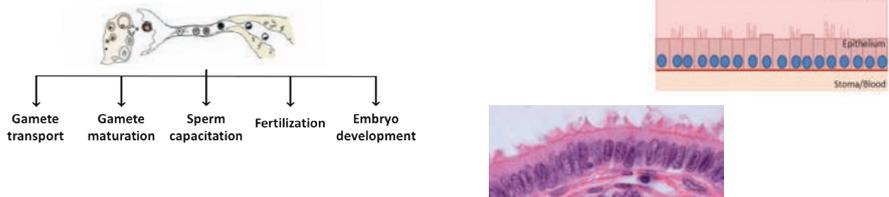


10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Modelling the oviduct epithelium *in vitro*: oxygen level and media regime influence functional parameters of oviduct epithelial cells cultured at the air-liquid interface

Jianchao Huo, Jennifer Schoen, Ali Necmi Eren, and Shuai Chen



Hypothesis: Culture conditions (O₂ level / culture media) → Divergent phenotypes of oviduct epithelial cells *in vitro*

Takahashi et al. Reprod Med Biol. 2012

PO 2.14

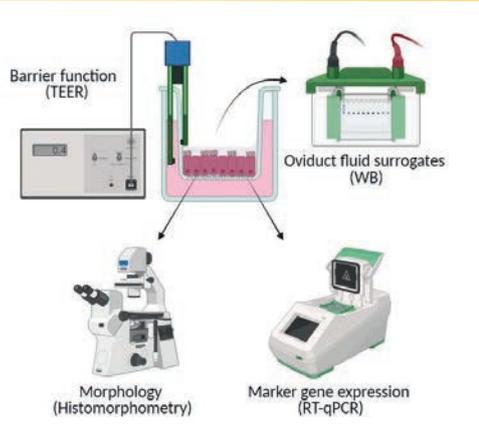
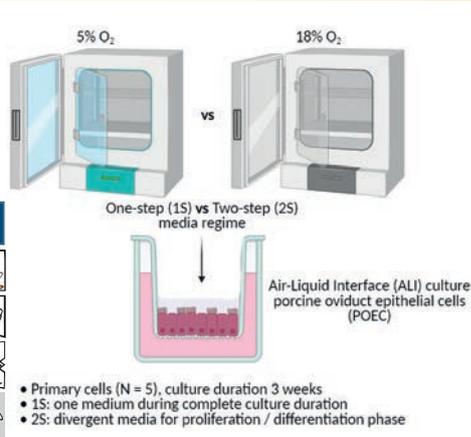


10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn



Methods



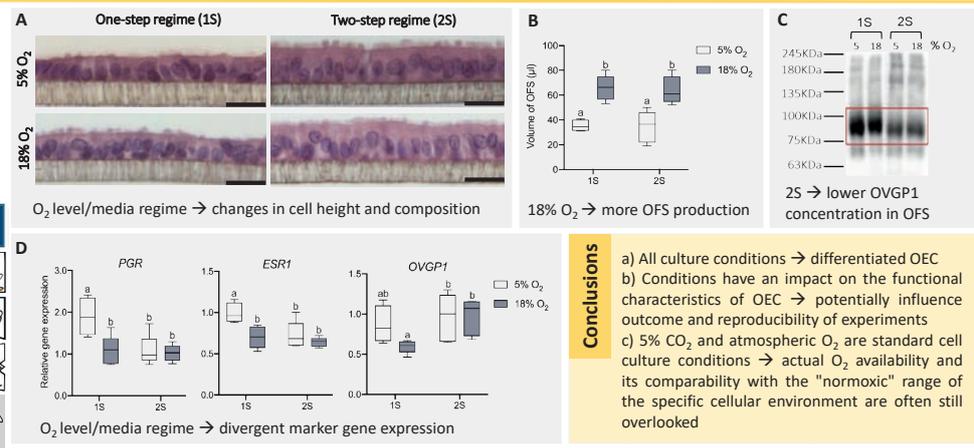
PO 2.14



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Results



Conclusions

- All culture conditions → differentiated OEC
- Conditions have an impact on the functional characteristics of OEC → potentially influence outcome and reproducibility of experiments
- 5% CO₂ and atmospheric O₂ are standard cell culture conditions → actual O₂ availability and its comparability with the "normoxic" range of the specific cellular environment are often still overlooked

OFS: Oviduct fluid surrogates; OEC: Oviduct epithelial cells; Different superscript letters indicated p < 0.05



Session 2 • Ovar und Endometrium

PO 2.15

Näher an der Realität – Proteomveränderungen durch Endometriales Scratching bei fertilen Frauen

I. Scheliga¹, D. Baston-Büst¹, J.-S. Krüssel¹, A. Bielfeld¹

¹Universitätsklinikum Düsseldorf UKD (DEU), Kinderwunschzentrum

Das Endometriale Scratching (ES) ist seit seiner Einführung ein viel diskutiertes Verfahren in der assistierten Reproduktion (ART), durch welches möglicherweise die Schwangerschaftsrate verbessert werden kann. Der genaue molekulare Mechanismus ist jedoch bis heute unzureichend erforscht. Es wird vermutet, dass das ES durch die oberflächliche Verletzung der sekretorischen Gebärmutter Schleimhaut eine lokale Immunreaktion auslöst, die zu einer verbesserten Rezeptivität führt. Bisher haben Studien gezeigt, dass das ES die Genexpression von Zytokinen, Wachstumsfaktoren und Adhäsionsproteinen beeinflusst, wodurch möglicherweise Immunantworten und die Expression von Adhäsionsmolekülen moduliert werden. Die größte Einschränkung der aktuellen Studienlage ist, dass der Wirkmechanismus bisher noch nie im Endometrium von fertilen Frauen untersucht wurde. Das Ziel dieser Studie war es deshalb, die Veränderungen im Endometrium von fertilen Frauen, die durch das ES ausgelöst werden, auf Proteinebene zu untersuchen, um einen Erklärungsansatz zu finden, warum diese Technik ggfs. zu einer Verbesserung der Schwangerschaftsrate vor ART führt.

Insgesamt wurde von 10 fertilen Frauen das Proteom des Endometriums analysiert und mit einer Follow-up Scratching Biopsie 28 Tage später verglichen. Das ES erfolgte bei den Probandinnen während des Implantationsfensters, da dies im Allgemeinen der Zeitraum zwischen dem Eingriff und dem Embryotransfer bei ART-Patienten ist.

Die vorliegende Proteomanalyse zeigte, dass das ES einen Einfluss auf Proteine hat, die an der Immunantwort und der Organisation des Zytoskeletts beteiligt sind, was folglich die endometriale Rezeptivität erhöhen könnte. Insbesondere zeigte sich der Trend zur Hochregulation bei Proteinen wie Lactoferrin (LTF), welches bei der angeborenen Immunantwort involviert ist. Andererseits konnte ein Trend zur Herabregulation von Proteinen beobachtet werden, die eine Rolle bei der Regulierung des Aktinzytoskeletts und bei zellulären Prozessen wie dem intrazellulären Transport, der Apoptose und der Autophagie spielen, beispielsweise Prothymosin alpha (PTMA). Diese Proteinveränderungen deuten darauf hin, dass das ES die Konstitution des endometrialen Gewebes und den Umbau der extrazellulären Matrix beeinflussen könnte, wodurch die Einnistung der Embryonen möglicherweise gefördert wird.

Soweit wir wissen, liefert diese Studie zum ersten Mal Daten zur Untersuchung von Veränderungen im Endometrium aufgrund des Scratching-Verfahrens, die dessen möglichen Nutzen für Patientinnen bei der ART-Behandlung erklären könnten.



Session 2 • Ovar und Endometrium

PO 2.15



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

P02.15 Näher an der Realität - Proteomveränderungen durch Endometriales Scratching bei fertilen Frauen

Iwona Schelliga MSc 1*, Dunja M. Baston-Büst PhD 1, Gereon Poschmann, PhD3, Kai Stühler, PhD2,3, Jan-Steffen Krüssel, MD, PhD1 and Alexandra P. Bielfeld, MD, PhD1,
 1 University Hospital Düsseldorf, Department of OB/GYN and REI (UniKID), Moorenstr. 5, 40225 Düsseldorf, Germany
 2 Molecular Proteomics Laboratory, Biomedical Research Centre (BMFZ), Heinrich-Heine-University, Universitätsstr. 1, 40225 Düsseldorf, Germany
 3 Institute for Molecular Medicine, University Hospital Düsseldorf, Düsseldorf, Germany

Einleitung:

Endometrial Scratching (ES) ist ein medizinisches Verfahren, bei dem das Endometrium verletzt wird, um die Implantationsrate zu verbessern. Der zugrunde liegende Mechanismus ist umstritten, aber einige Studien deuten darauf hin, dass ES eine Reparatur- und Immunreaktion auslösen könnte, die die Rezeptivität und folglich die Einnistung des Embryos verbessert. Dennoch gibt es Kontroversen über seine Wirksamkeit, und einige Forscher zweifeln aufgrund fehlender Daten und unklarer physiologischer Auswirkungen am Nutzen von ES.



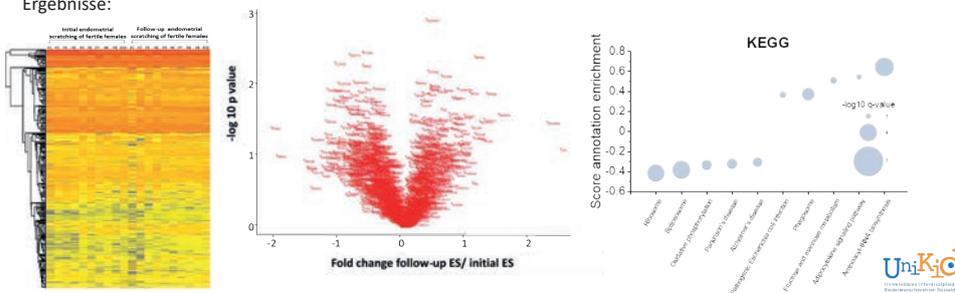
10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Material und Methoden:

- Endometriumbiopsien an LH-Peak + 7 Tage (fertile Individuen, n=10) per Pipelle
- Proteinlyse mit nachfolgendem tryptischen Verdau
- Flüssigchromatographie, Massenspektrometrie, Auswertung mit MaxQuant software

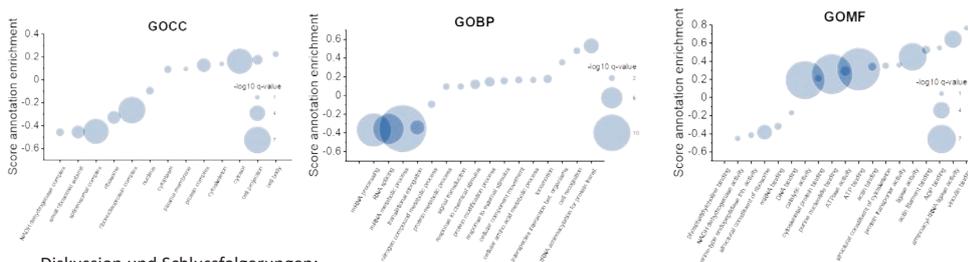
Ergebnisse:



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Ergebnisse:



Diskussion und Schlussfolgerungen:

- ES führt bei fertilen Frauen zu Veränderung der Proteinhäufigkeiten zwischen 1. und 2. ES
- betroffene Komponenten: Zellstruktur, Zytoskelett, Immunreaktionen und Stoffwechsel
- mögliche Ansätze für den embryo-maternalen Dialog
- Bedeutung der Erforschung des Wirkungsmechanismus auf Proteinebene aussagekräftiger als RNA-Ebene





Reproduktive Gesundheit nach Krebserkrankung – Ergebnisse einer Befragungsstudie mit standardisiertem Fragebogen nach Fertilitätsprotektion nach Kryokonservierung von Ovargewebe oder Oozyten

D. Madej¹, J. Schaar¹, P. Wimberger¹, M. Goeckenjan¹

¹Technische Universität Dresden, Universitätsklinikum Carus Gustav Carus (DEU), Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe

Heute haben junge Patientinnen mit onkologischen Erkrankungen durch Fortschritte in Diagnostik und Therapie eine hohe Lebenserwartung – so dass Kinderwunsch und Familienplanung zum Leben nach Krebserkrankung dazugehören. Die Krebstherapie kann sich direkt oder indirekt auf die reproduktive und psychosexuelle Gesundheit auswirken. Sorgen bezüglich Fruchtbarkeit und Familienplanung kommen bei jungen Krebsüberlebenden häufig vor, wurden bisher jedoch im Verlauf nicht detailliert untersucht.

Eingeschlossen wurden alle Patientinnen, bei denen von 2005 bis 2019 an einem Universitäts-Kinderwunschzentrum eine Kryokonservierung von Ovargewebe und/oder Oozyten vor einer gonadotoxischen Therapie durchgeführt wurde. Von den 98 Krebsüberlebenden, die im Zeitraum zwischen 10/2021 und 06/2022 kontaktierbar waren, konnten 91 Frauen für eine telefonische Befragung eingeschlossen werden (92,9 %). Die Sorgen bezüglich reproduktiver Gesundheit wurden anhand des RCAC-Scores („Reproductive Concerns After Cancer“) standardisiert erhoben und ausgewertet. Der RCAC-Score beinhaltet sechs Subkategorien (Subskalen) der Einstellung zu 1. Fruchtbarkeitspotenzial, 2. Offenheit gegenüber dem Partner, 3. Kindesgesundheit, 4. persönlicher Gesundheit, 5. Akzeptanz der Unfruchtbarkeit und 6. Schwangerschaft. Die Subskalen-RCAC-Scores sowie der Gesamt-RCAC-Score liegen zwischen 1 und 5, wobei höhere Werte auf größere Sorgen und Ängste hinweisen. Mögliche Zusammenhänge zwischen dem RCAC-Score und demografischen Daten, Krebserkrankung und -therapie, sozialer und reproduktiver Anamnese sowie dem Mental Health Inventory-5 (MHI-5)-Score wurden ausgewertet und statistisch analysiert.

Das Durchschnittsalter bei Befragung betrug $34,2 \pm 6,8$ Jahre. Die häufigste Erkrankung war Mammakarzinom ($n = 42, 46,2 \%$), gefolgt von Lymphomen ($n = 34, 37,4 \%$) und anderen Krebsarten ($n = 15, 16,5 \%$). Ovargewebe wurde bei 79 Frauen (86,8 %) und Oozyten bei 13 Frauen (15,5 %) kryokonserviert. Bei einer Patientin wurden sowohl Oozyten als auch Ovargewebe konserviert. Bis zum Studienschluss verwendeten 9 Frauen (9,9 %) das kryokonservierte Gewebe und insgesamt 31 Frauen (34,1 %) wurden schwanger. 55 Frauen (60,4 %) äußerten einen starken aktuellen Kinderwunsch. Der mittlere RCAC-Gesamtwert betrug $2,4 \pm 0,7$, wobei die mittleren Subskalenwerte zwischen $1,8 \pm 1,0$ („Offenheit gegenüber dem Partner“) und $2,8 \pm 1,2$ („Fruchtbarkeitspotenzial“) lagen. Die multivariable Regressionsanalyse identifizierte zwei unabhängige Variablen, die mit höherem RCAC-Gesamtwert assoziiert waren: ausgeprägter Kinderwunsch ($\beta=0,20$; Standardfehler [SE]=0,07; $p=0,002$) und erhöhter MHI-5 Score ($\beta=0,13$; SE=0,61; $p=0,037$). Ein niedrigerer RCAC-Gesamtwert war unabhängig mit „Schwangerschaft nach Krebs“ assoziiert ($\beta=-0,37$; SE=0,07; $p<0,001$). Feste Partnerschaft wirkte sich positiv auf den RCAC-Subscore „Akzeptanz der Unfruchtbarkeit“ aus ($\beta=-0,26$; SE=0,12; $p=0,029$). Das Alter der Patientinnen sowohl zum Zeitpunkt der Diagnose als auch zum Zeitpunkt der Befragung, Krebsart und -behandlung, beruflicher Status und andere demografische Merkmale zeigten keine statistisch signifikante Assoziation mit dem RCAC-Gesamtwert oder RCAC-Subscores.

Fertilitätsprotektion mit Kryokonservierung von Ovargewebe oder Oozyten führte zu einem günstigeren RCAC-Score, als in früheren Studien ohne standardisierte Beratung zu Fertilitätsprotektion nachgewiesen wurde. Stärkere reproduktive Sorgen (höherer RCAC-Wert) waren mit einem höheren Risiko für psychische Störungen wie Depressionen und Angststörungen, gemessen mit standardisiertem Kurzfragebogen MHI-5, assoziiert. Bei 34% der Frauen kam es nach Krebserkrankung zu Schwangerschaften, diese Frauen wiesen einen signifikant niedrigeren RCAC-Wert im Fragebogen auf. Diese Ergebnisse unterstreichen die Bedeutung der Beratung zur Fertilitätsprotektion vor gonadotoxischer Therapie und deren langfristige positive Auswirkungen auf die Lebensqualität von Frauen nach Krebserkrankung.



Session 2 • Ovar und Endometrium

PO 2.16



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

**Reproduktive Gesundheit nach Krebserkrankung.
 Ergebnisse einer Befragungsstudie mit standardisiertem Fragebogen nach
 Fertilitätsprotektion nach Kryokonservierung von Ovargewebe oder Oozyten**

Dária Madej, Jessica Schaar, Pauline Wimberger, Maren Goeckenjan

Einleitung:

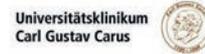
Junge Patientinnen mit onkologischen Erkrankungen

- Längere Lebenserwartung
- Krebstherapie -> Einfluss auf reproduktive und psychosexuelle Gesundheit
- ↑ Stellenwert der Lebensqualität



2006 Gründung FertiPROTEKT e.V.
 2017 Leitlinie „Fertilitätserhalt bei onkologischen Erkrankungen“

Fragestellung: Kinderwunsch und Sorgen nach Kryokonservierung von Ovargewebe oder Oozyten?

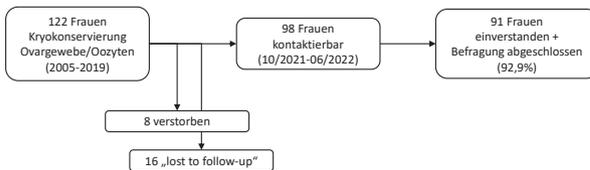


10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Material und Methoden

- Unizentrische Kohortenstudie am Kinderwunschzentrum des UKD
- Standardisierter validierter Fragebogen inkl.
 - Reproductive Concerns After Cancer (RCAC) – Score
 - 6 Subkategorien mit jeweils 3 Fragen
 - Antworten auf 5-Punkt-Skala; 1 = keine Sorgen; 5 = größte Sorgen)
 - Mental Health Inventory (MHI) – 5



Alter (Jahre)	
Bei Befragung	34.2 ± 6.8
Bei Kryopreservierung	27.0 ± 6.4
Malignität	
Mamma-Ca	42 (46.2%)
M. Hodgkin	30 (32.9%)
Knochen	6 (6.6%)
Non-Hodgkin Lymphom	4 (4.4%)
Leukämie	3 (3.3%)
Andere	6 (6.6%)
Primäre Behandlung	
OP	58 (63.7%)
Bestrahlung	59 (65.0%)
Chemotherapie	89 (98.0%)
Endokrine Therapie	26 (28.6%)
Antikörper	13 (14.3%)
Fertilitätsprotektion	
Kryokonservierung Ovargewebe	79 (86.8%)
Kryokonservierung Oozyten	13 (15.5%)
GnRH-Agonist	55 (60.1%)
Transposition von Ovarien	3 (3.2%)
Aktuelle Behandlung	
Chemotherapie	4 (4.4%)
Endokrine Therapie	11 (12.1%)
Keine	77 (84.6%)



10. DVR KONGRESS

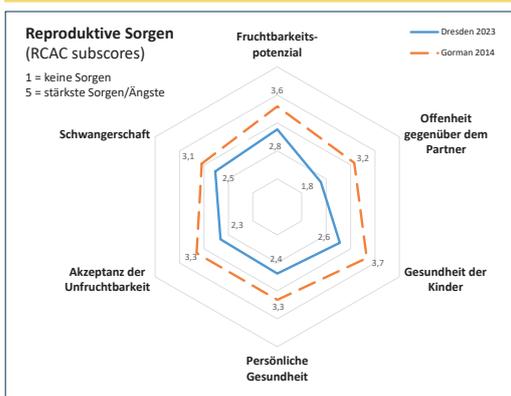
20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Ergebnisse:

- Der mittlere RCAC-Gesamtwert betrug 2,4 ± 0,7
- Stärkere reproduktive Sorgen waren assoziiert mit höherem Risiko für psychische Störungen (Depressionen, Angststörungen) im MHI-5- Fragebogen
- Bei 34% der Frauen kam es nach Krebserkrankung zu Schwangerschaften, diese Frauen wiesen einen signifikant niedrigeren RCAC-Wert im Fragebogen auf
- Feste Partnerschaft wirkte sich günstig auf RCAC-Subscore „Akzeptanz der Unfruchtbarkeit“ aus

Schlussfolgerung:

- Fertilitätsprotektion vor gonadotoxischer Therapie führte zum günstigeren RCAC-Score
- Kryokonservierung des Ovargewebes/ Oozyten hatte langfristige positive Auswirkungen auf die Lebensqualität der Frauen





Session 2 • Ovar und Endometrium

PO 2.17

Do different protocols for endometrial preparation before frozen embryo transfer (FET) have different pregnancy or birth rates?

M. Amrani¹, W. Willem², J. Limberg³, R. Seufert³, C. Skala²

¹TFP Kinderwunschzentrum Wiesbaden und Universitätsmedizin Mainz (DEU);

²Johannes Gutenberg Universität Mainz (DEU), Klinik und Poliklinik für Geburtshilfe und Frauengesundheit;

³TFP Kinderwunschzentrum Wiesbaden (DEU)

A proliferated and secretorily converted endometrium is required for a FET. This can be achieved with or without ovulation. Hormon replacement treatment (HRT) dispenses with ovulation, instead focusing on endometrium proliferation. In the modified natural or mildly stimulated cycle, transfer depends on ovulation and the resulting implantation window. To date, the optimal choice for a corresponding procedure has not yet been proofed. Often, HRT cycles are chosen for better timing of thawing and transfer. However, there are increasing indications that the presence of the corpus luteum has other important functions for the maintenance and progress of pregnancy in addition to its hormone secretion.

It was an anonymous retrospective, explorative, monocentric, observational study in 2021. Data collection was performed in accordance with ethical standards of TFP, University of Mainz, the Helsinki declaration and its amendments or comparable ethical standards. Between 2015 and 2020, 1382 patients received a first FET. After anonymization FETs were sorted by protocol. Target parameters were pregnancy and birth rate. Additionally, age, BMI, length of infertility, sonographic thickness of endometrium, number and grading of embryos, as well as progesterone administration in NC and SC protocol were descriptively evaluated. The treatment effect was evaluated with logistic regression, specifying the odds ratio, the confidence interval, and the p-value. Level of significance was $\alpha=0.05$.

Pregnancy and birth rate was for 197 NC 27.9 % (55) and 67.3 % (37), for 725 SC 29.0 % (210) and 67.1 % (141), and 458 HRT cycles 33.2% (152) and 52.0% (79). Mean age was 34.8, 35.2 and 33.8 years. The mean BMI was 23.1, 22.9 and 23.5 kg/m² and the mean length of the infertility was 3.9, 3.5 and 3.5 years. The mean endometrial thickness before the start of the secretory phase was measured at 8.8, 9.5 and 9.4 mm. The average number of embryos transferred was 1.7, 1.8, 1.8 and the mean proportion of A-grading embryos was 40.0, 48.1 and 46.7%. Progesterone was given in an average of 83.2 and 38.5% cases, respectively. The calculated odds ratios with 95% confidence interval (CI) and the p-value for the clinical pregnancy rate between protocol NC and SC were 1.053 (0.742-1.494) and p=0.773, between protocol NC and HRT 1.282 (0.888-1.851) and p=0.183 and between protocol SC and HRT 1.218 (0.947-1.568) and p=0.125. The calculated values were for birth between protocol 1 and 2 of 0.994 (0.528-1.871) and p=0.985, between protocol 1 and 3 of 0.526 (0.276-1.005) and p=0.052 and between protocol 2 and 3 of 0.530 (0.345-0.813) and p=0.004.

Modified natural cycle (NC) or mild stimulation (SC) appear to be associated with a higher birth rate than hormone replacement therapy (HRT) for FET. Since endometrial preparation with ovulation could have a positive effect on the course of pregnancy after FET, the HRT protocol should be reserved for patients with cycles that are difficult to stimulate. These individual ovulation-oriented FET treatments could result in organizational and personal consequences for practices and clinics.



Session 2 • Ovar und Endometrium

PO 2.17



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Observational study on the outcome of different endometrial preparation protocols in 1382 frozen embryo transfers (FET)

Amrani M ^{1,2}, Willem W², Limberg J¹, Seufert R¹, Skala C²

¹ TFP Fertility Centre Wiesbaden, Germany
² Clinic for obstetrics and women's health at the University Medical Center Main, Germany

Einleitung bzw. Fragestellung:

Weisen unterschiedliche Protokolle zur Endometriums-Vorbereitung vor Kryoembryotransfer (frozen embryo transfers, FET) unterschiedliche Schwangerschafts- oder Geburtenraten auf?

- FET
 - Proliferiertes und sekretorisch umgewandeltes Endometrium
 - Mit oder ohne Ovulation
 - Hormonersatztherapie (HRT) → sonographisch aufgebauten Endometrium
 - Modifiziert natürlichen (NC) oder mild stimulierten Zyklus (SC) → Ovulation und dem daraus resultierenden Implantationsfenster
- Bis dato → Optimale Wahl noch nicht gesichert.
- HRT-Zyklen → bessere Steuerung des Auftauzeitpunktes und Transfers
- Hinweise → Vorhandensein des Corpus luteum → weitere wichtige Funktionen (Angiogenese, Adhäsion, Invasion, Proliferation) → Fortgang der Gravidität



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Material und Methoden:

Design	Anonymisierte retrospektive explorative monozentrische Beobachtungsstudie Keine Fallzahlplanung bei explorativem Charakter
Zeitraum	Januar 2015 und Ende Juni 2020
Ort	TFP Kinderwunschzentrum Wiesbaden in Kooperation Universitätsmedizin Mainz (Dissertation)
Zielparameter	Schwangerschafts- und Geburten Rate pro durchgeführten FET
Unabhängige Variablen	Anteil der drei Protokolltypen (NC, SC und HRT)
Abhängige Variablen	Alter, BMI, Dauer der Unfruchtbarkeit, sonographische Dicke des Endometriums, Anzahl und Einstufung der Embryonen sowie die Progesterongabe im NC- und SC-Protokoll
Statistische Verfahren	Korrelationskoeffizient, Logistische Regression, Odds Ratio, Berechnung des p-Wertes ($\alpha=0,05$).
Ethische Vorgaben	Patienteneinverständnis DGVO Ethische Standards der Universitätsmedizin Mainz und TFP Wiesbaden



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Ergebnisse:

	Protocol type			p*	p-value		
	NC (n = 197)	SC (n = 725)	HRT (n = 458)		p ¹	p ²	p ³
Mean age (year)	34.8 ± 4.3	35.2 ± 4.2	33.8 ± 4.5	< 0,001	0.198	0.009	< 0.001
Mean BMI (kg/m ²)	23.1 ± 4.4	22.9 ± 3.9	23.5 ± 4.4	0.083			
Mean endometrial thickness (cm)	8.8 ± 1.8	9.5 ± 1.9	9.4 ± 2.0	0.004	0.001	0.012	0.413
Mean length of the infertility (year)	3.9 ± 2.5	3.5 ± 2.3	3.5 ± 2.4	0.086			
Mean Number of embryos transferred	1.7 ± 0.5	1.8 ± 0.5	1.8 ± 0.4	0.008	0.007	0.002	0.619
Proportion of A-grading embryos	78 (40.0%)	349 (48.1%)	214 (46.7%)	0.388			
Applied progesterone	164 (83.2%)	279 (38.5%)		< 0,001	< 0.001		

p* ¹ kategorialen und ANOVA mindestens einem stetigen Merkmal
 p¹ = modifizierter Spontanzklus vs. FSH-Zyklus;
 p² = modifizierter Spontanzklus vs. HRT-Zyklus
 p³ = FSH-Zyklus vs. HRT-Zyklus
 n = 0.05

	NC	SC	HRT	Mantel-Haenszel common OR (95% CI)	p-value
CPR	55 (27.9%)	210 (29.0%)	152 (33.2%)	1.053 (0.742-1.494)	P ¹ = 0.773
LBR	37 (67.3%)	141 (67.1%)	79 (52.0%)	1.282 (0.888-1.851) 1.218 (0.947-1.568) 0.994 (0.528-1.871) 0.526 (0.276-1.005) 0.530 (0.345-0.813)	P ² = 0.183 P ³ = 0.125 P ⁴ = 0.985 P ⁵ = 0.052 P ⁶ = 0.004

CPR clinical pregnancy rate
 LBR life birth rate

Diskussion und Schlussfolgerungen:

- Retrospektive und monozentrische Beobachtungsstudie. Inhomogenität der Stichprobengrößen.
- FET im NC oder SC versus HRT → anscheinend höhere Geburtenrate bzw. niedrigeren Abortrate pro Behandlungszyklus
- Ovulation → positiven Effekt auf frühen Schwangerschaftsverlauf nach FET
- HRT-Protokoll für Patienten mit kaum zu stimulierenden Zyklen vorzubehalten.
- Individuelle Protokolltypen → organisatorische und personelle Konsequenzen für Praxen und Kliniken



Session 2 • Ovar und Endometrium

PO 2.18

Überprüfung der individuellen endometrialen Rezeptivität im programmierten vs. natürlichen Zyklus

P. Edimiris¹, D. M. Baston-Büst¹, A. P. Bielfeld¹, J.-S. Krüssel¹

¹Uniklinik Düsseldorf (DEU), UniKiD

Trotz enormer Fortschritte in der assistierten Reproduktion in den letzten Jahrzehnten leiden immer noch etwa 5-10 % der Patientinnen unter wiederholtem Implantationsversagen. Als eine der möglichen Ursachen wird ein individuell verschobenes Implantationszeitfenster (window of implantation, WOI) diskutiert. Im Jahr 2011 wurde ein Test zur Untersuchung der individuellen endometrialen Rezeptivität auf Grundlage einer Genexpressionsanalyse des Endometriums eingeführt (ERA[®], Igenomix). Er bestimmt die personalisierte Dauer der Progesteron-Exposition, die erforderlich ist, um einen rezeptiven Status im Endometrium zu erreichen um den Embryo in einem Kryozyklus einzusetzen. Vergleicht man den Anteil der Patientinnen mit verschobener endometrialer Rezeptivität innerhalb der zu diesem Thema veröffentlichten Studien, so zeigt sich eine große Streuung zwischen 18% und 85%, wobei häufig nicht unterschieden wird, ob der Test in einem programmierten oder natürlichen Zyklus durchgeführt wurde. Der Modus des Kryotransfers hat sich in den letzten Jahren aufgrund des nachgewiesenen positiven Einflusses eines vorhandenen Corpus luteum vom komplett programmierten Zyklus hin zu einem natürlichen Zyklus mit oder ohne Ovulationsinduktion und mit oder ohne Lutealphasensubstitution verändert. Ziel dieser Arbeit ist es deshalb zu untersuchen, ob die endometriale Rezeptivität derselben Patientin sich im programmierten im Vergleich zum natürlichen Kryozyklus unterscheidet.

Dies ist eine retrospektive Analyse im Zeitraum 2016 bis 2023 am universitären interdisziplinären Kinderwunschzentrum Düsseldorf (UniKiD). Untersucht wurden 9 Patientinnen, bei denen der Test zur Bestimmung der individuellen endometrialen Rezeptivität sowohl im programmierten, wie auch im natürlichen Kryozyklus durchgeführt wurde. Es wurden die Häufigkeit der Verschiebung und die Streuung der endometrialen Rezeptivität analysiert.

Im programmierten Zyklus zeigte sich bei 66% (6/9) der Patientinnen ein prärezeptives Endometrium, wobei die Verschiebung bei 12 Stunden (n = 2), 24 Stunden (n = 3) und 47 Stunden (n = 1) lag. Die gleichen Patientinnen hatten im natürlichen Kryozyklus nur in 22% (2/9) ein verschobenes WOI. Eine der Patientinnen war postrezeptiv, d.h. das WOI lag 12 Stunden vor der Biopsie. Das WOI der anderen Patientin war prärezeptiv um 12 Stunden verschoben.

Die endometriale Rezeptivität ist im programmierten Zyklus im Vergleich zum natürlichen Zyklus deutlich häufiger verschoben und zeigt eine breitere Streuung. Möglicherweise wird durch die Anwendung des programmierten Kryozyklus iatrogen eine reduzierte/pathologische endometriale Rezeptivität verursacht und damit das reproduktive Outcome verringert. Bei konsequentem Einsatz des natürlichen Kryozyklus kann somit nicht nur die Häufigkeit der verschobenen endometrialen Rezeptivität verringert, sondern möglicherweise auch das reproduktive Outcome verbessert werden.



Session 2 • Ovar und Endometrium

PO 2.18



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Abstract Titel / Autoren:

Überprüfung der individuellen endometrialen Rezeptivität im programmierten vs. natürlichen Zyklus

Edimiris P, Baston-Büst DM, Bielfeld AP, Krüssel JS

Einleitung:

- Daten des zeigen, dass das reproduktive Outcome im modifizierten natürlichen Kryozyklus **höher** ist als im programmierten Kryozyklus
- Ursache hierfür könnten eine bessere **endometriale Rezeptivität** im natürlichen im Vergleich zum programmierten Zyklus sein
- Ziel der Arbeit: Erfassung der endometrialen Rezeptivität **derselben** Patientin im programmierten vs natürlichen Zyklus mithilfe des ERA® -Tests



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Material und Methoden:

- retrospektive Analyse im Zeitraum 2016 bis 2023 am universitären interdisziplinären Kinderwunschzentrum Düsseldorf (UniKid).
- n = 9 Patientinnen
- Test zur Bestimmung der individuellen endometrialen Rezeptivität wurde durchgeführt
 A) im programmierten **UND**
 B) im natürlichen modifizierten Zyklus
- Analyse: Häufigkeit der Verschiebung
 Streuung der endometrialen Rezeptivität analysiert.



10. DVR KONGRESS

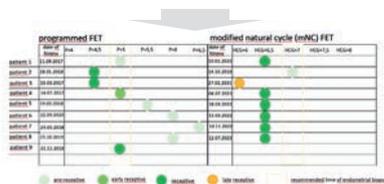
20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Ergebnisse:

- A) programmierter Zyklus:
 - **66%** (6/9) der Patientinnen nicht rezeptiv (alle prärezeptiv)
 - Verschiebung um 12 (n=2), 24 (n= 3) und 47 Stunden (n=1)
- B) natürlicher Zyklus:
 - **22%** (2/9) der Patientinnen nicht rezeptiv
 - 1x postrezeptiv (12 Stunden vor Biopsie)
 - 1x prärezeptiv um 12 Stunden verschoben.

Diskussion und Schlussfolgerungen:

- endometriale Rezeptivität im programmierten Zyklus im Vergleich zum natürlichen Zyklus deutlich **häufiger verschoben** und zeigt eine **breitere Streuung**
- Einsatz des natürlichen Kryozyklus verringert möglicherweise das Problem der verschobenen endometrialen Rezeptivität





Nanoparticle tracking analysis for monitoring exosome secretion from an immortalized ovarian granulosa cell model

S. Oehms¹, S. Fayezi¹, T. Strowitzki¹, A. Germeyer¹

¹Frauenklinik der Universitätsklinik Heidelberg (DEU), Abteilung Gynäkologische Endokrinologie und Fertilitätsstörungen

Exosomes are extracellular vesicles that originate from inside cells. These particles are enclosed by lipid membranes and are identified by vesicle size and endosomal marker expression. Exosomes are representative of their cellular origins and are heterogeneous at multiple levels. Unique technologies have recently been designed to measure specific physical aspects of exosomes in biological fluids. Fundamentally, reproduction is a multicellular, multiorgan process. In the main stages of female reproduction, the granulosa cells surrounding the oocytes coordinate the ovary, uterus, and brain, which might be partly via exosomal secretion. Characterization of the secreted particles provides a means to study their functions.

We cultured the line of immortalized granulosa cells (COV434) that was originally obtained and established from a 27-year-old female patient with ovarian carcinoma. We isolated exosomes from the conditioned medium using repeated centrifugation and ultracentrifugation. All samples were measured three times with five replicates with nanoparticle tracking analysis (NTA). Using a particle tracking analyzer, we assessed multiple physical parameters, including particle concentration and particle size distribution. A microfluidic pump was set so that the exosomes could traverse the measurement area in 10 s at 25°C. The analyzer software visualized the Brownian motion of nanoparticles in real time to measure particle size and calculate particle concentration. Additionally, exosomal membrane markers were confirmed with western blotting analysis. Electron microscopy was used to examine the ultrastructural morphology of the particles.

We introduced a workflow for the rapid isolation and characterization of intact exosomes from granulosa cell cultures in an in vitro model using COV434 cells. The marker CD81 was present in exosomes derived from the cells. We then visualized and enumerated exosomes isolated from the cells' 18 h-conditioned medium. The particles were seen to be spherical in visual analysis with a transmission electron microscope. With NTA the mean mode of particle size was 84 nm, on average 90% of particles were 240 nm or smaller. The granulosa COV434 cell model cells shed exosomes at a rate of 200–250 per cell per hour.

Nanoparticle tracking analysis can rapidly screen granulosa cell models with respect to the size and concentration of exosomes. Our reproducible workflow using an experimental cell model facilitates testing exosomes for clinical application in reproduction. The value of the reported exosome parameters for additional applications, such as biomarkers and transporters, should be tested.



Session 3 • Stimulation und Modellsysteme

PO 3.1



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN –
 Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Nanoparticle tracking analysis for monitoring exosome secretion from an immortalized ovarian granulosa cell model

Oehms Sophie, Fayezi Shabnam, Strowitzki Thomas, Germeyer Ariane
 Department of Endocrinology and Fertility Disorders, Women's Hospital, Ruprecht-Karls University of Heidelberg, Heidelberg, Germany

Introduction:

- Exosomes (extracellular vesicles) are
 - a heterogeneous group of nanoparticles
 - involved in intercellular communication
 - representative of their cellular origins
 - characterized by vesicle size, morphology and endosomal marker expression
- Reproduction is a multicellular, multiorgan process
 - granulosa cells coordinate the ovary, uterus, and brain, which might be partly via exosomal secretion
- Precise characterization of nanoparticles is necessary to study their function and possible application in reproduction



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN –
 Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Material and methods:

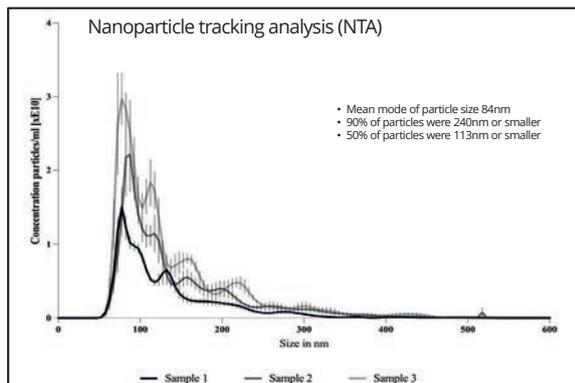
- Exosome Extraction from COV434 cells using Ultracentrifugation
- Nanoparticle tracking analysis (NTA) by Malvern Panalytical
 - size
 - concentration
 - polydispersity
 - visualization
- Transmission electron microscopy (TEM)
- Western Blot



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN –
 Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Results:



Discussion:

- NTA uses light scattering and Brownian motion to measure samples
- Method does not affect morphology of particles
- Herein, we introduced a workflow for rapid isolation and characterization of intact exosomes of granulosa cell model (COV434 cells) using nanoparticle tracking analysis
- It should be tested, if exosomes can be used as biomarkers and function as potential drug carriers in the reproductive system.



Association between early embryo morphological assessment and pregnancy rate

D. Makri¹, C. Ori², L. Sela², S. Mahner², C. J. Thaler², V. von Schönfeldt²

¹LMU Klinikum (DEU), Hormon- & Kinderwunschzentrum;

²LMU Klinikum (DEU), Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe

Prolonged in vitro culture allows for morphological analysis to select the most competent embryo(s) for transfer on Day 5. In certain cases Day 3 embryo transfers are carried out, mainly when the outcome from stimulation and/or fertilization is poor. In these patients, early markers of quality and viability are needed to facilitate embryo selection. The use of timelapse systems allows for the application of Early-Embryo-Viability-Assessment (EEVA) criteria for early embryo selection in d3 transfers.

This is a retrospective data analysis from assisted reproduction cycles carried out in LMU „Hormon- und Kinderwunschzentrum“ between 2018 and the first trimester of 2022. A total of 104 ICSI fresh d3 single embryo transfers were included. Patients with suboptimal response (≤ 5 mature oocytes after stimulation) undergoing ICSI were selected for d3 transfer (average age 38). The EmbryoScope™ system was used for morphokinetic evaluation and grouping of embryos into EEVA+ (second division 9-11 hrs from first AND third division 2hrs later) and EEVA- (division timings not met) embryos. Chi-squared analysis was performed to compare the pregnancy (P) and non-pregnancy (NP) groups in relation to the transfer of an EEVA+ or EEVA- embryo.

From the 104 cycles, 18 led to a positive pregnancy test and 86 were negative resulting in an overall pregnancy rate of 17%. In the P group, 15 embryos were EEVA+ by the time of transfer (83%) and 3 were EEVA- (17%). In the NP group, 17 EEVA+ (20%) and 69 EEVA- (80%) embryos were transferred. The number of EEVA+ embryos in the P group was significantly higher compared to the number of EEVA- embryos ($p < 0.0001$). Additionally, the frequency of EEVA- in the NP group was significantly higher compared to the number of EEVA+ embryos ($p < 0.0001$).

The application of early morphokinetic markers to select embryos for d3 transfer is an effective strategy to improve the success rates in assisted reproduction technology cycles. In patients where the number of fertilized embryos is low could benefit from this strategy, since the best embryos can be identified and transferred as early as Day 3, thus avoiding the negative effects of extended in vitro culture without compromising pregnancy rates. Application of the EEVA criteria for d3 transfers significantly improves pregnancy rates while limiting the culture time in vitro.



Session 3 • Stimulation und Modellsysteme

PO 3.2

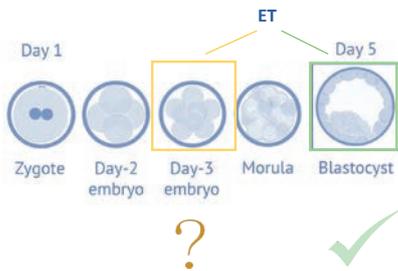


10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Association between early embryo morphological assessment and pregnancy rate

D. Makri, C. Ori, L. Sela, S. Mahner, C.J. Thaler, V. von Schönfeldt



Why Day 3 transfer?

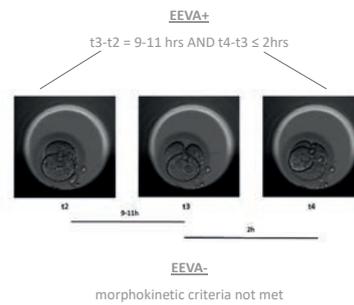
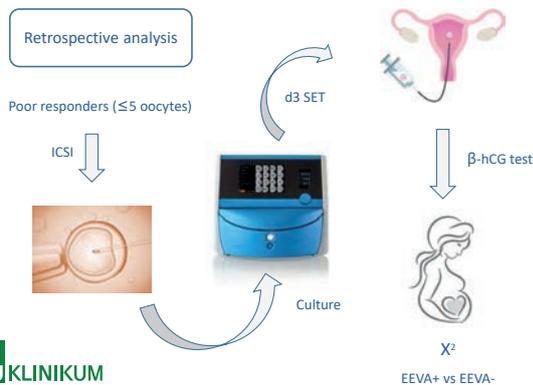
- German embryo protection law
- Poor response patients
- Avoid effects of extended culture (?)



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Materials and Methods



10. DVR KONGRESS

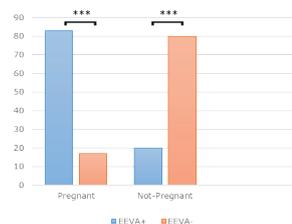
20. – 22. September 2023
WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Results and Conclusions

104 cycles
Average age 38 yrs



	EEVA+	EEVA-
P	15	3
NP	17	69



Conclusions

- ✓ Morphokinetics for embryo selection
- ✓ EEVA criteria for d3 ET
- ✓ EEVA+ embryos more likely to form blastocysts and implant
- ✓ Effective strategy for poor-responders
- ✓ Increase pregnancy rate with reduced incubation





Nicotinic receptor alpha 7 in the human ovary and cultured granulosa cells

P. Seßenhausen¹, K. Eubler¹, N. Kreitmair¹, U. Berg², D. Berg², A. Mayerhofer¹

¹Ludwig-Maximilians-Universität München (DEU), Biomedizinisches Centrum, Lehrstuhl Zellbiologie – Anatomie III;

²Fertility Centre A.R.T. (DEU)

Nicotinic receptor alpha 7, encoded by CHRNA7, is best known for roles in fast synaptic transmission of nerve cells, but it is also found in several non-neuronal cells. We recently found expression in mouse ovary, mainly in stroma cells and macrophages, but also oocytes (Seßenhausen et al., in revision). The ovarian consequences in *Chrna7* receptor-knockout mice (e.g. lower primordial follicles, macrophage and stroma cell alteration and proteomic changes) indicate several roles in female gonadal functions, including follicle development. The ligands of this receptor, acetylcholine and choline, are present in the human ovary and according to human ovary single cell RNA-seq data (Human protein Atlas; <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000175344-CHRNA7/single+cell+type/ovary,07/23/2023>; Zhang et al. 2018) CHRNA7 is expressed by several ovarian cells (e.g. stromal cells, oocytes), but in striking contrast to the mouse ovary, human CHRNA7 is readily found in granulosa cells (GCs) of ovarian follicles. Roles of CHRNA7 are associated with several cellular functions including anti-inflammatory responses. In order to study possible roles within the human ovary, we reasoned that cultured IVF-derived human GCs may be instructive. They stem from the preovulatory follicle and undergo luteinization in cultures and are therefore a model for the large follicle and the CL.

Immunohistochemical staining was performed to verify CHRNA7 expression in human ovary. IVF-derived human GCs were cultured for 5 days and receptor expression, as well as the human-specific variant of CHRNA7, CHRFA7A, were examined using qPCR and/or immunocytochemistry and Western Blot. To investigate possible regulation by gonadotropins, GCs (culture day 3) were treated with either human chorionic gonadotrophin (hCG; 10 IU/ml) or forskolin (a potent cAMP activator; 50 µM) for 24h. Since CHRNA7 is associated with anti-inflammatory responses, GCs were treated with either LPS to induce inflammation (10 µg/ml), the selective alpha7 agonist PNU 282987 (10 µM), or both for 24h. Results were quantified using qPCR and ELISA.

Immunohistochemistry confirmed CHRNA7 in human ovarian GCs and the CL. Expression levels of CHRNA7 varied during culture period of GCs, with the highest expression level detected on culture day 3, when GCs are vital and fully functional. Western Blot and immunofluorescence confirmed the expression. CHRNA7 expression was not affected by hCG or forskolin. We found that PNU 282987 significantly reduced the LPS-induced IL6/IL8 production, implicating CHRNA7 in immunological events. Of note, CHRFA7A, was also detected in GCs, although less abundant than CHRNA7. Further studies are required to examine its role as a possible inhibitor of CHRNA7-mediated actions.

Although preliminary, the results demonstrate expression of CHRNA7 in the human ovary and indicate a role of CHRNA7 in the regulation of GCs functions. Additional studies are currently being conducted to examine the involvement of this channel in ovarian function. Supported by Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG), project number 4324342



Stimulatory Potential of Granulosa Cell-Derived Exosomes on Endometrial Stromal Cell Proliferation

H. Wolff von Gudenberg¹, S. Fayezi¹, J. Jauckus¹, T. Strowitzki¹, A. Germeyer¹

¹Universitätsfrauenklinik Heidelberg (DEU), Gynäkologische Endokrinologie und Fertilitätsstörungen

Following decidualization, the ability of the blastocyst to implant in the endometrium is limited to a brief period called the implantation window. This phase of the endometrium begins immediately after the release of the granulosa cell-oocyte complex and its constituents. This study aims to characterize the lipid composition of exosomes secreted from granulosa cells and to investigate the impact of the exosomes on the endometrium, focusing on potential effects on endometrial proliferation during the implantation window.

The human ovarian granulosa cell line COV434 was used as the cell model oocyte surrounding cells. To model the endometrium, immortalized human endometrial stromal cells (t-HESC) were employed. Exosomes were obtained from the conditioned media of COV434 cells after 18–24 hours of culture, utilizing serial centrifugation and ultracentrifugation techniques and characterized by nanoparticle tracking analysis. Liquid chromatography-mass spectrometry was used to investigate the lipidome profiles of isolated exosomes. t-HESCs were cultured and incubated with exosomes derived from COV434 cells for 48 hours. A cell viability test using WST-8 reagent was then conducted in five replicates to evaluate the proliferation rate.

The most abundant lipids in the isolated exosomes were as follows: free cholesterol (42.27%), ester phosphatidylcholine (18.83%), triglyceride (7.22%), sphingomyelin (7.01%), phosphatidylserine (4.74%), and ester phosphatidylethanolamine (4.55%). Treatment with exosomes from COV434 cells resulted in a statistically significant but modest effect size, with a 11% increase in proliferation compared to the untreated condition ($p=0.013$).

The hypothesis posits that the secreted particles of the granulosa cell-oocyte complex, as represented by COV434 exosomes in this experiment, contain diverse bioactive lipid components and might impact the cell proliferation of the uterus during the implantation window. These findings could hold significant implications for in vitro fertilization treatments, where the cumulus-oocyte complex and its surrounding fluid are typically removed.



Session 3 • Stimulation und Modellsysteme

PO 3.4



10. DVR KONGRESS

Gerne auch Bilder / Statistiken / etc.

20. – 22. September 2023

WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Abstract Titel / Autoren:

Stimulierendes Potenzial von Granulosazell-Exosomen auf die Proliferation endometrialer Stromazellen

Helena Wolff von Gudenberg, Shabnam Fayezi, Julia Jauckus, Thomas Strowitzki, Ariane Germeyer

Einleitung:

- Granulosa-Zellen kontrollieren reproduktive Ereignisse bei Frauen
- Bei der Ovulation wird ein Granulosazell-Eizell-Komplex freigegeben. Dieser kommt während der Implantation mit dem Endometrium in Kontakt.
- Bei der In vitro fertilisation (IVF), im speziellen der ICSI (Intrazytoplasmatische Spermieninjektion), werden die umgebenden Bestandteile (Granulosazellen, deren Exosomen, ...) von der Eizelle entfernt

- Könnte es vorteilhaft für die Implantationsquote von Embryonen sein im Rahmen einer ICSI das Endometrium mit Granulosa-Zell-Exosomen zu behandeln?

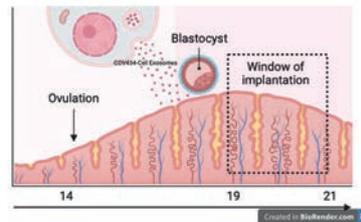


Abb.1: Vereinfachte Darstellung der Fragestellung



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023

WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Material und Methoden:

- Zell Modell: - t-HESCs (immortalisierte humane endometriale Stromazellen)
- COV434 (humane ovariale granulosa-tumorzell linie)
- Methoden - Exosomen: Die Exosomen wurden unter Verwendung von serieller Zentrifugation sowie Ultrazentrifugation aus dem Medium der behandelten COV-434-Zellen isoliert. Zur Untersuchung des Lipidom-Profiles der Exosomen wurde Flüssigchromatographie mit Massenspektrometrie-Kopplung verwendet.
- Methoden – t-HESC: t-HESCs wurden mit COV434-Exosomen behandelt und für 48h inkubiert. Anschließend wurde die Proliferation mithilfe des Cell Counting Kit-8 (CCK8) ermittelt.

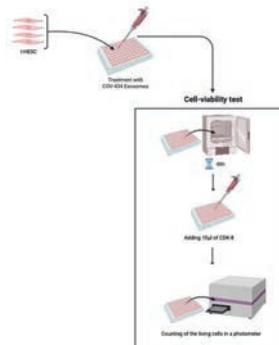


Abb.2: Darstellung der Methoden-t-HESC



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023

WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Ergebnisse:

- Flüssigchromatographie gekoppelt mit Massenspektrometrie: Die am häufigsten vorkommenden Lipide bei der Untersuchung der Exosomen waren: Freies Cholesterin (42,27 %).
- Die Behandlung mit COV434-Exosomen führte zu einem statistisch signifikanten, aber moderaten (11 %) Anstieg der Proliferation ($p=0,013$).

Diskussion und Schlussfolgerungen:

- Die erzielten Ergebnisse unterstützen die Hypothese, dass Bestandteile die von Granulosazellen sekretiert werden (in diesem Experiment COV434-Exosomen) diverse bioaktive Lipid-Bestandteile enthalten und möglicherweise die Zell-Proliferation des Endometriums während des Implantations-Fensters beeinflussen können.
- Diese Ergebnisse sind ein bedeutender Indikator für die potentiell therapeutische Indikation einer solchen Behandlung im Rahmen einer ICSI.



Bewertung der Inzidenz von totalem Fertilisationsversagen (TFF) nach konventioneller IVF (cIVF) und dem Ergebnis nachfolgender Zyklen mit intrazytoplasmatischer Spermieninjektion (ICSI)

L. Nanassy¹, B. Schöpfer¹, M. Depenbusch¹, A. Schultze-Mosgau¹, T. K. Eggersmann¹, R. A. F. Hiller¹, G. Griesinger¹

¹Universitäres Kinderwunschzentrum Lübeck (DEU)

TFF nach einer cIVF ist ein verheerendes Ergebnis für Patientinnen und Ärzte, und die Angst davor ist vermutlich eine der Hauptursachen für die übermäßige Anwendung von ICSI. Die ESHRE bewertet das TFF nach einer cIVF als Qualitätsindikator und legt einen Inzidenzwert von < 5% fest. Daten zum TFF in einer nicht selektierten Population sind allerdings nur aus einer Zeit verfügbar, in der ICSI noch nicht angewendet wurde und zeigten eine höhere Rate. Wir untersuchten die Inzidenz von TFF und bewerteten die Wahrscheinlichkeit einer Lebendgeburt nach einem solchen Ereignis im ersten Behandlungszyklus.

Für den Zeitraum 2010-2021 wurde eine monozentrische retrospektive Datenerhebung durchgeführt, um alle Zyklen zu identifizieren, in denen die cIVF nicht zu mindestens einer Eizelle mit ≥ 2 Vorkernen führte. Außerdem wurden solche Patientinnen ausgewählt, bei denen im ersten Zyklus mehr als 2 Eizellen entnommen wurden und die die Behandlung mit ICSI als Befruchtungsmethode in den nachfolgenden Zyklen fortsetzten. Für den untersuchten Zeitraum wurden 5772 initiierte IVF-Zyklen identifiziert. Das Kriterium für die Anwendung einer cIVF war das Vorliegen einer Normozoospermie beim Partner und wurde als Befruchtungsmethode in 1001 (17,3%) Zyklen angewendet. Alle Fälle mit TFF nach einer cIVF wurden ermittelt und die Anzahl der Eizellen, der Rang des Zyklus, das Alter der Frau und das Ergebnis der Folge-Zyklen, falls vorhanden, aufgezeichnet. Die Daten wurden mittels Chi-Quadrat-Test analysiert, $p < 0,05$ wurde als signifikant eingestuft.

Von den 1001 cIVF-Zyklen wurden insgesamt 125 TFF-Zyklen identifiziert (12,49%). Eine signifikant höhere Häufigkeit von TFF wurde in Zyklen beobachtet, in denen weniger als 3 Eizellen entnommen wurden, im Vergleich zu solchen mit mehr als zwei Eizellen (38/99 [38,38%] vs. 87/902 [9,65%], $p < 0,001$). Es wurde kein statistischer Unterschied zwischen dem Risiko für das Auftreten von TFF im ersten, zweiten oder dritten cIVF-Zyklus festgestellt (87/664 [13,10%], 30/224 [13,39%], 5/75 [6,67%]; $p > 0,05$). Die Unterschiede blieben nicht-signifikant, wenn nur Zyklen mit mehr als 2 Eizellen analysiert wurden (67/608 [11,02%], 16/199 [8,04%], 4/68 [5,88%]; $p > 0,05$). Außerdem zeigten verschiedene Altersgruppen eine ähnliche Inzidenz von TFF (16/157 [10,19%], 41/362 [11,33%], 54/381 [14,17%] und 14/101 [13,86%] im Alter von <30, 31-35, 36-40 bzw. >40 Jahren; $p > 0,05$). Insgesamt wurden 56 Patientinnen identifiziert, die ihre Behandlung mit ICSI als Befruchtungsmethode in den nachfolgenden Zyklen fortsetzten. Diese Patientinnen absolvierten 101 Zyklen, in denen es zu 3 TFF-Fällen (3%) und einer Befruchtungsrate von 75,1% (524/698) kam, welche signifikant über unserer durchschnittlichen ICSI-Befruchtungsrate lag (70,9% [25231/35568]; $p < 0,05$). Bei 19 dieser 56 Patientinnen (33,9 %) führte die Fortsetzung der Behandlung zu mindestens eine Lebendgeburt.

Variationen in der TFF-Inzidenz zwischen IVF-Zentren beruhen wahrscheinlich auf den jeweiligen Selektionskriterien (z.B. Patientenmerkmale und die Behandlungsart wie z. B. PGT-A) für die Wahl der Befruchtungsmethode. Es wird empfohlen, dass Laboratorien auf der Grundlage ihrer eigenen Daten eigene Benchmark-Werte für die Inzidenz von TFF festlegen. Frühere Studien identifizierten die Serumspiegel des luteinisierenden Hormons und des Progesterons bei Auslösung und die Anzahl der Eizellen als kritische Prädiktoren für TFF. Die ähnliche Wahrscheinlichkeit von TFF nach vorangegangener erfolgreicher Befruchtung deutet darauf hin, dass weibliche Faktoren stärker an TFF beteiligt sind. Akzeptable Lebendgeburtenraten können durch Fortsetzung der Behandlung erreicht werden.



Session 3 • Stimulation und Modellsysteme

PO 3.5



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

An evaluation of the incidence of total failed fertilization (TFF) following conventional IVF (cIVF) and the outcome of subsequent intracytoplasmic sperm injection (ICSI) cycles

Nanassy L, Schoepper B, Schultze-Mosgau A, Depenbusch M, Eggersmann TK, Hiller RAF, Griesinger G

Introduction:

- TFF following a cIVF is a devastating outcome for patients and physicians.
- The fear of this unfortunate event is assumable one of the main drivers for overutilizing ICSI.
- The incidence of TFF after cIVF should be less than 5 % of stimulated cycles based on ESHREs recommended performance indicators.
- Data on TFF mostly available from an era when ICSI was not in use and showed a higher rate.

Table 1. Rates of fertilization (FR) and fertilization failure (FF) in relation to the origin and quality of spermatozoa

Donor	Partner			
	Normal	Mild SD	Moderate SD	Severe SD
FF (%)	15/115 (13)	51/320 (16)	11/80 (13.7)	12/48 (25)
		52/400 (15.5)		18/68 (26.5)
			<i>P</i> < 0.05	
FR (± SEM)	62.4 ± 3.2	57.4 ± 1.8	59.5 ± 3.7	44.1 ± 4.7
		57.8 ± 1.7		43.4 ± 4.0
			<i>P</i> < 0.01	

SD, sperm defect. Barlow et al. Hum Reprod 1990, 5(4):451-456.

The aims were to investigate:

- What is the incidence of TFF?
- What is the chance of live birth following TFF at the first cycle?



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

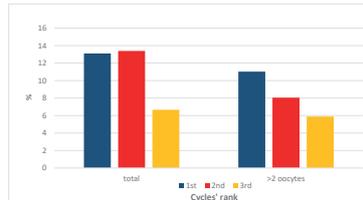
Materials and methods:

- A single center, retrospective chart review for the time period of 2010-2021.
- Identified all cycles where cIVF did not result in at least one oocyte with ≥ 2 pronuclei.
- Identified patients who continued their treatment using ICSI as a fertilization method in their upcoming cycles.
- A total of 5772 initiated IVF cycles were identified, 1001 (17.3%) cIVF cycles
- Data was analyzed using Chi-Square test, p<0.05 was considered significant.

Results:

- A total of 125 TFF cycles were identified out of the 1001 cIVF cycles (12.49% failed fertilization rate per cIVF).
- A significantly higher frequency of TFF was seen in cycles where less than 3 oocytes were retrieved compared to those with more than two oocytes (38/99 [38.38%] vs. 87/902 [9.65%], p<0.001).
- No statistical difference was detected between the risk of TFF occurring at the first, second or the third rank cIVF cycle (87/664 [13.10%], 30/224 [13.39%], 5/75 [6.67%] respectively; p>0.05). The differences remained non-significant when only cycles with more than 2 oocytes were analyzed (67/608 [11.02%], 16/199 [8.04%], 4/68 [5.88%] respectively; p>0.05).

The incidence of TFF at the first, second or the third rank cIVF cycle



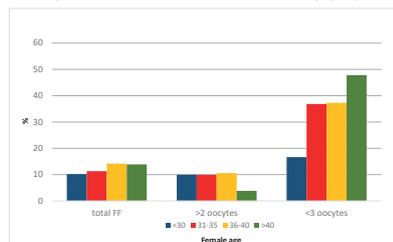
10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Results (cont'd)

- Different age groups showed similar incidence of TFF (16/157 [10.19%], 41/362 [11.33%], 54/381 [14.17%] and 14/101 [13.86%] in <30, 31-35, 36-40 and >40 years of age respectively; p>0.05).
- A total number of 56 patients were identified who continued their treatment using ICSI as fertilization method in their upcoming cycles. These patients completed 101 cycles resulting in 3 TFF cases (3%) and a fertilization rate of 75.1% (524/698) which was significantly higher to our baseline ICSI fertilization rate (70.9% [25231/35568]; p<0.05). Nineteen of these 56 patients (33.9%) ended up giving at least one live birth following treatment continuation.

Figure 2. The incidence of TFF in different female age groups



Discussion

- Acceptable live birth rates can be achieved following treatment continuation.
- The similar chance of TFF after previous successful fertilization suggests more involvement of female factors in TFF. Previous studies identified serum luteinizing hormone and progesterone levels at trigger and the number of oocytes as critical predictors for TFF.
- It is recommended that laboratories establish their own benchmark values based on their own data for the incidence of TFF.



Multinucleation is not equal to Multinucleation: A time-lapse analysis about multinucleation and its impact on ART outcomes

C. Staib¹, J. Westermann¹, A. Woehl Wenigerkind¹, M. Schwab¹

¹Universitäts-Frauenklinik Würzburg (DEU), Zentrum für gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin (ZERM)

The effects of multinucleation on embryo development and on clinical outcomes are still unclear. In some studies, multinucleation has been associated with low embryonic development, low implantation potential and higher number of aneuploid embryos. Some other studies have observed that multinucleation is equally present in euploid and aneuploid embryos. Finally there still is a debate about transferring multinucleated embryos. The objective of this retrospective study was to describe, using time-lapse embryo culture, how the descriptive morphological criterion of nucleation at the 2- and 4-cell stage embryo predicts the outcome of ART cycles.

Kinetic data and cycle outcomes from fresh and frozen IVF and ICSI cycles were analyzed retrospectively from embryos cultured in an EmbryoScope (Vitrolife®) incubator. Timing of specific events was determined using time-lapse imaging and the EmbryoViewer® software. In our analysis we differentiated between different forms of multinucleation: binucleation, cluster-, micro- and polynucleation.

A total of 1499 embryos transferred on day 5 in fresh and frozen cycles were analyzed. We found mononucleation in 39% embryos and a form of multinucleation in 55% of the embryos, 6% of the embryos were excluded. Within the multinucleated cells we found binucleation, clusternucleation, micronucleation and polynucleation. The incidence of the different forms of multinucleation had significant impact on KIDScore, implantation rates and live birth rates.

These data provide us with a new perspective on multinucleation: Multinucleation is not equal to multinucleation. We suggest to use the options time-lapse imaging gives us for a much closer look on the embryos to value the implantation potential of our ART embryos.



Slow-freezing versus Vitrification in 2PN-stage zygotes

C. Ori¹, D. Makri¹, A. Honke¹, N. Rogenhofer¹, C. J. Thaler¹, V. von Schönfeldt¹

¹LMU Klinikum (DEU), Hormon- & Kinderwunschzentrum der LMU

Cryopreservation of human gametes and embryos is routinely performed in assisted reproductive technologies (ART). Additionally to oocyte cryopreservation for social freezing and fertility preservation approaches, surplus blastocysts exceeding the number intended for subsequent embryo transfer are usually frozen. However, the restrictions of the German Embryo Protection Law (ESchG) also necessitate cryopreservation methods that ensure optimal survival, subsequent early embryo development and clinical outcomes of 2PN-stage zygotes. Currently, vitrification (VIT) is the state of art method, since rapid cooling and warming processes prevent ice crystal formation during freezing and thawing; also, it does not require expensive equipment and is faster in comparison to the traditional slow freezing approach. These advantages, in addition to recent concerns about the long-term availability of suitable slow-freeze media, have prompted us to consider switching to VIT as a routine technique also for the cryopreservation of 2PN-stages. However, since largescale cryopreservation of zygotes is almost exclusively performed in Germany, data comparing VIT and slow-freeze approaches are scarce.

Here, we compare the two cryopreservation approaches with respect to post thaw viability, blastocyst formation and implantation rates in 213 frozen-thawed embryo transfer cycles following in vitro fertilization (IVF) or intracytoplasmic sperm injection (ICSI) at our IVF-center, with the aim to prove non-inferiority of VIT-warming procedures applied to 2PN-stage.

The survival rates of the 2PN-stages were 89.5% after slow-freezing and thawing and 95.5%, respectively, after VIT-warming. Furthermore, we analyzed the blastocyst formation rates upon thawing and observed that 43% of the zygotes blastulated after slow-freezing and 39% following VIT. Due to our rather restrictive transfer policy, we transferred an average 1.42 embryos in slow-freeze group compared to 1.29 embryos per transfer in the VIT-group. The overall implantation rate of single embryo transfers (SETs) reached 27.7% after slow-freezing and 36.6% after VIT.

Cryopreservation of zygotes has routinely been performed for over 20 years. VIT approaches have been proven to be safe and efficient for gametes as well as for embryos in all stages of early development. We have shown, that our switch from slow-freezing to VIT for 2PN-stage zygotes has yielded similar results in our setting and did not negatively affect the embryological and clinical outcomes.



Session 3 • Stimulation und Modellsysteme

PO 3.7



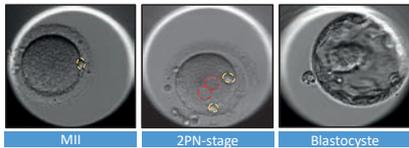
10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

“Slow-freezing versus Vitrification in 2PN-stage zygotes”

C. Ori, D. Makri, A. Honke, F. Batz, N. Rogenhofer, C. J. Thaler and V. v. Schönfeldt

Cryopreservation policy – developmental stages



Cryopreservation of 2PN-stage embryos due to the German Embryo Protection Law (ESchG)



Cryopreservation methods

Slow – freezing	Vitrification
Low CPA concentration	High CPA concentration
Slow, controlled cooling rates	Extremely fast cooling rate
Slow dehydration of cells	Immediately to glass-like structure
Damage due to ice crystal formation	No ice crystal formation
Special equipment – expensive	N/A
Slow (hours)	Rapid (seconds)
Simple	Technical expertise

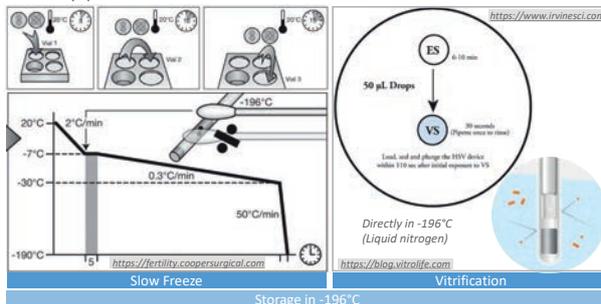


10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Materials and Methods

Cryopreservation methods



What are the survival rates upon thawing?
 What are the „Blastocyst formation” rates?
 What are the overall implantation rates after single embryo transfers (SETs, on day 3 and on day 5 of embryo culture)?

After 213 frozen – thawed embryos (113 slow-freezing & 100 VIT)

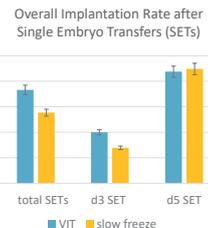
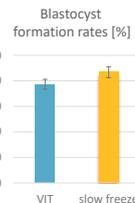
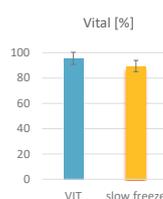


10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Results

	VIT	Slow – freezing
Total of embryos	100	113
age average	35.39	35.81
Total of SETs	71	65
age average	34.65	35.83
SETs on day 3	25	36
age average	35.78	36.33
SETs on day 5	46	29
age average	35.17	35.81



Discussion and conclusions

- Cryopreservation of zygotes → for over 20 years
- VIT approaches are safe & efficient for gametes & embryos in all stages of early development
- switch from slow-freeze to VIT for 2PN-stage zygotes → similar results & no negative affect on embryological & clinical outcomes





The composition of the vaginal microbiome in women undergoing frozen thawed embryo transfer cycles in IVF: a prospective cohort study

S. Graspeuntner¹, M. Lupatsii¹, K. Neumann¹, A. Masuch¹, M. Depenbusch², A. Schultze-Mosgau², T. K. Eggersmann², J. Rupp¹, G. Griesinger²

¹Universität zu Lübeck (DEU), Klinik für Infektiologie und Mikrobiologie;

²Universität zu Lübeck (DEU), Klinik Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Sektion für gyn. Endokrinologie und Reproduktionsmedizin

Clinical studies have reported a reduced likelihood for embryo implantation in women having a dysbiosis diagnosed by conventional means. The analysis of 16s sequencing by next generation sequencing of microbiota has greatly expanded the knowledge on the composition of vaginal microbiota. Recent studies have reported the pattern of the vaginal microbiome as significant predictor of IVF treatment success. However, further studies could merely confirm an association between vaginal microbiome and treatment success in IVF. In addition, discussions about methodology defining microbial communities were raised by previous studies.

Prospective, clinical cohort study (5/2018-11/2020) (NCT03507673); in an university IVF-center; women undergoing a programmed FET-cycle with either 2mg oral estradiol (tid) and, for luteal support, 10mg oral DYD (tid) or vaginal progestogens or in a spontaneous cycle without estradiol intake but with luteal phase support by progestogens. Main inclusion criteria: low serum progesterone on day 12-15 of the cycle; no exclusion criteria regarding type of frozen thawed embryo transfer cycle (programmed or not), etc.. Women undergoing FET on day 2 or day 3 (D2, D3, cleavage) or day 5 (D5, blastocyst) of embryonic development had sampling of microbiological swabs on day 12-15 of the cycle, on the 3rd, 4th or 6th day of 10m (tid) DYD oral intake or vaginal progestogen administration and on day of hCG measurement, respectively. Microbiological swabs were stored at -80°C for later analysis by 16s sequencing.

We analyzed the microbial composition before FET identifying a vaginal community pattern largely dominated by *Lactobacillus iners* and *Lactobacillus crispatus* in most of women. Some women being dominated by other *Lactobacillus* species or having a rather diverse vaginal microbiota are making this study cohort representative for the global European population. Previously published results regarding markers for FET success were not repeatable by our study. Neither were global microbial community measures (alpha-diversity or unconstrained ordination techniques for beta-diversity) being predictive for treatment success nor did abundance of major vaginal microbes associate with the outcome. Though, fine scaling of our analytical setup revealed strong negative prediction for a well defineable group of women. Importantly we observed a reduction in treatment success of approximately 50% in the presence of one negative predicting species compared to women with no negative prediction while a broader prediction model defines non-pregnancy in 100% of a subgroup of women. Whether our analytical setup would yield comparable results in other, previously published studies yet is unclear due to lack of a meta-analysis of globally available data.

Generalized composition of vaginal microbiota seem not reliably associated with embryo transfer outcome in FET. However, specific microbial signatures allow precise negative prediction in some women. Future studies should include high number of patients for evaluation of the ideal procedure of vaginal microbiome analysis and its potential benefits.



Session 3 • Stimulation und Modellsysteme

PO 3.8



10. DVR KONGRESS

Gerne auch Bilder / Statistiken / etc.

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Abstract Titel / Autoren:

The composition of the vaginal microbiome in women undergoing frozen thawed embryo transfer cycles in IVF: a prospective cohort study

Simon Graspeuntner, Mariia Lupatsii, Kay Neumann, Antonia Masuch, Marion Depenbusch, Askan Schultze-Mosgau, Tanja K. Eggersheim, Jan Rupp & Georg Griesinger

Einleitung:

Clinical studies have reported a reduced likelihood for embryo implantation in women having a microbial dysbiosis diagnosed by conventional means. The analysis of 16S rRNA genes of microbiota by next generation sequencing has greatly expanded the knowledge on the composition of vaginal microbiome. Recent studies have reported the pattern of the vaginal microbiome as significant predictor of IVF treatment success. However, further studies could merely confirm an association between vaginal microbes and treatment success in IVF. In addition, discussions about methodology defining microbial communities were raised by previous studies.



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Material und Methoden:

Prospective, clinical cohort study (5/2018-11/2020) (NCT03507673) in an university IVF-center.
 Main inclusion criterion: low serum progesterone on day 12-15 of the cycle.

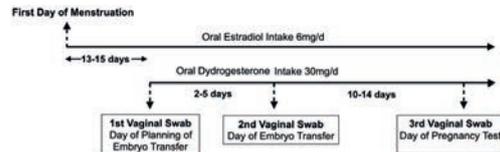


Figure 1. Study scheme of women undergoing a programmed FET-cycle. Women undergoing FET on day 2 or day 3 (D2, D3, cleavage) or day 5 (D5, blastocyst) of embryonic development had sampling of microbiological swabs on day 12-15 of the cycle, on the 3rd, 4th or 6th day of 10m (tid) DYD oral intake or vaginal progesterone administration and on day of hCG measurement, respectively. Microbiological swabs were stored at -80°C for later analysis by 16S rRNA gene sequencing.

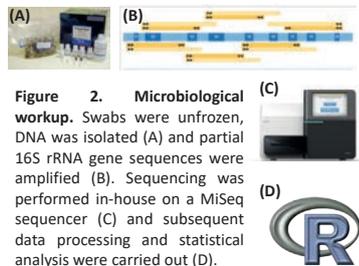


Figure 2. Microbiological workup. Swabs were unfrozen, DNA was isolated (A) and partial 16S rRNA gene sequences were amplified (B). Sequencing was performed in-house on a MiSeq sequencer (C) and subsequent data processing and statistical analysis were carried out (D).



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Ergebnisse:

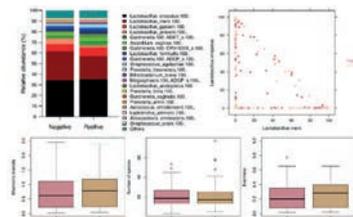


Figure 3 (left). Global measures of microbial communities fail to contribute to the understanding IVF treatment success. Neither the suspected ratio *L. iners*/*L. crispatus* alone nor measures of diversity within the samples are explanatory to achieving pregnancy

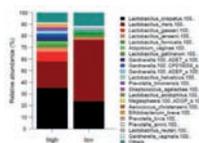


Figure 4. Microbial composition of a group with high pregnancy chance vs. a group with accurate negative prediction.

Diskussion und Schlussfolgerungen:

Generalized composition of vaginal microbiota seem not reliably associated with embryo transfer outcome in FET. However, specific microbial signatures allow precise negative prediction in some women. Future studies should include high number of patients for evaluation of the ideal procedure of vaginal microbiome analysis and its potential benefits.



Können wir monozygote Zwillinge beim single embryo Transfer (SET) vorhersehen? Erfahrungen aus dem UniKiD von 2015-2021 zu Geburten von monozygoten Zwillingen nach Transfer einer Blastozyste

D. Baston-Büst¹, P. Edimiris¹, I. Scheliga¹, A. P. Bielfeld¹, J. Hirchenhain¹, J.-S. Krüssel¹

¹Uniklinik Düsseldorf (DEU), Frauenklinik, UniKiD

Weltweit ist ein klarer Trend zur Blastozystenkultur mit dem Transfer nur eines Embryos (single embryo transfer, SET) im Gegensatz zum bis vor einigen Jahren üblichen Transfer von 2 Embryonen (double embryo transfer, DET) zu beobachten, wodurch erfreulicherweise die Anzahl der risikobehafteten Mehrlingschwangerschaften deutlich reduziert wurde [1,2]. Gleichzeitig erhöht sich durch verbesserte Kulturbedingungen und die Anwendung der Vitrifikation als Einfrieremethode die kumulative Lebendgeburtenrate [2,3]. Laut aktuellen Zahlen des D·I·R liegt die Geburtenrate von Mehrlingen nach Transfer eines Embryos verteilt über alle Altersklassen bei unter 3% [1]. Im Zusammenhang mit der Blastozystenkultur selbst wird aber seit längerem eine mögliche Erhöhung der Rate an monozygoten Zwillingen diskutiert, weitere mögliche Einflussfaktoren könnten assisted hatching, jüngerer mütterlicher Alter und ICSI sein [4–7]. Durch den Transfer einer Blastozyste können Zwillinge/Mehrlinge entweder durch die Existenz zweier Embryonalanlagen bereits in der Blastozyste entstehen oder durch Abschnürung während des hatching, möglicherweise gehäuft nach assisted hatching (zumeist frühe, komplette Teilung der Embryonalanlagen, dichorional diamnial (DCDA)) oder Teilung erst nach Tag 5 bzw. nach der Implantation (monochorial diamnial (MCDA) oder monochorial monoamial (MCMA)).

Die Morphologie der transferierten Embryonen wurde bislang wenig beachtet, um das Risiko von Mehrlingsschwangerschaften nach SET vorhersagen zu können. Aus den Jahren 2015-2021 stellen wir 4 geborene monozygote Zwillinge vor. Hiervon wurden drei Embryonen im Timelapse (TL) Inkubator und ein Embryo im Benchtop Inkubator kultiviert. Daher stellen wir die Frage, ob bereits in der Kultur identifiziert werden kann, ob eine Blastozyste zwei Embryonalanlagen trägt?

Drei der vier Zwillingspaare waren DCDA angelegt, ein Zwillingespaar MCDA. Die korrespondierende Blastozyste zum MCDA Zwillingespaar wurde im TL kultiviert und wies nur eine Embryonalanlage (EA) auf. Die Zona Pellucida des Embryos eines DCDA Pärchens wurde an Tag 3 aufgrund einer Verdickung mittels Laser eröffnet. Dieser Embryo mit einer sichtbaren EA zeigte ein verzögertes hatching an Tag 5. Der Embryo einer Patientin mit einer DC/DA Schwangerschaft wurde im Benchtop Inkubator kultiviert mit mikroskopischer Evaluation an Tag 1, 2, 3 und 5. Auf dem zugehörigen Foto war nur eine EA in der fotografierten Ebene zu erkennen. Im Gegensatz dazu konnten unter TL Bedingungen bei der letzten Patientin mit einer DCDA Gravidität zwei EA in zwei verschiedenen Ebenen dargestellt werden.

Zusammenfassend können wir schlussfolgern, dass MCDA Zwillinge nach SET embryologisch nicht zu erkennen waren, da ihre Teilung in 2 Keimscheiben erst nach der Implantation erfolgte. Bei der Anwendung des assisted hatching an Tag 3 sollte die Lochgröße ausreichend groß sein, um ein problemloseres hatching zu ermöglichen. Im Vergleich zur traditionellen Mikroskopie können zwei EA im TL leichter erkannt werden.



Session 3 • Stimulation und Modellsysteme

PO 3.9



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Können wir monozygote Zwillinge beim single embryo Transfer (SET) vorhersehen? Erfahrungen aus dem UniKiD von 2015-2021 zu Geburten von monozygoten Zwillingen nach Transfer einer Blastozyste

Dunja M. Baston-Büst, Philippos Edimiris, Iwona Scheliga, Alexandra P. Bielfeld, Jens Hirschhain, Jan-Steffen Krüssel; Universitätsklinikum Düsseldorf, UniKiD, Moorenstr. 5, 40225 Düsseldorf

Einleitung:

- ❖ Trend zur Blastozystenkultur
- ❖ *Single embryo transfer (SET)* vs. *Double (DET)*
- ❖ Mehrlinge nach SET < 3% laut D.I.R.
- ❖ Mögliche Ursachen für monozygote Zwillinge nach SET: Blastozystenkultur, *assisted hatching* (AH), mütterliches Alter (<35 J), ICSI
- ❖ Morphologie der transferierten Embryonen bislang nicht beachtet



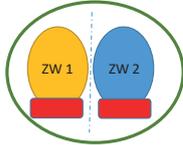
10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Material und Methoden:

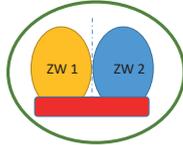
- ❖ 4 geborene (Geburt 38. SSW) monozygote Zwillingspaare aus dem UniKiD (2015-2021)

Dichorion/Diamnion (DCDA)



- ❖ Frühe komplette Teilung der Embryonalanlagen (EA)
- ❖ Möglicher Zusammenhang mit AH
- ❖ Ggfs. 2 EAs erkennbar?

Monochorion/Diamnion (MCDA)



- ❖ spätere Teilung der Embryonalanlagen (EA) nach Tag 5

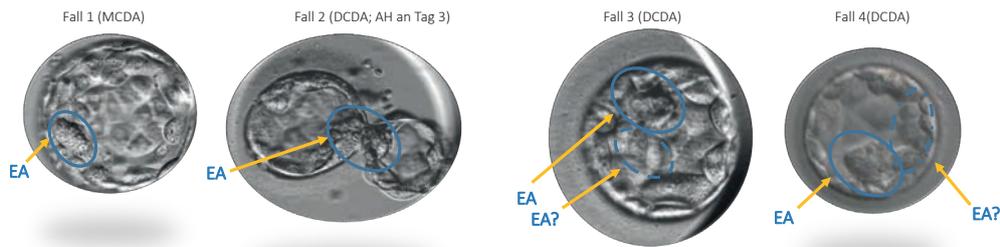
Fälle (Alter Mutter; Behandlung), Geschlecht Kinder	Morphologie Embryo	Chorionizität
1 (36; IVF); m	Timelapse; B4AA	MCDA
2 (36; ICSI); w	Timelapse; B4AA	DCDA
3 (33; IVF); m	Timelapse; B3AA	DCDA
4 (36; ICSI); w	Benchtop; B4AB	DCDA



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Ergebnisse:



Diskussion und Schlussfolgerungen:

- ❖ MCDA Zwillinge können embryologisch nicht detektiert werden (spätere Trennung)
- ❖ DCDA im TL leichter zu erkennen als konventionell
- ❖ CAVE bei AH an Tag 3





Variabilität im Spontanzyklus – Analyse einer prospektiven Langzeit-Kohortenstudie

M.-N. Malliou-Becher¹, P. M. Ruf², T. Strowitzki³, P. Frank-Herrmann³

¹Universität Heidelberg (DEU), Gynäkologische Endokrinologie und Fertilitätsstörungen;

²München Klinik Neuperlach (DEU); ³Universitätsfrauenklinik Heidelberg (DEU)

Die Annahme eines regelmäßigen Zyklus mit Eisprung in der Mitte des Zyklus (\pm 1-2 Tage) bei gesunden Frauen ist immer noch weit verbreitet. Allerdings haben Studien die Variation des Ovulationszeitpunktes und anderer Zykluseigenschaften bereits hervorgehoben. Diese Studien stützen sich jedoch häufig auf kleinere Datenbanken und kurze Beobachtungszeiträume oder erlauben keine Langzeitbeobachtung der Frauen, wenn sie aufwendige Auswertmethoden, wie die Bestimmung von Hormonparametern oder die tägliche sonographische Follikulometrie zur Auswertung verwenden. Die vorliegende Datenanalyse wertet die deutsche NFP-Datenbank (Natürliche Familienplanung) der Universität Heidelberg aus, die Daten aus einer weltweit einmaligen prospektiven Langzeit-Kohortenstudie zu den Merkmalen des spontanen Menstruationszyklus und zur symptothermalen Methode Sensiplan® enthält. Ziel dieser Analyse ist es, die Variation der Zykluslänge und die Schwankungsbreite des Ovulationszeitpunktes inter- und intraindividuell zu untersuchen.

Daten von 1.923 Frauen mit insgesamt 43.999 Menstruationszyklen zwischen Januar 1985 und Juli 2019 wurden gesammelt. Die Teilnehmerinnen der Studie waren bei Studienbeginn zwischen 18 und 44 Jahre alt, nahmen keine Sexualhormone ein und hatten unterschiedliche Zykluslängen. Besondere Umstände wie die Zeit nach der Geburt, das Stillen, die ersten drei Monate nach Absetzen einer hormonellen Verhütung und die Amenorrhoe bei Studienbeginn wurden ausgeschlossen. Die Teilnehmerinnen willigten ein, mindestens ein Jahr lang Zyklusaufzeichnungen nach der symptothermalen Methode Sensiplan® zu führen. Nach Erfüllung der Einschlusskriterien bestand die Hauptgruppe aus 1.051 Frauen mit 12.612 Zyklen, während die Konzeptionsgruppe 420 Frauen mit 420 Konzeptionszyklen umfasste. Der Zeitpunkt des Eisprungs wurde anhand der Veränderungen des Zervixschleims und des Anstiegs der Basaltemperatur bestimmt und die Dauer des Menstruationszyklus vom ersten Tag der Menstruation bis zum Tag vor der nächsten Menstruation berechnet.

Der 28-tägige Zyklus trat bei 13,3 % der Zyklen auf. 7,4 % der Zyklen waren kürzer als 25 Tage, 8,8 % der Zyklen länger als 35 Tage. Zyklen mit einer maximalen Schwankungsbreite von drei Tagen traten nur bei 5,4 % aller Frauen innerhalb eines Jahres auf. Die Zykluslängen variierten bei 53,3 % der Teilnehmerinnen um mehr als eine Woche zwischen dem kürzesten und dem längsten Zyklus innerhalb eines Jahres, während 41,4 % der Frauen eine Variation von 4 bis 7 Tagen aufwiesen. Weiterhin, fanden 50 % aller Ovulationen im Spontanzyklus zwischen dem 14. und 19. Zyklustag statt. Der Zeitpunkt des Eisprungs schwankte bei 54,8 % der Frauen um mehr als eine Woche innerhalb eines Jahres. Nur bei 3,5 % der Frauen schwankte dieser um maximal drei Tage. Die Zeitpunkte der Konzeption in der Konzeptionsgruppe wiesen eine ähnlich breite Verteilung auf wie die Ovulationszeiten im normalen Kollektiv auf. Die Zykluslänge nahm mit zunehmendem Alter ab. Das Alter hatte ebenso einen Einfluss auf den Zeitpunkt des Eisprungs, wobei ältere Frauen im Vergleich zu jüngeren Frauen stabilere Ovulationsmuster aufwiesen.

Diese prospektive Langzeit-Kohortenstudie mit Daten von 1.923 Frauen mit insgesamt 43.999 Menstruationszyklen zeigt die beträchtliche Schwankungsbreite der Zykluslänge und des Ovulationszeitpunktes intraindividuell und altersabhängig auf und unterstreicht die Tatsache, dass die allgemein angenommene Vorstellung eines „regelmäßigen“ Menstruationszyklus mit einem Eisprung in der Mitte des Zyklus weniger häufig vorkommt als bisher angenommen.



Session 3 • Stimulation und Modellsysteme

PO 3.10



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn



Variabilität im Spontanzklus - Analyse einer prospektiven Langzeit-Kohortenstudie

Maria-Nefeli Malliou-Becher, Dr. med., Universitätsfrauenklinik Heidelberg
Pia Maria Ruf, München Klinik Neuperlach
Thomas Strowitzki, Prof. Dr. med. Dr. h.c., Universitätsfrauenklinik Heidelberg
Petra Frank-Herrmann, Dr. med., Universitätsfrauenklinik Heidelberg

Einleitung

- Die Annahme eines regelmäßigen Zyklus mit mittzyklischem (± 1-2 Tage) Eisprung bei gesunden Frauen ist immer noch weit verbreitet.
- Ovulationszeitpunkt und Lokalisation des fertilen Fensters im weiblichen Spontanzklus variieren auch innerhalb der einzelnen Frau (Brayer et al., 1969; Fehring et al., 2006). Dennoch mangelt es an aktuellen Studien mit größeren Datenmengen.
- Ziel dieser Analyse war, die Variation der Zykluslänge und die Schwankungsbreite des Ovulationszeitpunktes vor allem intraindividuell zu untersuchen.
- Die vorliegende Datenanalyse wertet die deutsche NFP-Datenbank (Natürliche Familienplanung) der Universität Heidelberg aus, die Daten aus einer prospektiven Langzeit-Kohortenstudie zu den Merkmalen des spontanen Menstruationszyklus und zur symptomthermalen Methode Sensiplan enthält.

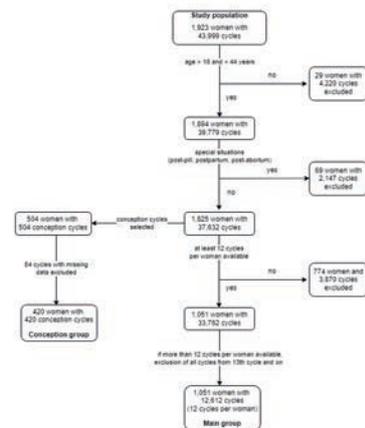


Universitätsklinikum Heidelberg | September 2023 | Dr. med. Maria-Nefeli Malliou-Becher



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn



Material und Methoden

- prospektive Langzeitkohortenstudie des Zeitraums Januar 1985 bis Juli 2019
- 1.923 Frauen mit insgesamt 43.999 dokumentierten Menstruationszyklen
- Voraussetzungen zur Teilnahme:
 - Alter zwischen 18 und 44 Jahre
 - Einwilligung mindestens ein Jahr lang Zyklusaufzeichnungen nach der symptomthermalen Methode Sensiplan zu führen mit Aufzeichnung von Periodenblutung, Zervixschleimsekretion (außerlich an der Vulva zu beobachten) und Basaltemperaturmessung
 - Ausfüllen eines Eingangs- und Ausscheiderfragebogens
- Ausschlusskriterien: Einnahme von Sexualhormonen, bestehende Schwangerschaft, besondere Umstände wie die Zeit nach der Geburt, das Stillen, die ersten drei Monate nach Absetzen einer hormonellen Verhütung und die Amenorrhoe bei Studienbeginn
- Der Zeitpunkt des Eisprungs wurde anhand der Veränderungen des Zervixschleims und des Anstiegs der Basaltemperatur bestimmt



Universitätsklinikum Heidelberg | September 2023 | Dr. med. Maria-Nefeli Malliou-Becher



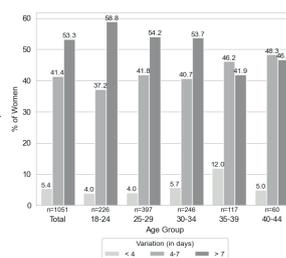
10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

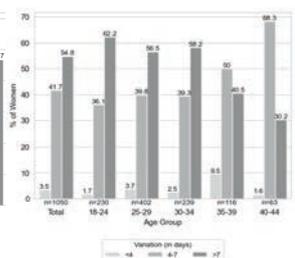
Ergebnisse

- Die Zykluslängen variierten bei 53,3 % der Teilnehmerinnen um mehr als eine Woche zwischen dem kürzesten und dem längsten Zyklus innerhalb eines Jahres, während 41,4 % der Frauen eine Variation von 4 bis 7 Tagen aufwiesen. Zyklen mit einer maximalen Schwankungsbreite von drei Tagen traten nur bei 5,4 % aller Frauen innerhalb eines Jahres auf.
- Der Zeitpunkt des Eisprungs schwankte bei 54,8 % der Frauen um mehr als eine Woche innerhalb eines Jahres. Nur bei 3,5 % der Frauen schwankte dieser um maximal drei Tage. 50 % aller Ovulationen im Spontanzklus fanden zwischen dem 14. und 19. Zyklistag statt.
- Der 28-tägige Zyklus trat bei 13,3 % der Zyklen auf.
- 89,5% aller Zyklen waren zwischen 23 und 35 Tage lang. Nur 51,7 % der Frauen hatten in allen 12 Zyklen eine Zykluslänge zwischen 23 und 35 Tagen.
- Die Zeitpunkte der Ovulation in den Konzeptionszyklen wiesen eine ähnlich breite Verteilung auf wie die Ovulationszeiten im normalen Kollektiv.
- Die Zykluslänge nahm mit zunehmendem Alter ab. Das Alter hatte ebenso einen Einfluss auf den Zeitpunkt des Eisprungs, wobei ältere Frauen im Vergleich zu jüngeren Frauen stabilere Ovulationsmuster aufwiesen.

Variation der Zykluslänge pro Frau in einem Jahr (gesamt und altersbezogen)



Variation des Ovulationszeitpunkts pro Frau in einem Jahr (gesamt und altersbezogen)



Schlussfolgerungen/ Diskussion:

- Erhebliche Schwankungen der Zykluslänge und des Ovulationszeitpunktes, intraindividuell und auch altersabhängig.
- Die Begriffe "normal" oder "regelmäßig" sollten im Kontext einer größeren Bandbreite von Schwankungen im Spontanzklus als physiologisches Phänomen neu definiert werden.
- Dies kann Auswirkungen auf die Stärkung des Bewusstseins für das individuelle fertile Fenster im Zyklus und die Verbesserung der Empfängniswahrscheinlichkeit haben.



Universitätsklinikum Heidelberg | September 2023 | Dr. med. Maria-Nefeli Malliou-Becher



Session 3 • Stimulation und Modellsysteme

PO 3.11

Quality of life during fertility treatment and acceptance of a blended care online psychosocial support program

A. Bachmann¹, S. Schulze², L. M. Pfadenhauer³, N. Sanger⁴

¹Universitatsklinikum Frankfurt (DEU), ReProGyn;

²Goethe University Entrepreneurship Center Frankfurt am Main (DEU);

³Ludwig-Maximilians-Universität München (DEU); ⁴Universitatsklinikum Bonn (DEU)

Infertility may adversely influence quality of life. Patients in fertility treatment have needs for high-quality information, peer-to-peer exchange and support as well as individual counseling. These needs are also stated in the 2016 Eshre guideline for routine psychosocial care. Our study question was: Which group of patients report most subjective benefits from a blended-care support platform for fertility patients and which aspects of infertility treatment have the greatest negative impact on quality of life of these patients?

Cross-sectional study with 189 IVF/ICSI patients of 2 University hospitals Frankfurt and Bonn who signed up for a blended care online program Mentalstark during October 2020 to March 2022. Patients filled out the WHO-Five Well-Being Index (German version 1998) and items of treatment and core domains of FertiQoL (Cardiff University, UK, German version) Statistical analysis was performed using spss software.

Out of 189 patients 46 women and 3 men completed the survey. The mean age of women taking part in this study was 35,6 (28-44) years and the mean duration of infertility 36,07 (6 to 120) months. 65.2% of patients had college education. Estimated total costs of treatment were 6108,25 Euro (range 30 to 30 000). Patients with shorter duration of infertility ($R=0.552$, $P=0.002$) and lower FertiQoL subscale scores ($R=0.510$, $P=0.007$) show the greatest satisfaction with the blended-care program. The association of the WHO5 score and satisfaction with the blended-care program was weaker ($R=0.305$, $P=0.157$). The WHO5 score was significantly correlated with the estimated total financial costs of treatment ($R=0.495$, $P=0.014$) but less with the duration of infertility ($R=0.270$, $P=0.172$).

In our cohort total financial burden of fertility treatment costs had the biggest negative impact on quality of life, despite a large number of participants with higher level education and income. Patients with shorter duration of infertility and low fertility related quality of life seem to benefit most from this program. Wider implications of the finding are: Psychosocial care should be offered early during fertility treatment. Costs of fertility treatment should be minimized.



Session 3 • Stimulation und Modellsysteme

PO 3.11



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

PO3.11 Machbarkeitsstudie über ein Online-Programm zur Unterstützung der Adhärenz während einer Fertilitätsbehandlung: Lebensqualität und Benutzerakzeptanz.

Fragestellung: Wie muss ein Programm beschaffen sein, damit es von Partient:innen genutzt wird und subjektiv wirksam ist? Variiert die subjektive Wirksamkeit in Abhängigkeit von der Dauer des Kinderwunsches und der aktuellen Belastung durch die Infertilität?

- Die psychosoziale Versorgung laut ESHRE Leitlinie von 2016¹ wird in Kinderwunschzentren nicht flächendeckend umgesetzt.
- Blended-Care Programme können hier helfen. Das hier untersuchte Programm biete digitale, leitlinienbasierte Inhalte in einer Mediathek und psychosoziale Betreuung z.B. in Onlinegruppen und Einzel-/Paarberatung.

Material & Methoden: 189 Patient:innen zweier deutscher Unikliniken wurde das blended Care Programm zur Begleitung der Behandlung im Studienzeitraum (Okt. 2020-März 2022) angeboten. Die Bereiche Lebenszufriedenheit (WHO5²), Belastung durch die Kinderwunschbehandlung (13 Items des FertiQoL³/Fertility Quality of Life) und subjektive Wirksamkeit wurden mit Fragebögen digital erhoben.

S. Schulze, A.Bachmann, T.Karn, L.Pfadenhauer, N.Sänger



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

PO3.11 Machbarkeitsstudie über ein Online-Programm zur Unterstützung der Adhärenz während einer Fertilitätsbehandlung: Lebensqualität und Benutzerakzeptanz.

Deskriptive Statistik der Versuchsgruppe:

	Mittelw.	Std.-Abw.	Min.	Max.	N
Alter	35,6	3,3	28	44	45
Dauer der aktuellen Partnerschaft (Monate)	116	51,5	24	228	44
Unerfüllter Kinderwunsch (Monate)	36	22,8	6	120	45
Anzahl bisheriger Kinder	0,09	0,29	0	1	45
Bisherige geschätzte Behandlungskosten (€)	6108	7725	30	30000	40
Arbeitsunfähigkeitstage in den letzten 4 Wochen	1,56	2,2	0	6	45

Ergebnisse (Korrelationen):

- Von 189 eingeladenen Patientinnen meldeten sich 100 (52,9%) zur Nutzung des Programms an und 46 füllten Fragebögen aus.
- Die subjektive Wirksamkeit des blended Care Programms wurde von Patientinnen mit kürzerer Dauer der Infertilität ($r=0,55$; $p<0,05$) aber auch von Patientinnen mit höherer Belastung im FertiQoL höher eingeschätzt ($r=0,51$; $p<0,01$).

S. Schulze, A.Bachmann, T.Karn, L.Pfadenhauer, N.Sänger



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

PO3.11 Machbarkeitsstudie über ein Online-Programm zur Unterstützung der Adhärenz während einer Fertilitätsbehandlung: Lebensqualität und Benutzerakzeptanz.

Schlussfolgerungen:

- Zu Beginn der Fertilitätsbehandlung war das blended Care Programm subjektiv besonders hilfreich. Wahrscheinlich wegen der leitlinienbasierten, laienverständlichen Mediathekinhalte. Im Anschluss an die Befragung wurde das Programm um eine Onlinegruppe für die Begleitung der Frühschwangerschaft und eine Unterstüztungsgruppe für die Beendigung der Behandlung erweitert. So wird auch die spätere Behandlungsphase stärker unterstüzt.
- Dass das Programm gleichzeitig höher belasteten Nutzerinnen stärker geholfen hat, könnte daran liegen dass sie die unmittelbare Verfügbarkeit von Medieninhalten und Onlinegruppen in Belastungssituationen als sehr wirksam empfunden haben.

S. Schulze, A.Bachmann, T.Karn, L.Pfadenhauer, N.Sänger



Session 3 • Stimulation und Modellsysteme

PO 3.12

Erfahrungen von Single-Frauen mit der Kinderwunschbehandlung in einem universitären Kinderwunschzentrum

R. Dittrich¹, I. Hoffmann², M. W. Beckmann², L. Lotz²

¹Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg (DEU), Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin;

²Universitätsklinikum Erlangen (DEU)

Einleitung: Die Verwendung von Spendersamen wurde ursprünglich für heterosexuelle Paare mit männlicher Unfruchtbarkeit etabliert, um ihnen zu helfen, Eltern zu werden. Heute ist eine feste Partnerschaft nicht mehr erforderlich, um sich den Kinderwunsch zu erfüllen, und die geplante alleinstehende Mutterschaft wird immer häufiger. Die Zahl der alleinstehenden Frauen mit Kinderwunsch nimmt zu, und die Mutterschaft ohne Partner wird für viele Frauen immer vorstellbarer. Ziel dieser Studie war es daher, die persönlichen Merkmale alleinstehender Frauen zu untersuchen, die sich in einem universitären Zentrum für Reproduktionsmedizin in Deutschland einer IUI/ICSI-Behandlung unterziehen.

Methode: In dieser retrospektiven Studie wurden 99 alleinstehende Frauen, die sich von 2019 bis 2021 an der Klinik für Geburtshilfe und Gynäkologie des Universitätsklinikums Erlangen einer IUI und/oder ICSI mit Spendersamen unterzogen eingeschlossen und ihre persönlichen Merkmale untersucht.

Ergebnisse: Das Durchschnittsalter der Frauen betrug 37,5 Jahre (SD, Standardabweichung, 4,2; Spanne: 21-46 Jahre) zum Zeitpunkt der Erstberatung in der Klinik. Von den 99 Frauen gaben 27 (27,3 %) an, schon einmal schwanger gewesen zu sein und 9 (9,1 %) Frauen hatten bereits entbunden. Außerdem gaben sieben Frauen (6,6 %) an, in früheren Partnerschaften erfolglos versucht zu haben, schwanger zu werden. 23 (21,7 %) Frauen hatten sich außerdem bereits einer Fruchtbarkeitsbehandlung durch Samenspende in einer externen Einrichtung unterzogen, drei Frauen hatten sich einer Heiminsemination unterzogen und eine Frau hatte bereits Eizellen im Rahmen des Social Freezing einfrieren lassen. Aufgrund der begrenzten Anzahl von Zentren, die alleinstehende Frauen in Deutschland behandeln, hatten die Frauen eine durchschnittliche Anfahrtstrecke von 125,5 km (SD 100, Spanne 1-454 km) zu unserer Klinik. Von den 99 Frauen berichteten sechs Patientinnen über Zyklusunregelmäßigkeiten (drei klagten über Polymenorrhö und drei über Oligomenorrhö). Der mittlere AMH-Wert lag bei 2,09 µg/l (SD, 2,2; Bereich: 0,05 - 14,9). Insgesamt wurden 218 IUIs und 98 ICSI-Zyklen mit Spendersamen durchgeführt, und es konnte eine Schwangerschaftsrate von 33,3 % erreicht werden.

Fazit: Die Behandlung alleinstehender Frauen ist in der Reproduktionsmedizin relativ neu, und es gibt nur begrenzte Erkenntnisse über die Erfolgsrate von ART-Behandlungen für diese Gruppen. Da ART-Behandlungen kostspielig und manchmal psychologisch schwierig sind, wäre es von Vorteil, mehr Informationen über die Bedürfnisse von Frauen und den Erfolg dieser Behandlungen zu haben, damit die Patientinnen angemessen beraten werden können.



Session 3 • Stimulation und Modellsysteme

PO 3.12



10. DVR KONGRESS

Gerne auch Bilder / Statistiken / etc.

20. – 22. September 2023

WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 BonnErfahrungen von Single-Frauen mit der Kinderwunschbehandlung
in einem universitären KinderwunschzentrumRalf Ditttrich, Inge Hoffmann, Matthias W. Beckmann, Laura Lotz
UFF, Frauenklinik des Universitätsklinikums Erlangen, Erlangen, Deutschland

Einleitung:

Die Vorteile einer Solomutterschaft mittels Samenspende über eine medizinische Einrichtung in Deutschland liegen in der Sicherheit (getestete Spender), dass die Behandlung rechtlich erlaubt ist und dass gewährleistet ist, dass der Spender nachverfolgt werden kann (Recht auf Wissen der eigenen Abstammung des Kindes). Die Nachverfolgbarkeit wird im Samenspenderregistergesetz (SaRegG) geregelt.

Die Nachteile liegen darin, dass die Behandlung zeitaufwändig und teuer ist.

Ziel dieser Studie war es, die persönlichen Merkmale alleinstehender Frauen zu untersuchen, die sich in einem universitären Zentrum für Reproduktionsmedizin in Deutschland einer IUI/ICSI-Behandlung unterziehen.



10. DVR KONGRESS

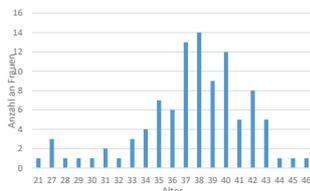
20. – 22. September 2023

WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Material und Methoden:

Es erfolgte eine Auswertung der ART-Behandlungen von Single Frauen mit Fremdsperma in der Frauenklinik des Universitätsklinikums Erlangen.

- Retrospektive Datenerhebung an der Frauenklinik des Universitätsklinikums Erlangen
- Zeitraum: 2019 bis 2021
- N= 99 alleinstehende Frauen mit Kinderwunsch
- Behandlungen: IUI und/oder ICSI- Behandlung mit donogenem Sperma



Das Durchschnittsalter der Frauen betrug 37,5 Jahre (SD 4,2). Die jüngste Patientin war 21 Jahre, die älteste 46.

Der mittlere AMH-Wert betrug 2,09 µg/l (SD, 2,2; Bereich: 0,05 - 14,9).

Der mittlere FSH-Wert (zwischen 2-5 Zyklustag) betrug 8,7 mIU/ml (SD, 8,7; Bereich: 2,65 – 33,8).

27 (der 99) Frauen waren vor Behandlung bereits schwanger, 9 hatten bereits ein Kind, 7 hatten erfolglos bereits versucht den Kinderwunsch zu erfüllen und 56 hatten dies noch nicht probiert.



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023

WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

23 (21,7%) Frauen hatten sich bereits extern einer Kinderwunschbehandlung mit Samenspende unterzogen. 3 Frauen berichteten von der Durchführung von Heiminsemination.

Ergebnisse: Es wurden 218 IUIs bei 70 Single Frauen (Mittelwert: 3,1 IUI pro Frau; SD, 2,2; Bereich: 1-11 IUIs) und 98 ICSI-Zyklen bei 49 Frauen (Mittelwert: 1,9 ICSI pro Frau; SD, 1,3; Bereich: 1-7) mit Spendersamen durchgeführt. Schwangerschaftsrate: 33,3% (18,5% durch IUI und 40,8% durch ICSI)



Durchschnittlicher
Anfahrtsweg von 125,5 km
(SD 100 km, 1 - 454 km)
Hin- und Rückweg bis ca. 250 km. Pro IUI/ICSI-Behandlung ca. 2- 4 Visiten notwendig.
Grund: Nicht alle IVF-Zentren bieten die Behandlung von Single-Frauen an – Frage: Warum ???

Diskussion und Schlussfolgerungen:

Die Zahl der alleinstehenden Frauen mit Kinderwunsch nimmt zu, ebenso die Nachfrage von Solo-Frauen nach Samenspendebehandlung. Die Behandlung von Solo-Frauen mit heterologer IUI/IVF ist erfolgreich.

Es gibt nur eine begrenzte Anzahl von Zentren, die alleinstehende Frauen in Deutschland behandeln. Dies sollte sich ändern.



Session 3 • Stimulation und Modellsysteme

PO 3.13

Haben Symptomatik und Abstand einer SARS-CoV2-Infektion des Paares Einfluss auf den Verlauf einer assistierten Reproduktion?

M. Goeckenjan¹, K. Glaß¹, V. Eckstein¹, I. Trinkaus¹, P. Wimberger¹

¹Universitätsklinikum TU Dresden, Universitäres Kinderwunschzentrum Dresden (DEU), Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe

Im Verlauf der COVID-19-Pandemie berichteten im Jahr 2022 zunehmend Kinderwunschpaare von SARS-CoV-2-Infektionen vor der geplanten Behandlung mit assistierter Reproduktion mit IVF und ICSI (ART). Im Vergleich zu Vorjahren fielen vermehrt Fehlgeburten bei vergleichbaren Schwangerschaften auf, so dass eine monozentrische Kohortenstudie zu Outcome-Parametern von ART-Zyklen durchgeführt wurde.

Das Studienprotokoll wurde von der lokalen Ethikkommission zustimmend bewertet. Mit einem standardisierten Fragebogen zu Zeitpunkt, Symptomen und Verlauf einer SARS-CoV-2-Infektion wurden insgesamt 211 Paare eines universitären Kinderwunschzentrums befragt. 239 ART-Zyklen mit Embryotransfer konnten analysiert werden. Durch binärlogistische Regressionsanalyse wurden der Einfluss des Zeitpunktes der letzten SARS-CoV-2-Infektion und Symptomatik der Infektion auf den Verlauf der ART untersucht.

2022 berichtete mindestens ein Partner in 62% der IVF/ICSI-Zyklen von SARS-CoV-2-Infektionen seit Beginn der Pandemie. In 80 ART-Zyklen, ohne nachgewiesene Infektion lag die Schwangerschaftsrate bei 39,6%, während sie nach Infektionen 28,4% betrug ($p=0,088$). Die Fehlgeburtenrate unterschied sich in dieser Gruppenanalyse von Zyklen bei Paaren ohne und mit Infektionen unabhängig vom zeitlichen Abstand nicht (33,3 vs. 34,1%, $p=1,000$). Jedoch zeigten sich Auswirkungen des zeitlichen Abstands der Infektion zur ART-Behandlung auf Schwangerschafts- und Fehlgeburtenrate. Werden nur Infektionen innerhalb von 6 Monaten vor ART berücksichtigt, so zeigt sich ein leichter, nicht signifikanter negativer Effekt auf die Schwangerschaftsrate. Die Schwangerschaftsrate sinkt mit kürzerem zeitlichem Abstand zwischen Infektionen von Frauen und Männern und der Behandlung ($p=0,060/0,055$). Für die Fehlgeburtenrate weisen die Daten auf einen statistisch signifikanten und starken Effekt bei Infektionen von Frauen innerhalb von 6 Monaten vor ART hin, OR 4,7 für Fehlgeburten ($p=0,009$). Das Risiko einer Fehlgeburt bei Schwangerschaftseintritt nach ART erhöht sich je kürzer der zeitliche Abstand einer Infektion der Partner zur Behandlung ist ($p=0,048$). Keinen Effekt hatte die Stärke der Symptomatik sowie die Anzahl der Tage mit Fieber bei Infektion auf den Verlauf einer ART-Behandlung.

In dieser retrospektiven Datenanalyse von ART-Zyklen mit IVF und ICSI ergab sich eine niedrigere Schwangerschaftsrate in Zyklen bei denen mindestens ein Partner eine SARS-CoV-2-Infektion berichtete. Bei kürzerem Zeitintervalls zwischen Infektion und der Behandlung zeigte sich auch eine Erhöhung der Fehlgeburtenrate, besonders bei Infektion der Frau. Diese Studie wurde zu einem Zeitpunkt der Pandemie 2022 mit regelmäßigen Selbsttestung auf Infektionen sowie Bestätigung von Infektionen mit PCR-Tests durchgeführt. Die detaillierte Erhebung des Infektionsstatus durch die Selbstangaben des Paares weist auf einen Einfluss von SARS-CoV-2 Infektionen auf Schwangerschaftsraten und -verlauf nach ART hin. Ob ähnliche Effekte nach Analyse der deutschlandweiten IVF-Daten und bei spontan eingetreten Schwangerschaften im Jahr 2022 nachweisbar sind, ist zum jetzigen Zeitpunkt noch nicht bekannt. Es bleibt auch unklar, ob die berichteten Zusammenhänge auch bei Infektionen mit späteren SARS-CoV-2-Virusvarianten weiterhin berücksichtigt werden müssen.



Session 3 • Stimulation und Modellsysteme

PO 3.13



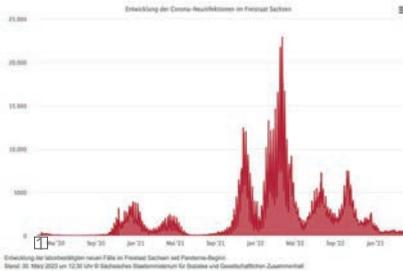
10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Haben Symptomatik und Abstand einer SARS-CoV-2-Infektion des Paares Einfluss auf den Verlauf einer assistierten Reproduktion?

DVR Kongress 2023, Poster PO 3.13

M. Goeckenjan, K. Glaß, V. Eckstein, I. Trinkaus, P. Wimberger



- Abschätzen des individuellen Risikos und der aktuellen Infektionslage
- Berücksichtigen von offiziellen Maßnahmen zum Infektionsschutz
- Priorisieren der Behandlungsmöglichkeiten für die Paare mit dringender Behandlung
- Notfallpläne sollen existieren

Begleitend wird empfohlen Registerdaten zu erheben und Studien zu planen

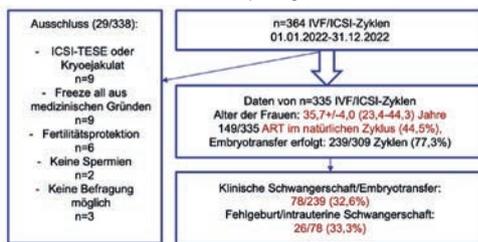
Veiga et al. (2020) Assisted reproduction and COVID-19: Joint statement of ASRM, ESHRE, IFFS. Fertil Steril



Studie zur Abschätzung von möglichen Risiken einer SARS-CoV-2 Infektion vor einer ART-Behandlung

Methoden

- Monozentrische Kohortenstudie mit retro- und später prospektiver Datensammlung
- Befragung beider Partner:innen bei 239 ART-Zyklen mit Embryotransfer zu Infektionen und Impfungen im Jahr 2022



Resultate:

- Bei 62% der IVF/ICSI-Zyklen hatte mindestens eine Partner:in seit Beginn der Pandemie eine SARS-CoV-2-Infektion
- In 80 ART-Zyklen ohne nachgewiesene Infektion lag die **klinische Schwangerschaftsrate** bei 39,6%, nach Infektionen bei 28,4% (p=0.088)
- Die **Fehlgeburtenrate** unterschied sich in der Gruppenanalyse von Zyklen bei Paaren mit und ohne Infektion nicht (33,0%/34,1%), jedoch bei Berücksichtigung von Infektionen < 6 Monaten

www.uniklinikum-dresden.de

Universitätsklinikum Carl Gustav Carus DIE DRESDNER.

Studie zur Abschätzung von möglichen Risiken einer SARS-CoV-2 Infektion vor einer ART-Behandlung

Tabelle 1: Binäre Regressionsanalyse für zeitliche Zusammenhänge einer SARS-CoV-2-Infektion vor Kinderwunschbehandlung mit IVF/ICSI

Kovariate	Omnibus	Nagelkerke	Hosmer	p	Exp(B)	95%-KI
Klinische Schwangerschaftsrate						
Frau: Infektion <=6 Monate vor ART	-	-	-	0,090	0,573	0,301-1,090
Mann: Infektion <=6 Monaten vor ART	-	-	-	0,206	0,653	0,337-1,269
Frau: Zeitabstand zu IVF/ICSI in Monaten	0,060	0,041	0,009	0,060	0,936	0,874-1,003
Mann: Zeitabstand zu IVF/ICSI in Monaten	0,054	0,050	0,759	0,055	0,937	0,877-1,001
Fehlgeburtenrate						
Frau: Infektion <=6 Monate vor ART	0,008	0,122	-	0,009	4,687	1,467-14,980
Mann: Infektion <=6 Monaten vor ART	0,247	0,024	-	0,244	1,980	0,628-6,249
Frau: Zeitabstand zu IVF/ICSI in Monaten	0,025	0,188	0,552	0,048	1,145	1,001-1,310
Mann: Zeitabstand zu IVF/ICSI in Monaten	0,013	0,251	0,249	0,045	1,184	1,004-1,395

Anmerkungen: signifikante Ergebnisse p<0,05

Diskussion und Schlussfolgerungen

- Besondere Situation – fast ausschließlich Infektionen mit SARS-CoV-2 im Studienzeitraum durch Infektionsschutz
- Selbstangaben der Patient:innen, aber sehr gute Erinnerung an die Infektionen
- Ergebnisse nur eines Zentrums
- Für Subanalyse bzgl. Virusvariante und Impfungen ist die Studiengruppe zu klein
- Keine serologischen Untersuchungen erfolgt
- DIR-Daten für Deutschland und Studien zu spontanen Schwangerschaften stehen aus
- Auswirkungen auf spätere Infektionen mit SARS-CoV-2 nicht voraussagbar

Eine SARS-CoV-2-Infektion hat einen **negativen Einfluss auf die klinische Schwangerschaftsrate**, ohne statistisch signifikanten zeitlichen Einfluss.

Je **kürzer die Infektion vor der Behandlung** desto **größer der negative Einfluss auf die Fehlgeburtenrate** durch Infektionen von beiden Partnern

Universitätsklinikum Carl Gustav Carus DIE DRESDNER.



Unterdosiert der Follitropin-Delta-Algorithmus Frauen mit hohem Körpergewicht und erhöhtem Risiko für ein schwaches Ansprechen der Ovarien auf die ovarielle Stimulation?

L. I. da Costa Hackstein¹, K. Neumann², T. Eggersmann¹, M. Depenbusch¹, A. Schultze-Mosgau¹, R. A. Hiller¹, G. Griesinger¹

¹Universitätsklinikum Schleswig-Holstein (DEU), Universitäres Kinderwunschzentrum Lübeck-Manhagen;

²Kinderwunsch Praxisklinik Fleetinsel (DEU)

Der Follitropin-Delta-Dosierungs-Algorithmus sieht im ersten Zyklus eine tägliche Dosis von 12µg Follitropin Delta (FD) (äquivalent zu etwa 188IU/d rFSH) für Patientinnen mit einem Serum-AMH von <15pmol/L vor, unabhängig vom KG. In Studien (ESTHER-1, 2017; Blockeel, 2022) bekamen nahezu 40-50% der Patientinnen 12µg FD verschrieben. In der Phase-III-Studie (ESTHER-1) wiesen jedoch nur 5% der Patientinnen ein KG >85kg auf. Es war bisher nicht evident, ob Frauen mit hohem KG, i.e. einem hohen Verteilungsvolumen, möglicherweise durch den FD-Dosierungs-Algorithmus unterdosiert werden, vor allem im Serum-AMH-Stratum <15pmol/L.

Es handelt sich um eine monozentrische, retrospektive Analyse aller Stimulationszyklen (n=337) mit FD, die zwischen dem 12.06.2016 und 10.12.2021 an einem universitären Reproduktionszentrum durchgeführt wurden. In die Auswertung eingeschlossen wurden nur Frauen mit IVF- oder ICSI-Indikation ohne vorherige ART-Behandlung, welche eine kontrollierte ovarielle Stimulation mittels GnRH-Antagonisten-Protokoll mit hCG- oder GnRH-Agonisten-Trigger erhielten. Es gab keine Ausschlusskriterien bezüglich Serum-AMH, KG, Zyklusunregelmäßigkeiten oder Vorhandensein eines PCOS. FD wurde für die Patientinnen gem. Beipackzettel dosiert. Das KG wurde an Zyklustag zwei oder drei gemessen. Primäre Outcome-Variable ist die Anzahl der gewonnenen Eizellen (cumulus-oocyte-complex (COC)). Als Ziel-Response wurden 8-14 COCs definiert, in Übereinstimmung mit der ESTHER-1-Studie.

Die Daten sind dargestellt als Mittelwert±Standardabweichung und/oder Median (Spannweite), oder Anzahl (Anteil). Auswertung von 182 ersten Zyklen mit einem durchschnittlichen Alter von 33±4.2 Jahren, Serum-AMH 25.4±16.7 pmol/L und KG 72.6±16.3 kg. 37 von 182 (20%) Frauen wiesen ein KG ≥85kg auf. Die mediane Anzahl an COCs unter 12µg FD bei Serum-AMH <15pmol/L betrug 7 (0-19) bei Frauen mit einem KG <85kg und 7 (2-20) COCs bei einem KG ≥85kg (p>0,05). Ein zweiter Vergleich bezogen auf die KG-Strata (<85kg und ≥85kg) und Serum-AMH-Strata (0-7 pmol/L und 7-15pmol/L) zeigte ebenfalls keine geringere ovarielle Response bei höherem KG. Bei allen maximal dosierten ersten Zyklen mit 12µg FD (84/182, 46%), wurde die Ziel-Response in 32,1% der Zyklen bei KG ≥85kg erzielt und in 37,5% bei KG <85kg. Im AMH-Stratum ≥15pmol/L wiesen 20/125 Patientinnen (16%) eine Hyporesponse mit <8 COCs auf. Es konnte kein Unterschied in Alter, BMI oder durchschnittlicher FD-Dosis gefunden werden. Jedoch waren diese Patientinnen im Durchschnitt größer (1,71±0,06m vs. 1,66±0,06m; p=0,01), zeigten eine Tendenz zu höherem KG 73kg (48-110kg) vs. 63kg (47-119kg), p=0,08) und größerer Körperoberfläche (1,87±0,21 vs. 1,76±0,2m², p=0,05) als Patientinnen mit Ziel-Response. In allen Subgruppen war die Prävalenz von Zyklusunregelmäßigkeiten nicht unterschiedlich in Bezug auf Response.

Es handelt sich um eine unkontrollierte Kohorte und die Analyse erfolgte retrospektiv. Nur wenige Frauen wiesen ein hohes KG auf, wodurch Stichprobengröße und Teststärke limitiert sind. Hohes KG könnte mit verändertem follikulärem Recruitment und ovarieller Physiologie einhergehen. Unsere Daten zeigen keine Abnahme der ovariellen Response bei Frauen mit hohem KG (i.e. ≥85kg) und Serum-AMH <15pmol/L (2,1ng/ml) unter einer täglichen FD-Dosis von 12µg. Der FD-Dosierungs-Algorithmus sagt eine maximale Response bei 12µg FD (äquivalent zu etwa 188IU/d rFSH) für alle Frauen mit Serum-AMH <15pmol/L voraus. Unsere Analyse unterstützt diese Vermutung.



Session 3 • Stimulation und Modellsysteme

PO 3.14



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Unterdosiert der Follitropin-Delta-Algorithmus Frauen mit hohem Körpergewicht und erhöhtem Risiko für ein schwaches Ansprechen der Ovarien auf die ovarielle Stimulation?

Lena Isabel da Costa Hackstein¹, Kay Neumann², Tanja Eggersmann¹, Marion Depenbusch¹, Askan Schultze-Mosgau¹, Roman Alexander Hiller¹, Georg Griesinger¹

¹Universitäres Kinderwunschzentrum Lübeck-Manhagen, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Lübeck, Deutschland
²Kinderwunsch Praxisklinik Fleetinsel, Hamburg, Deutschland

Einleitung:

Der Follitropin-Delta-Dosierungs-Algorithmus sieht im ersten Behandlungszyklus mit *in-vitro Fertilisation* (IVF) eine tägliche Dosis von 12µg rekombinantes humanem FSH (rhFSH; Follitropin-Delta – FD) (äquivalent zu etwa 188 I.E./d rekombinantes FSH) für Patientinnen mit einem Serum-AMH von <15 pmol/L vor, unabhängig vom Körpergewicht (KG). Unterhalb des Schwellenwertes von 15 pmol/l AMH korrigiert der Dosierungsalgorithmus die individuell benötigte Dosis nach dem Körpergewicht (als Näherungsfaktor für das Verteilungsvolumen). Hier gilt: je höher das Körpergewicht, desto höher die benötigte Dosis oder *vice-versa*, je höher das Körpergewicht bei gleicher Dosis, desto geringer der pharmakodynamische Effekt. In Studien (ESTHER-1, 2017¹; Blockeel, 2022) bekamen nahezu 40-50% der Patientinnen 12µg FD verschrieben. In der Phase-III-Studie (ESTHER-1¹) wiesen jedoch nur 5% der Patientinnen ein KG >85kg auf.

Es war bisher nicht evident, ob Frauen mit hohem KG, i.e. einem hohen Verteilungsvolumen, möglicherweise durch den FD-Dosierungs-Algorithmus unterdosiert werden, vor allem im Serum-AMH-Stratum <15pmol/L.

¹ Nyboe Andersen et al. (2017)



10. DVR KONGRESS

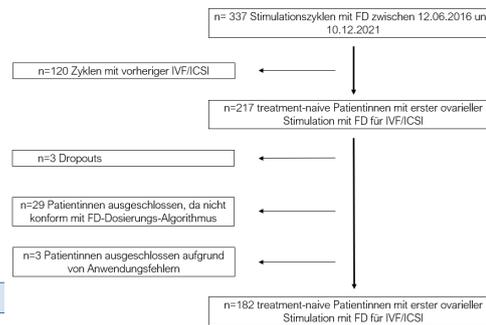
20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Studiendesign und Patientinnen:

- Monozentrische, retrospektive Analyse von 182 Stimulationszyklen mit FD zwischen 12.06.2016 und 10.12.2021
- Einschlusskriterien:
 - ✓ Alter >18 Jahre
 - ✓ Erste ovarielle Stimulation mittels GnRH-Antagonisten-Protokoll mit hCG- oder GnRH-Agonisten-Trigger
- KG an Zyklustag 2/3 gemessen
- Primärer Ergebnisparameter: Cumulus-Oozyten-Komplexe (COCs)
 - Zielparameter: 8-14 COCs

Alter (Jahre)	33 ± 4,2
KG (kg)	72,6 ± 16,3
AMH (pmol/L)	25,43 ± 16,71
Patientinnen mit KG ≥85kg	37 von 182 (20%)

Tabelle 1: Demographie der 182 ausgewerteten Patientinnen.



Grafik 1: Flussdiagramm der erfassten Zyklen



10. DVR KONGRESS

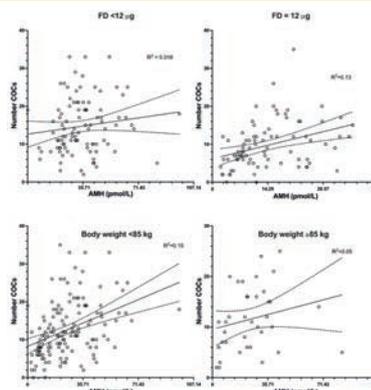
20. – 22. September 2023
 WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
 Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Ergebnisse der 1. Behandlungszyklen mit FD

Körpergewicht (Kilogramm)	AMH (pmol/L)			
	<7,14	≥7,14 bis <15	≥15	alle
<85	6 [0; 19] (13)	8 [0; 16] (33)	7 [0; 19] (46)	11 [0; 35] (145)
≥85	4.5 [2; 11] (6)	11 [7; 20] (5)	7 [2; 20] (11)	11 [2; 25] (37)
alle	6 [0; 19] (18)	8 [0; 20] (38)	7 [0; 20] (56)	11 [0; 35] (182)

Links:
 Tabelle 2: Durchschnittliche Anzahl und Spannweite der Zahl an COCs abhängig von AMH und KG.

Rechts:
 Grafik 2: Streudiagramm der COC-Anzahl stratifiziert nach AMH und KG.



Diskussion und Schlussfolgerungen:

Unsere Daten zeigen keine Abnahme der ovariellen Antwort bei Frauen mit hohem KG und Serum-AMH <15pmol/L unter einer täglichen FD-Dosis von 12µg.

Der FD-Dosierungs-Algorithmus sagt eine maximale Response bei 12µg FD (äquivalent zu etwa 188IU/d rFSH) für alle Frauen mit Serum-AMH <15pmol/L voraus. Unsere Analyse unterstützt diese Vermutung.



Ein neues Kryo-ET-Protokoll zur Terminierung der Embryoübertragung im ovulatorischen Zyklus

T. Eggersmann¹, N. Hamala¹, R. A. F. Hiller¹, M. Depenbusch¹, A. Schultze-Mosgau¹, P. Edimiris², A. Bielfeld², J.-S. Krüssel², D. Baston-Büst², S. Tauchert³, S. von Otte⁴, W. Junkers⁴, G. Griesinger¹

¹Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Lübeck (DEU), Sektion für gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin und universitäres Kinderwunschzentrum Lübeck und Manhagen;

²Universitätsklinikum Düsseldorf (DEU), Universitäres Kinderwunschzentrum Düsseldorf (UniKid);

³IVF Zentrum SAAR (DEU);

⁴Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel (DEU), Universitäres Kinderwunschzentrum Kiel

Weltweit werden rund 60% aller Embryonenübertragungen nach Kryokonservierung durchgeführt. Sog. artifizielle („programmierte“ oder „HRT“) Zyklen sind, wahrscheinlich aufgrund des Fehlens des Corpus luteums, häufig mit inadäquaten Progesteronspiegeln und erhöhten maternalen und fetalen Risiken assoziiert. Im ovulatorischen Zyklus ist orales Dydrogesteron (DYD) 10mg (tid) möglicherweise geeignet, um das Implantationsfenster zu terminieren und die Lutealphase zu unterstützen, ohne Ovulation und Lutealphase zu stören. DYD zeigt im Immunoassay (ELISA) keine Kreuzreaktion mit Progesteron, sodass beide Analyte voneinander unterschieden werden können.

Die gegenständlichen Daten sind Teil einer laufenden multizentrischen, prospektiven klinischen Kohortenstudie (NCT03507673). 163 Patientinnen wurden zwischen 02/2021-11/2022 gemäß eines „programmiert ovulatorischen Kryozyklusprotokolls“ behandelt. Frühestens an Zyklustag 10 erhielten die Patientinnen ab einem E2-Serumspiegel >180 pg/ml, einem Leitfollikel >16mm und einer Endometriumsdicke >6mm, 10mg DYD oral (tid). Ein Zyklusmonitoring wurde bis zum Erreichen der Kriterien alle 2 Tage wiederholt. Der Embryotransfer erfolgte, ohne vorangehende Ovulationsinduktion, bei Tag 2/3-Embryonen am 3./4. Tag bzw. bei Tag 5-Embryonen am 6. Tag der Einnahme von DYD. Zur späteren endokrinologischen Analyse mittels Roche Elecsys®-Immunoassay wurden Serum/Plasma-Proben am Tag des Embryotransfers, des Schwangerschaftstests, sowie des Schwangerschaftsultraschalls gesammelt und eingefroren.

Bei 94,4% der Patientinnen konnte eine Ovulation (Progesteron >1,5 ng/ml) durch Serum-Progesteronmessung am ET-Tag nachgewiesen werden (MW=9,45±5,5 ng/ml, Range=0,2-28,1 ng/ml). Der Progesteronserumspiegel am ET-Tag war unabhängig vom E2-Spiegel, der Follikelgröße und dem LH-Anstieg (>12,6 IU/l) am Tag des letzten Zyklusmonitorings (Progesteron-MW=9,69±4,78 IU/l mit LH-Anstieg vs. Progesteron-MW=8,96±5,91 IU/l ohne LH-Anstieg, p=0,40). Bei 9,2% der Patientinnen (15/163) zeigte sich ein Serum-Progesteronspiegel von <1,5 ng/ml am Embryotransfertag. 40% (6/15) dieser - am Embryotransfertag anovulatorischen - Patientinnen erzielten in dem untersuchten Zyklus eine Schwangerschaft und zeigten am Tag des Schwangerschaftstests endogene Progesteronmesswerte von >1,5 ng/ml (MW=23,4±9,81 ng/ml). Bei 5,5% der Patientinnen (9/163) konnten wir durch unser Studiendesign keine Ovulation beweisen. Anhand der Daten kann ein ovulatorischer Zyklus mit kurzer Lutealphase ohne Eintritt einer Schwangerschaft nicht von einer tatsächliche Anovulation unterschieden werden. Diese neun anovulatorischen Patientinnen zeigten im Vergleich zum ovulatorischen Kollektiv einen höheren BMI, höheres Lebensalter und höhere Endometriumsdicke. Unterschiede in AMH-, LH-, E2-Leveln und Follikeldurchmesser waren nicht signifikant. Die fortlaufende Schwangerschaftsrate war unabhängig vom Serum-Progesteronspiegel am Embryotransfertag bei Patientinnen unterhalb der 25. Perzentile (Progesteron <5,47 ng/ml, n = 41) oder oberhalb der 25. Perzentile des Serum-Progesteronspiegeles (Progesteron >5,47 ng/ml, n = 122): Schwangerschaftsrate: 24,4% (10/41) vs. 30,3% (37/122) (Unterschied: -5,9%, 95%, Konfidenzintervall: -19,6 bis 10,8%; p=0,55).

**Session 3 • Stimulation und Modellsysteme****PO 3.15**

Die erhobenen Daten zeigen die Möglichkeit der effizienten Planung eines Embryotransfers durch 10mg orales DYD (tid) in einem ovulatorischen Zyklus ohne Ovulationsinduktion. Das kostengünstige und injektionsfreie Protokoll kombiniert somit sowohl die Vorteile einer oralen exogenen Progesteronzufuhr als auch der endogenen Progesteronaktivität des Corpus luteums. Zusammenfassend zeigen sich die endogenen Serumprogesteronlevel in dieser Interimsanalyse homogen, so dass weitere wissenschaftlichen Untersuchungen in diesem Protokoll durchgeführt werden könnten. Im präpartalen und postnatalen Verlauf wurden bisher keine maternalen oder fetalen Komplikationen beobachtet. Die Analyse der gefrorenen Serum/Plasma-Proben zur Ermittlung der Interaktion von endogenen Progesteron- und DYD-Serumspiegeln mittels Liquid-Chromatographie-Massenspektrometrie (LC-MSMS) ist in der laufenden Studie geplant.



Session 3 • Stimulation und Modellsysteme

PO 3.15



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Ein neues Kryo-ET-Protokoll zur Terminierung der Embryoübertragung im ovulatorischen Zyklus

Eggersmann T.K.¹, Hamala N.¹, Hiller R.A.F.¹, Depenbusch M.¹, Schultze-Mosgau A.¹, Edmiris P.², Biefeld A.P.², Kruesel J.S.², Baston-Büst D.², Tauchert S.³, von Ote S.⁴, Junkers W.⁴, Griesinger G.¹
¹ Sektion für gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Lübeck, und Universitäres Kinderwunschzentrum Lübeck und Manhagen, Lübeck.
² Universitätsklinikum Düsseldorf, Heinrich-Heine-Universität, Frauenklinik, Universitäres interdisziplinäres Kinderwunschzentrum Düsseldorf (UniKiD).
³ IVF Zentrum SAAR, Saarbrücken-Kaiserslautern. ⁴ Universitäres Kinderwunschzentrum, MVZ, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel, Kiel, Germany.

Einleitung:

- ~ 60% der weltweiten Embryonenübertragungen sind Transfere nach Kryokonservierung von Embryonen
- Vorteile artifizielle („HRT“) Zyklen:
 - I. bessere Planbarkeit/Terminierung für Patientin und Zentrum
 - II. kein Risiko der frühzeitigen/ungeplanten Ovulation
 - III. keine Abhängigkeit von individuellen Störfaktoren (Hormone)
- Nachteile artifizielle („HRT“) Zyklen:
 - I. Fehlen eines Corpus Luteum
 - II. inadäquate Progesteronspiegel
 - III. erhöhte maternale/fetale Risiken (z.B. Präeklampsie)

Fragestellung:

Ist die alleinige Gabe von 30 mg oralem Dydrogesteron (DYD) t.i.d. ohne Ovulationsinduktion geeignet zur präzisen Terminierung des Implantationsfensters, sowie als Lutealphasenunterstützung ohne Beeinträchtigung der Ovulation?



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Patientinnen und Methoden:

- multizentrische, prospektive klinische Kohortenstudie (NCT03507673; n = 729)
- Interimsanalyse: n = 163 Patientinnen (Zeitraum: Februar 2021- November 2022)

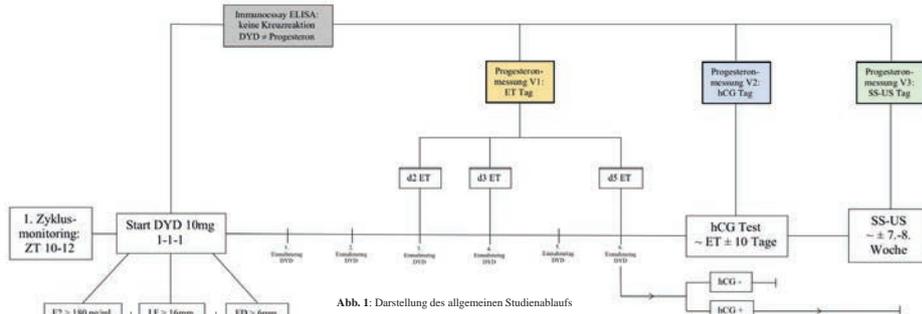


Abb. 1: Darstellung des allgemeinen Studienablaufs



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Ergebnisse:

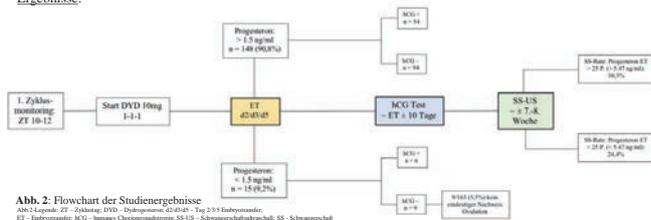


Abb. 2: Flowchart der Studienergebnisse

Diskussion und Schlussfolgerungen:

- Vorteile des programmierten ovulatorischen Kryozykusprotokolls:
- ~ 95% der Patientinnen ovulieren erfolgreich trotz Gabe von 10mg oralem DYD (tid)
 - effiziente Planung und Terminierung eines Embryotransfers ohne Ovulationsinduktion mit homogenen endogenen Serumprogesteronlevel
 - kostengünstiges und injektionstheies Protokoll
 - bislang keine maternalen oder fetalen Komplikationen im präpartalen und postnatalen Verlauf



Abb. 3: Das Progesteronlevel am ET Tag zeigt sich unabhängig vom LH-Peak am Tag des letzten Monitorings (positiv: LH > 12.6 IU/l; negativ: LH < 12.6 IU/l).

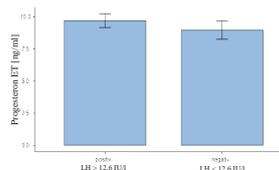
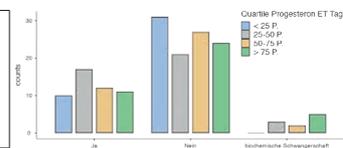


Abb. 4: Die fortlaufende Schwangerschaftsrate zeigt sich unabhängig von den Serum-Progesteronquartilen am ET Tag (Progesteron < 5.47 ng/ml =< 25. P.; 5.47-9.77 ng/ml = 25-50. P.; 9.78-12.9 ng/ml = 50-75. P.; > 12.9 ng/ml => 75. P.).





Angst vor Einschränkung der Fertilität – eine der Hauptursachen für die Zurückhaltung bei der Covid-19 Impfung bei Kinderwunschpatientinnen

F. von Versen-Höyneck¹, J. Kern¹, C. Schippert¹, D. Fard¹, A. P. Bielfeld²

¹Medizinische Hochschule Hannover (DEU), Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe;

²Universitätsklinikum Düsseldorf (DEU), Klinik für Frauenheilkunde, Geburtshilfe und Reproduktionsmedizin (Unikid)

Frauen, die eine Schwangerschaft planen, wird die Impfung gegen COVID-19 empfohlen, da festgestellt wurde, dass die Schwangerschaft selbst ein Risikofaktor für eine schwere COVID-19-Erkrankung ist. Während bei schwangeren und stillenden Frauen zuvor über eine verminderte Akzeptanz der Impfung berichtet wurde, wurden Patienten, die sich einer Kinderwunschbehandlung unterzogen, in früheren Studien nur selten eingeschlossen. Dennoch tauchen in der täglichen Praxis weiterhin verschiedene Ängste und Bedenken hinsichtlich der SARS-CoV-2-Impfung auf, aber die genauen Gründe bei unfruchtbaren Paaren sind weitgehend unbekannt. Daher sind wir der Frage nachgegangen, wie die SARS-CoV-2-Impfung von Frauen angenommen wird, die eine Kinderwunschbehandlung in Anspruch nehmen möchten, und welche Ängste und Sorgen sie haben.

Zwischen dem 28. Januar und dem 10. August 2022 wurde eine anonyme Online-Umfrage durchgeführt. Informationen zur Studie wurden von Kinderwunschkliniken in Deutschland persönlich bereitgestellt und online, z. B. in Facebook-Gruppen, verbreitet. Die Online-Umfrage umfasste insgesamt 35 Fragen zu Demografie, dem COVID-19-Impfstatus, Bedenken der geimpften Teilnehmerinnen im Vorfeld und zu Gründen der ungeimpften Teilnehmerinnen gegen eine Impfung sowie zu Faktoren, die Einfluss auf die Entscheidung gegen eine Impfung hatten. Von 520 Teilnehmerinnen, die mit dem Fragebogen begonnen hatten, füllten 406 Patientinnen den Fragebogen aus und wurden in die statistische Analyse einbezogen.

Von den 406 Teilnehmerinnen gaben 92,1 % an, mindestens eine Dosis des COVID-19-Impfstoffs erhalten zu haben, 7,9 % waren ungeimpft. Mit der Entscheidung für eine Impfung assoziierte Faktoren waren Vollzeit- oder Teilzeitbeschäftigung ($p=0,05$), hohes Vertrauen in das Impfprinzip ($p<0,001$) und hohe Bereitschaft zu anderen Impfungen während der Kinderwunschbehandlung ($p<0,001$) sowie Risikofaktoren für schwere COVID-19 Erkrankung ($p=0,007$). Bedenken hinsichtlich direkt auftretender Nebenwirkungen nach der Impfung (42,0 %), hinsichtlich der eigenen Fertilität (21,9 %) oder Auswirkungen auf die Kinderwunschbehandlung (27,5 %) waren im Vorfeld die Hauptsorgen der geimpften Teilnehmerinnen. Es wurden Zusammenhänge zwischen Bedenken zum Einfluss auf die eigene Fruchtbarkeit und Misstrauen gegenüber dem allgemeinen Impfprinzip festgestellt. Neben allgemeinen gesundheitlichen Bedenken gaben ungeimpfte Teilnehmerinnen Ängste vor einer Beeinträchtigung der Fertilität als überzeugendstes Argument gegen eine COVID-19-Impfung an (Median 5,0 auf einer fünfstufigen Likert-Skala).

In unserer Studie war eine gemeinsame Sorge sowohl geimpfter als auch ungeimpfter Teilnehmerinnen eine mögliche Nebenwirkung der COVID-19-Impfstoffe auf die Fertilität des Empfängers. Um das Vertrauen der Patientinnen in medizinische Empfehlungen wie Impfungen zu stärken, Misstrauen gegenüber dem medizinischen System zu vermeiden und die Compliance der Patientinnen aufrechtzuerhalten, müssen zusätzliche Aufklärungsangebote gemacht werden, die auf infertile Patientinnen und ihre Bedürfnisse im Hinblick auf empfohlene Impfungen eingehen.



Session 3 • Stimulation und Modellsysteme

PO 3.16



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

PO 3.16

**Angst vor Einschränkung der Fertilität –
eine der Hauptursachen für die Zurückhaltung bei der Covid-19 Impfung bei Kinderwunschpatientinnen**

Jessica Kern¹, Cordula Schippert, MD², Delnaz Fard, MD², Alexandra Petra Bielfeld, MD², Frauke von Versen-Höyneck*, MD, MSc²

¹ Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Arbeitsgruppe Reproduktionsmedizin und molekulare Perinatologie, Medizinische Hochschule Hannover, Deutschland.
² Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und reproduktive Endokrinologie, UnikID/UmiCareD, Düsseldorf, Deutschland.

Einleitung:

- Beginn der Covid-19 Pandemie im Januar 2020 sorgte für einschneidende Veränderungen für Patient:innen sowie medizinisches Personal
 - Auch Paare in Kinderwunschbehandlung waren davon betroffen und mussten ihre Behandlung teils monatelang aufschieben.
 - Umso relevanter wurde mit der Zulassung von Impfstoffen die aktive Bekämpfung des Virus. Doch in der klinischen Praxis wurden Unsicherheiten und ein erhöhter Aufklärungsbedarf unter den Patientinnen in Kinderwunschbehandlung beobachtet.
- Ziel der Studie war es, Patientinnen in Kinderwunschbehandlung zu ihrer Haltung zur Covid-19-Impfung zu befragen um mögliche Ängste zu erfassen.



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Methodik:



Rückmeldung von **406 Kinderwunschpatientinnen** zwischen Januar und August 2021 zu Ihrer Haltung zur Covid-19 Impfung



Der Online-Fragebogen enthielt 35 Fragen zu demographischen Informationen, anamnestisch zur Kinderwunsch-Zeit, sowie der spezifischen Haltung zur Impfung und zu möglichen Bedenken/Gründe dagegen



Die Rekrutierung erfolgte teils direkt durch Auslage von Flyern in Kinderwunschzentren oder über Facebook-Gruppen für infertile Nutzerinnen → Ziel, Teilnehmerinnen aus ganz Deutschland zu rekrutieren



10. DVR KONGRESS

20. – 22. September 2023
WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Ergebnisse:

Faktoren, die mit einer Impfung assoziiert waren:



Angestelltenverhältnis in Voll- oder Teilzeit



Hohes Vertrauen in das Prinzip von Impfungen
Hohe Bereitschaft für andere Impfungen während der Sterilitätsbehandlung



Risikofaktoren für einen schweren Verlauf mit Covid-19

92,1 % geimpfte Teilnehmerinnen

Bedenken vor der Impfung über:

1. Direkte Nebenwirkungen (42,0%)
2. Auswirkungen auf die Kinderwunschbebehandlung (27,5%)
3. Effekte auf die eigene Fertilität (21,9%)

7,9% ungeimpfte Teilnehmerinnen

5.0 (trifft voll und ganz zu, 5-Punkte-Skala) :

- negativer Einfluss auf Fertilität, Behandlung, Schwangerschaft, Fehlbildungen
 - schnelle Entwicklung, mangelnde Wirksamkeit
- 96,9% würden die Behandlung nicht aufschieben, um sich vorher impfen zu lassen

Diskussion und Schlussfolgerungen:

- Trotz hoher Impfquote Trends von Misstrauen und Bedenken bezüglich Auswirkungen der Impfung auf die Fertilität und Erfolg der Kinderwunschbehandlung bei geimpften und ungeimpften Patientinnen erkennbar
- Aufklärungsangebote gezielt für Patientinnen in Kinderwunschbehandlung bezüglich der Covid-19 Impfung und anderer, zukünftiger Medikamente oder Impfstoffe nötig
- Wahrung des Vertrauens in das medizinische System für die Behandlung essentiell



Die konsequente Anwendung des Deutschen Mittelweges (DMW) mit single embryo transfer führt im Vergleich zum D-I-R-Durchschnitt zu keiner Verschlechterung der Schwangerschaftsraten, aber zu signifikanter Reduktion der Mehrlingsgeburten

J.-S. Krüssel¹, J. Hirchenhain¹, D. M. Baston-Büst¹, P. Edimiris¹, I. Scheliga¹, J. Bender-Liebenthron¹, A. Bielfeld¹

¹Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf (DEU), UniKiD

Weltweit ist ein klarer Trend zur Blastozystenkultur mit Transfer nur eines Embryos (single embryo transfer, SET) im Gegensatz zum bis vor einigen Jahren üblichen Transfer von 2 Embryonen (double embryo transfer, DET) zu beobachten, wodurch erfreulicherweise die Anzahl der risikobehafteten Mehrlingsschwangerschaften deutlich reduziert wird [1, 2]. Durch verbesserte Kulturbedingungen und die Umstellung des Kryoverfahrens auf Vitrifikation kommt es zu stetigen Verbesserungen der Behandlungsergebnisse [2,3]. Da der elektive SET nach allgemeiner Rechtsauffassung in Deutschland nicht erlaubt ist, wird seit mehreren Jahren der Behandlungsalgorithmus des „Deutschen Mittelweges (DMW)“ [4, 5] angewandt, wobei es in manchen Fällen zur nicht intendierten Entstehung überzähliger, entwicklungsfähiger Embryonen (Blastozysten) kommen kann, welche kryokonserviert und zu einem späteren Transfer verwendet werden können. Auch im UniKiD wird der DMW mit Kultivierung von meist 3-4 Vorkernstadien angewandt und immer häufiger - nach entsprechender, oft zeitintensiver Überzeugungsarbeit bedürftiger Aufklärung der Paare - nur ein Embryo transferiert. In 2022 lag der Anteil der SETs im UniKiD bei 98,8% (1.196 von 1.210 Transfers, durchschnittlicher Anteil SET im D-I-R: 59,9%). Die Notwendigkeit der intensiven Beratungsarbeit beruht darauf, dass viele Paare einerseits die Vorstellung haben, dass die Schwangerschaftswahrscheinlichkeit beim DET höher sei als beim SET und andererseits die mit Mehrlingsschwangerschaften verbundenen möglichen Komplikationen in der Schwangerschaft und nach der Geburt stark unterschätzen. Die hier vorgestellte Untersuchung sollte die Frage beantworten, ob die konsequente Anwendung des SET zu einer „underperformance“ im Hinblick auf die Ergebnisparameter Schwangerschaftsrate pro Transfer und Lebendgeburtenrate pro Transfer führt, weiterhin sollte der Effekt des DMW-SET auf die Häufigkeit von Mehrlingsschwangerschaften und Entstehung überzähliger Blastozysten hin untersucht werden.

Retrospektive Auswertung der UniKiD-Daten des D-I-R-Zentrumsprofils, sowie der zentrumsinternen Dokumentation über die Jahre 2020-2022.

Darstellung: Jeweils Angaben UniKiD und in Klammern (D-I-R-Durchschnitt): Von 2020 über 2021 bis 2022:

- stieg der Anteil der SET-Zyklen (Frisch- und Kryozyklen): 2020: 93,6% (43,9%); 2021: 96,7% (50,6%); 2022: 98,8% (59,9%)
- sank die Anzahl der durchschnittlich verwendeten Embryonen/Transfer: 2020: 1,06 (1,58); 2021: 1,03 (1,51); 2022: 1,01 (1,41)
- lag dennoch die Schwangerschaftsrate pro Transfer deutlich über dem D-I-R-Durchschnitt: 2020: 34,1% (31,6%); 2021: 33,1% (31,5%); 2022: 35,3% (30,7%)
- lag auch die Lebendgeburtenrate pro Transfer deutlich über dem D-I-R-Durchschnitt: 2020: 26,1% (22,9%); 2021: 26,3% (22,6%); 2022: Geburten noch nicht ausgewertet
- war die Mehrlingsrate verschwindend gering: 2020: 3,1% (14,5%); 2021: 0,6% (13,6%); 2022: Geburten noch nicht ausgewertet

**Session 3 • Stimulation und Modellsysteme****PO 3.17**

Im Jahr 2020 wurden 316 Blastozysten kryokonserviert (0,28 Blastozysten pro Transferzyklus), im selben Jahr wurden 270 kryokonservierte Blastozysten abgerufen und transferiert. Im Jahr 2021 wurden 492 Blastozysten kryokonserviert (0,39 Blastozysten pro Transferzyklus), im selben Jahr wurden 323 kryokonservierte Blastozysten abgerufen und transferiert.

Durch die konsequente Anwendung des SET lassen sich trotz Reduktion der durchschnittlich transferierten Embryonen auf 1,01/ET überdurchschnittlich hohe Schwangerschafts- und Lebendgeburtsraten erreichen bei gleichzeitig auf unter 1% reduziertem Mehrlingsrisiko. Allerdings kommt es durch die verbesserten Kulturbedingungen hierbei selbst unter strenger Anwendung des DMW-Algorithmus bei jedem zweiten bis dritten Transferzyklus zur Entstehung einer nicht intendierten Blastozyste, welche zunächst kryokonserviert wird. Der überwiegende Teil der Blastozysten wird jedoch zeitnah zum Transfer verwendet, der Rest steht auch weiterhin (für ein Geschwisterkind) zur Verfügung. Mit der im Koalitionsvertrag angekündigten Zulassung des eSET wird diese Behandlungsrealität hoffentlich in naher Zukunft rechtssicher abgebildet.



Session 3 • Stimulation und Modellsysteme

PO 3.17



10. DVR KONGRESS

PO 3.17 

20. – 22. September 2023

WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Die konsequente Anwendung des Deutschen Mittelweges (DMW) mit *single embryo transfer* führt im Vergleich zum D-I-R-Durchschnitt zu keiner Verschlechterung der Schwangerschaftsraten, aber zu signifikanter Reduktion der Mehrlingsgeburten

J.-S. Krüssel, J. Hirschhain, D.M. Baston-Büst, P. Edimiris, I. Scheliga, J. Bender-Liebenthron, A.P. Bielfeld

Einleitung:

- Die Vermeidung von Mehrlingsschwangerschaften, insbesondere Drillingen oder Vierlingen, stellt eine der größten Herausforderungen der Reproduktionsmedizin dar; weltweit nimmt der Anteil von SET-Zyklen deutlich zu
 - In Deutschland steigt der Anteil der SET-Zyklen zwar auch, es werden aber immer noch mehr DETs als SETs durchgeführt *J Reproductive Med Endocrinol 2022; 19 (5) 15*
 - Mögliche Gründe: Befürchtung einer „underperformance“ in Bezug auf SSR/ET und LBR/ET oder
 - Angst vor Verstoß gegen das ESchG durch regelhafte Entstehung überzähliger Embryonen
 - Im UniKid werden bei großen Fallzahlen seit mehreren Jahren fast ausschließlich SETs durchgeführt
- Frage: wie entwickeln sich SSR, LBR und Mehrlingsrate bei Anwendung von SETs und wie häufig führt dies zu überzähligen Embryonen?



10. DVR KONGRESS

PO 3.17 

20. – 22. September 2023

WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

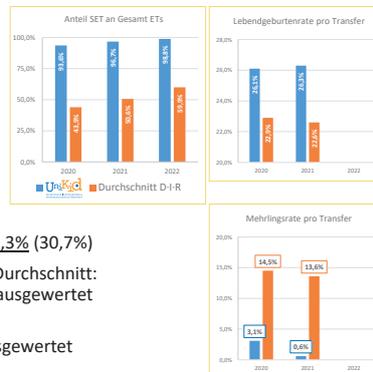
Material und Methoden:

Retrospektive Auswertung der UniKid-Daten des D-I-R-Zentrumsprofils, sowie der zentrumsinternen Dokumentation über die Jahre 2020-2022.

Ergebnisse (1):

Von 2020 über 2021 bis 2022 [UniKid vs. (D.I.R.)]:

- stieg der Anteil der SET-Zyklen (Frisch- und Kryozyklen):
2020: 93,6% (43,9%); 2021: 96,7% (50,6%); 2022: 98,8% (59,9%).
- sank die Anzahl der durchschnittlich verwendeten Embryonen/Transfer:
2020: 1,06 (1,58); 2021: 1,03 (1,51); 2022: 1,01 (1,41).
- lag dennoch die Schwangerschaftsrate pro Transfer deutlich über dem D-I-R-Durchschnitt: 2020: 34,1% (31,6%); 2021: 33,1% (31,5%); 2022: 35,3% (30,7%)
- lag auch die Lebendgeburtenrate pro Transfer deutlich über dem D-I-R-Durchschnitt:
2020: 26,1% (22,9%); 2021: 26,3% (22,6%); 2022: Geburten noch nicht ausgewertet
- war die Mehrlingsrate verschwindend gering:
2020: 3,1% (14,5%); 2021: 0,6% (13,6%); 2022: Geburten noch nicht ausgewertet



10. DVR KONGRESS

PO 3.17 

20. – 22. September 2023

WORLD CONFERENCE CENTER BONN – Plenargebäude
Platz der Vereinten Nationen 2 | 53113 Bonn

Ergebnisse (2):

- Im Jahr 2020 wurden 316 Blastozysten kryokonserviert (0,28 Blastozysten pro Transferzyklus) und 270 kryokonservierte Blastozysten abgerufen und transferiert.
- Im Jahr 2021 wurden 492 kryokonserviert (0,39 pro Transferzyklus) und 323 abgerufen und transferiert.
- Im Jahr 2022 wurden 602 kryokonserviert (0,50 pro Transferzyklus) und 392 abgerufen und transferiert.

Diskussion und Schlussfolgerungen:

- Durch die konsequente Anwendung des SET lassen sich trotz Reduktion der durchschnittlich transferierten Embryonen auf 1,01/ET überdurchschnittlich hohe Schwangerschafts- und Lebendgeburtenraten erreichen bei gleichzeitig auf unter 1% reduziertem Mehrlingsrisiko.
- Allerdings kommt es durch die verbesserten Kulturbedingungen hierbei selbst unter strenger Anwendung des DMW-Algorithmus bei jedem zweiten bis dritten Transferzyklus zur Entstehung einer nicht intendierten Blastozyste, welche zunächst kryokonserviert wird.
- Der überwiegende Teil der Blastozysten wird jedoch zeitnah zum Transfer verwendet, der Rest steht auch weiterhin (für ein Geschwisterkind) zur Verfügung.

Mit der im Koalitionsvertrag angekündigten Zulassung des eSET wird diese Behandlungsrealität hoffentlich in naher Zukunft rechtssicher abgebildet.