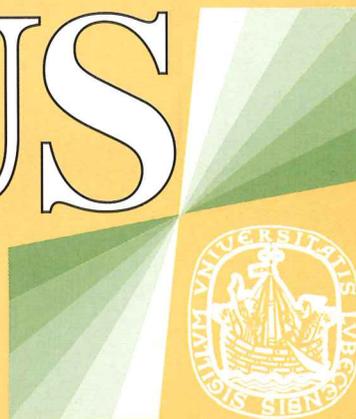


FOCUS MIUL



ZEITSCHRIFT FÜR WISSENSCHAFT, FORSCHUNG UND LEHRE
AN DER MEDIZINISCHEN UNIVERSITÄT ZU LÜBECK

Thema „Reproduktionsmedizin“





SCHERING



Diagnostika

Wer sich in der bildgebenden Diagnostik für Schering entscheidet, hat einen Partner gefunden, der zusammen mit ihm an einer kontinuierlichen Verbesserung der Diagnosestellung arbeitet. Mit anspruchsvollem Service und zahlreichen Fortbildungsveranstaltungen, z.B. für MRT, Ultraschall und Spiral-CT. Gut, einen so kompetenten Partner an seiner Seite zu wissen.

**Schering
Diagnostika**

Wissenschaft plus Partnerschaft.

Thema „Reproduktionsmedizin“

Inhalt

Editorial

- Ungewollte Kinderlosigkeit – Schicksal oder zu bewältigende Aufgabe?
K. Diedrich 200
-

Aktuelles

- Aktuelle Aspekte der assistierten Reproduktion
K. Diedrich, R. Felberbaum, M. Ludwig, O. Bauer 202
-

Originalarbeiten

- Kryo TESE – Ein neues Konzept zur Behandlung der nicht obstruktiven Azoospermie
W. Küpker, M. Bals-Pratsch, P. N. Schlegel, S. Al-Hasani, P. Fornara, R. Johannisson, J. Sandmann,
T. Schill, M. Ludwig, K. Diedrich 206

- Numerische Chromosomenaberrationen in Spermien von fertilen und infertilen Spendern
H. Schlieker, H. Schultz, K. Mennicke, F. Hinrichs, P. Diercks, S. Al-Hasani, M. Bals-Pratsch,
R. Sturm, K. Diedrich, E. Schwinger 213

- Hyperthermie: Effekte auf die Keimzellreifung der männlichen Ratte (*Rattus norvegicus*)?
C. Metzler, R. Johannisson 223

- Rationelle Therapie bei unerfülltem Kinderwunsch aus gynäkologischer Sicht
R. Felberbaum, K. Diedrich 232

- Spermienentnahmetechniken zur intracytoplasmischen Spermieninjektion (ICSI)
J. Sandmann, P. Fornara, D. Jocham 238

- Mikrochirurgische Refertilisierung im Zeitalter der ICSI:
Überholte Prozedur oder sinnvolle Ergänzung?
P. Fornara, J. Sandmann, D. Jocham 244

- Psychosomatische Aspekte in der Sterilitätsbehandlung
I. Kowalcek, G. Buhrow, N. Wihstutz, K. Diedrich 247

- Effekte von Progesteronantagonisten auf die uterinen Eosinophilen der Ratte
E. Rumpel, A.-K. Schubert, O. Schmitt 255
-

Übersicht

- Die Präimplantationsdiagnostik im Spannungsfeld von Recht und Ethik
W. Küpker, K. Diedrich 265

Titelbild: Introzytoplasmatische Spermatozoeninjektion (ICSI)

Ungewollte Kinderlosigkeit – Schicksal oder zu bewältigende Aufgabe?

Wenn ein Paar sich ein Kind wünscht und eine Schwangerschaft nicht eintritt, so bedeutet dies eine schwere Belastung in vielerlei Hinsicht. Stellt doch die Fähigkeit zu empfangen und zu gebären für viele Frauen die Essenz ihrer Weiblichkeit dar, ebenso wie die Zeugungsunfähigkeit für viele Männer von entscheidender Bedeutung ist. Der sich nicht erfüllende Kinderwunsch hat weitreichendere psychologische Konsequenzen als die alleinige Tatsache der Kinderlosigkeit. Das Lebenskonzept und das Bild der Betroffenen von sich selbst als vollwertige Menschen wird dabei in Frage gestellt.

Das betroffene Paar hat nun verschiedene Möglichkeiten, sich diesem Problem zu stellen und zu versuchen, es für sich zu lösen. Es kann die Kinderlosigkeit als Schicksal annehmen, und aus diesem Verzicht heraus Kraft für andere Aufgaben schöpfen. Es kann versuchen, ein Kind zu adoptieren, wobei festzustellen ist, daß die Zahl der zu adoptierenden Kinder weit hinter der Zahl der gestellten Anträge zurückbleibt. Die Möglichkeit, ein Pflegekind zu bekommen, erscheint ungleich günstiger. Auch hier kommt der tief empfundene Wunsch der Paare nach einem eigenen Kind zum Ausdruck. Das Paar kann sich aber auch in ärztliche Behandlung begeben und versuchen, die Möglichkeiten der Medizin in der Behandlung der Kinderlosigkeit zu nutzen.

In den letzten zwanzig Jahren haben sich auf diesem Gebiet entscheidende innovative Entwicklungen ergeben. Mit der Geburt des ersten Kindes nach erfolgrei-

cher In-vitro-Fertilisation und anschließendem Embryotransfer im Jahre 1978 begann eine neue Ära der Reproduktionsmedizin. Die Einführung der Techniken der Mikromanipulation, insbesondere der Intracytoplasmatischen Spermieninjektion (ICSI) hat den Indikationsbereich für den Einsatz der Techniken zur assistierten Reproduktion zur männlich bedingten Ehesterilität erweitert. Methoden der Kryokonservierung und der Präimplantationsdiagnostik ergänzen das Spektrum unserer Zugriffsmöglichkeiten auf Keimzellen und Embryonen. Diese technische Verfügbarkeit menschlicher Fortpflanzung hat zu deutlichen Kontroversen und Spannungen in der Gesellschaft geführt. Unsere angebotenen Hilfen müssen deshalb immer von uns und vor uns, sowie vor der Gesellschaft verantwortet werden.

Daher muß es die vornehmste Aufgabe des Arztes bleiben, das Hilfe suchende Paar umfassend über die Erfolgsaussichten, Durchführung, Belastung – sowohl körperlich, als auch psychisch – und die Risiken dieser neuen Behandlungsmethoden aufzuklären und zu beraten, so daß das Paar sich dann entscheiden kann, ob es diese medizinischen Hilfen zur Erfüllung des Kinderwunsches in Anspruch nehmen will oder die ungewollte Kinderlosigkeit als Faktum hinnimmt und zu bewältigen versucht. Das vorliegende Heft versucht, einen möglichst umfassenden Überblick über den aktuellen Stand der Reproduktionsmedizin zu geben.

K. Diedrich*

* Professor Dr. med. Klaus Diedrich, Gast-Editor dieses Themenheftes Focus MUL, ist Direktor der Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe der Medizinischen Universität zu Lübeck



Schütt & Grundei Sanitätshaus GmbH

BERUFSKLEIDUNG FÜR MEDIZINER · SAUERSTOFFGERÄTE
REHABILITATIONSMITTEL · KOMPRESSIONSSTRÜMPFE
ROLLSTÜHLE · GESUNDHEITSSANDALEN · KRANKENBETTEN
KRANKENPFLEGEBEDARF · LEIBBINDEN · BRUCHBÄNDER
FUSSEINLAGEN · INHALIERGERÄTE · SAUERSTOFFGERÄTE

Osterweide 2c
direkt gegenüber dem
Haupteingang der MUZL

Lübeck: Königstraße/Ecke Wahnstr.
Fackenburger Allee 30 a
Osterweide 2c
Grapengießerstraße 21

Bad Schwartau: Lübecker Straße 12

in jedem Fall.....Tel.: 04 51/89 07-0

SEIT ÜBER 25 JAHREN VERTRAGSPARTNER DER
MEDIZINISCHEN UNIVERSITÄT ZU LÜBECK

FOCUS MUL

Zeitschrift für Wissenschaft, Forschung und Lehre an der Medizinischen Universität zu Lübeck

Herausgeber: Das Rektorat der Medizinischen Universität zu Lübeck

Schriftleitung: H.-P. Bruch, H. L. Fehm, D. Kömpf

Gast-Editor: K. Diedrich

Wissenschaftlicher Beirat: T. Aach, H. Arnold, R. Birngruber, H. Dilling, H. v. Domarus, P. Dominiak, W. Dosch, D. v. Engelhardt, A. Ch. Feller, A. Fenner, B. Fischer, H.-D. Flad, W. Gross, H. Halsband, M. Herzeg, D. Hogrefe, D. Jocham, H. A. Katus, R. Kessel, H. Kirchner, U. Knölker, E. Konecny, K. Kruse, W. Kühnel, H. Laqua, V. Linnemann, E. Maehle, P. Müller, D. O. Nutzinger, M. Ochmichen, Th. Peters, S. Pöpl, H.-H. Raspe, K. R. Reischuk, E. Richter, E.-Th. Rietschel, G. Schäfer, M. Schlaak, F. Schmielau, P. Schmucker, E. Schwinger, H. H. Sievers, W. Solbach, W. Traut, A.X. Trautwein, H. Weerda, H. D. Weiss, H. H. Wolff (alle Medizinische Universität zu Lübeck)

Redaktion: Ch. Weiss, R. Labahn, Telefon (04 51) 5 00 30 04

Anschrift: Medizinische Universität zu Lübeck, Ratzeburger Allee 160, D-23562 Lübeck

Auflage: 5000 Exemplare

Verlag: Hansisches Verlagskontor Heinz Scheffler, Mengstraße 16, D-23552 Lübeck, Telefon (04 51) 70 31-01

Anzeigen: Hansisches Verlagskontor H. Scheffler, Christiane Kermel

Druck: Verlag Schmidt-Römhild KG, Mengstraße 16, 23552 Lübeck, Telefon (04 51) 70 31-01

Erscheinen: FOCUS MUL erscheint vierteljährlich

Redaktionsschluß: 6 Wochen vorher

Bezugspreis: Einzelheft DM 18,-, Jahresabonnement DM 70,- zuzügl. Versandkosten. In den Mitgliedsbeiträgen der Gesellschaft der Freunde und Förderer der Medizinischen Universität zu Lübeck enthalten

ISSN 0940-9998

Aus der Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe (Direktor Prof. Dr. K. Diedrich) der Medizinischen Universität zu Lübeck:

Aktuelle Aspekte der assistierten Reproduktion

K. Diedrich, R. Felberbaum, M. Ludwig, O. Bauer

Einleitung

Ungewünschte Kinderlosigkeit bedeutet für das betroffene Paar eine schwere Belastung in vielfältiger Hinsicht. Auch heute noch stellt die Fähigkeit, zu empfangen und zu gebären für viele Frauen die Essenz ihrer Weiblichkeit dar, ebenso wie für viele Männer die Fähigkeit, ein Kind zu zeugen, von entscheidender Bedeutung ist. Die ausbleibende Erfüllung eines bestehenden Kinderwunsches hat dabei Folgen, die weit über die Tatsachen der alleinigen Kinderlosigkeit hinausgehen. Das Bild der Betroffenen von sich selbst als vollwertige Menschen, ihre Lebensplanung und ihre Perspektiven werden in Frage gestellt. Je nach soziokulturellem Umfeld, kann die ungewollte Kinderlosigkeit auch schwere soziale Folgen nach sich ziehen.

Mit der Geburt von Luise Brown im Jahre 1978 begann eine neue Ära in der Reproduktionsmedizin. In der exemplarischen Zusammenarbeit zwischen dem Reproduktionsbiologen Robert Edwards und dem Gynäkologen und Endoskopiker Patrick Steptoe war es gelungen, dort menschliches Leben zu initiieren, wo es *per vias naturales*, nämlich bei einer Frau, die aufgrund vorhergegangener Operationen ihre beiden Eileiter verloren hatte, nicht möglich war. Anfangs heftig angefeindet und von zahlreichen sozialen Gruppen abgelehnt, hat sich die In-vitro-Fertilisation mittlerweile fest im Kanon der Therapiemöglichkeiten bei bestehender Ehesterilität etabliert. Allerdings war dies nur aufgrund eines Continuums fortlaufender Verbesserungen der Therapiemodalitäten möglich.

Die kontrollierte ovarielle Hyperstimulation (COH)

Wurde anfangs nur der im natürlichen, nicht beeinflussten Spontanzklus gewonnene Eizelle die Fähigkeit zugesprochen, sich *in vitro* fertilisieren zu lassen, zeigte sich bald, daß es möglich war, durch die exogene Gabe von aus dem Urin postmenopausaler Frauen gewonnener Gonadotropine mehrere Follikel aus der Follikelkohorte bis zur follikulären Reife heranzuziehen und sie so ihrem physiologischen Schicksal, nämlich

der Atresie, zu entreißen. Somit standen mehrere reife Eizellen in der Metaphase II zur Fertilisierung zur Verfügung. Dies bedeutete gleichzeitig eine höhere Zahl von befruchteten Eizellen, respektive Embryonen, die dann für die Rücksetzung in die Gebärmutter der betroffenen Frau zur Verfügung standen. Wurden diese Eizellen anfangs in erster Linie laparoskopisch in Vollnarkose der Patientin durch Aspiration gewonnen, so werden mittlerweile in Deutschland über 90 % der Follikelpunktionen transvaginal unter sonographischer Kontrolle durchgeführt. Dieser Eingriff kann ambulant und ohne die Notwendigkeit einer Narkose durchgeführt werden. Die Komplikationsrate dieses wohl standardisiertesten Eingriffes innerhalb der assistierten Reproduktion liegt dabei bei ca. 0,4 %, was die hohe Sicherheit dieser Therapiemodalität widerspiegelt [2]. Standen bisher nur Gonadotropin-Präparationen aus dem Urin postmenopausaler Frauen zur Verfügung, die follikelstimulierendes Hormon (FSH) und luteinisierendes Hormon (LH) zu gleichen Teilen beinhalten und durch einen hohen Anteil urinärer Begleitproteine, die nicht zur stimulierenden Aktivität beitragen, verunreinigt waren, so stehen heutzutage hochgereinigte FSH-Präparationen und als neueste Entwicklung gentechnisch hergestellte, sogenannte rekombinante Gonadotropine zur Verfügung. Diese haben ihre therapeutische Gleichwertigkeit bewiesen [3].

Der vorzeitige LH-Anstieg

Einer der Hauptgründe für eine relativ niedrige Effizienz der kontrollierten ovariellen Hyperstimulation nur mit Gonadotropinen, war das Auftreten der sogenannten vorzeitigen Luteinisierung. Dies bedeutet, daß aufgrund der rasch und steil ansteigenden Östradiolkonzentration im Serum im Sinne eines positiven *feed-back*-Mechanismus, die normalerweise die Ovulation auslösende, plötzliche Ausschüttung von luteinisierendem Hormon zu einem zu frühen Zeitpunkt, an dem die Follikel noch relativ klein und die darin befindlichen Oozyten unreif sind, auftritt. Dieses Ereignis, mit seinen negativen Auswirkungen auf die Qualität der zu gewinnenden Eizellen, auf die Qualität der Embryonen

und damit auf die Schwangerschaftsrate insgesamt, lag ursprünglich bei ca. 15-20 % pro Therapiezyklus. Erst die Einbindung der sogenannten GnRH-Superagonisten konnte die Inzidenz der vorzeitigen Luteinisierung auf unter 2 % senken [4].

GnRH-Analoga

Das vom mediobasalen Hypothalamus pulsatil sezernierte *Gonadotropine releasing hormone* spielt die zentrale Rolle in der Steuerung des ovariellen Zyklus der erwachsenen Frau. Durch Modifikation der molekularen Struktur dieses Dekapeptids ist es gelungen, sowohl agonistisch als auch antagonistisch wirkende Analoga zu synthetisieren. Während die Agonisten zunächst einen stimulierenden Effekt an der Adenohypophyse ausüben („flare up“), um dann über eine Verminderung der zellmembranständigen Rezeptoren („down regulation“) zur Desensitivierung der gonadotropen Zellen zu führen, bewirken die Antagonisten über eine klassisch kompetitive Hemmung am GnRH-Rezeptor eine sofortige Entkoppelung der hypothalamo-hypophysär ovariellen Achse. In der Diskussion um das sogenannte lange Protokoll, das die völlige hypophysäre Desensitivierung vor Beginn der Gonadotropin-Stimulation zum Ziel hat und um die den flare-up-Effekt auszunutzenden Short- und Ultrashortprotokolle, hat sich allgemein das lange Protokoll als das effektivste durchgesetzt (Abb. 1). Das lange Protokoll, unter Verwendung entweder eines GnRH-Agonisten in Depotform oder aber unter Verwendung einer täglichen GnRH-Agonisten-Medikation muß zur Zeit als *golden standard* der kontrollierten ovariellen Hyperstimulation betrachtet werden. In Deutschland wurden im letzten Jahr bei über 35.000 Stimulationszyklen über 70 %, entsprechend diesem Stimulationsprotokoll durchgeführt [2].

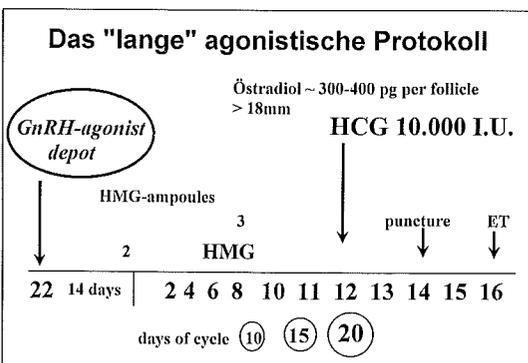


Abbildung 1: Kontrollierte ovarielle Hyperstimulation mit Gonadotropinen und agonistischen GnRH Analoga: das lange Protokoll

IVF

Die Therapieergebnisse der In-vitro-Fertilisation (IVF) bei gegebener tubarer Sterilität sind beachtlich. So beträgt, entsprechend den Angaben des Deutschen IVF-Registers (D I R.), die Schwangerschaftsrate pro durchgeführter Punktion bei Patientinnen, bis zum 39. Lebensjahr zwischen 20 und 23 %. Erst oberhalb des 39. Lebensjahres macht sich das biologische Alter mit Schwangerschaftsraten von nur ca. 13 % bemerkbar.

Männliche Infertilität

Betrachtet man die Ursachen einer bestehenden Ehesterilität, so zeigt sich, daß weibliche und männlich bedingte Ursachen zu fast gleichen Teilen ursächlich vorliegen. Es erscheint verständlich, daß eine Technik wie die IVF, die es erlaubte, den Fertilisationsvorgang unter kontrollierten Bedingungen *in vitro* zu initiieren, auch dort eingesetzt wurde, wo eine Einschränkung des Ejakulates vorlag. Machte die andrologische Ursache einer bestehenden Ehesterilität in den Jahren 1981-84 nur 3 % der Indikationen zur IVF aus, so stieg dieser Anteil bis zum Anfang der neunziger Jahre auf fast 30 % an (Tab. 1). Allerdings zeigte sich bald, daß auch für

Ursache	1981-1984	1985-1987	1988-1991
tubar	92 %	75 %	67 %
männlich	3 %	18 %	29 %
idiopathisch	5 %	7 %	4 %

n = 4169

Tabelle 1: Indikationsstellung zur IVF (1981-1991) an der Universitätsfrauenklinik Bonn (nach Diedrich)

Konzentration/ml	5-10 Millionen
Motilität	15 %
Progression (schnelle progressive Beweglichkeit)	50 %
normale Morphologie	10%

Tabelle 2: Minimalanforderungen an das Nativspermiogramm für die IVF

die In-vitro-Fertilisation einige Minimalanforderungen an das Nativspermiogramm gestellt werden mußten, damit die IVF eine erfolgversprechende Therapiemaßnahme blieb (Tab. 2). Bei einer Spermienkonzentration von unter 5.000.000/ml, einer Motilität von weniger als 15 % und einer normalen Morphologie von unter 10 %, sanken die Schwangerschaftsraten auf unter 5 %.

ICSI

Seit 1992 etablierte sich die intracytoplasmatische Spermatozoninjektion (ICSI) als Behandlungsmethode der Wahl bei schwerer männlicher Subfertilität. Die

rein mechanische Überwindung einer Zellmembran und die Einbringung eines einzelnen Spermatozoons über eine Mikrokapillare in das Zytoplasma der Eizelle revolutionierte die Behandlung der männlichen Sterilität. Die ICSI garantiert hohe Fertilisierungs- und Schwangerschaftsraten, auch bei ausgeprägter Thertozoospermie. In Kombination mit der Spermatozoongewinnung durch Nebenhodenpunktion (mikrochirurgische epididymale Spermienaspiration = MESA) oder Hodenbiopsie (testikuläre Spermienextraktion = TESE), gelingen Fertilisierungen durch ICSI auch in Fällen von Azoospermie. Im Jahr 1995 wurden weltweit 47.654 Follikelpunktionen zur intrazytoplasmatischen Spermieninjektion registriert [5]. Diese führten zu einer Schwangerschaftsrate von 24 % pro durchgeführtem Embryotransfer, 7.595 Geburten wurden erzielt. Diese Ergebnisse kann man nur entsprechend würdigen, wenn man zur Kenntnis nimmt, daß bislang die schwere männliche Subfertilität im Rahmen der Sterilitätsbehandlung als nicht therapierbar galt.

Schwangerschaftsverlauf und Geburt nach assistierter Reproduktion

Weltweit sind von 1978 bis 1995 über 170.000 Kinder geboren worden, in Deutschland zwischen 1982 und 1995 über 15.000. Die Fehlbildungsrate dieser Kinder, und dies gilt auch für die Kinder nach intrazytoplasmatischer Spermieninjektion, liegt dabei nicht höher als im Normalkollektiv. Allerdings scheint es im Falle der chromosomalen Aberrationen nach ICSI eine etwas höhere Inzidenz von 1,2 % gegenüber nur 0,6 % in der Normalpopulation zu geben. Daher gilt die dringende Empfehlung, nach erzielter Schwangerschaft durch intrazytoplasmatische Spermieninjektion die Techniken der pränatalen Diagnostik anzuwenden.

Eines der zentralen Probleme der assistierten Reproduktion stellt die hohe Inzidenz von Mehrlingsschwangerschaften dar. Beträgt diese im Normalkollektiv ca. 1,19 %, so liegt die Mehrlingsschwangerschaftsrate nach IVF oder IVF-ICSI bei ca. 27 %. Dabei ist die Inzidenz von Schwangerschaftspathologie nach IVF direkt mit der Rate der Mehrlingsschwangerschaften korreliert. Liegt die Inzidenz vorzeitiger Wehen bei einer Einlingsschwangerschaft nach IVF bei ca. 11 %, so steigt diese bei Zwillingen auf ca. 38 % und bei Drillingen auf über 46 % an. Ebenso müssen ca. 42 % aller Drillingschwangeren nach IVF hospitalisiert werden, während dies bei einer Einlingsschwangerschaft nur in ca. 11 % der Fall ist. Dabei ist die Inzidenz der Mehrlingsschwangerschaften direkt korreliert mit der Zahl der zurückgesetzten Embryonen. Liegt die Inzidenz der Zwillingsschwangerschaften nach Rücksetzung von nur zwei Embryonen bei nur 12,6 %, so steigt diese nach Rücksetzung von drei Embryonen auf ca. 24 % an. Drillinge treten bei Rücksetzung von drei Embryo-

nen in 4,1 %, nach Rücksetzung von vier Embryonen aber in fast 6 % der Fälle auf [6] (Tab. 3). Der deutsche Gesetzgeber hat diese Ergebnisse zur Kenntnis genom-

	Einlinge (%)	Zwillinge (%)	Drillinge (%)
EPH-Gestose	6.7	11.5	17.1
vorzeitige Wehentätigkeit	10.7	37.8	46.1
Wachstumsretardierung	3.9	7.4	10.5
Hospitalisierung	11.2	28.1	42.1

Tabelle 3: Schwangerschaftspathologie nach IVF (1991 ART World Report, Kyoto 1993)

men und vernünftigerweise die Zahl der maximal zurückzusetzenden Embryonen auf drei beschränkt [7].

Präimplantations-Diagnostik

Schwere, genetisch determinierte Erkrankungen, die je nach Vererbungsmodus mit unterschiedlicher Wahrscheinlichkeit an die Kinder weitergegeben werden, haben von jeher die betroffenen Elternpaare schwer belastet. Durch die Präimplantationsdiagnostik bietet sich in jüngster Zeit eine Möglichkeit, bei Hochrisikopaaren bereits vor Etablierung einer Schwangerschaft betroffene Embryonen von eben dieser Schwangerschaft auszuschließen und den ansonsten eventuell anstehenden belastenden Schwangerschaftsabbruch zu vermeiden. Eine Blastomerenbiopsie im Achtzellstadium hat offensichtlich keine negativen Auswirkungen auf die weitere Entwicklung und bietet die Möglichkeit, zwei Blastomeren untersuchen zu können. Zur molekulargenetischen Diagnostik stehen heute mit der Polymerasekettenreaktion und der Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung zwei verlässliche Techniken zur Verfügung. Weltweit sind bisher nach Anwendung dieser Technik über 100 Kinder geboren worden, bei gleichbleibender Schwangerschaftsrate von ca. 25 % pro durchgeführtem Transfer.

Es bleibt festzustellen, daß ein neues Kollektiv ungewollt kinderloser Paare existiert, die zwar auf natürlichem Wege Eltern werden könnten, aber das Risiko nicht tragen wollen, ein Kind mit einer schwerwiegenden genetischen Erkrankung zu haben. Allerdings bleibt zu betonen, daß die Präimplantationsdiagnostik in Deutschland zum jetzigen Zeitpunkt vor dem rechtlichen Hintergrund des Embryonenschutzgesetzes hinsichtlich ihrer Durchführbarkeit nicht eindeutig geklärt ist. Daher wird sie bislang nicht durchgeführt. Unter anderem liegt das Problem in der möglichen Totipotenz der Blastomeren früher Embryonen, die im Sinne des Embryonenschutzgesetzes als einzelne Embryonen zu betrachten sind. Embryonen verbrauchende

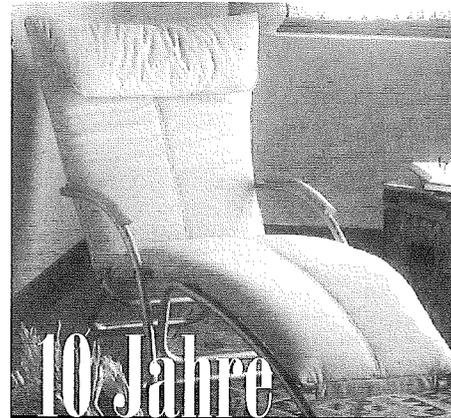
Forschung und Untersuchung verbietet jedoch das Embryonenschutzgesetz. Allerdings liegen zahlreiche Ergebnisse reproduktionsbiologischer Untersuchungen vor, die darauf hindeuten, daß bereits im Vierzellstadium, ganz sicher schließlich im Achtzellstadium die Blastomeren nicht mehr totipotent sein können, sondern bereits so weit differenziert sind, daß sie ihre Totipotenz verloren haben [8]. Insofern bestünde kein Widerspruch zum Embryonenschutzgesetz.

Epilog

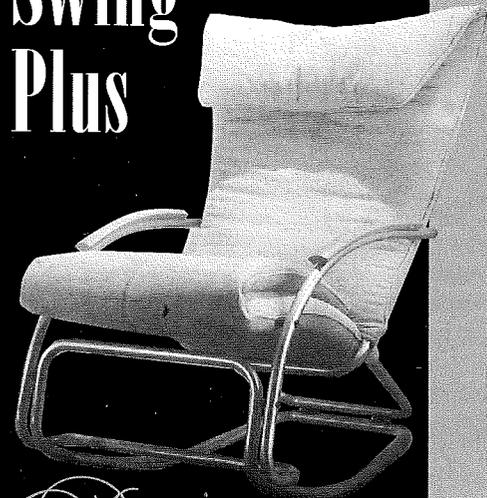
Die Reproduktions-Medizin fokussiert auf die biologischen Grundlagen unserer menschlichen Existenz. Sie führt uns zwangsläufig in Grenzgebiete der Ethik und der Legislation. Sie stellt dabei Fragen, die im Gesellschaftsvertrag häufig nicht beantwortet werden. Dazu kontrastiert sehr stark unser einfaches ärztliches Bemühen, dem betroffenen Paar seinen Wunsch nach einem eigenen gesunden Kind zu erfüllen. In diesem Spannungsfeld bewegen wir uns.

Literatur

1. Steptoe, P. C. and R. G. Edwards (1978). „Birth after the reimplantation of a human embryo [letter].“ *Lancet* 2(8085): 366.
2. D.I.R. (1998) Deutsches IVF Register 1997
3. Devroey, P., B. Mannaerts, et al. (1994). „Clinical outcome of a pilot efficacy study on recombinant human follicle-stimulating hormone (Org 32489) combined with various gonadotrophin-releasing hormone agonist regimens.“ *Hum Reprod* 9: 1064-1069.
4. Wildt, L., K. Diedrich, et al. (1986). „Ovarian hyperstimulation for in-vitro fertilization controlled by GnRH agonist administered in combination with human menopausal gonadotrophin.“ *Hum Reprod* 1: 15.
5. ART World Report 1995. *J Assist Reprod Genet* (Abstracts des IVF World Congress, Vancouver, 1997)
6. Amtliches IVF – Register (1989)
7. Keller, R., H.-L. Günther, et al. (1992). *Embryonenschutzgesetz – Kommentar zum Embryonenschutzgesetz*. Stuttgart, Berlin, Köln, Verlag W. Kohlhammer.
8. Beier, H. M. (1998). „Entwicklung und Differenzierung des Embryos. Von der Fertilisation bis zur Implantation.“ *Gynäkologie* 31: 307-315.



Swing Plus



Der multifunktionale Schaukelsessel von Jochen Hoffmann feiert 10jährigen Geburtstag. Aus diesem Anlaß gibt es jetzt eine limitierte Auflage mit schwarzem Leder und chromsatiertem Gestell – in Lübeck exklusiv nur bei uns.

MOBE REESE

DAS LÜBECKER EINRICHTUNGSHAUS
Töpferweg 20-22 • Lübeck • Tel.: 0451/ 830 44

Andrologischer Arbeitskreis aus den Kliniken für ¹Frauenheilkunde und Geburtshilfe (Direktor Prof. Dr. K. Diedrich) und für ²Urologie (Direktor Prof. Dr. D. Jocham) sowie dem ³Institut für Pathologie (Direktor Prof. Dr. A. Ch. Feller) der Medizinischen Universität zu Lübeck und dem ⁴Department of Urology, Cornell Medical Center, New York

Kryo TESE – Ein neues Konzept zur Behandlung der nicht obstruktiven Azoospermie

W. Küpker¹, M. Bals-Pratsch¹, P. N. Schlegel⁴, S. Al-Hasani¹, P. Fornara², R. Johannisson³, J. Sandmann², T. Schill¹, M. Ludwig¹, K. Diedrich¹

Einleitung

Bis vor kurzem galt die nicht-obstruktive Azoospermie als nicht behandelbar. Die erfolgreiche Einführung der intrazytoplasmatischen Spermatozoeninjektion (ICSI) und die Beobachtung, daß einzelne bewegliche Spermatozoen auch bei Patienten mit schwersten Spermatogenesestörungen durch eine Hodenbiopsie gewonnen werden können, ermutigte, daß auch in Fällen nicht-obstruktiver Azoospermie Befruchtungen und Schwangerschaften möglich sein könnten. Die vorliegende Studie beschreibt die Vorteile der Anwendung kryokonservierten Hodengewebes für die intrazytoplasmatische Injektion im Rahmen einer ICSI-Behandlung.

Methoden

Bei 103 Männern mit nicht-obstruktiver Azoospermie wurde eine TESE-Behandlung durchgeführt (Testicular sperm extraction). Nach direktem Nachweis von Spermatozoen wurde das testikuläre Gewebe in verschiedenen Fraktionen kryokonserviert. Nach histologischer Aufarbeitung und Beurteilung der Spermatogenese erfolgte dann separat die kontrollierte ovarielle Stimulation und Oozytengewinnung durch Follikelpunktion bei der Partnerin. Zeitgleich wurde das kryokonservierte Hodengewebe aufgetaut und Spermatozoen für die intrazytoplasmatische Injektion isoliert.

Ergebnisse

In 61 % aller Patienten, bei denen eine Hodenbiopsie durchgeführt wurde, konnten freie vitale Spermatozoen in den Tubuli seminiferi nachgewiesen werden. Die histopathologische Untersuchung erbrachte in 21 % ein Sertoli cell only-Muster, in 60 % einen Reifungsarrest und in 19 % der Fälle eine Hypospermatogenese. In 4,9 % der biopsierten Patienten wurde ein Carcinoma in situ oder ein Keimzelltumor nachgewiesen. Es wurden

63 Behandlungszyklen zur intrazytoplasmatischen Spermatozoeninjektion durchgeführt mit einer Befruchtungsrate von 52 % sowie einer klinischen Schwangerschaftsrate von 35 % pro Zyklus.

Zusammenfassung

Die beidseitige Hodenfreilegung und Biopsie in Fällen nicht-obstruktiver Azoospermie garantiert den Nachweis klinisch nicht erwarteter Keimzell-tumoren und gibt einen repräsentativen Überblick über den Status der Spermatogenese. Die Anwendung kryokonservierter Hodenbiopsate mit Nachweis freier vitaler Spermatozoen erlaubt die geplante ovarielle Stimulation mit anschließender Follikelpunktion bei der Partnerin und vermeidet den vorzeitigen Abbruch eines begonnenen Behandlungszyklusses in den Fällen, in denen Spermatozoen im Hodenbiopsat nicht nachweisbar sind.

1. Einleitung

Die intrazytoplasmatische Spermatozoeninjektion hat sich seit ihrer Erstbeschreibung 1992 als effektive Behandlungsmethode der Wahl bei schwerer männlicher Subfertilität etabliert. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, daß mit der Aspiration epididymaler Spermatozoen (MESA = microsurgical epididymal sperm aspiration) und der direkten Hodenbiopsie (TESE = testicular sperm extraction) in Kombination mit der intrazytoplasmatischen Spermatozoeninjektion Fertilisierungen und Schwangerschaften erzielt werden konnten auch in Fällen obstruktiver und nicht-obstruktiver Azoospermie, wie beispielsweise bei der CBAVD (congenital absence of the vas deferens), beim kompletten Fehlen des Nebenhodens oder auch in Fällen schwerster Spermatogenesestörungen. Jüngste Studien (1, 2) weisen darauf hin, daß auch in Fällen des Fehlens reifer Spermatozoen im testikulären Gewebe unreife Zellen der Spermatogenesevorstufen, wie beispiels-

weise runde oder elongierte Spermatiden, erfolgreich in einer Eizelle injiziert werden können und es zu Fertilisierungen kommt.

Männer mit nicht-obstruktiver Azoospermie zeigen den klinischen Aspekt kleiner Hoden und im Serum deutlich erhöhte FSH-Werte. Testisbiopsate in diesen Fällen ergeben histologischerseits das Bild einer Hypospermatogenese, eines Reifungsarrestes oder eines Sertoli cell only-Musters. In Fällen eines inkompletten Sertoli cell only-Syndromes lassen sich fokale Areale mit Zeichen einer Spermatogenese im Testisbiopsat nachweisen, so daß nach Entnahme mehrfacher Biopsien auch hier eine TESE-Behandlung möglich wird. Die Verwendung kryokonservierter Spermatozoen wurde bereits erfolgreich in Inseminationszyklen oder im Rahmen eines konventionellen In-vitro-Fertilisations-(IVF-)Programms mit ejakulierten Spermatozoen durchgeführt. Ebenfalls wurden epididymale Gameten nach Kryokonservierung für die intrazytoplasmatische Injektion mit erfolgreicher Fertilisation verwendet (3). Bisher gibt es jedoch nur einige Fallberichte über die Verwendung kryokonservierter testikulärer Spermatozoen, die durch eine TESE gewonnen und zur ICSI verwendet wurden. Die vorliegende Studie berichtet über 63 erfolgreiche ICSI-Zyklen nach Isolation freier Spermatozoen aus kryokonserviertem Hodengewebe.

2. Methoden

2.1 Patientengut

Nach klinisch-andrologischer Untersuchung wurden Männer mit Verdacht auf nicht obstruktive Azoospermie einer urologisch-chirurgischen Intervention zugeführt. Bei 103 Männern wurde eine Testis-Biopsie durchgeführt. Die beidseitige Biopsie wird in der sog. offenen Technik (Abb. 1) in Vollnarkose durchgeführt. Der Eingriff beginnt mit der skrotalen Inzision der medianen Raphe. Es wird die Anatomie des kompletten Hodens und des Nebenhodens dargestellt unter Ver-

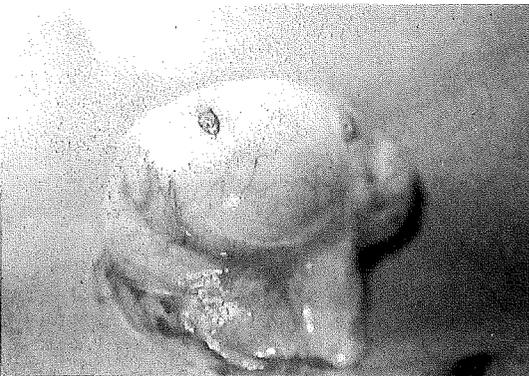
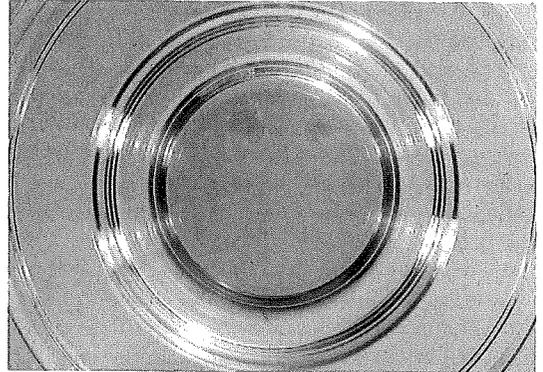


Abb.1: Offene Hodenbiopsie (Kranialer und kaudaler Pol)

wendung eines Operationsmikroskopes in 8bis 15facher Vergrößerung. Nach Inzision der Tunica albuginea wird zur Biopsie eine Region geringster Vas-kularisierung gewählt, um die vaskuläre Feinarchitektur des Hodenparenchyms nicht zu traumatisieren. Die Biopsie erfolgt an mehreren Stellen. Routinemäßig wird jedoch die Biopsie kranial und kaudal durch zwei Biopsien von jedem Hoden durchgeführt. Das extrahierte Biopsat wird sofort in 5 mm Falcon-Röhrchen (Falcon 2003) mit 1 ml Ham's F-10 Medium verbracht. Dann werden die Biopsate (Abb. 2) direkt in das Labor



2. Extrahiertes Hodengewebe vor dem Einfrieren

transportiert und in Petri-Schalen (Falcon 3037) in Ham's F-10 Medium bearbeitet. Unter Zuhilfenahme einer sterilen Schere werden die Biopsate fraktioniert und das individuelle Tubulussystem isoliert. Dann erfolgt die Kontrolle unter dem Mikroskop zum Nachweis freier beweglicher Spermatozoen. Hier kommt ein Phasenkontrast-Mikroskop (Zeiss-Standard 20, Jena) mit 200- bis 400facher Vergrößerung zum Einsatz. Bei Nachweis von Spermatozoen werden sämtliche Biopsate dann für $\frac{1}{2}$ Stunde in Ham's F-10 Medium bei 37° inkubiert, bevor der Einfrierprozeß beginnt. Erst dann wird der Eingriff urologischerseits beendet und die Tunica albuginea mit 4/0 Vicryl-Nähten verschlossen. Um eine minimale Narbenbildung zu gewährleisten, wird vor Verschluß heparinisierte Kochsalzlösung unter die Tunica albuginea geträufelt. Die skrotale Inzision wird mit 3/0 Catgut-Nähten verschlossen.

2.2 Ovarielle Stimulation

Die kontrollierte ovarielle Stimulation erfolgt im langen Protokoll. Nach hypophysärer Suppression durch Gabe eines GnRH-Agonisten (Decapeptyl-Gyn-Depot, Ferring, Kiel, und Zoladex-Gyn, Zeneca, Plankstadt) wird HMG injiziert (Menogon, Ferring, Kiel, Pergonal, Serono, München, Humegon, Organon, München) (4). Die Ovulationsinduktion erfolgt durch Gabe von

10.000 IE HCG bei sonographisch nachweisbarem Leitfollikel von 20 mm Durchmesser und adäquat angestiegenem Serum-Östradiolspiegel. Die Follikelpunktion wird 36 Stunden nach Gabe des HCG ultrashallgesteuert auf vaginalem Wege durchgeführt.

2.3 Einfrierprozeß

Nach Identifikation freier und vitaler Spermatozoen in der Direktpräparation erfolgt die Kryokonservierung des Hodengewebes in bis zu 10 Fraktionen zur weiteren Verwendung in kontrollierten therapeutischen Stimulationszyklen. Ein Teil des kryokonservierten Gewebes wird direkt zur histopathologischen Begutachtung versandt.

Der Einfrierprozeß erfolgt in Anlehnung an die von Salzbrunn und Schulze (5) beschriebene Methode. Das testikuläre Gewebspräparat wird in 0,5 ml HEPES-gepufferten Medium (Sperm Freeze, Medicult, Hamburg), das aus Earles Lösung und 0,4%igen humanen Serumalbumin sowie 15%igem Glycerol als Gefrierschutz besteht, gelagert. Dann werden die Biopsate sofort in einem Planer Kryo 10 III Apparat (Messer Griesheim) in flüssigem Stickstoff eingefroren. Der Einfrierprozeß selbst erfolgt ebenfalls in flüssigem Stickstoffdampf innerhalb der ersten 5 Minuten bis -30°C und dann exponentiell bis -150° in einem Zeitablauf von 55 Min.

2.4 Auftauen

Nach, durch Follikelpunktion gewonnenen reifen Metaphase II Oozyten wird das testikuläre Gewebe aufgetaut und für die intrazytoplasmatische Injektion vorbereitet. Die Gewebspräparation erfolgte in 10 Fällen enzymatisch sowie in den verbleibenden 53 Fällen mechanisch.

2.4.1 Enzymatische Methode

Das gefrorene Gewebe wird in einen kleinen Glascontainer verbracht und zunächst in warmem Wasserbad auf 37°C aufgetaut. Dieser Vorgang dauert 3-5 Min. Dann werden die Präparate in 1 ml Sperm Prep (Medicult, Hamburg) für 2 Std. in 5%igem CO_2 Gas bei 37°C inkubiert. Der Auftauvorgang werden 0,8 mg Kollagenase, Type AI (Sigma, Heidelberg) und $0,2\ \mu\text{g}$ Trypsin inhibitor (Sigma, Heidelberg) beigefügt. Die Lösungen werden über einen $0,2\ \mu\text{m}$ -porigen Sartorius-Filter (Sartorius, Göttingen) gefiltert. Der enzymatisch gestützte Auftauprozeß wird über weitere 2 Stunden im Inkubator fortgeführt. Dann werden die Präparate aus der Inkubationslösung entfernt und das Gewebe erneut geschnitten. Größere Partikel werden entfernt und die verbleibenden Tubuli in Suspension bei 800 g für 10 Min. zentrifugiert. Das Sediment wird dann in einen Tropfen Medium verbracht und vitale freie Spermatozoen können aus dem Gewebsverband herausschwimmen.

Diese Spermatozoen werden dann in einem 5 μl Tropfen Ham's F-10 Medium gelagert. Nun erfolgt die Immobilisation der einzelnen Spermatozoen und die Aspiration in die Mikropipette in einem 5 μl Tropfen, der 10%iges PVP (Polyvinylpyrrolidone, Medicult, Hamburg) enthält. Dann wird die Oozyte injiziert.

2.4.2 Mechanische Methode

Die Gewebsproben werden bei 37°C für 3-5 Min. in einem Wasserbad aufgetaut. Dann erfolgt ein zweimaliger Waschvorgang in Ham's F 10 Medium und 15%igem humanem Nabelschnurserum. Dann wird das testikuläre Gewebe in eine Petri-Schale mit Ham's F-10 Medium verbracht und mit sterilen Scheren und einem Skalpell vorsichtig zerkleinert, so daß die einzelnen Tubuli seminiferi frei werden. Dann erfolgt über einen Zeitraum von 3-5 Stunden ein weiterer Inkubationsvorgang. Danach wird der Überstand in 2 ml Eppendorf-Röhrchen bei 500 g für 1 Min. zentrifugiert. Das Pellet wird resuspendiert in 3 μl Ham's F 10. Die zur intrazytoplasmatischen Injektion bereitstehenden Gameten werden dann direkt vor Injektion in einem Mikrotropfen, der 10% iges PVP enthält, gelagert.

2.5 Präparation der Oozyten

Die Oozyten werden für 10 Sekunden mit 0,5%iger Hyaluronidase (Sigma, Heidelberg) behandelt, um die Zellen des Cumulus oophorus enzymatisch zu entfernen. Unter 50facher Vergrößerung durch ein Stereomikroskop wird dann die Corona radiata mechanisch unter Zuhilfenahme einer $200\ \mu\text{m}$ durchmessenden Pasteur-Pipette entfernt. Es erfolgt dann die Prüfung des Reifegrades der Oozyten. Für die Injektion werden ausschließlich reife Eizellen der Metaphase II verwendet.

2.6 Die intrazytoplasmatische Injektion (Abb.3)

Unter 200facher Vergrößerung wird die Injektionspipette zunächst mit einem minimalen Volumen PVP ge-

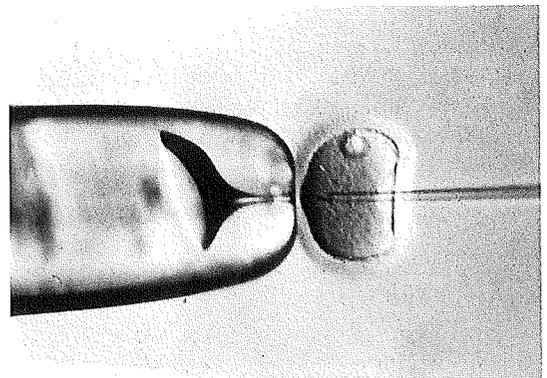


Abb. 3. Intrazytoplasmatische Spermatozoeninjektion

füllt und dann aus dem die Gameten enthaltenden Mikrotropfen ein freies, bewegliches Spermatozoon von der Kopfseite her aufgenommen und zunächst in einem weiteren Mikrotropfen, der Ham's F 10-Medium enthält, gespült und von umgebenden Zellbestandteilen gereinigt. Dann wird dieses Spermatozoon in den PVP-Tropfen verbracht und immobilisiert, indem man die Spitze der Injektionspipette auf das Mittelstück bringt. Dann wird das Spermatozoon möglichst flach vom Ende der Geißel her in die Injektionspipette aufgenommen, wobei zu beachten ist, daß die Geißel in der Pipette keine Schlinge bildet. Dann wird die Injektionspipette zu dem Mikrotropfen bewegt, in der sich die erste Eizelle befindet. Bei 100facher Vergrößerung wird die Oozyte mit der Injektionspipette gedreht bis der Polarkörper entweder oben (12 Uhr) oder unten (6 Uhr) zu liegen kommt, um den Spindelapparat vor Traumatisierung zu schützen. In dieser Position wird die Oozyte mit der Haltepipette angesogen und festgehalten. Dann werden die Pipetten und die Oozyte bei 200facher Vergrößerung scharf fokussiert, die Samenzelle in der Injektionspipette an deren Spitze gebracht und bei 3 Uhr in die Oozyte in das Cytoplasma eingestochen, um die Oolemm-Membran leicht und atraumatisch zu brechen. Erst dann wird die Samenzelle injiziert. Um kein oder nur minimales Volumen von Medium und PVP-Lösung in das Cytoplasma einzubringen wird die Injektionspipette, nachdem der Kopf der Samenzelle die Pipettenspitze verlassen hat, zurückgezogen und nicht mehr weiter injiziert. Nach Injektion aller Oozyten werden diese im Brutschrank inkubiert und dann nach 16-18 Stunden auf das Vorhandensein von 2 oder mehr

Zyklen	63	
Alter	24-38	
Oozyten	778	
Injizierte Oozyten	665	
Intakte Oozyten (%)	506	(76)
Fertilisierte Oozyten (%)	346	(52)
Embryotransfers (%)	63	(100)
Schwangerschaften (Rate/Zyklus %)	22	(35)

Tab. 1: Ergebnisse der Kryo-TESE (Medizinische Universität Lübeck 1995-1997)

Vorkernen untersucht. Falls mehr als 3 Oozyten Zeichen der Imprägnierung zeigen, werden diese überzähligen Oozyten im Pronokleusstadium kryokonserviert. Nach weiteren 24 Stunden erfolgt der Transfer in den Uterus. Hier werden, entsprechend den Vorschriften des Deutschen Embryonenschutzgesetzes (1991) maximal 3 Embryonen transferiert.

Patienten (n)	22
Aborte	2*
Fortlaufende Schwangerschaften	12
Einlinge (geboren)	6*
Zwillinge (geboren)	2*

* keine Fehlbildungen, keine chromosomalen Anomalien

Tab. 2: Schwangerschaften nach Kryo-TESE

2.7 Histopathologie

Jeweils ein Fragment von jeder Lokalisation der Testisbiopsien gelangt zur histopathologischen Untersuchung. Das Gewebe wird in 5,5%igem Glutaraldehyd für 2 Stunden fixiert und für weitere 2 Stunden in Osmiumtetroxid (OsO₄) nachfixiert. Es folgen dann die Dehydratation durch Anwendung von Ethanol und Propylenoxid, bevor das Gewebe in einem Epoxidharz (Epon 812) eingebettet wird. Dann werden Semi-Dünnschnitte angefertigt, die mit Toluidine Blau und Pyronin gefärbt werden.

3. Ergebnisse

Insgesamt wurden 103 Männer mit nicht obstruktiver Azoospermie behandelt. Bei allen Patienten fanden sich keine Auffälligkeiten bei der Karyotypisierung, noch wurden Azoospermie-assoziierte Mikrodeletionen auf dem Y-Chromosom nachgewiesen. In 61 % (63/103) konnten in der Direktpräparation nach Hodenbiopsie motile Spermatozoen im Gewebe aufgefunden werden. Dies bestätigte sich durch die endgültige Histologie. In den verbleibenden 40 Fällen konnten keine motilen Spermatozoen gesehen werden. Dies wurde ebenso durch den histologischen Befund bestätigt. In diesen Fällen fanden sich Spermatogenesestadien unterschiedlichen Stadiums. Histologischerseits wurde in 21 % ein Sertoli cell only Muster gefunden, in 60 % ein Reifungsarrest und in 19 % ein Hypospermatogenese. In 5 der 103 Fälle (4,9 %) zeigte sich ein Carcinoma in situ, in 3 Fällen ein Seminom sowie ein Fall eines Leydig-Zell-Tumors.

Lediglich in einem Fall kam es zu einer postoperativen Komplikation, zu einem akuten Skrotal-Hämatom. In den 63 Fällen, in denen vitale Spermatozoen nachgewiesen werden konnten, wurde ein ICSI-Zyklus durchgeführt. Die ovarielle Stimulation der Partnerin erfolgte in einem geplanten Stimulationszyklus. Nach Gewinnung der Eizellen wurde das testikuläre Gewebe aufgetaut. Nach einer Inkubationszeit von 5 Stunden wurden in allen Fällen vitale Spermatozoen aufgefunden. Insgesamt wurden 665 Metaphase II Oozyten injiziert. Die Fertilisationsrate betrug 52 % pro injizierter Oozyte (Tab. 1). Es wurden 63 Transfers durchgeführt

Autor	Zyklen	Frisch-TESE	Kryo-TESE	Fertilisationsrate	Schwangerschaftsrate pro Transfer
Schoysman 1994	6	+	-	45 %	33.3 %
Devroey 1994	3	+	-	29.4 %	Keine SS
Devroey 1995	15	+	-	47.8 %	25 %
Nagy 1995	17	+	-	48 %	46 % pos. hCG
Madgar 1996	12	+	-	28.7 %	25 %
Schlegel 1996	10	+	-	52 %	50 %
Kahraman 1996	16	+	-	50.8 %	39.2 %
Romero 1996	2	-	+	60 %	Keine SS
Gil-Salom 1996	17	-	+	59 %	33 %
Fischer 1996	1	-	+	37.5 %	1 X Zwillig
Perraguin-Jayot 1997	2	-	+	44.4 %	1 X Zwillinge 1 Einling
Lübeck	63	-	+	52 %	35 %

Tab. 3: Ergebnisse der TESE (Literaturübersicht)

mit dem Erfolg von 22 klinischen Schwangerschaften. 8 Frauen wurden von gesunden Kindern entbunden (2 x Zwillinge, 6 x Einlinge). 12 Schwangerschaften bestehen bis dato noch. Bei 2 Aborten wurde eine Karyotypisierung ohne Hinweis auf chromosomale Aberrationen durchgeführt (Tab. 2).

4. Diskussion

Schon 1913 wurde darüber spekuliert, daß möglicherweise Spermatozoen aus testikulären Biopsien gewonnen werden könnten zum Einsatz bei der extrakorporalen Befruchtung (8). Jow et al. (9) berichteten, daß bis zu 34 % in der Testisbiopsie von Männern mit nicht obstruktiver Azoospermie einzelne Spermatozoen nachweisbar waren. Es waren dann Schoysman et al. (10, 11) und Devroey et al. (12, 13) (Tab. 3) die erste Fertilisierungen und Schwangerschaften nach intrazytoplasmatischer Injektion von testikulären Spermatozoen berichteten. Sie berichteten über eine Erfolgsquote bis zu 70 % eines positiven Nachweises reifer Spermatozoen im testikulären Gewebe. Eine Reihe weiterer Autoren berichteten über die Kombinationsbehandlung

einer TESE mit der ICSI unter Verwendung frischer testikulärer Spermatozoen bei Männern mit Azoospermie (3,15,13,16,17) (Tab. 3). Die durchschnittliche Fertilisierungsrate (43-47%) schien geringfügig niedriger zu sein als nach Verwendung frisch ejakulierter Spermatozoen. Es wurde eine Schwangerschaftsrate von 20-50% pro Biopsie erreicht. In der Literatur existieren jedoch lediglich nur einige Fallberichte über die Verwendung kryokonservierter Spermatozoen bzw. kryokonservierten Hodengewebes (18, 19, 20, 21). Hier werden durchschnittliche Fertilisationsraten von

Zyklen	1493	
Fertilisierungsrate	72 %	
Embryotransfers	1452	(97 %)
Schwangerschaften (Rate/Zyklus)	406	(28 %)

Tab. 4: Ergebnisse der ICSI mit ejakulierten Spermatozoen (Medizinische Universität Lübeck 1994-1997)

52 % berichtet, die vergleichbar denen unter Verwendung frischer Testisbiopsien sind. In der vorliegenden Studie wurden 63 ICSI-Zyklen mit kryokonservierten testikulären Spermatozoen durchgeführt. Aus der Injektion von 665 Metaphase-II-Oozyten resultierte eine Fertilisationsrate von 52 %. Die klinische Schwangerschaftsrate lag bei 35 % und ist somit derjenigen nach Verwendung frisch ejakulierter Spermatozoen vergleichbar (28 %) (Tab. 4).

Der Vorteil kryokonservierter Testisbiopsien liegt darin, daß das Muster der Spermatogenese durch eine ausführliche histologische Begutachtung beurteilt werden kann, bevor ein Behandlungszyklus bzw. ovarieller Stimulationszyklus der Partnerin begonnen wird. Ferner ist aufgrund der Tatsache, daß mehrere, bis zu 10 Fraktionen des Gewebes kryokonserviert zur Verfügung stehen, ein zweiter operativer Eingriff beim Mann nicht notwendig, um dem Kinderwunschpaar eine Folge mehrerer Behandlungszyklen zu gewährleisten. Des weiteren kann in den Fällen, in denen definitiv keine Spermatozoen im testikulären Gewebe nachweisbar sind, auf die ovarielle Stimulation der Partnerin verzichtet werden. Darüber hinaus darf nicht vergessen werden, daß bei Mehrfachbiopsien die physiologische Integrität der Testes nicht unerheblich traumatisiert wird. Über die Folgen einer testikulären Spermatozoenextraktion berichten Schlegel et al. (22). An einer Untersuchungsreihe, die 64 Männer nach Durchführung einer TESE umfaßte, konnten sie intratestikuläre Hämatome oder Entzündungsreaktionen nach einem Zeitraum von 3 Monaten beobachten. Weiterhin zeigte sich, daß der intratestikuläre Blutfluß gestört war. Die Dopplersonographie zeigte teilweise sogar eine komplette Devaskularisierung, insbesondere in Fällen, in denen multiple Biopsien entnommen wurden. Es wurde eine zweite Hodenbiopsie innerhalb von 6 Monaten durchgeführt. Es gelang hierbei lediglich in 25 % ein positiver Spermatozoennachweis.

In der vorliegenden Studie wurden in den meisten Fällen lediglich 2 Biopsien am kranialen und kaudalen Pol des Hodens in einer möglichst wenig vaskularisierten Region durchgeführt. In der noch laufenden Untersuchung scheint sich zu bestätigen, daß trotz limitierter Gewebeentnahme diese repräsentativ für den Status der Spermatogenese und andererseits so atraumatisch wie möglich ist. Auch in den Fällen eines Sertoli cell only-Musters konnten kleine Areale intakter Spermatogenese dargestellt werden (Abb. 4).

Die bilaterale testikuläre Biopsie optimiert nicht nur die Möglichkeit des Spermatozoennachweises, sondern hält auch eine präzise Diagnostik vor. Immerhin ist, entsprechend der Literatur, mit einer Inzidenz von 2-3 % testikulärer Neoplasien im Kollektiv schwerer männlicher Subfertilität anzunehmen (23, 24). Auch kleinste Seminome wurden gelegentlich bei subfertilen

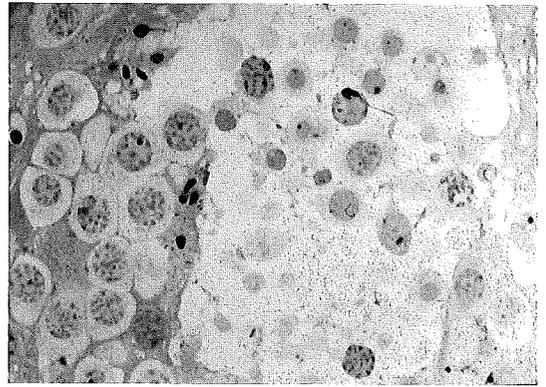


Abb. 4: Sertoli cell only-Muster mit fokaler Spermatogenese

Männern entdeckt (25). In der vorliegenden Studie ergab sich mit 4,9 % ein relativ hoher Anteil testikulärer Neoplasien. Umso mehr ist eine präzise histologische Aufarbeitung des Gewebes vor jeglichem Beginn einer Behandlung von wesentlicher Bedeutung.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie geben klar zum Ausdruck, daß unter Verwendung kryokonservierter testikulärer Spermatozoen für die intrazytoplasmatische Injektion Fertilisierungs- und Schwangerschaftsraten vergleichbar sind mit dem Konzept der Verwendung frischer Gameten. Auffällig ist die etwas niedrigere Fertilisierungsrate im Vergleich zu frisch ejakulierten Spermatozoen. Hier mag die anzunehmende Unreife testikulärer Spermatozoen eher als kausale Erklärung dienen als der Einfrierprozeß. Vielmehr zeigte sich in der Aufarbeitung eingefrorenen testikulären Gewebes, daß die Spermatozoen keine signifikante Alteration durch den Einfrier- und Auftauprozess erlitten hatten. In allen Fällen konnte nach dem Auftauen Motilität der Spermatozoen nachgewiesen werden. Hingegen ist für die Kryokonservierung ejakulierter Spermatozoen eine signifikante Zunahme von Brüchen des Spermatozoenhalses nach dem Auftauen beschrieben worden. Hieraus wurde die geringere Fertilisierungskapazität kryokonservierter, ejakulierter Spermatozoen geschlossen, da das für die Fertilisierung essentielle paternale Zentrosom in der Halsregion des Spermatozoen lokalisiert ist (26). Ob es ein Vorteil ist, die Gameten in ihrem testikulären Gewebsverband zu belassen, und ob hierdurch ein gewisser protektiver Effekt für die Kryokonservierung erreicht wird, bleibt zu diskutieren und durch weitergehende, insbesondere elektronenmikroskopische Studien, zu klären.

Der Verlauf der erreichten Schwangerschaften nach Kryo-TESE bestätigen die Vorteile eines programmierten ICSI-Behandlungszykluses. Es zeigte sich, daß in den 63 Fällen, in denen Spermatozoen in der Direktpräparation nachweisbar waren, auch nach dem Ein-

frierprozeß genügend freie Spermatozoen zur Durchführung der ICSI vorhanden waren. In den Fällen, in denen keine Spermatozoen nachweisbar waren, konnte eine unnötige ovarielle Stimulationsbehandlung der Partnerin vermieden werden. Zusammenfassend läßt sich sagen, daß das Kryo-TESE Konzept Vorteile hat und vergleichbare Fertilisierungs- und Schwangerschaftsraten für die Behandlung der nicht obstruktiven Azoospermie aufweist, wie für die Verwendung frischer testikulärer Spermatozoen berichtet ist (14, 15, 17). Ein bedeutender Vorteil der Kryokonservierung testikulären Gewebes ist, daß unter Erhalt hoher Schwangerschaftsraten pro Zyklus eine fundierte Histologie gewonnen werden kann, und ein Mehrfacheingriff am Hoden ebenso vermieden wird wie eine unnötige ovarielle Stimulationsbehandlung der Partnerin.

Ein Dank geht an die Unterstützung durch die Abteilung für Andrologie Universitäts-Hospital Hamburg Eppendorf, W. Schulze, und das Department of Urology, Cornell Medical Center, New York, PN. Schlegel MD

Literatur

1. Tesarik J., Rolet F., Brami C. Spermatozoeninjektion in menschliche Oocyten. II. Klinische Anwendung in der Behandlung der Unfruchtbarkeit bei nicht-obstruktiver Azoospermie. *Hum Reprod* 1996; 11: 780-3.
2. Vanderzwalmen P, Zech H, Birkenfeld A, Yemini M, Bertin G, Lejeune B. et al. Intracytoplasmische Injektion von Spermatozoen, die aus testikulärem Gewebe gewonnen wurden: Einfluss von testikulärer Pathologie, Typus der ausgewählten Spermatozoen und Oozytenaktivierung. *Hum Reprod* 1997; 12: 1203-13
3. Nagy Z, Liu J, Janssenswillen C, Silber SJ, Devroey P, Van Steirteghem AC. Using ejaculated, fresh and frozen-thawed epididymal and testicular spermatozoa gives rise to comparable results after intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril*. 1995; 63: 808-15.
4. Wildt L, Diedrich K, van der Ven HH, Al-Hasani S, Hübner H, Klases R. Ovarian hyperstimulation für in-vitro-Fertilisation, kontrolliert durch GnRH-Agonisten, in Kombination mit menschlichem menopausalen Gonadotropin. *Hum Reprod* 1986; 1: 15-9.
5. Salzbrunn A, Benson DM, Holstein AF, Schulze W. A new concept for the extraction of testicular spermatozoa as a tool for assistierte Fertilisation (ICSI). *Hum Reprod* 1996; 11: 752-5.
6. Van Steirteghem AC, Nagy P, Joris H, Liu J, Staessen C, Smitz J, et al. High fertilization rates after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1993; 8: 1061-6.
7. Al-Hasani S, Küpker W, Baschat AA, Sturm R, Bauer O, Diedrich C, et al. Mini-swim up: A new technique of sperm preparation for intracytoplasmic sperm injection. *J Assist Reprod Genet* 1995; 12: 428-33
8. Real-Encyclopädie der gesamten Heilkunde für praktische Ärzte. 1913, Band XIII
9. Jow WW, Steckel J, Schlegel PN, Magid MS, Goldstein M. Motile sperm in human testis biopsy specimens. *J Androl* 1993; 14: 194-8.
10. Schoysman R, Vanderzwalmen P, Nijs M, Segal L, Segal-Bertin G, Geerts L, et al. Pregnancy obtained with human testicular spermatozoa. *Lancet* 1993; 342: 1237.
11. Schoysman R, Vanderzwalmen P, Nijs M, Segal L, Segal-Bertin G, Geerts L, et al. Pregnancy obtained with human testicular spermatozoa in an in vitro fertilization program. *J Androl* 1994; 15 Suppl: 10s-3s.
12. Devroey P, Liu J, Nagy Z, Tournaye H, Silber SJ, Van Steirteghem AC. Normal fertilization of human oocytes after testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 1994; 62: 639-41.
13. Devroey P, Liu J, Nagy Z, Goossens A, Tournaye H, Camus M, et al. Pregnancies after testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection in non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod* 1995; 10: 101-4.
14. Devroey P, Liu J, Nagy Z, Goossens A, Tournaye H, Camus M, et al. Pregnancies after testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection in non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod* 1995; 10: 1457-60.
15. Kahraman S, Ozgur S, Alatas C, Aksoy S, Tasdemir M, Nuhoglu A, et al. Fertility with testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection in non-obstructive azoospermic men. *Hum Reprod* 1996; 11: 756-60.
16. Madgar I, Seidmann DS, Levran D, Yonish M, Augarten A, Yemini Z, et al. Micromanipulation improves in-vitro fertilization results after epididymal or testicular sperm aspiration in patients with congenital absence of the vas deferens. *Hum Reprod* 1996; 11: 2151-4
17. Schlegel PN, Palermo GD, Goldstein M, Menendez S, Zaninovic N, Veek LL, et al. Testicular sperm extraction with intracytoplasmic sperm injection for non-obstructive azoospermia. *Urology* 1997; 49: 435-40.
18. Fischer R, Baukloh V, Naether O, Schulze W, Salzbrunn A, Benson DM. Pregnancy after intracytoplasmic sperm injection of spermatozoa extracted from frozen-thawed testicular biopsy. *Hum Reprod* 1996; 11: 2197-9.
19. Gil-Salom M, Minguez Y, Rubio C, De los Santos MJ, Remohi J, Pellicer A. Efficacy of intracytoplasmic sperm injection using testicular spermatozoa. *Hum Reprod* 1995; 10: 3166-70.
20. Romero J, Remohi J, Minguez Y, Rubio C, Pellicer A, Gil-Salom M, et al. Fertilization after intracytoplasmic sperm injection with cryopreserved testicular spermatozoa. *Fertil Steril* 1996; 65: 877-9.
21. Perraguin-Jayot S, Audebert A, Emperaire JC, Parneix I. Ongoing pregnancies after intracytoplasmic injection using cryopreserved testicular spermatozoa. *Hum Reprod* 1997; 12: 2706-9.
22. Schlegel PN, Li-Ming Su. Physiological consequences of testicular sperm extraction. *Hum Reprod* 1997; 12: 1688-92.
23. Devroey P. Microsurgical epididymal sperm aspiration (MESA) and testicular sperm extraction (TESE) – indications and results. ESHRE Campus Symposium, Tel Aviv, Israel, March 27-28, 1996.
24. Giwercman A, Berthelsen JG, Muller J, Von der Maase H, Skakkebaek NE. Screening for carcinoma in situ of the testis. *Int J Androl* 1987; 10: 173-80.
25. Novero V, Goossens A, Tounaye H, Silber SJ, Van Steirteghem AC, Devroey P. Seminoma discovered in two males undergoing successful testicular sperm extraction for intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 1996; 65: 1051-4.
26. Verheyen G, Nagy Z, Joris H, De Croo I, Tournaye H, Van Steirteghem AC. Quality of frozen-thawed testicular sperm and its preclinical use for intracytoplasmic sperm injection into in vitro-matured germinale-vesicle stage oocytes. *Fertil Steril* 1997; 67: 74-80.

Numerische Chromosomenaberrationen in Spermien von fertilen und infertilen Spendern

H. Schlieker¹, H. Schultz¹, K. Mennicke¹, F. Hinrichs¹, P. Diercks¹, S. Al-Hasani², M. Bals-Pratsch², R. Sturm², K. Diedrich², E. Schwinger¹

Zusammenfassung

Spermien von gesunden Spendern und infertilen Patienten, die am Programm der intracytoplasmatischen Spermieninjektion (ICSI) der Abteilung für Reproduktionsmedizin der MUL teilnahmen, wurden hinsichtlich der Disomieraten* der Chromosomen 13/21, 18, X und Y sowie der Diploidieraten* untersucht. Dafür wurden Zwei- und Dreifarb-Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierungen (FISH) nach einer Probanden-adaptierten Dekondensierungs-(= Quellungs-)Vorbehandlung eingesetzt: in vorgeschalteten Dekondensierungsreihen wurde die optimale Qualität der Fluoreszenzsignale individuell ermittelt, indem die Konzentration der Quellungsreagenzien wie auch die Dauer der Inkubation mit diesen Reagenzien variiert wurden. Bei der nachfolgenden Auswertung kamen strenge Kriterien zur Beurteilung der beobachteten Signalmuster zur Anwendung.

Die durchschnittlichen Disomieraten reichten von 0,10 % (Chromosomen 13/21) bis 0,44 % (Disomie XY) bei den infertilen Probanden und von 0,07 % (Disomie XX) bis 0,36 % (Disomie XY) in der Kontrollgruppe. Die durchschnittlichen Diploidieraten lagen bei 0,22 % für die infertilen Probanden und bei 0,20 % für die Kontrollgruppe. Hinsichtlich der Disomie- und Diploidieraten ergab sich kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden betrachteten Kollektiven. Innerhalb der beiden Gruppen fanden sich in einigen Fällen interindividuelle Unterschiede von statistischer Signifikanz.

Summary

Spermatozoa from healthy donors and infertile patients taking part in the local program of intracytoplasmic sperm-injection (ICSI) were investigated for the disomy rates of the chromosomes 13/21, 18, X and Y as well as for the diploidy rates. Two- and three-colour fluorescence in situ hybridization (FISH) was applied after a donor-adapted decondensation pretreatment: in a preliminary decondensation series the optimum fluorescence signals were individually determined by variation of the concentration of the decondensation reagents and the duration of incubation with these reagents. Strict scoring criteria were applied.

The average disomy rates ranged from 0.10 % (chromosomes 13/21) to 0.44 % (disomy XY) in the infertile donors and from 0.07 % (disomy XX) to 0.36 % (disomy XY) in the controls. The average diploidy rates were 0.22 % and 0.20 % for the infertile donors and the controls respectively. There was no statistically significant difference between the two groups with respect to the disomy and diploidy rates. Within the two groups there were interindividual differences which were partly statistically significant.

Einleitung

Eine der Hauptursachen für Aborte und Fehlgeburten ist eine Aneuploidie*: mehr als 25 % aller Fehlgeburten sind monosom* oder trisom* (1). Frühere Untersuchungen an menschlichen Gameten* lassen einen hohen Anteil von Aneuploidien bereits zum Zeitpunkt der Befruchtung vermuten.

Da menschliche Eizellen verhältnismäßig schwierig zu gewinnen sind, konzentrieren sich die Untersuchungen auf Spermien. Diese sind relativ einfach in großen Mengen zu erhalten.

1978 beschrieben Rudak et al.(2) eine Methode, mit deren Hilfe die in vitro Befruchtung von Hamster-Eizellen mit menschlichen Spermien ermöglicht wurde. Durch die Analyse der Vorkerne war die Darstellung numerischer und struktureller Aberrationen* möglich. Diese Methode wurde in großen Studien eingesetzt (3,4,5). Allerdings ist sie ausgesprochen zeitaufwendig, so daß bis zum heutigen Zeitpunkt damit weltweit erst 20000 Spermienkomplemente untersucht werden konnten.

In den vergangenen Jahren gewann die Untersuchung von Spermien mit Hilfe der Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) zunehmend an Bedeutung (6,7,8). Diese Methode stellt ein zuverlässiges Diagnostikum dar, um bei vergleichsweise geringem Zeitaufwand viele Chromosomen von Interphase-Spermien zu untersuchen.

Grundlage für aussagekräftige Ergebnisse ist jedoch eine effiziente Dekondensierung des stark komprimier-

* Zur Definition der mit Sternchen gekennzeichneten Fachtermini s. das Glossar auf S. 214.

Aberration	– numerische A. Die Zahl der Chromosomen einer Zelle weicht von der Norm ab – strukturelle A. Der Aufbau eines Chromosoms weicht von der Norm ab.
Aneuploidie	Ein Zuviel oder Zuwenig von einzelnen Chromosomen oder aber sogar des gesamten Chromosomensatzes einer Zelle
Autosomen	Die Chromosomen 1 bis 22
Diploidie	Doppeltes Vorhandensein der einzelnen Chromosomen einer Zelle; der Normalzustand einer Körperzelle (vgl. Haploidie)
Disomie	Überschuß eines Chromosoms in einer Keimzelle → die Zelle ist disom für das entsprechende Chromosom
Gameten	Die menschlichen Keimzellen: Eizellen und Spermien
Gonosomen	Die sogenannten Geschlechtschromosomen X und Y
Haploidie	Jedes Chromosom ist einfach in einer Zelle vorhanden; Normalzustand der Keimzellen (vgl. Diploidie)
Meiose I und II	Sogenannte Reifeteilungen im Rahmen der Spermienentwicklung; dabei werden die Chromosomen und Chromatiden auf die entstehenden Zellen verteilt, so daß am Ende eine haploide Keimzelle steht.
Monosomie	Fehlen eines bestimmten Chromosoms in einer Zelle → die Zelle ist monosom für das entsprechende Chromosom

Nondisjunktion	Fehlende Trennung von Chromosomen oder Chromatiden z. B. während der Reifeteilungen, führt zu aneuploiden Tochterzellen
Trisomie	Ein bestimmtes Chromosom ist dreifach in einer Körperzelle enthalten; im Normalzustand enthält eine Körperzelle 46 Chromosomen, d. h. jedes Chromosom ist zweifach vorhanden.

ten Chromatins in den Spermien. Ziel der vorliegenden Studie war es zum einen, durch einen der eigentlichen Hybridisierung vorausgehenden individuell angepaßten Dekondensierungsschritt eine optimale Auswertung zu ermöglichen und zum anderen Zwei- und Dreifarbf-FISH sowohl an den Spermien fertiler als auch infertiler Spender durchzuführen.

Probanden, Material und Methode

Spermienproben

Ejakulate von sieben gesunden Spendern (Medizinstudenten und Mitarbeiter der Klinik; A-G) und von fünf infertilen Patienten, die am Programm der intracytoplasmatischen Spermieninjektion (ICSI) der Abteilung für Reproduktionsmedizin der MUL teilnahmen (I-V) wurden für die Untersuchungen verwandt. Spermio-gramme sind in Tabelle I zusammengefaßt. Mit Hilfe von Lymphozyten-Karyotypisierung ergab sich für Spender I der Karyotyp 47,XY.

Unmittelbar nach Erstellung der Spermio-gramme wurden die Ejakulate mit Hilfe einer Percoll-Dichtegradientenzentrifugation gereinigt. Die Spermien wurden gleichmäßig auf Objektträger aufgetragen und ihre Dichte wurde im Phasenkontrastmikroskop ermittelt. Im folgenden fand eine Fixierung der Zellen in einem 3:1 Methanol:Eisessig-Fixativ für 20 Min. bei -20°C statt.

Präparate	1	2	3	4	5	6	7
1. Schritt	5 mM DTT für 10 min.	10 mM DTT für 10 min.					
Zwischenschritt	Spülung mit TrisHCl pH=8						
2. Schritt	N ₁ 30 min.	N ₂ 50 min.	N ₃ 70 min.	N ₄ 90 min.	H ₁ 30 min.	H ₂ 50 min.	H ₃ 70 min.

Abbildung 1: Darstellung der Quellungsreihe – Die unteren Kästen zeigen die Quellungsreagenz und die Inkubationszeit des 2. Schritts für das jeweilige Präparat. Dabei steht N₂ für 0,5mM DTT und 10mM LIS, H₂ für 10mM DTT und 10mM LIS

Proband	Ejakulat- menge (ml)	Spermiendichte (mill./ml)	Mobilität (%)	Progression (0-4)	Anteil morpho- logisch normaler Spermien (%)	Alter der Probanden
Infertile Probanden						
I	4,5	10,0	35 %	2-3	1 %	34
II	2,5	16,0	58 %	2	5 %	31
III	6,0	15,0	55 %	2-3	2 %	29
IV	8,0	38,0	55 %	2-3	7 %	40
V	5,4	28,0	54 %	3	8 %	32
Kontroll- Probanden						
A	6,0	80,0	68 %	3-4	20 %	
B (3 Kinder)	1,0	48,0	65 %	3-4	17 %	31
C	6,0	58,0	67 %	3	15 %	23
D	5,5	65,0	70 %	3-4	25 %	36
E	4,0	75,0	50 %	3-4	20 %	25
F	1,0	100,0	48 %	3	39 %	30
G (1 Kind)	3,3	48,0	75 %	3	28 %	27

Tabelle I. Spermiogramme der Probanden

Dekondensierung der Spermien

Die Methode von Wyrobek et al. (1990) (9) wurde mit eigenen Modifikationen angewandt: insgesamt wurden zwei Dekondensierungsreihen durchgeführt, die aus je zwei Schritten bestanden, wobei der zweite Schritt jeweils zeitlich variiert wurde (siehe Abb.1). Der erste Schritt stellte eine Inkubation der Objektträger in Dithiothreitol (DTT) dar, in Schritt 2 erfolgte eine Inkubation in DTT und Lithiumsalicylat (LIS). Sowohl bei DTT als auch bei LIS handelt es sich um Reagenzien welche zur Denaturierung von Zellen angewendet werden. Dabei wirkt insbesondere DTT auf die das Chromatin stabilisierenden Disulfidbrücken, wohingegen die Wirkungsweise von LIS nicht genau bekannt ist. Die beiden Serien unterschieden sich durch die Konzentrationen der verwendeten Quellungsreagenzien. Auf diese Weise erhielt man für jeden Probanden 7 verschiedene Dekondensierungsstadien. Das optimale Quellungs-niveau konnte nun individuell am Fluoreszenzmikroskop anhand der Größe und Intensität der Fluoreszenzsignale festgestellt werden und ist in Tabelle II aufgeführt. Mit dieser Dekondensation wurden die weiteren Untersuchungen durchgeführt.

Fluoreszenz in-situ Hybridisierung

Es wurden Alpha-Satelliten-Sonden für die Chromosomen 13/21 (D13Z1/D21Z1), 18 (D18Z1), X (DXZ1), und Y (DYZ3) eingesetzt. Sie waren entweder mit dem Antikörper Digoxigenin oder Biotin markiert. In Zweifarban-sätzen kamen je eine Digoxigenin- und eine Biotin-markierte Sonde zum Einsatz. Für Dreifar-

FISH wurden die Sonde für das X-Chromosom mit Digoxigenin, die Sonde für das Y-Chromosom mit Biotin sowie die Sonde für das Chromosom 18 mit beiden Antikörpern markiert. Nach getrennter Denaturierung der Präparate und der Sonden fand die Hybridisierung über Nacht bei 37°C im Wärmeschrank statt. Die Detektion der Hybridisierungssignale erfolgte in drei Schritten mit gegen Digoxigenin und Biotin gerichteten Antikörpern, die jeweils mit Fluoreszenzfarbstoffen markiert

Quellung	Serie I, 30 Minuten	Serie I, 50 Minuten	Serie I 70 Minuten
I			+
II			+
III		+	+
IV		+	+
V		+	+
A			+
B			+
C			+
D		+	
E			+
F	+	+	
G		+	

Tabelle II. Die individuell optimale Quellung gemäß der Quellungsreihe (Für Spender I, II und B wurde nur eine Dekondensation durchgeführt)

Proband	Status	Disomierate (%)					Diploidierate (%)	
		18	13/21	XX	YY	XY		XX, YY + XY
I	i	0,54 ^a (10050)		0,21 (10050)	0,18 ^a (10000)	0,71 ^a (10000)		
II	i	0,26 (10002)		0,15 (10002)	0,13 (10002)	0,47 (10002)	0,75	0,12 (10002)
III	i	0,33 (10142)		0,21 (14166)	0,21 (9408)			0,36 (10142)
IV	i	0,33 ^a (10087)	0,10 ^a (5006)	0,13 (10087)	0,10 (5006)	0,41 (10683)		0,14 ^a (5006)
V	i	0,32 (5001)	0,10 (5001)	0,03* (10002)	0,22 ^a (5000)	0,40 ^a (5000)		0,12 (5001)
Infertile Probanden^b		0,30 (251,45)	0,10 (5001)	0,15 (54307)	0,16 (24416)	0,44 (20685)	0,75	0,22 (25145)
A	f	0,13 (5237)	0,21 (5237)	0,04 (10059)	0,14 ^a (10000)	0,22 ^a (10000)		0,10 (5237)
B	f	0,12 (5217)	0,08 (5217)	0,08 (9998)	0,05 ^a (10100)	0,44 ^a (10100)		0,10 (5217)
C	f	0,42* (13500)	0,16 (5000)	0,04 (8500)	0,21* (8500)	0,59* (8500)	0,84	0,13* (13500)
D	f	0,06 (14998)	0,08 (5000)	0,0 (9998)	0,07 (9998)	0,11 (9998)	0,18	0,12 (14998)
E	f	0,17 (15002)	0,30 (5000)	0,07 (10002)	0,05 (10002)	0,27 (10002)	0,39	0,26 (15002)
F	f	0,44* (4586)	0,72* (4586)	0,21* (10050)	0,12 ^a (9998)	0,40 ^a (9998)		0,22 (4586)
G	f	0,25 (15016)	0,34 (5004)	0,08 (10012)	0,04* (10012)	0,51* (10012)	0,63	0,36* (15016)
Fertile Probanden^b		0,22 (73556)	0,26 (35044)	0,07 (68619)	0,09 (38512)	0,36 (38512)	0,50	0,20 (73556)

Status: i, infertil; f, fertil

In den Klammern ist die Zahl der jeweils bewerteten Spermien angegeben.

^a Diese Ergebnisse wurden in Zweifarb-Ansätzen ermittelt und repräsentieren disome und diploide Spermien.

^b Die in ^a erwähnten Werte sind nicht berücksichtigt; daher repräsentieren diese Ergebnisse eindeutig die Disomie- und Diploidieraten der Probanden.

* Diese Ergebnisse unterscheiden sich signifikant von denen der anderen Probanden des jeweiligen Kollektivs ($p \leq 0.05$).

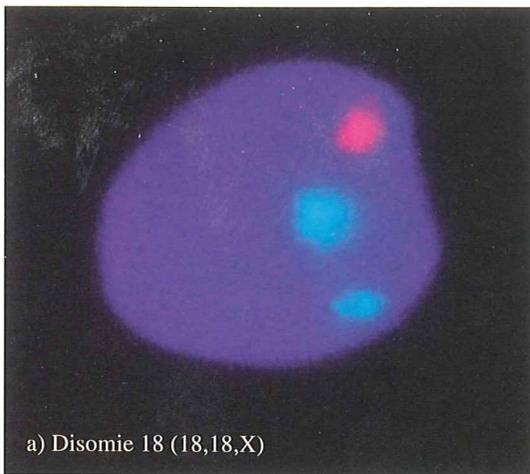
Tabelle III: Die Disomie- und Diploidieraten der vorliegenden Studie

waren. Nach einer Gegenfärbung der Zelleiber konnte die Auswertung erfolgen.

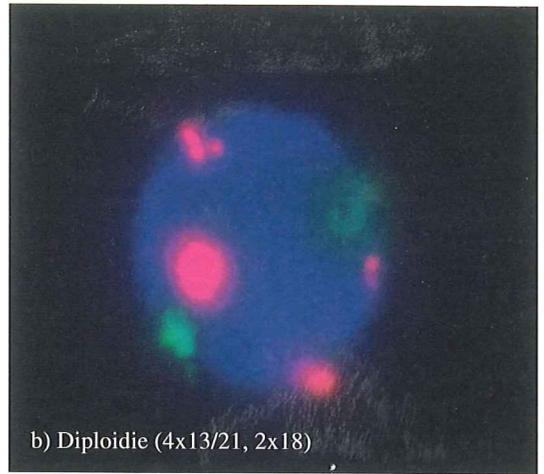
Auswertung

Zwei Untersucher führten unabhängig voneinander die Auswertung an einem Zeiss Axiophot Fluoreszenzmikroskop bei einer 1250fachen Vergrößerung durch. Die bei der Detektion eingesetzten Fluoreszenzfarbstoffe

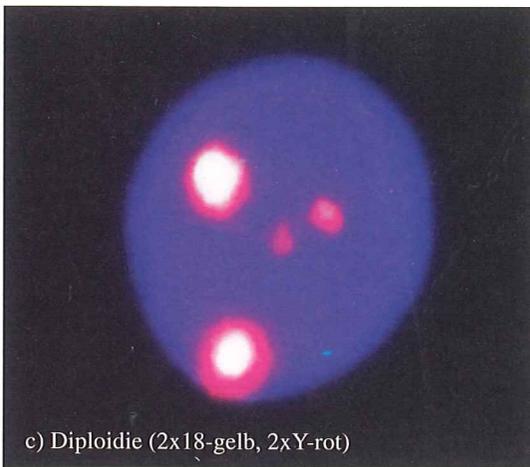
waren CY3 (rote Signale) und FITC (grüne Signale). Wurde die hybridisierte Sonde für Chromosom 18 in den Dreifarbanalysen mit beiden Farbstoffen markiert, so ergab sich ein gelbes Mischsignal (siehe Abb. 2). Pro Proband und Chromosom wurden 4500 bis 15000 Spermien ausgewertet. Dabei wurden nur Zellen mit erhaltenen Schwänzen bewertet, um Verwechslungen mit Körperzellen zu vermeiden. Signale unterschiedli-



a) Disomie 18 (18,18,X)



b) Diploidie (4x13/21, 2x18)



c) Diploidie (2x18-gelb, 2xY-rot)



d) Diploidie (2x18, X-grün, Y-rot)

Abbildung 2: Dreifarb- und Zweifarb-Fluoreszenz in-situ Hybridisierung, Vergrößerung: 1250fach. Aufnahmetechnisch bedingt sind die Schwänze der Zellen nicht erkennbar.

cher Farbe konnten direkt nebeneinander lokalisiert sein, Signale der gleichen Farbe mußten eine Distanz von mindestens einem Signaldurchmesser aufweisen, um getrennt gewertet zu werden. Lediglich bei der Auswertung der Ansätze mit der Sonde für die Chromosomen 13/21 wurde auch ein geringerer Abstand zwischen den beiden Signalen zugelassen. Die statistischen Berechnungen wurden mit Hilfe der Poisson-Verteilung durchgeführt (10).

Ergebnisse

In Tabelle II sind die im einzelnen angewandten Inkubationszeiten aufgeführt. Es kamen lediglich die nied-

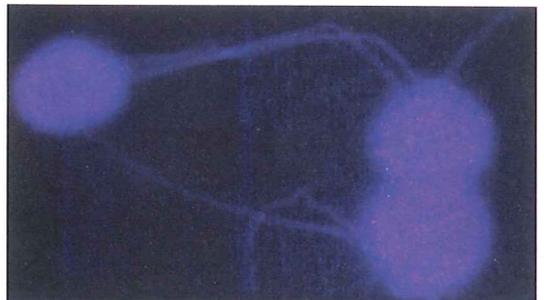


Abbildung 3: Diploide Spermien mit deutlich sichtbaren, erhaltenen Schwänzen, Vergrößerung: 1250fach

rig konzentrierten Quellungsreagenzien der Serie 1 zur Anwendung.

Die für die Probanden beider Gruppen ermittelten Disomie- und Diploidieraten und die Anzahl der jeweils ausgewerteten Zellen sind in Tabelle III dargestellt.

Die Disomierate für Chromosom 18 betrug im Durchschnitt 0,22 % (0,06 %-0,44 %) für die fertilen Probanden und 0,30 % (0,26 %-0,33 %) für die infertilen. Die durchschnittliche Disomierate von 13/21 wurde mit 0,26 % (0,08 %-0,72 %) für die fertilen Probanden und 0,10 % für die infertilen ermittelt. Bei den Gonosomen* ergaben sich durchschnittliche Disomieraten von 0,07 % (0,0 %-0,21 %) für Disomie X, 0,09 % (0,05 %-0,21 %) für Disomie Y und 0,36 % (0,11 %-0,59 %) für Disomie XY in der Fertilengruppe. Die Ergeb-

nisse in der Gruppe der Infertilen waren 0,15 % (0,03 %-0,21 %) für Disomie X, 0,16 % (0,10 %-0,21 %) für Disomie Y und 0,44 % (0,41 %-0,47 %) für Disomie XY.

Beim Vergleich der durchschnittlichen Disomieraten der beiden Kollektive ergab sich kein statistisch signifikanter Unterschied.

0,20 % (0,10 %-0,36 %) der Spermien der fertilen Probanden waren im Durchschnitt diploid, in der Gruppe der Infertilen ergab sich eine durchschnittliche Diploidierate von 0,22 % (0,12 %-0,36 %). Auch hierbei bestand kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen.

Anhand von Drei-Farb-FISH-Ansätzen der Probanden II, IV, C, D, E und G war es möglich zu differenzieren,

		Zähl- kri- terien	1	7	9	10	12	16	17	18	21
I): Dreifarbstudien											
Moosani	1995	1	0,08-0,25 0,09 (0,05-0,16)				0,12-0,28 0,15 (0,10-0,25)				
Pfeffer	1996										
Vorliegende Studie	1998	1								0,30 0,26-0,33 0,22 (0,06-0,72)	0,10 ¹ 0,26 ¹ (0,08-0,72)
II): Zweifarbstudien											
Bernardini	1997	1	0,38 ² /0,54 ³ 0,4						0,37 ² 0,74 ³	0,35	
Guttenbach	1997	1	0,13 ⁴ 0,12 ⁴	0,12 ⁴ 0,15 ⁴		0,14 ⁴ 0,12 ⁴			0,13 ⁴ 0,16 ⁴		
Lähdetie	1997	?	0,08 ⁵ /0,22 ³ 0,10	0,07 ⁵ 0,13 ³ 0,06							
III): Einfarbstudien											
Finkelstein	1995	?									
Miharu	1994	0,5 0,5	0,13 ⁴ 0,14 ⁴					0,16 ⁴ 0,17 ⁴			

Tabelle IV: Disomie- und Diploidieraten in Spermien infertiler und fertiler Männer Literaturübersicht – In der ersten Zeile der fertilen angegeben. Im Gegensatz zu Tab. V werden mehr, als nur die in der vorliegenden Studie untersuchten darzustellen und (2) um einen ausführlicheren Vergleich von fertilen und infertilen Probanden darzustellen.

¹: Keine Unterscheidung zwischen den Chromosomen 13 und 21 möglich, also repräsentieren die Werte die Disomieraten beider Chromosomen zusammen.

²: Patienten mit idiopathischer Infertilität

³: OAT-patients

⁴: Hier wurde die Disomierate indirekt bestimmt: Zellen mit 2 Signalen minus Diploidierate

⁵: Infertile Männer mit normalem oder annähernd normalem Spermogramm

⁶: Keine Unterscheidung von disomen und diploiden Zellen

ob eine gonosomale Disomie ihren Ursprung in der Meiose* I oder II hatte. Mit Ausnahme des Probanden D wiesen alle der oben aufgezählten eine signifikant höhere Rate an Disomien auf, die aus der Meiose I hervorgegangen waren. Dies galt auch, wenn die fertilen und infertilen Probanden jeweils zu einer Gruppe zusammengefaßt wurden.

Die Disomierate der Gonosomen war in beiden Gruppen signifikant höher als die Disomierate für das Chromosom 18. Dies galt für die individuelle Betrachtung der Probanden II, C, D, E und G wie auch für die beiden Kollektive als Ganzes.

Beide Gruppen wurden auf inter-individuelle Homogenität hin untersucht. In der Gruppe der Infertilen stach Proband V mit einer signifikant erhöhten Disomie-XX-

Rate im Vergleich mit den übrigen infertilen Probanden hervor. In der Gruppe der Fertilen zeigte Proband C höhere Raten für Disomie 18, Disomie YY und Disomie XY, der Anteil diploider Zellen war signifikant niedriger im Vergleich mit den übrigen Fertilen. Proband F wies eine signifikant höhere Disomierate für die Chromosomen 18, 13/21 und für die Disomie XX auf. Proband G hatte einen signifikant niedrigeren Anteil an Disomie YY, die Raten für Disomie XY und für die Diploidie waren signifikant höher als bei den übrigen fertilen Probanden (in allen aufgeführten Fällen $p \leq 0,05$).

Die X:Y-Verteilung wurde mit Hilfe des χ^2 -Tests überprüft. In der Gruppe der Infertilen wies Proband I ein Überwiegen der Y-tragenden Spermatozoen in allen relevanten Ansätzen auf und Proband G zeigte einen erniedrigten Anteil X-tragender Zellen (in allen Fällen $p \leq 0,025$).

Diskussion

Vorteile einer individuell angepaßten Quellungsvorbehandlung

Spermien sind vergleichsweise kleine Zellen mit extrem kompaktem Chromatin. Im Gegensatz zu Säuger-Spermien weisen menschliche Spermatozoen interindividuell sehr unterschiedliche Form und Stabilität auf (11,12). Dies könnte durch eine unterschiedlich lange Verweildauer im Ductus epididymidis begründet sein, während der das Chromatin stabilisierende Disulfidbrücken gebildet werden (13,14). Bis zum heutigen Tag sind die genauen Mechanismen noch nicht bekannt, durch die die Veränderungen der Chromatinstruktur während der Spermatogenese zustande kommen (15). Wir fanden deutliche interindividuelle Unterschiede im Dekondensationsverhalten von Spermien unterschiedlicher Probanden.

Seitdem mit Hilfe der FISH-Technik gleichzeitig drei (und mehr) Farben zur Markierung von Chromosomensonden eingesetzt werden können (7,16,17) wird immer wichtiger, daß die Fluoreszenzsignale klar abgrenzbar und kräftig sind. So müssen zum Beispiel drei Sonden parallel eingesetzt werden, wenn in einem Ansatz für die Gonosomen eine Unterscheidung von diploiden und disomen Spermien auf der einen und zwischen Meiose-I- und -II-Reifeteilungsstörungen auf der anderen Seite möglich sein soll. Dies bedeutet bis zu vier Signale in einem Spermium.

Dennoch führten die meisten Autoren bisheriger FISH-Studien an menschlichen Spermien einen standardisierten Quellungsschritt durch (7,16,18). Eine Probanden-Adaptation dieses Vorbehandlungsschritts wurde erstmalig von Williams et al. (1993) (19) angegeben. In dieser Veröffentlichung wurden allerdings keine Kriterien für optimal dekondensierte Spermien und entspre-

XX	YY	XY	Diploidie	durchschn. Disomierate
0,05-0,11 0,08 (0,03-0,17)	0,06-0,12 0,18 (0,10-0,43)	0,18-0,47 0,16 (0,08-0,24) 0,017 0,004		
0,15 (0,03-0,21) 0,07 (0,0-0,21)	0,16 (0,10-0,21) 0,09 (0,04-0,21)	0,44 (0,41-0,47) 0,36 (0,11-0,70)	0,22 (0,12-0,36) 0,20 (0,10-0,80)	
0,19 ² / 0,36 ³	0,14 ² /0,27 ³	0,42 ² /0,70 ³	0,3 ² /0,53 ³	0,45 ² /0,82 ³
0,15	0,25	0,45	0,4	0,46
0,14 ⁴ 0,12 ⁴	0,10 ⁴ 0,11 ⁴		0,1 0,05 0,17 ⁵ 0,56 ³ 0,15	
				0,73-1,01 0,06-0,11
0,16 ⁶ 0,13 ⁶	0,11 ⁶ 0,08 ⁶		0,23 0,18	

sind jeweils die Werte der infertilen Probanden, in der zweiten Spalte dargestellt, um (1) die interchromosomale Streuung

chende Fluoreszenzsignale angegeben. Chevret et al. (1995) (8) setzten ein Phasenkontrastmikroskop ein, um die Größe der dekondensierten Spermien zu kontrollieren. Guttenbach et al. (1997) (20) ließen die Zellen in 2M NaOH für 2-8 Min. quellen und richteten sich ebenfalls nach der Zellgröße, um das beste Quellungsstadium festzulegen.

In der vorliegenden Studie verwendeten wir DTT und LIS als Quellungsreagenzien in zwei Dekondensierungsreihen, die aus je zwei Schritten bestanden. Beide Serien unterschieden sich hinsichtlich der Konzentration der eingesetzten Quellungsreagenzien.

Es zeigte sich, daß in vielen Fällen kein Zusammenhang zwischen der Größe der vorbehandelten Spermien und der Größe der Fluoreszenzsignale bestand. Daher beurteilten wir den Grad der optimalen Dekondensation maßgeblich an der Größe und Intensität der Fluoreszenzsignale (siehe Abb. 2). Mit den in Tabelle II dargestellten Quellungsansätzen wurden die am besten zu beurteilenden Signale für alle Probanden erzielt. In keinem der untersuchten Fälle ließen sich mit den Konzentrationen der Quellungsreihe 2, welche auch in der Literatur (19) Verwendung fanden (hohe DTT-Konzentration von 10mM) zufriedenstellende Ergebnisse erzielen. Die geforderte Feinabstimmung des Quellungsverhaltens individueller Probanden konnte also durch Veränderung der Inkubationszeit erreicht werden, nachdem durch Einstellung der richtigen Konzentration der Rahmen gesteckt war. Dieser Rahmen wiederum ist unter anderem abhängig von den verwendeten Sonden. So wurden in weitergehenden Untersuchungen mit lokus-spezifischen Alpha-Satelliten-Sonden für Chromosom 21 gute Dekondensationen bei der höher konzentrierten Quellung gefunden.

Des weiteren blieben nach dem gesamten Versuchsablauf noch die spermalen Flagellen auf den Objektträgern erhalten (siehe Abb. 3). So konnte bei der Auswertung der Präparate eine Verwechslung mit Körperzellen ausgeschlossen werden, indem lediglich Spermien mit erhaltenen Schwänzen berücksichtigt wurden.

Um diese Methode vor allem auch für diagnostische Zwecke an Teilnehmern der hiesigen Infertilitätsprechstunde nutzen zu können, mußte sie Untersuchungen an Spermien von geringerer Qualität ermöglichen. So war es uns möglich, Dreifarbf-FISH an einem Spender mit einer Spermiedichte von nur 16Mill/ml und einer Morphologie von nur 5 % normalen Zellformen und Zweifarbf-FISH an einem karyotypisierten XYY-Mann mit einer Dichte von nur 10Mill/ml und 1 % normaler Formen durchzuführen. In weiterführenden Untersuchungen konnte Dreifarbf-FISH auch an einem Probanden mit einem Y-Ringchromosom und einer Spermiedichte von unter 1 Mill./ml durchgeführt werden (Ergebnisse hier nicht erwähnt).

Bisherige FISH-Studien an Spermien von fertilen und infertilen Männern

Frühere FISH-Studien an Spermien von fertilen und infertilen Männern ergaben widersprüchliche Ergebnisse, wenn die ermittelten Aneuploidieraten der beiden Gruppen verglichen wurden. Auch für gleiche Chromosomen wurden stark variierende Ergebnisse berichtet (7,8,17,21).

Miharu et al. (1994) (22) und Guttenbach et al. (1997) (20) fanden in ihren Untersuchungen keinen statistisch signifikanten Unterschied der Disomie- oder Diploidierate zwischen den beiden Kollektiven und stimmen somit mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie überein (allerdings machten die Autoren keine Angaben über die Spermienparameter der einzelnen Probanden). Da Ein- und Zweifarbf-FISH durchgeführt wurden, war in diesen Studien keine eindeutige Differenzierung von disomen und diploiden Spermien möglich, wenn gonosomale Sonden zum Einsatz kamen. Bei Verwendung von Sonden für beide Gonosomen ist nämlich der zusätzliche Einsatz einer Autosomensonde* unbedingt notwendig, wenn eindeutig zwischen disomen und diploiden Zellen unterschieden werden soll. Die Ergebnisse der einzelnen Probanden dieser Studien waren relativ homogen und bezüglich der Disomieraten ergab sich kein statistisch signifikanter Unterschied.

Andere Autoren fanden signifikante Unterschiede beim Vergleich der spermalen Aneuploidieraten fertiler und infertiler Männer (siehe Tabelle IV). Finkelstein et al. (1998) (27) untersuchten 12 infertile Probanden und verglichen diese mit einem Kontrollkollektiv. Dabei fanden Sie bei den Infertilen signifikant höhere Disomieraten für die Chromosomen 1, 15, 18, X und Y. Leider wurden auch in diesem Fall nicht die genauen Ergebnisse der Spermioogramme dargestellt, so daß ein direkter Vergleich mit unseren Ergebnissen nicht möglich ist. Die Gesamtdisomierate (Summe der fünf betrachteten Chromosomen) war für die Infertilen zehnfach höher als für die Fertilen. Pfeffer et al. (1996) (24) untersuchten zehn Oligoasthenoteratozoospermie (OAT)- Patienten, die an einem ICSI-Programm teilnahmen, und verglichen diese mit Kontrollprobanden. In Dreifarbf-FISH-Ansätzen für die Chromosomen 1, 18 und 21 sowie 13, X und Y fanden sie eine durchschnittliche Aneuploidierate von 0,003-0,004 % für die fertilen und 0,017-0,019 % für die infertilen Probanden. Bernardini et al. (1997) (25) untersuchten ebenfalls OAT-Patienten (n=9) mit Zweifarbf-FISH, darüber hinaus betrachteten sie die Aneuploidieraten von sechs Patienten mit idiopathischer Infertilität; demgegenüber stellten sie drei fertile Kontrollprobanden. Dabei konnten sie einen Trend in Richtung erhöhter Gonosomen- und Autosomen-Aneuploidie nachweisen, der mit dem Ausmaß der Spermiogrammbeeinträchtigung einherging.

Moosani et al. (1995) (23) verglichen fünf Patienten mit idiopathischer Infertilität mit gesunden Probanden. Die Chromosomen 1, 12, X und Y wurden mittels Dreifarbf-FISH untersucht. Drei der fünf Patienten wiesen signifikant höhere Disomieraten für Chromosom 1 auf. Bei den Geschlechtschromosomen zeigten vier der fünf Infertilen eine signifikant erhöhte Rate an Disomie XY.

Des Weiteren fanden wir in der überwiegenden Zahl der Fälle von gonosomaler Aneuploidie eine Störung der ersten Reifeteilung (M I) vor. Der Unterschied von M-I- zu M-II-Reifeteilungsstörungen war dabei bis auf eine Ausnahme statistisch signifikant. Diese Ergebnisse sind konkordant mit denen von Armstrong et al. (1994) (28), andere hingegen fanden keine Unterschiede (29,19,17).

Auch untersuchten wir einen infertilen Mann mit dem Karyotyp 47,XYY und fanden keine erhöhte Rate an Spermien mit einer Disomie YY. Diese Ergebnisse stehen im Widerspruch zu Untersuchungen an einem infertilen Patienten mit der gleichen Anomalie (30) und von zwei fertilen 47,XYY-Männern in denen erhöhte Raten von Spermien mit einer Disomie YY nachgewiesen wurden (31). Han et al. (1994) (32) führten verschiedene Ansätze bei der Untersuchung eines 47,XYY-Mannes durch: mit Zweifarbf-FISH für die Gonosomen fanden sie keine Erhöhung der spermalen Disomie-YY-Rate, während ein Dreifarbf-Ansatz mit Sonden für die Chromosomen 18, X und Y eine signifikante Erhöhung der Disomie YY (1.31 %) im Vergleich mit Spermien einer Kontrollgruppe ergab. Die Disomie-XX- (0.13 %) und Disomie-XY-Raten (0.39 %) waren bei diesem Patienten ebenfalls relativ erhöht.

Verschiedene Ursachen für einander widersprechende Ergebnisse in den erwähnten Studien kommen in Betracht: methodische Unterschiede (dies betrifft vor allem die Dekondensierungsbedingungen), der Einsatz von Ein- oder Zweifarbf-FISH bei Fragestellungen, zu deren Beantwortung Dreifarbf-FISH unerlässlich wäre, eine ungenügende Stichprobengröße, unzureichende Kriterien für die Beurteilung der Fluoreszenzsignale (so geben die meisten Autoren nicht an, wie groß die minimale Distanz zwischen zwei getrennt zu bewertenden Signalen einer Farbe sein sollte) und nicht zuletzt interindividuelle Unterschiede zwischen verschiedenen Probanden.

Es ist durchaus vorstellbar, daß bei infertilen Männern eine Beeinträchtigung nicht nur der Spermiogenese vorliegt, was zu niedrigen Spermiogrammparametern führt, sondern ebenso eine Beeinträchtigung der Reifeteilungen, was zu Aneuploidien führen kann. Den Ergebnissen unserer Studie und auch früheren Untersuchungen zufolge sind unterschiedliche Chromosomen in unterschiedlichem Ausmaß von Reifeteilungsstörungen

gen betroffen. So weist vieles darauf hin, daß die Gonosomen häufiger von Nondisjunktion* betroffen sind als Autosomen.

Danksagung

Diese Studie wurde durch die Hochschulförderung der Medizinischen Universität zu Lübeck gefördert (Projekt 88/96).

Literatur

- Hassold T., Abruzzo M., Adkins K. et al. (1996) Human aneuploidy: incidence, origin, and etiology. *Env. Mol. Mutagenesis*, 28, 167-175.
- Rudak E., Jacobs P.A. und Yanagimachi R. (1978) The chromosome constitution of human spermatozoa: a method of direct chromosome analysis. *Nature*, 274, 911-913.
- Brandriff B., Gorden L., Ashworth L., Watchmaker, G., Carrano A., Wyrobek A., (1984) Chromosomal abnormalities in human sperm: Comparisons among four healthy men. *Hum Genet* 66: 193-201
- Martin R.H., Rademaker A., W., Hildebrand K., Long-Simpson L., Peterson D., Yamamoto J. (1987). Variation in the frequency and type of sperm chromosomal abnormalities among normal men. *Hum Genet* 77: 108-114
- Martin R. H., Rademaker A. (1990). The frequency of aneuploidy among individual chromosomes in 6821 human sperm chromosome complements. *Cytogenet Cell Genet* 53: 103-107
- Joseph A.M., Gosden J. R., Chandley A. C.(1984). Estimation of aneuploidy levels in human spermatozoa using chromosome specific probes and in situ hybridization. *Hum Genet* 66: 234-238
- Bischoff F.Z., Nguyen D.D., Burt K.J. et al. (1994) Estimates of aneuploidy using multicolor fluorescence in situ hybridization on human sperm. *Cytogenet. Cell Genet.*, 66, 237-243.
- Chevret E., Rousseaux S., Monteil M. et al. (1995) Meiotic segregation of the X and Y chromosomes and chromosome 1 analyzed by three-color FISH in human interphase spermatozoa. *Cytogenet. Cell. Genet.*, 71, 126-130.
- Wyrobek A.J., Ahlborn T., Balhorn R. et al. (1990) Fluorescence in situ hybridization to Y chromosomes in decondensed human sperm nuclei. *Mol. Reprod. Dev.*, 27, 200-208.
- Bross I. (1954) A confidence interval for a percentage increase. *Biometrics*, June 1954, pp. 245-250.
- Bedford J.M., Bent M.J. und Calvin H. (1973) Variations in the structural character and stability of the nuclear chromatin in morphologically normal human spermatozoa. *J. Reprod. Fert.*, 33, 19-29.
- Kvist U. und Eliasson R. (1980) Influence of seminal plasma on the chromatin stability of ejaculated human spermatozoa. *Int. J. Androl.*, 3, 130-147.
- Amann R.P. und Howards S.S. (1980) Daily sperm production and epididymal spermatozoal reserves of the human male. *J. Urol.*, 124, 211-215.
- Rowley M., Teshima J.F. und Heller C.G. (1970) Duration of transit of spermatozoa through the human male ductular system. *Fert. Steril.*, 21, 390-397.

15. Molina J., Castilla J.A., Gil T. et al. (1995) Influence of incubation on the chromatin condensation and nuclear stability of human spermatozoa by flow cytometry. *Hum. Reprod.*, 10, 1280-1286.
16. Martin R.H. und Rademaker A. (1995a) Reliability of aneuploidy estimates in human sperm: results of fluorescent in situ hybridization studies using two different scoring criteria. *Mol. Reprod. Dev.*, 42, 89-93.
17. Spriggs A.L., Rademaker A.W. und Martin R.H. (1996) Aneuploidy in human sperm: the use of multicolor FISH to test various theories of nondisjunction. *Am. J. Hum. Genet.*, 58, 356-362.
18. Lu P.Y., Hammitt D.G., Zinsmeister A.R. et al. (1994) Dual color fluorescence in situ hybridization to investigate aneuploidy in sperm from 33 normal males and a man with a t(2;4;8)(q23;q27;p21). *Fert. Steril.*, 62, 394-399.
19. Williams B.J., Ballenger C.A., Malter H.E. et al. (1993) Nondisjunction in human sperm: results of fluorescence in situ hybridization studies using two and three probes. *Hum. Mol. Genet.*, 2, 1929-1936.
20. Guttenbach M., Martinez-Expósito M.J., Michelmann H.W. et al. (1997) Incidence of diploid and disomic sperm nuclei in 45 infertile men. *Hum. Reprod.*, 12, 468-473.
21. Martin R.H., Spriggs E., Ko E. et al. (1995b) The relationship between paternal age, sex ratios, and aneuploidy frequencies in human sperm, as assessed by multicolor FISH. *Am. J. Hum. Genet.*, 57, 1395-1399.
22. Miharu N., Best R.G. und Young S.R. (1994) Numerical chromosome abnormalities in spermatozoa from fertile and infertile men detected by fluorescence in situ hybridization. *Hum. Genet.*, 93, 502-506.
23. Moosani N.M., Pattinson H.A., Carter M.D. et al. (1995) Chromosomal analysis of sperms from men with idiopathic infertility using sperm karyotyping and fluorescence in situ hybridization. *Fert. Steril.*, 64, 811-817.
24. Pfeffer J., Pang M.G., Hoegerman S.F. et al. (1996) Detection of aneuploidy using fluorescence in-situ hybridization in spermatozoa from patients with oligoasthenoatozoospermia after isolation of the motile sperm fraction. *Hum. Reprod.*, 11(abstract book 1), 56.
25. Bernardini L., Martini E., Geraedts J.P.M. et al. (1997) Comparison of gonosomal aneuploidy in spermatozoa of normal fertile men and those with severe male factor detected by in-situ hybridization. *Mol. Hum. Reprod.*, 3, 431-438.
26. Lähdetie J., Saari N., Ajospenaa-Saar M. et al. (1997) Incidence of aneuploid spermatozoa among infertile men studied by multicolor fluorescence in situ hybridization. *Am. J. Med. Genet.*, 71, 129-137.
27. Finkelstein S., Mukamel E., Yavetz H. et al. (1998) Increased rate of nondisjunction in sex cells derived from low-quality semen. *Hum. Genet.*, 102: 129-137.
28. Armstrong S.J., Kirkham A.J. und Hulten M.A. (1994) XY chromosome behaviour in the germ-line of the human male: a FISH analysis of spatial orientation, chromatin decondensation and pairing. *Chromosome. Res.*, 2, 445-452.
29. Martin R.H., Spriggs E. und Rademaker A.W. (1996) Multicolor fluorescence in situ hybridization analysis of aneuploidy and diploidy frequencies in 225,846 sperm from 10 normal men. *Biol. Reprod.*, 54, 394-398.
30. Blanco J., Rubio C., Simón C. et al. (1996b) A fluorescent in-situ hybridization study of the spermatogenic process and sperm production in a 47,XYY and a 47,XXY/46,XY infertile man: implications for ICSI. *Hum. Reprod.*, 11 (abstract book 1), 159-160.
31. Chevret E., Rousseaux S., Monteil M. et al. (1997) Meiotic behaviour of sex chromosomes investigated by three-colour FISH in 35,142 sperm nuclei from zwei 47,XYY males. *Hum. Genet.*, 99, 407-412.
32. Han T.H., Fird J.H., Flaherty S.P. et al. (1994) A fluorescent in situ hybridization analysis of the chromosome constitution of ejaculated sperm in a 47,XYY male. *Clin. Genet.*, 45, 67-70.

Hyperthermie: Effekte auf die Keimzellreifung der männlichen Ratte (*Rattus norvegicus*)?

C. Metzler*, R. Johannisson

Zusammenfassung

Die Wärmeexposition von Hodengewebe wird als eine Ursache von Fertilitätsstörungen angesehen. Neben epidemiologischen Studien zu Auswirkungen der Noxe Hyperthermie auf die Fertilität sind Effekte auf die testikuläre Histologie und die Spermien sowohl beim Menschen als auch bei Mäusen und Ratten beschrieben worden. Der kausale Zusammenhang zwischen Wärmeexposition und Keimzellatrophie ist bisher jedoch noch nicht verstanden. Es gilt zu erklären, ob Schädigungen der Meiosechromosomen oder Alterationen ihres Paarungsverhaltens in den primären Spermatozyten hierbei eine Rolle spielen.

Die bisher erhobenen experimentellen Daten am Tiermodell wurden weitgehend unter unphysiologischen Bedingungen gewonnen. Daher war es Ziel dieser Studie, bei einem Säugetier, nämlich der Ratte, durch Erhöhung der Umgebungstemperatur einen möglichen Einfluß der Hyperthermie auf die testikuläre Histologie, die Spermio-genese und die Meiosechromosomen in der Rekombinationsphase zu prüfen. Die Ratte eignet sich insbesondere für eine derartige Untersuchung, da ihre Hoden wie beim Mann extraperitoneal in einem Skrotum lokalisiert sind.

Die Tiere wurden über fünf Tage für je acht Stunden an eine erhöhte Raumtemperatur von 38°C gewöhnt und anschließend durchgängig acht Tage bei dieser Temperatur gehalten. Die Analyse der testikulären Histologie und der Meiosechromosomen erfolgte sowohl unmittelbar als auch – zur Untersuchung von Langzeitwirkungen – eine Woche und einen Monat nach Abschluß der Hyperthermiebehandlung. Histologisch zeigten sich zu keinem Untersuchungszeitpunkt qualitative oder quantitative Veränderungen des Keimepithels. Der normale Ablauf der Keimzell-differenzierung weist auf eine Adaptation der Tiere an die erhöhten Umgebungstemperaturen während der Eingewöhnungsphase hin. In der elektronenmikroskopischen Darstellung der Meiosechromosomen wiesen die Autosomen keinerlei Veränderungen auf, demhingegen zeigten die Gonosomen eine dreifache erhöhte Frequenz von Ringformationen. Dies kann durch die erhöhte Adhäsionsneigung der ungepaarten Chromosomen-segmenten sowohl der X als auch der Y Chromosomen erklärt werden. Eine

derartige Konfiguration ist als Ausgangspunkt für eine fehlerhafte Segregation der Geschlechtschromosomen in der Meiose mit der Konsequenz der Ausbil-

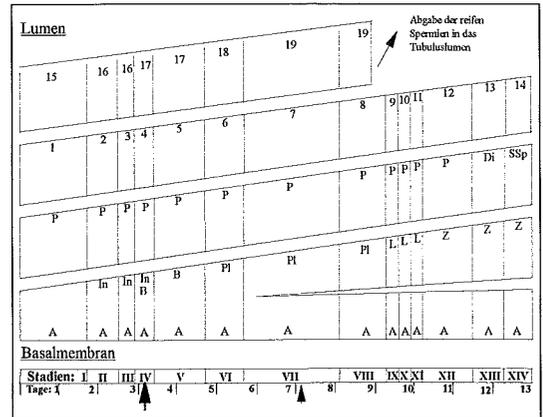


Abb. 1.: Spermato-genesezyklus der Ratte (modifiziert nach Clermont 1972)

Dargestellt ist ein Querschnitt durch einen Tubulus mit einer diagrammatischen Repräsentation des Spermato-geneseverlaufes in seiner räumlichen Schichtung. Das Diagramm ist räumlich so zu verstehen, daß die A-Spermatogonien der Basalmembran der Lamina propria aufliegen, während die darüberliegenden Zell-schichten dem Lumen zugewandt sind. Die römischen Ziffern repräsentieren die einzelnen Stadien des Spermato-genese-Zyklus.

Eine A-Spermatogonie entwickelt sich, am Tag 1 beginnend, im Laufe der folgenden 13 Tage zu einer Spermatozyte im Pachytän, nach 3,5 Zyklen ist ihre Entwicklung zum Spermium abgeschlossen.

Die Buchstaben und die arabischen Ziffern bedeuten die verschiedenen Entwicklungsstufen der Spermato-genese und der postmeiotischen Spermio-genese:

A, In, B: A-, Intermediärtyp-, B-Spermatogonien

Pl, L, Z, P, Di: Spermatozyten der Entwicklungsstufen Präleptotän (Pl), Leptotän (L), Zygotän (Z), Pachytän (P), Diplo-tän (Di)

SSp: Sekundäre Spermatozyten

1-19: Postmeiotische Entwicklungsstufen der Spermio-genese

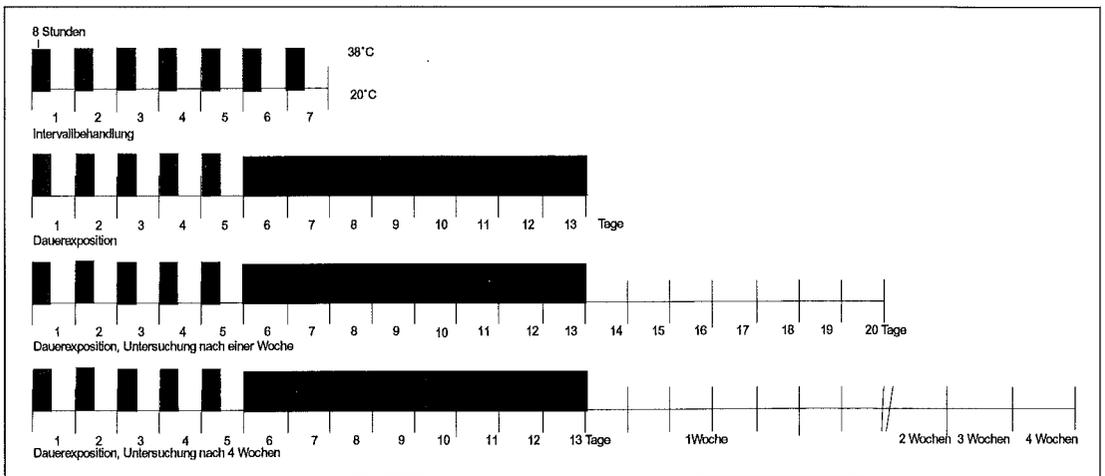


Abb. 2: Zeittafel der Versuchsgruppen – Die schwarzen Segmente repräsentieren die Zeit der Hyperthermie.

dung von Gameten mit unbalancierten Chromosomensätzen zu erwägen.

Einleitung

Den verschiedenen störenden Einflüssen, denen die männliche Fertilität unterliegt, wird die Hyperthermie zugerechnet. Wenn auch der Zusammenhang zwischen erhöhter Temperatur und Fertilitätseinschränkung allgemein akzeptiert zu sein scheint, zeigt sich doch bei Sichtung der umfangreichen Literatur eine ausgeprägte Heterogenität der Daten und ihrer zugrundeliegenden Erhebungsmodi (z.B. Zogniotti und MacLoid 1973, Levine et al. 1988, Spira 1991). Für den Mann mit eingeschränkter Fertilität ist in bezug auf Hyperthermie im wesentlichen die Frage von Bedeutung, ob die Arbeitsplatzbedingungen oder sein Lebensstil Ursache für eine Beeinträchtigung der Keimzellproduktion darstellen (Mieusset 1998). Arbeitsmedizinische Befunde wurden nur punktuell erhoben (Rachootin und Olsen 1983, Spira 1991). Über die Reduktion von Spermienquantität aufgrund erhöhter Umgebungstemperatur finden sich einige Untersuchungen, die sich z.B. mit Unterschieden in der Arbeits- und Schlaftemperatur (Laven et al. 1988), spezieller Unterwäsche (Robinson und Rock 1968) und Saunagängen (Procopé 1965) beschäftigen. Andere Arbeiten zeigen jedoch, daß keinerlei Effekte zu beobachten sind (Oldereid et al. 1992). Die von Mieusset et al. (1991) durchgeführten Experimente an jungen Männern mit Rückverlagerung der Hoden in die Peritonealhöhle erbrachten eine deutliche Verminderung der Spermienmenge, die in allen Fällen reversibel war. Diese Versuche sind in Zusammenhang mit der Diskussion um die Auswirkungen des Kryptorchismus auf die Keimzellreifung zu sehen.

Es gibt erste widersprüchliche Hinweise für eine Alteration des Paarungsverhaltens der Meiose-

chromosomen in den primären Spermatozyten der Maus nach Hyperthermie (Waldbieser und Chrisman 1986) und nach experimentellem Kryptorchismus der Ratte (Gamperl 1976). Aberrante Paarungsmuster der Meiosechromosomen sind als Ursache für Keimzell-differenzierungsstörungen bekannt (Johannisson et al. 1993, Johannisson und Winking 1994). In der vorliegenden Untersuchung sollte daher am Experimentalmodell der Ratte eine systematische Untersuchung zum Effekt der Hyperthermie auf das Verhalten der Chromosomen während der Prophase I der Meiose und auf die histologische Morphologie des Keimepithels geführt werden.

Material und Methoden

Experimentelles Design

Männliche Wistar-Ratten wurden einer erhöhten Raumtemperatur von 38°C ausgesetzt. Diese Temperatur wurde gewählt, da nach Hensel et al. (1973) Ratten diesen Grad an Erwärmungs-Temperatur bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 15% noch tolerieren*. Im Gegensatz zu den in der Literatur beschriebenen Versuchen mit lokaler Erwärmung mittels Wasserbädern, die auch bei deutlich höheren Temperaturen komplikationslos vertragen wurden, tolerierten die von uns verwendeten Tiere die erhöhte Raumtemperatur erst nach einer 5-tägigen Eingewöhnungsphase mit einer Wärmeeexposition von 8 Stunden täglich. In den Phasen zwischen der Hyperthermie wurden die Tiere bei einer normalen Raumtemperatur von 22°C gehalten. Aus diesen Voruntersuchungen resultieren folgende Versuchsgruppen: 1) Raumtemperatur 22°C – Kontrollgruppe 2) 8 Tage lang à 8 Stunden Wärmeeexposition, Untersuchung unmittelbar anschließend. 3) 5 Tage à 8 Stunden Wärmeeexposition, 7 Tage Dauerexposition, Untersuchung unmittelbar anschließend. 4) 5 Tage à 8

Fraxiparin 0,2; 0,3; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0

Wirkstoff: Nadroparin-Calcium. **Zu-**

sammensetzung: 1 ml Injektionslösung

enthält: 9.500 I.E. AXa Nadroparin-

Calcium (entsprechend 95-130 I.E.

AXa/mg). *Sonstige Bestandteile:* Calcium-

hydroxid/Salzsäure 10 % (zur pH

Einstellung), Wasser für Injektionszwecke.

Anwendungsgebiete: Perioperative Throm-

bioseprophylaxe: a) Peri- und postoperative

Primärprophylaxe tiefer Venenthrombosen bei

Patienten mit niedrigem oder mittlerem thrombo-

embolischem Risiko (z.B. Allgemeinchirurgie).

b) Peri- und postoperative Primärprophylaxe tiefer

Venenthrombosen bei Patienten mit hohem thrombo-

embolischem Risiko (z. B. orthopädische Chirurgie,

wie z.B. Hüftersatzchirurgie). Therapie tiefer

Venenthrombose. Thromboseprophylaxe und Ger-

innungshemmung bei extrakorporalem Kreislauf

während der Hämodialyse und

Hämofiltration. **Gegenanzeigen:**

Überempfindlichkeit gegen

Nadroparin-Calcium und/oder Heparin, aktuelle oder

aus der Anamnese bekannte heparinassozierte

Thrombozytopenie (Typ II), akute Magen-Darm-

Geschwüre, zerebrale Blutungen und zerebrales

Aneurysma, schwere Gerinnungsstörungen (hämorr-

hagische Diathese, Mangel an Gerinnungsfaktoren,

schwere Thrombozytopenie), schwerer unkontrollier-

barer Bluthochdruck, schwere Beeinträchtigung

der Leberfunktion, schwere Beeinträchtigung

der Nierenfunktion bei Patienten, die nicht wegen Hämo-

dialyse behandelt werden, akute infektiöse

Endokarditis, Verletzungen und operative Eingriffe

am Zentralnervensystem sowie am Auge und Ohr,

intraokulare Blutungen oder andere aktive

Blutungsprozesse, Retinopathien, Glaskörper-

blutungen, Abortus imminens, bei der Behandlung

von tiefer Venenthrombose: Regionalanästhesie.

Nebenwirkungen: Bei etwa 3 % der prophylaktisch

behandelten Patienten traten Nebenwirkungen auf.

Häufig (> 1 %): Allgemein: Subkutane Hämatome an

der Injektionsstelle. Offene oder versteckte

Blutungskomplikationen (insbesondere an Haut,

Schleimhäuten, Wunden sowie im Bereich des

Gastrointestinal- und Urogenitaltraktes). Anstieg der

Serum-Kalium-Konzentration. Anstieg der Amino-

transferase-, Gamma-GT-, LDH- und Lipase-Kon-

zentration. Gelegentlich (> 0,1 % und < 1 %): Leichte,

vorübergehende Thrombozytopenie (Typ I). Selten

(< 0,1 %): Allgemein: allergische Reaktionen mit

Symptomen wie Übelkeit, Erbrechen, Temperatur-

anstieg, Kopfschmerzen, Urtikaria, Pruritus, Dyspnoe,

Bronchospasmen, Blutdruckabfall; Hautnekrosen an

der Injektionsstelle, anaphylaktoide Reaktionen,

anaphylaktischer Schock, vorübergehender Haar-

ausfall, Antikörper-vermittelte schwere Thrombozy-

topenie (Typ II). Endokrines System: reversibler Hypo-

aldosteronismus. Leber: Transaminasenanstieg auf

das 3- bis 5fache des Normalwertes, normalerweise

vorübergehend. Fälle von Priapismus wurden

berichtet. Fälle von schweren unerwünschten

Arzneimittelwirkungen, wie z. B. intrakranielle

Blutungen und Augenblutungen, wurden ebenfalls

berichtet. Peridurale Blutungen im Lumbalbereich

nach Katheter-Spinalanästhesie, die zu Paraplegie

führten, wurden beobachtet. **Hinweis:** Kontrollen der

Thrombozytenzahl sollten regelmäßig durchgeführt

werden (siehe Gebrauchsinformation). **Packungs-**

größen: Jeweils Packungen mit 10 Fertigspritzen für

Fraxiparin 0,2; 0,3; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; Packung mit

20 Fertigspritzen für Fraxiparin 0,3; Klinikpackungen.

Verschreibungspflichtig. Stand: August 1997.

SANOFI WINTHROP GmbH, 80323 München

sanofi

GRÜNER WIRD'S NICHT!

Fraxiparin® macht dem Fortschritt Beine.

- Postoperative Hochrisiko-Prophylaxe.
- Therapie tiefer Beinvenenthrombosen.
- Gerinnungshemmung bei Hämodialyse und Hämofiltration.

Fraxiparin® 0,3 – die Basis für den Fortschritt.

- Standard in der postoperativen Thromboembolie-Prophylaxe.

Fraxiparin®

Das Menschenmögliche

Stunden Wärmeexposition, Dauerexposition für 7 Tage, anschließend Raumtemperatur von 22°C für 2 Wochen. 5) 5 Tage à 8 Stunden Wärmeexposition, 7 Tage Dauerexposition, anschließend Raumtemperatur von 22°C für 4 Wochen (Abb. 2).

*Die Genehmigung der Versuche erfolgte durch das Ministerium für Natur und Umwelt des Landes Schleswig-Holstein am 28. Mai 1992.

Histologische Aufarbeitung

Das entnommene Hodengewebe wurde zur histologischen Untersuchung gemäß den Standardmethoden des Institutes für Pathologie aufgearbeitet (Paraffineinbettung, Färbung mit HE).

Elektronenmikroskopische Aufarbeitung

Die Darstellung der Meiosechromosomen der Prophase I erfolgte mittels einer Oberflächenspreitung. Hierbei werden die Keimzellen auf einer hyperosmolaren

Lösung zum „Platzen“ gebracht, so daß die Kerninhalte freigesetzt werden können. Das Material wird mit Optilux-beschichteten EM-Grids aufgenommen, anschließend fixiert und kontrastiert, wodurch die Proteinstruktur der Synaptonemalen Komplexe (SC) zur Darstellung kommt. Die Geschlechtschromosomen lagern sich in Pachytän und Diplotän zu charakteristischen Formationen zusammen, die nach Joseph und Chandley (1984) in sieben unterschiedliche Stadien eingeteilt werden (Abb. 3).

Statistik

Die statistische Auswertung erfolgte mittels des Chi²-Tests.

Ergebnisse

Testikuläre Histologie

Die Präparate wurden auf die Anwesenheit aller Stadien des Spermatogenesezyklus hin untersucht (nach Clermont 1972, s. Abb. 1). Verwendet wurden nur orthogonal angeschnittene Tubuli. Die Histologie der Kontrollgruppen wies Samenkanälchen mit einem Durchmesser von 250-350 µm auf. Pro Schnitt waren 200 Kanälchen zu erkennen, wobei die Zahl der quer-

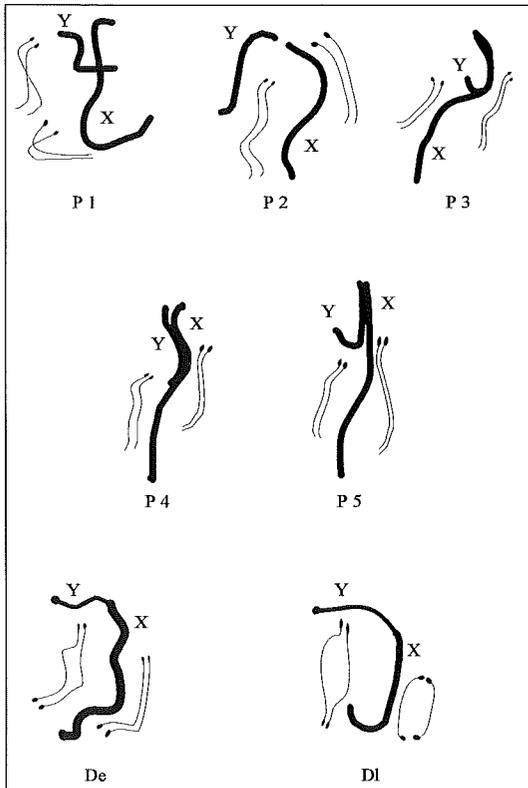
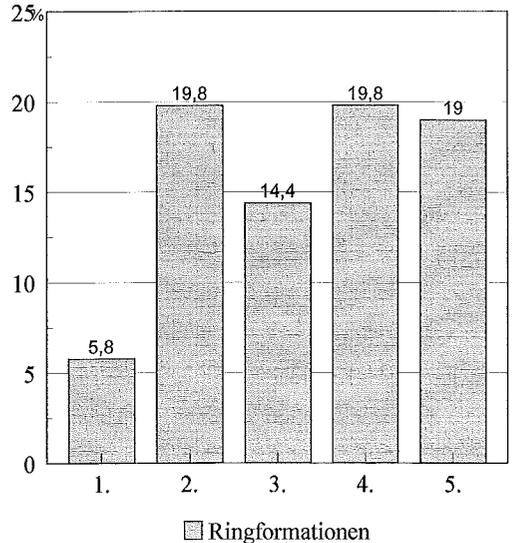


Abb. 3: Pachytän und Diplotänstadien der Geschlechtschromosomen nach Joseph und Chandley (1984). Autosomale Bivalente als zarte Strukturen dargestellt. P1-P5 bezeichnen die einzelnen Pachytänstadien mit zunächst noch Univalenten, dann zunehmender Paarung bis zur vollständigen Paarung (P4), De und Di frühes und spätes Diplotän.



- 1.: Kontrollgruppe
- 2.: Intervallbehandlung
- 3.: Dauerbehandlung, Untersuchung sofort
- 4.: Dauerbehandlung, Untersuchung nach einer Woche
- 5.: Dauerbehandlung, Untersuchung nach einem Monat

Abb. 4: Prozentualer Anteil der XY-Ringformationen pro Versuchsgruppe

getroffenen Tubuli unterschiedlich groß war. In der Regel betrug ihre Zahl 60. Im Interstitium fanden sich Bindegewebe, Leydigische Zwischenzellen und kleine Blutgefäße. Der Aufbau des Keimepithels variierte in den verschiedenen Tubuli bezüglich der unterschiedlichen Stadien des Zellzyklus in Abhängigkeit von Tubulusanschnitten (Abb. 5, 6). Die testikulären Präparate der vier Versuchsgruppen wurden nach den gleichen Kriterien wie die Kontrollgruppen untersucht: hierbei wurde insbesondere auf die Zahl der Spermatisden und Spermien, die eventuelle Abflachung des Keimepithels und Vermehrung des umgebenden Bindegewebes geachtet. Die vier Versuchsgruppen wiesen in der testikulären Histologie keinen Unterschied zu den Kontrollen auf. Dies bedeutet, daß weder unmittelbar nach der Hyperthermie noch vier Wochen nach Beendigung der Wärmeexposition eine Veränderung in der Morphologie des Keimepithels bzw. der Hodenhistologie zu beobachten war.

Meiosechromosomen

Im Spreitungspräparat der primären Spermatozyten der Ratte stellen sich 20 Autosomen-Bivalente und ein Geschlechtschromosomenpaar dar (Abb. 7). Insgesamt wurden 948 Kerne mit jeweils 21 Synaptonemalen Komplexen ausgewertet. Die Autosomen lagen vollständig gepaart vor, während die Gonosomen nur im pseudoautosomalen Bereich gepaart erschienen. Die übrigen Segmente des X- und des Y-Chromosoms sind in der Regel ungepaart und weisen eine Verdickung des lateralen Elementes auf. Während des Pachytäns bis hin zum Diplotän durchläuft die Paarungskonfiguration einen charakteristischen Formwandel (Abb. 3).

Eine besonders auffällige Konfiguration der Geschlechtschromosomen stellen die Ringassoziationen dar. In den früher Pachytän-Stadien P1-2 werden keine Ringbildungen beobachtet (Abb. 8). In den Stadien P3 und P5 nach Joseph und Chandley (1984) lassen sich prinzipiell zwei verschiedene Formen unterscheiden (Abb. 3): zum einen kann es zu einer Anlagerung des langen Armes des X Chromosoms an den gemeinsamen Endpunkt der kurzen Arme von X und Y Chromosomen kommen (pseudoautosomaler Bereich), zum anderen kommt es zu einer endständigen Paarung beider Arme (Abb. 9).

Bei der Auswertung der SC-Strukturen wurde besonders auf Brüche und Fehl- bzw. Nichtpaarungen geachtet. Diese Alterationen traten in keinem nennenswerten Maß auf. Es zeigten sich bei den vier Versuchsgruppen keine Veränderungen im Vergleich zur Kontrollgruppe. Ausgenommen hiervon war die Häufigkeit der sog. Ringbildung der Gonosomen. Die Frequenz dieser Ringbildung wurde durch die Hyperthermiebehandlung signifikant verändert. Während in der Kontrollgruppe eine Häufigkeit von ca. 5,6% zu beobach-

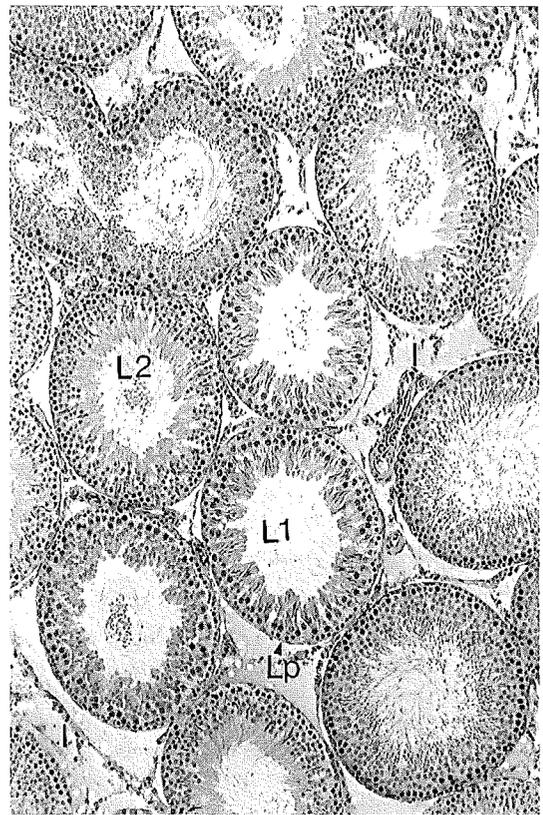


Abb. 5: Hodenhistologie. Übersichtsaufnahme. Untersuchung eine Woche nach Wärmeexposition. Die Zusammensetzung des Keimepithels zeigt keine Veränderungen gegenüber der Kontrollgruppe.

L1=Tubuluslumen ohne Spermien. L2=Tubuluslumen mit Spermien. Lp=Lamina propria. I=Interstitielles Bindegewebe. Vergrößerung des Originalbildes: 220x

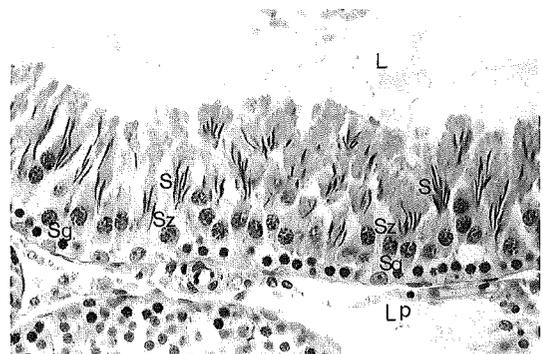


Abb. 6: Samenkanälchen. Detailaufnahme. Untersuchung direkt nach Wärmeexposition. L: Tubuluslumen ohne Spermien. Lp=Lamina propria. Sg=Spermatogonien. Sz=Spermatozyten. S=Spermatiden. Vergrößerung des Originalbildes: 1100x

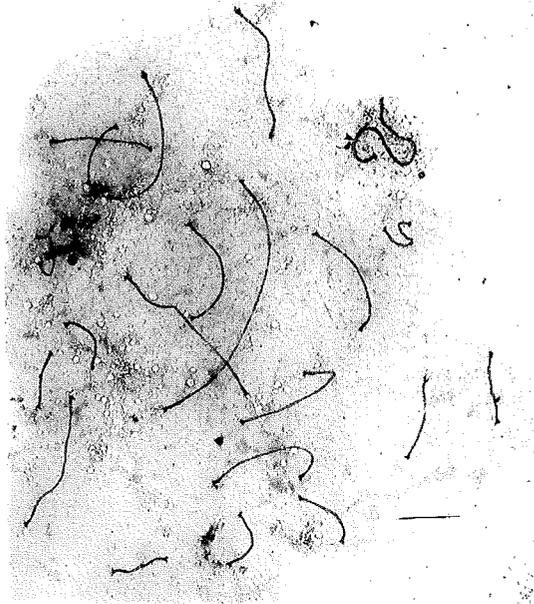


Abb. 7: Übersicht über einen vollständigen Pachytänern mit 20 Autosomen und einem Geschlechtschromosomenpaar. Stadium P4 nach Joseph und Chandley (1984). Pfeilkopf=Paarungzone von X und Y. Sternchen=das Y-Chromosom erscheint nur in einem sehr kurzen Segment ungepaart. Maßstab=4 μ m

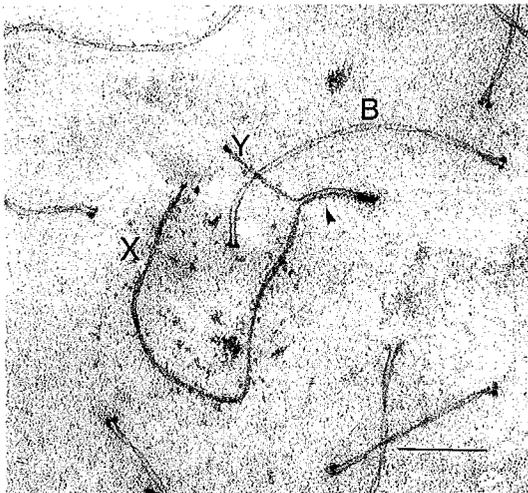


Abb. 8: Geschlechtschromosomen im Pachytän. Stadium P3/P5 nach Joseph und Chandley (1984). Die lateralen Elemente des SC-Abschnittes sind im Gegensatz zu den ungepaarten Bereichen nicht verdickt. Kleine Granula finden sich in unmittelbarer Nachbarschaft zu den ungepaarten Segmenten. Pfeilkopf=Paarungzone. B=autosomales Bivalent vom Y-Chromosom überlappt. Maßstab=20 μ m.

ten war, so fanden sich in den Versuchsgruppen Frequenzen von ca. 16% bis nahezu 20% (Abb. 4).

Diskussion

Die überwiegende Zahl der experimentellen Hyperthermie-Fertilitäts-Studien nutzt die Methode einer lokalen Applikation durch warme Bäder bei Nagetieren (Bowler 1967, Fahim et al. 1975, Reid et al. 1981, Lebovitz und Johnson 1987, De Vita et al. 1990, Gasinska und Hill 1990, Loughlin et al. 1991). So werden nach einmaliger Wärmeexposition von lediglich 15 Min. in einem Wasserbad von 43°C bei Long-Evans Ratten bereits eine Stunde nach Abschluß der Wärmebehandlung histologische Veränderungen beschrieben (Chowdhury und Steinberger 1964, 1970). Die bei diesen unphysiologischen experimentellen Bedingungen auftretenden Veränderungen sind in unserer Studie mit erhöhter Raumtemperatur nicht zu finden.

Prinzipiell ergeben sich mehrere Erklärungsansätze für das Fehlen von derartigen histopathologischen Veränderungen: verschiedene Rattenstämme sind möglicherweise unterschiedlich empfindlich für Wärmeeinflüsse. Für unsere Versuche wurden Wistar-Ratten ausgewählt, die als besonders robuste Tiere bekannt sind. In den Hyperthermieversuchen der Literatur wurden vor allem Sprague-Dawley und Long-Evans Ratten ohne spezifische Begründung verwendet (Chowdhury und Steinberger 1964 und 1970, Pucak et al. 1977, Lebovitz und Johnson 1987, Loughlin et al. 1991). Bei Wistar-Ratten könnte es sich demnach um besonders hitzeempfindliche Tiere handeln. Dem steht jedoch entgegen, daß die Wistar-Ratten die erhöhten Temperaturen für länger als 8 Stunden nicht spontan tolerierten, sondern erst über mehrere Tage eingewöhnt werden mußten.

Ein weiterer Erklärungsansatz könnte darin liegen, daß die allmähliche Gewöhnung der Tiere an die Temperatur von 38°C zu einer Adaptation an die veränderten Umweltverhältnisse führte. Epidemiologische Untersuchungen an Ratten in wärmeren Regionen der Erde, die Informationen über Langzeitwirkungen von erhöhten Temperaturen auf das Hodengewebe der Tiere ergeben könnten, sind nicht bekannt, jedoch werden bei anderen Vertebraten, z.B. den Känguruhs in Australien, in Zusammenhang mit erhöhten Sommertemperaturen mit Werten zwischen 32 und 45°C, Atrophien des Hodengewebes beschrieben (Newsome 1973). Entsprechende histologische Befunde finden sich – jedoch ohne Angabe über die Temperaturhöhe – auch bei Antilopen in Südafrika (Skinner 1971). Diese Beobachtungen stehen der These einer Adaptation der Ratte hinsichtlich der Keimzellendifferenzierung entgegen, jedoch sind die Beobachtungen zum Einen sporadisch und zum Anderen nur ungenügend oder gar nicht kausal analysiert. Eine physiologisch normale Adaptation der

Ratten in den vorliegenden Versuchen an die erhöhte Umgebungstemperatur könnte somit durchaus die fehlenden histologischen Veränderungen erklären.

Es ist zu vermuten, daß Hyperthermie und damit korrelierte veränderte Stoffwechselfvorgänge Einfluß auf die Meiose nehmen. Die beobachtete erhöhte „stickiness“ ungepaarter Chromosomensegmente der Geschlechtschromosomen, die per se zu einer Assoziation neigen, weist darauf hin. Fiorenza und Mangia (1992) konnten zeigen, daß aufgrund von Hyperthermie die Bivalenttrennung in der Metaphase I in Maus-Oozyten behindert wird. Die Autoren vermuten die Ursache in einer Dysfunktion eines thermolabilen Faktors, der in der normalen Segregation eine Rolle spielt. Wenn hier auch ein gegenläufiger Prozeß zu erkennen ist, durch den die Segregation unterbunden und nicht eine vermehrte Adhäsion induziert wird, zeigt dies doch, daß Hyperthermie bei chromosomalen Paarungsprozessen

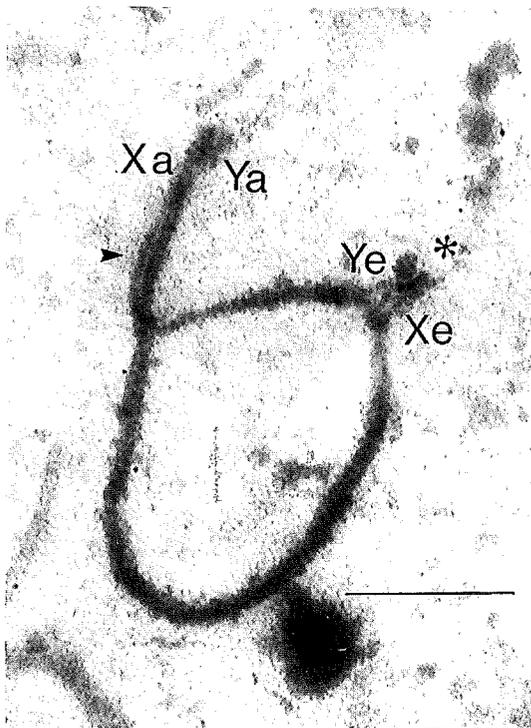


Abb. 9: Ringformation der Geschlechtschromosomen im Pachytän. Stadium P3/P5 nach Joseph und Chandley (1984). Es läßt sich nicht mit Sicherheit bestimmen, welche Bereiche der gepaarten Region bzw. der Assoziationszone zuzuordnen sind. Pfeilkopf= wahrscheinliche Paarungsregion. Sternchen=vermutete Assoziationszone. Ya, Ye=Beginn und Ende des Y-Chromosoms (oder vice versa). Xa, Xe=Beginn und Ende des X-Chromosoms (oder vice versa). Maßstab=2 µm.

einen Einfluß nehmen kann. Die z.T. fragmenthaften und widersprüchlichen Befunde von Garriot und Chrisman (1980) und Waldbieser und Chrisman (1986) sollen hier nur am Rande erwähnt werden, die bei der Maus, mit intraperitoneal gelegenen Hoden, nach Wärmeexposition durch Raumtemperaturerhöhung die Bildung von Univalenten zeigen.

Die Voraussetzung einer regelrechten Paarung der Geschlechtschromosomen für den Ablauf der Meiose wird häufig diskutiert (Miklos 1974, Burgoyne und Baker 1984, Burgoyne und Mahadevaiah 1993, Hale 1994). Dabei wird die Notwendigkeit einer XY Paarung innerhalb der „pseudoautosomalen Region“ der Chromosomen für den weiteren Ablauf der Spermatogenese gefordert. Bei Vorliegen einer regelhaften Paarung im pseudoautosomalen Bereich, wie dies in der vorliegenden Studie der Fall ist, ist zwar ein Fortschreiten der Meiose möglich, jedoch könnte die sekundäre Assoziation der Ringbildung zu Chromosomenfehlverteilungen führen. Neben dieser Erklärungsmöglichkeit bietet sich eine gänzlich andere Ursache für diese Beobachtung an. Meistrich et al. (1973) beobachteten bei unveränderter Hodenhistologie Veränderungen in der Keimzellkinetik. Die von ihnen gezeigte Beschleunigung der Spermatozyten-Differenzierung könnte die „Mioseuhr“ (Goldmann et al. 1992, Johannisson et al. 1996) aus dem Takt bringen und verantwortlich für aberrantes Paarungsverhalten der Pachytänchromosomen sein.

Die Analyse experimenteller Wärmeexposition des Mannes beschränkte sich in der Regel auf die Untersuchung der Spermienparameter, auch wenn im Rahmen ethisch abzulehnender Versuche in China nach Mikrowellenbehandlung über z.T. 10 Jahre neben einer Bestimmung der Spermienqualität ebenfalls testikuläre Biopsien untersucht wurden (Liu et al. 1991). Der drastischen Abnahme der Spermienzahl bis auf 0,02 Mill./ml folgte ca. 1,5 Jahre nach Beendigung der Versuche eine Normalisierung der Spermienzahl. Eine Restitution der Spermienzahlen fand sich ebenfalls nach vorübergehender Abnahme z.B. nach Saunagängen (Procopé 1965, Brown-Woodman et al. 1984) und heißen Vollbädern (Rock und Robinson 1965).

In Zusammenhang mit Hyperthermie wird Kryptorchismus als Ursache gestörter Spermatogenese diskutiert, wiewohl der causale Nachweis einer erhöhten Temperatur als auslösender Faktor bislang nicht geführt wurde. Bei experimentellem Kryptorchismus der Ratte zeigte Gamperl (1976) sowohl kompletten Spermatogenese-arrest als auch eine gestörte Meiose. Miousset et al. (1991) verlagerten bei freiwilligen Männern die Hoden in die Peritonealhöhle zurück und heilten sie durch eine extrakorporale Befestigung im Leistenkanal. Nach drastischer Verminderung der Spermienzahl fand sich nach 6-8 Monaten wieder eine

normale Situation. Angesichts der Diskussion, ob bei der um das 15- bis 20fach erhöhten Inzidenz von Hodentumoren bei kryptorchchen Männern eine erhöhte Temperatureinwirkung auf die Keimzellen der auslösende Faktor sei, erscheinen derartige experimentelle Untersuchungen sehr fragwürdig.

In diesem Zusammenhang sind die Befunde von Bronson und Heidemann (1993) aufschlußreich, die bei zwei skrotalen Nagetieren, der in Äquatornähe lebenden Bambusratte und der in gemäßigten Breitengraden lebenden Weißfußmaus (zu den Mäuseartigen gehörend), experimentell Kryptorchismus erzeugten. Nahezu alle Bambusratten zeigten eine normale Spermatohistogenese, während die Weißfußmäuse einen kompletten Spermatogenesearear aufzeigten. Diese relative Unempfindlichkeit der Bambusrattenhoden gegen Temperaturerhöhung spiegelt nach Ansicht der Autoren wohl die Verhältnisse der meisten scrotum-tragenden Säuger wieder, die überwiegend in den Tropen leben. Dies stellt das generelle Konzept des „kühlen“ Hodens in Frage, zumal wenn man berücksichtigt, daß bei Walen und Elefanten die Hoden im Leistenkanal bzw. in der Bauchhöhle verbleiben (Weinbauer et al. 1996), damit der Körperkerntemperatur ausgesetzt sind, und dennoch eine normale Spermatogenese zeigen.

Die hier nur angedeutete Vielzahl von unterschiedlichen und auch widersprüchlichen Befunden sowohl experimenteller als auch epidemiologischer Erhebung spiegelt z.T. möglicherweise auch die Breite biologischer Möglichkeiten wieder. Betrachtet man die am Manne erhobenen Daten und Vermutungen, so läßt sich die für den Menschen/Patienten wichtige Frage nach dem Effekt der Hyperthermie auf seine Spermatohistogenese und damit Spermienproduktion u.E. nach keineswegs beantworten. Bislang ist z.B. nicht nachgewiesen, daß der Lebensstil tatsächlich eine Erhöhung der Skrotaltemperatur zur Folge hat (Mieusset 1998). In einer neueren Studie konnte keine Auswirkung von ausdauerndem Sitzen, regelmäßigem Saunabesuch, eng anliegender Unterwäsche und heißer Bäder auf die Spermienmenge bzw. -qualität gezeigt werden (Olde-veid et al. 1992).

Wie problematisch jedoch die Wertung und ein Vergleich derartiger Studien zur Hyperthermie ist, zeigt die Diskussion um die Frage, ob die Spermienqualität des Mannes abnimmt, sich nicht verändert oder sich sogar verbessert (Carlsen et al. 1992, Olsen et al. 1995). Aufgrund analytischer und methodischer Fehler der Studien sind wahrscheinlich die Aussagen zu dem Thema unzureichend; erst eine zuverlässige, kontrollierte andrologische Labordiagnostik im Sinne der „evidence-based medicine“ wird gesicherte Analysen und Prognosen gestatten (Lerchl und Nieschlag 1996).

Wenn auch die zahlreichen Arbeiten zur Hyperthermie widersprüchlich sind, so stellen sich für den Infertilitätspatienten bzw. den Mann mit Kinderwunsch die Fragen, ob eine Arbeitsplatzsituation oder/und generell der Lebensstil eine Hyperthermie des Hodengewebes mit der Konsequenz einer verminderten oder gar fehlenden Keimzellproduktion hervorrufen können. Wenn auch beide Fragen nicht klar beantwortet werden können, sollten die Faktoren nichtsdestotrotz bei einer Beratung erwogen werden.

Unabhängig von diesen Überlegungen sind die Befunde zur Änderung des Paarungsverhaltens der Meiose-Geschlechtschromosomen als ein Phänomen der exogenen Wärmeeinwirkung in Erwägung zu ziehen als eine subtile Veränderung, die mit den üblichen Fertilitätsparametern nicht erfaßt werden kann. Wenn auch die Übertragung von tierexperimentellen Befunden auf den Menschen mit aller Vorsicht erfolgen muß, stellt die Hyperthermie als Ursache für das veränderte Paarungsverhalten der Geschlechtschromosomen in der Meiose eine Alteration in der Phase der genetischen Rekombination dar, als deren Konsequenz eine erhöhte Malsegregation der Geschlechtschromosomen in Erwägung gezogen werden muß.

Danksagung

Wir danken Herrn Prof. Dr. D. J. De Rooij, Department of Biology der Universität Utrecht, für die vergleichende Begutachtung der Hodenhistologien. Herrn Dr. H. M. Teichert, Institut für Mathematik der Medizinischen Universität zu Lübeck, sind wir für die Mithilfe bei der statistischen Auswertung sehr dankbar.

Literatur

1. Bowler K, The effect of repeated temperature applications to testis on fertility in male rats. *J Reprod Fertil* 1967; 14: 171-173.
2. Bronson FH, Heidemann PD. Failure of cryptorchidism to suppress fertility in a tropical rodent. *Biol. Reproduct* 1993; 48: 1354-1359.
3. Brown-Woodman PDC, Post EJ, Gass GC, White IG. The effect of a single sauna exposure on spermatozoa. *Arch Androl* 1984; 12: 9-15.
4. Burgoyne PS, Baker TG. Meiotic pairing and gametogenic failure. In: Evans CW, Dickinson HG eds. 1984: *Controlling Events in Meiosis*, Company of Biologists, Cambridge: 349-362.
5. Burgoyne PS, Mahadevaiah SK. Unpaired sex chromosomes and gametogenic failure. *Chromosomes Today* 1993; 11: 243-263.
6. Carlsen E, Giwercman A, Keiding N, Skakkebaek N. Effects of multiple ejaculations after extended periods of sexual abstinence on total, mobile and normal sperm numbers, as well as accessory gland secretions, from healthy normal and oligospermic men. *BMJ* 1992; 305: 609-613.
7. Chowdhury AK, Steinberger E. A quantitative study of the effect of heat on germinal epithelium of rat testis. *Am J Anat* 1964; 115: 509-524.

8. Chowdhury AK, Steinberger E. Early changes in the germinal epithelium of rat testis following exposure to heat. *J Reprod Fertil* 1970; 22: 205-212.
9. Clermont Y. Kinetics of spermatogenesis in mammals: Seminiferous epithelium cycle and spermatogonial renewal. *Physiol Rev* 1972; 52: 198-236.
10. DeVita R, Calugi A, Chiararano C, Forte D, Mauro F, Uccelli R. Effects of heat on mouse spermatogenesis monitored by flow cytometry. *Int J Hyperthermia* 1990; 6;:543-551.
11. Fahim MS, Fahim Z, Der R, Hall DG, Harman J. Heat in male contraception (hot water 60°C, infrared, microwave and ultrasound). *Contraception* 1975; 11: 549-562.
12. Fiorenza MT, Mangia F. Hyperthermia specifically inhibits bivalent chromosome disjunction in maturing mouse oocytes. *Biol Reprod* 1992; 46: 658-664.
13. Gamperl R. Auswirkungen der Abdominaltemperatur auf die Meiose der männlichen Ratte (*Rattus norvegicus*). *Zool J Physiol* 1976; 80: 184-207.
14. Garriott ML, Chrisman CL. Hyperthermia induced dissociation of the X-Y bivalent in mice. *Environ Mutagen* 1980; 2: 465-471.
15. Gasinska A, Hill S. The effect of hyperthermia on the mouse testis. *Neoplasma* 1990; 37: 357-366.
16. Goldman ASH, Martin RH, Johannisson R, Gould CP, Davison EV, Burn J, Hultén MA. Meiotic and sperm chromosome analysis in a male carrier of an inverted insertion (3; 10)(q13.2;p14p13). *J Med Genet* 1992; 29: 460-464.
17. Hale DW. Is X-Y recombination necessary for spermatocyte survival during mammalian spermatogenesis? *Cytogenet Cell Genet* 1994; 65: 278-282.
18. Hensel H, Brück K, Raths P. Temperature limits of life: Limits of regulation in heat. In: Precht H, Christophersen J, Hensel H, Larcher W eds. 1973: *Temperature and life*, Springer, Berlin, Heidelberg New York: 651-654.
19. Johannisson R, Winking H. Synaptonemal complexes of chains and rings in mice heterozygous for multiple Robertsonian translocations. *Chromosome Res* 1994; 2: 137-145.
20. Johannisson R, Ocker H, Mörmel R. Effekte von Noxen auf die Chromosomenpaarung während der Meiose. Der Synaptonemal Komplex als in-vivo-assay. *Fertilität* 1996; 12: 152-163.
21. Joseph AM, Chandley AC. The morphological sequence of XY pairing in the norway rat *Rattus norvegicus*. *Chromosoma* 1984; 89: 381-386.
22. Laven JSE, Haverkorn MJ, Bots RSGM. Influence of occupation and living habits on semen quality in man (scrotal insulation and semen quality). *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1988; 29: 137-141.
23. Lebovitz RM, Johnson L. Acute, whole-body microwave exposure and testicular function of rats. *Bioelectromagnetics* 1987; 8: 37-43.
24. Lerchl A, Nieschlag E. Gibt es eine Spermienkrise? *Dtsch. Ärztebl.* 1996; 93: B-1936-1939.
25. Levine RJ, Bordson BL, Mathew RM, Brown MH, Stanley JM, Starr TB. Deterioration of semen quality during summer in New Orleans. *Fertil Steril* 1988; 49: 900-907.
26. Liu YH, Li XM, Zou RP, Li FB. Biopsies of human testes receiving multiple microwave irradiation: An histological and ultramicroscopical study. *J Bioelectricity* 1991; 10: 213-230.
27. Loughlin KR, Manson K, Foreman R, Schwartz B, Heuttner P. The effect of intermitted scrotal hyperthermia on the sprague-dawley rat testicle. *Adv Exp Med Biol* 1991; 286: 183-185.
28. Meistrich ML, Eng VWS, Loir M. Temperature effects on the kinetics of spermatogenesis in the mouse. *Cell Tissue Kinet* 1973; 6: 379-393.
29. Mieuisset R, Bujan L, Mansat A, Grandjean H, Pontonnier F. Heat induced inhibition of spermatogenesis in man. *Adv Exp Med Biol* 1991; 286: 233-237.
30. Mieuisset R. Influence of lifestyle on male infertility, potential testicular heating factors. *Middle East Fertility Society J* 1998; 3. suppl 1: 40-45.
31. Miklos GLG. Sex-chromosome pairing and male fertility. *Cytogenet Cell Genet* 1974; 13: 558-577.
32. Newsome AE. Cellular degeneration in the testis of Red Kangaroos during hot weather and drought in central Australia. *J Reprod Fert* 1973; suppl 19: 191-201.
33. Oldereid NB, Rui H, Purvis K. Life styles of men in barren couples and their relationship to sperm quality. In *J Fertil* 1992; 37: 343-349.
34. Olsen GW, Bodner KM, Ramlow JM, Ross CE, Lipshultz LI. Have sperm counts been reduced 50 percent in 50 years? a statistical model revisited. *Fertil Steril* 1995; 63: 887-893.
35. Procopé BJ. Effect of repeated increase of body temperature on human sperm cells. *Int J Fertil* 1965; 10: 333-339.
36. Pucak GJ, Lee CS, Zaino AS. Effects of prolonged high temperature on testicular development and fertility in the male rat. *Lab Anim Sci* 1977; 27: 76-77.
37. Rachootin P, Olsen J. The risk of infertility and delayed conception associated with exposures in the Danish workplace. *J Occup Med* 1983; 25: 394-402.
38. Reid BO, Mason KA, Withers HR, West J. Effects of hyperthermia and radiation on mouse testis stem cells. *Cancer Res* 1981; 41: 4453-4457.
39. Robinson D, Rock J. Intrasrotal hyperthermia induced by scrotal insulation: Effect on spermatogenesis. *Obstet Gynecol* 1967; 29: 217-223.
40. Rock J, Robinson D. Effect of induced intrascrotal hyperthermia on testicular function in man. *Am J Obstet Gynecol* 1965; 93: 793-801.
41. Skinner JD. The effect of season on spermatogenesis in some ungulates. *J Report Fert* 1971; suppl 13: 29-37.
42. Spira A. Epidemiologic aspects of the relationship between temperature and male reproduction. *Adv Exp Med Biol* 1991; 286: 49-56.
43. Waldbieser GC, Chrisman CL. X-Y chromosome univalency in the testes of hyperthermic mice: II. Light and electron microscopic analysis of synaptonemal complexes. *Gamete Res* 1986; 15: 259-265.
44. Weinbauer GE, Gromoll J, Simoni M, Nieschlag E. Physiologie der Hodenfunktion. In: *Andrologie* (Nieschlag E, Behre HM, Eds.), pp 27-61.
45. Zorogniotti AW, MacLeod J. Studies in temperature, human semen quality and varicocele. *Fertil Steril* 1973; 24: 854-863.

Rationelle Therapie bei unerfülltem Kinderwunsch aus gynäkologischer Sicht

R. Felberbaum, K. Diedrich

Einleitung

Die Zahl unfruchtbarer Paare hat in den vergangenen Jahren zugenommen und wird auf 15-20% aller Paare mit bestehendem Kinderwunsch geschätzt. In Deutschland geht man inzwischen von mehr als 1,5 Millionen ungewollt kinderlosen Paaren aus. Die Ursachen für die steigende Unfruchtbarkeit sind vielfältig und teilweise umstritten. Diskutiert werden schädliche Umwelteinflüsse, insbesondere die hohe Belastung an Schadstoffen, aber auch die veränderten Lebensgewohnheiten. So wird bei vielen Frauen die Erfüllung des Kinderwunsches in eine spätere Lebensphase gelegt, so daß die Sterilität begünstigende Faktoren (z.B. Entzündungen) über einen längeren Zeitraum wirksam werden können und zum anderen auch die altersbedingte Fruchtbarkeitsminderung ins Gewicht fällt.

Dabei ist die Ursache für die Sterilität in 40-50% bei der Frau und in 35-40% beim Mann zu suchen. Bei 10-15% bleibt die Ursache der Sterilität ungeklärt, so daß von einer idiopathischen Sterilität gesprochen werden muß. Bei den sterilen Frauen stehen mit 35-40% die ovariellen Funktionsstörungen an der Spitze, in 30-40% liegen tubare Ursachen vor. Zervikale (7-10%), vaginale (7%) und uterine Ursachen (10%) stehen deutlich zurück. Immer stellt jedoch die ungewollte Kinderlosigkeit einen Krankheitszustand des betroffenen Paares dar. Beide Partner müssen daher von Anfang an in die Untersuchungen miteinbezogen werden.

Therapie der ovariellen Funktionsstörungen

Ziel der Behandlung ist der ovulatorische, biphasische Zyklus mit nachfolgender Schwangerschaft. Die Therapie soll effektiv, sicher und kostengünstig sein und die Patientin wenig belasten. Daher muß sie soweit wie möglich individualisiert und auf die einzelne Patientin abgestellt werden. Voraussetzung für den sinnvollen und wirksamen Einsatz der zahlreichen zur Verfügung stehenden Medikamente, die der ovariellen Stimulation und Ovulationsinduktion dienen, ist daher die klare Indikationsstellung, die auf einer gezielten Diagnostik zu beruhen hat.

Die zyklische Funktion des Ovars der erwachsenen Frau ist eingebettet in den Regelkreis der Organsysteme von Hypothalamus, Hypophyse und Ovar. Dabei

sezerniert der Hypothalamus als übergeordnete Organstruktur das in seinen mediobasalen Anteilen gebildete Gonadotropin-Releasing-Hormon (GnRH), welches über das Pfortadersystem der Adenohypophyse zu den gonadotropen Zellen gelangt und hier den gleichfalls pulsatilem Ausstoß der Gonadotropine Follikel Stimulierendes Hormon (FSH) und Luteinisierendes Hormon (LH) initiiert. Diese wiederum steuern Follikelreifung und Sexualsteroidbiosynthese in den Ovarien. Nach Erreichen einer maximalen Östradiolkonzentration zwischen 150 und 500 pg/ml unmittelbar präovulatorisch bewirkt der positive „Feed back“ Mechanismus eine massive LH-Freisetzung aus der Hypophyse. Dieser LH-Peak löst die Ovulation aus, die etwa 10-12 Stunden nach dem LH-Maximum eintritt. Er induziert somit die Bildung des Corpus luteum, die im Anstieg des Progesterons zum Ausdruck kommt. Störungen und störende Einflüsse können an jeder Stelle dieses Regelwerkes auftreten bzw. einwirken und sich klinisch in einem breiten Spektrum von Symptomen zwischen der azyklischen Amenorrhoe und dem normalen ovulatorischen Zyklus äußern. Als ausgesprochen hilfreich für die strukturierte diagnostische Untersuchung einer sterilen Patientin und für die Einordnung einer erkannten ovariellen Störung hat sich die „Therapieorientierte Klassifikation der anovulatorischen Ovarialinsuffizienz“ nach Lunenfeld, Insler und Glezerman (1992) erwiesen.

Hyperprolaktinämie

Die Bestimmung des Prolaktins im Serum gehört an den Anfang der Diagnostik direkt nach der klinischen Untersuchung. 75% aller Frauen mit Galaktorrhoe und 15% aller Frauen mit Zyklusstörungen weisen unterschiedliche Grade der Hyperprolaktinämie auf. Werte von > 20ng/ml gelten dabei als pathologisch. Ursache der Ovarialfunktionsstörung bei Hyperprolaktinämie ist die reduzierte GnRH-Sekretion durch den Hypothalamus. Dementsprechend kann die hyperprolaktinämische Ovarialinsuffizienz als Sonderform der hypothalamischen Ovarialinsuffizienz verstanden werden. In allen Fällen, die einer kausalen und eventuell auch chirurgischen Therapie bedürfen, sollte diese durchgeführt werden. Bei funktioneller Hyperprolaktinämie oder auch bei einem hypophysären Mikroadenom ist

die Behandlung mit Dopaminrezeptoragonisten (Bromocriptin, Lisurid, Metergolin) Therapie der Wahl. Es hat sich bewährt, die Behandlung einschleichend zu beginnen, wobei eine halbe Tablette ein- dreimal per die erforderlich sein kann. Die Dosierung orientiert sich dabei am Ausgangswert des Prolaktins. Mit dieser Therapie lassen sich Schwangerschaftsraten von ca. 45% erzielen. Versagt die Therapie, so ist die ovarielle Stimulation mit Clomiphen oder HMG häufig erfolgreich.

Hypothalamisch-hypophysäre Dysfunktion

Die Behandlung dieser Patientinnen, die das Gros der anovulatorischen Frauen ausmacht, ist komplex. Dies erscheint verständlich, weil die begonnene Stimulatio- nstherapie stets auf eine Anzahl unterschiedlich weit entwickelter und angereifter Follikel trifft.

Antiöstrogene

Antiöstrogene (Clomifen, Tamoxifen) stellen das Therapeutikum der 1. Wahl bei der hypothalamisch-hypo- physären Dysfunktion dar. Die Antiöstrogene, oral gut resorbierbar, besitzen einen schwachen Östrogenef- fekt. Ihre hauptsächliche therapeutische Wirkung er- klärt sich jedoch durch deren Kompetition mit dem Östradiol um die Bindung an den Östrogenrezeptoren. Durch diese Bindung abgeschirmt sind Hypothalamus und Hypophyse nicht in der Lage, auf die tatsächlich zirkulierende Östrogenmenge adäquat zu reagieren. Die „Falschmeldung“ einer unzureichenden Östrogen- konzentration wird mit einer vermehrten Sekretion von FSH und LH beantwortet. Diese erhöhte Gonadotro- pinsekretion soll die Follikelreifung stimulieren und schließlich zur Ovulation führen.

Die Behandlung mit Clomifen wird am 3.-5. Tag nach Einsetzen einer spontanen Regelblutung oder nach einer Gestagenentzugsblutung begonnen. Die initiale Dosis beträgt 50mg per die. Bleibt eine Ovulation aus, so wird die Dosis auf 100mg/die im nachfolgenden Zyklus erhöht. Eine weitere Erhöhung der Dosis des Antiöstrogens macht keinen Sinn, da dann die erhöhten antiöstrogenen Effekte wiederum eine Verschlechterung der Follikulogenese bewirken und einen deletären Effekt auf die Qualität des Endometriums haben.

Antiöstrogene und humanes Choriogonadotropin (hCG)

Weist die Patientin eine ausreichende Follikelreifung auf (sonographische Follikulometrie und Östradiolbe- stimmungen im Serum), bleibt jedoch die Ovulation aus, so kann diese durch die i.m. Applikation von 5.000-10.000 i.e. hCG 8-10 Tage nach der Behandlung mit Clomifen ausgelöst werden. Durch eine zusätzliche hCG-Gabe eine Woche nach der 1. Injektion an das Corpus lutum in seiner Funktion unterstützt werden.

Bei Patientinnen mit hypothalamisch-hypophysärer Dysfunktion läßt sich mit der Antiöstrogenbehandlung eine Ovulationsrate von etwa 70% und eine Schwang- erschaftsrate von etwa 20-40% erzielen. Diese Dis- krepanz ist dabei zum Teil auf den antiöstrogenen Ef- fekt an Zervix, Vagina und Uterus zurückzuführen.

Ovarielle Stimulation mit humanen Menopausen-Gonadotropinen (HMG)

Führt die Behandlung mit Antiöstrogenen alleine nicht zum Erfolg, so können diese mit HMG kombiniert wer- den. Auch eine alleinige Stimulation mit HMG ist möglich. Neue Wege der ovariellen Stimulation stellen die Verwendung hochgereinigter, sogenannter „reiner“ FSH-Präparationen und die Vorbehandlung mit einem GnRH-Analogen dar. Das sogenannte „lange Proto- koll“ strebt dabei durch die Vorbehandlung mit einem GbRH-Agonisten die völlige Suppression der hypo- physären und gonadalen Funktion an, um dann aus der Suppression heraus mit HMG zu stimulieren, während die „kurzen“ Protokolle die kurzzeitige vermehrte Go- nadotropinausschüttung (sog. „flare up“) zur Stimulati- on auszunutzen suchen. Die Tatsache, daß mittlerweile gentechnisch gewonnenes rekombinantes FSH zur Ver- fügung steht, eröffnet neue interessante Perspektiven ebenso wie der Einsatz der GnRH-Antagonisten, die über eine klassische kompetitive Hemmung an der Hy- pophyse wirken und einen sofortigen Arrest der folliku- lären Reifung nach sich ziehen. Die Ovulationsauslö- sung erfolgt durch die intramuskuläre Gabe von 5.000 i.E. hCG, wenn in der sonographischen Kontrolle ein Leitfollikel > 18mm und ein die follikuläre Reifung wi- derspiegelnder Östradiolwert im Serum festgestellt wer- den können. Auch mit diesem Therapieschema lassen sich Schwangerschaftsraten zwischen 38 und 58% errei- chen. Allerdings sind die Abortrate (ca. 22%) und die Rate der Mehrlingsgraviditäten erhöht (20-30%).

Das Syndrom der Polycystischen Ovarien (PCOD)

Das Syndrom der Polycystischen Ovarien stellt die häufigste Ursache einer hyperandrogenämisch beding- ten Anovulation dar. Die Diagnose wird sonographisch und anhand der vorliegenden Hormonparameter ge- stellt. Dabei gilt ein Verhältnis von LH:FSH>3 als sen- sibelster Parameter. Durch die erhöhte Androgensekretion und die periphere Konversion der Androgene in Östrogene im Fettgewebe kommt es zu einer Störung der hypophysären Gonadotropinsekretion mit typi- scherweise erhöhter Ausschüttung des luteinisierenden Hormons. Diese wiederum wirkt sich negativ auf die Follikelreifung aus. Anovulatorische Zyklen, eine Cor- pus luteum Insuffizienz bis hin zur sekundären Ame- norrhoë sind die Folge.

Mittel der ersten Wahl für die ovarielle Stimulation beim PCOD ist weiterhin das Clomifen. Allerdings

muß man mit einem Therapieversagen in bis zu 30% der Fälle rechnen. Die Stimulation mit Gonadotropinen orientiert sich an dem bisher Gesagten. Allerdings ist die erzielte Schwangerschaftsrate deutlich geringer als bei anderen Patientinnen mit hypothalamisch-hypophysärer Dysfunktion und liegt bei nur ca. 9%. Das Hauptproblem stellt jedoch die hohe Sensibilität dieser Patientinnengruppe gegenüber der Stimulation dar. Diese wiederum schlägt sich in einer höheren Rate an zum Teil schweren ovariellen Überstimulationssyndromen nieder (OHSS). Da die erhöhte LH-Konzentration in der Follikelphase in Zusammenhang mit der niedrigen Schwangerschaftsrate und der erhöhten Abortrate zu stehen scheint, erschien die Möglichkeit, hoch gereinigtes FSH zu verabreichen vielversprechend. Allerdings hat diese Therapie keine Vorteile bezüglich der Rate an OHSS gezeigt. Wird bei diesen Patientinnen die Konzeption per vias naturales angestrebt, das heißt nach einem Sexualverkehr „zum optimalen Zeitpunkt“ (VZO) oder aber nach einer intrauterinen Insemination (IUI), so erscheint die sogenannte „FSH-low-dose“-Stimulation der effizienteste Weg mit der größten therapeutischen Breite zu sein, um eine möglichst monofollikuläre Reifung zu erzielen. Hierzu wird nach einer spontanen oder durch Gestagene induzierten Menstruationsblutung die Stimulation mit einer maximalen Dosis von 75 i.E. FSH per die begonnen. Diese Dosis wird langfristig beibehalten und frühestens nach 14 Tagen um 32,5 i.E. oder 75 i.E. gesteigert. Dieses Schema wird beibehalten, bis sowohl die sonographischen Kontrollen, als auch die Östradiolwerte im Serum den Beginn der follikulären Reifung anzeigen. Ab dann wird mit gleicher Dosierung fortgefahren, bis die Kriterien für die Ovulationsinduktion erfüllt sind. Wird dagegen die kontrollierte ovarielle Hyperstimulation für die assistierte Reproduktion angestrebt, so ist es sinnvoll, die Stimulation erst nach vollständiger „Down-Regulation“ mittels eines GnRH-Agonisten zu beginnen. Da das Hyperstimulationssyndrom erst nach der hCG-Applikation auftritt, kann es durch den Verzicht auf die Auslösung zumindest sicher verhindert werden.

Die hypothalamisch bedingte Amenorrhoe – Ausfall der hypothalamischen Funktion

Der Ausfall der hypothalamischen Funktion mit einer Störung der regelrechten GnRH-Sekretion hat einen hypogonadotropen Hypogonadismus zur Folge mit einem Ausbleiben der hypophysären Gonadotropinsekretion und nachfolgendem Arrest oder primärem Ausbleiben der follikulären Reifung. Die hypothalamische Amenorrhoe und Anovulation kann dabei sowohl primärer als auch sekundärer Art, zum Beispiel nach einer Schädigung der hypothalamischen Kerngebiete oder auch nach Hypophysektomie sein. Die Diagnose hypo-

thalamische Amenorrhoe ist eine Ausschlußdiagnose. Verlässliche Messungen von GnRH im Blut sind nicht möglich. Andere Ursachen der Amenorrhoe sowie internistische oder neurologische Ursachen müssen vorher abgeklärt sein. Die Anorexia nervosa kann zu einer durch psychischen und physischen Streß bedingten sekundären hypothalamischen Amenorrhoe führen. Ähnlich ist der Entstehungsmechanismus der sogenannten „Lageramenorrhoe“ zu erklären. Bei diesen Sonderformen der hypothalamischen Amenorrhoe scheinen erhöhte Endorphinspiegel eine Rolle zu spielen. Jedenfalls kann durch die Infusion des Opiatantagonisten Naloxon die gedämpfte LH-Pulsatilität normalisiert und durch Umstellung auf eine längerfristige Behandlung mit dem oral wirksamen Opiatantagonisten Naltrexon ein normaler ovulatorischer menstrueller Zyklus induziert werden. In den anderen Fällen eines Ausfalls der hypothalamischen Funktion ist die pulsatile Gabe von nativem GnRH über ein automatisches Pumpensystem (Zyklomat, Ferring) das Therapeutikum der Wahl. Bei strenger Indikationsstellung ist diese Therapie allen anderen überlegen und führt in fast 100% zum Auftreten ovulatorischer Zyklen.

Die zervikale Sterilität

Die zunehmende Östrogenproduktion des heranreifenden Follikels führt zu Veränderungen im Bereich des Zervikalkanals und des Muttermundes. Die Menge des Zervikalschleims nimmt zu, ebenso seine Spinnbarkeit. Der Muttermund weitet sich, und präovulatorisch ist das sogenannte Farnkrautphänomen nach dem Eintrocknen des Zervikalschleims auf einem Objektträger unter dem Mikroskop zu betrachten. Die Qualität der Zervixfunktion läßt sich dabei anhand der Parameter des sog. „Insler-Scores“ bewerten. Ursache einer funktionellen zervikalen Sterilität kann dabei eine unzureichende Östrogenstimulation im Rahmen einer ovariellen Funktionsstörung sein, aber auch eine primäre oder sekundäre Schädigung der Zervix, z.B. nach traumatisierender Geburt oder Konisation.

Liegt eine Unterwertigkeit der zervikalen Schleimbildung aufgrund einer unzureichenden Östrogensekretion vor, so werden Östrogene verabreicht. Infektionen der Zervix sind systemisch oder lokalantibiotisch zu behandeln. Im Falle einer immunologisch bedingten zervikalen Sterilität kann ein Therapieversuch mit Kortikosteroiden unternommen werden, wenngleich die Behandlung wenig effektiv ist. Empfehlenswert ist der Kondomverkehr über mindestens ein halbes Jahr, um die Antigenexposition zu vermeiden. Eine Möglichkeit, die gestörte Zervixpassage zu umgehen, stellt die Technik der intrauterinen Insemination (IUI) dar. Diese kann auch im Falle einer gestörten Spermadeposition aufgrund psychischer oder anatomischer Faktoren indiziert sein.

Die tubare Sterilität

Störungen der Tubenfunktion gehören zu den häufigsten Ursachen für eine bestehende ungewollte Kinderlosigkeit. Die Inzidenzzahlen schwanken je nach Literaturangabe und geographischer Provenienz zwischen 20 und 40%. Verantwortlich sind meist entzündliche Erkrankungen durch Keimassension im kleinen Becken, Endometriose und peritubare Verwachsungen als Folge früherer operativer Eingriffe, intrauteriner Kontrazeption oder einer ektopen Gravidität. Bei diesen Patientinnen gilt es nun zu entscheiden, welche einer rekonstruktiven Tubenchirurgie oder aber einer alternativen Therapieform wie IVF/ET zugeführt werden soll. Erfolg und Mißerfolg der gewählten Therapie hängen dabei primär von der Qualität der durchgeführten Diagnostik ab. Nicht jede tubare Pathologie ist geeignet für eine chirurgische Versorgung. Die zur Verfügung stehenden diagnostischen Möglichkeiten zur Abklärung der tubaren Situation umfassen die Hysterosalpingographie, die Sonographie, die Laparoskopie mit Chromopertubation sowie die Hysteroskopie, Salpingoskopie und Tuboskopie. Es besteht Übereinkunft in eindeutigen Kontraindikationen für den mikrochirurgischen Eingriff. Betrachtet man die Schwangerschaftsraten nach mikrochirurgischer Intervention, so fallen diese je nach Eingriff und je nach Befund sehr unterschiedlich aus und eben deutlich schlechter als nach Einsatz der Techniken extrakorporalen Befruchtung. Allein die Behandlung der cornualen Obstruktion und die Reanastomose im Sinne der Refertilisierung nach stattgehabter Tubenligatur scheinen eine Domäne der Mikrochirurgie mit guten Ergebnissen zu bleiben.

In-vitro-Fertilisation und Embryotransfer

Durch die Technik der Befruchtung der mütterlichen Eizelle außerhalb des Körpers durch den väterlichen Samen, die in-vitro-Fertilisation, und anschließenden Transfer des Embryo in die Gebärmutter der Frau wurde eine Möglichkeit geschaffen, den physiologischen Eiauffang- und Befruchtungsmechanismus zu umgehen. Es eröffnete sich erstmals ein Weg der Behandlung der ansonsten gesunden, aber an den Tuben erkrankten Frau. Das erste Kind, das seine Existenz dieser Technik verdankt, ist Louise Brown und wurde 1978 in England geboren. Anfangs heftig umstritten und angefeindet ist diese Technik heute wissenschaftlich anerkannt und hat sich in den Kanon der Behandlungsmöglichkeiten der Sterilität eingereiht. Allerdings hat sich in der letzten Zeit der Indikationsbereich deutlich zur andrologisch bedingten Sterilität hin erweitert, umso mehr, als wir in den letzten drei Jahren durch die Einführung der Intracytoplasmatischen Spermieninjektion mittels der Technik der Mikromanipulation an der Eizelle eine Revolution der andrologisch bedingten Sterilität erlebt haben.

Während die ovarielle Stimulation für die Befruchtung in vivo die Reifung und Ovulation möglichst nur eines einzigen Follikels zum Ziel hat, wird im Rahmen der extrakorporalen Befruchtung bewußt die Hyperstimulation angestrebt, um möglichst mehrere Eizellen und respektive Embryonen zur Verfügung zu haben. Man spricht von der kontrollierten ovariellen Hyperstimulation (COH). Eingesetzt werden die gleichen Stimulations-schemata, die bereits zur Behandlung der anovulatorischen Patientin geschildert worden sind, wobei sich an größeren Zentren das sog. „lange“ Agonistenprotokoll weitestgehend durchgesetzt hat. Es synchronisiert die Follikelreifung und ermöglicht die Selektion einer größeren Anzahl von Follikeln respektive Eizellen, als dies bei den anderen Protokollen der Fall ist. Gleichzeitig verhindert es jede Form der vorzeitigen Luteinisierung der heranreifenden Follikel. Die Integration der GnRH-Antagonisten in die Protokolle zur ovariellen Stimulation (sog. „Lübecker Protokoll“) scheint dabei die Möglichkeit zu eröffnen, die Stimulationszyklen zu verkürzen und den Verbrauch an HMG zu senken.

In den Anfängen der IVF erfolgte die Eizellgewinnung durch Punktion der Follikel unter laparoskopischer Sicht. Mittlerweile wird sie fast ausschließlich mittels vaginaler Punktion unter sonographischer Kontrolle durchgeführt. Nach der Inkubation von Ei- und Spermazellen von durchschnittlich 24 Stunden werden die Eizellen auf die Ausbildung von Vorkernen als Zeichen der stattgehabten Imprägnation hin untersucht. Das Zweizellstadium ist nach weiteren 24 bis 36 Stunden zu erwarten, das Vierzellstadium nach 36 bis 48 Stunden. Dann erfolgt der Embryotransfer mittels eines weichen Katheters in das Cavum uteri, wobei entsprechend dem deutschen Embryonenschutzgesetz nicht mehr als drei Embryonen transferiert werden dürfen. Bei guter Qualität der Embryonen scheinen zwei zurückgesetzte Embryonen bei gleicher Schwangerschaftsrate das Mehrlingsrisiko zu minimieren.

Weltweit wurden im Jahr 1993 115.314 Follikelpunktionen durchgeführt. In 83,9% kam es zum Embryotransfer und 22.899 klinische Schwangerschaften konnten erzielt werden. Dies entspricht einer Schwangerschaftsrate von 19,9%, bezogen auf die Zahl der durchgeführten Follikelpunktionen. Die Geburtenrate wurde mit 12,9% angegeben, bezogen auf die Zahl der Stimulationszyklen. Die Abortrate lag bei 22,6%.

Die andrologische Subfertilität

Voraussetzung für eine erfolgreiche Befruchtung ist das Zusammentreffen einer reifen Eizelle in der Metaphase II und eines kapazitierten Spermiums nach abgelaufener akrosomaler Reaktion. Probleme können dabei sowohl von Seiten der follikulären Reifung als auch von Seiten der Spermatozoenqualität auftreten. Normozoospermie entsprechend der Definition der WHO besteht bei einem

Ejakulatvolumen von 2-6 ml, einer Spermatozoendichte von >20 Millionen Spermien pro Milliliter, einer Beweglichkeit von mehr als 50% der Spermien und einer normalen Morphologie von mehr als 30% (WHO, 1993). Ausmaß einer Oligozoospermie und Schwangerschaftsrate nach spontaner Konzeption sind direkt miteinander korreliert. Bei einer Spermatozoendichte von 15-20 Millionen Spermien/ml konzipieren über 80% eines gesunden Frauenkollektivs innerhalb von 10 Jahren, während bei einer Spermatozoendichte von nur 100.000-1.000.000/ml nur ca. 8,7% des gleichen Kollektivs konzipieren werden. Da das Ausmaß an Pathologie bezüglich Spermatozoendichte, Motilität der Spermien und Morphologie von leichten Einschränkungen bis hin zum schweren Oligoastheneratozoospermie-Syndrom (OAT-Syndrom I-III) variieren kann, kommen verschiedene therapeutische Maßnahmen zur Anwendung.

Intrauterine Insemination

Im Falle einer reduzierten Spermatozoendichte ist die intrauterine Insemination als am wenigsten invasive Therapie immer noch das Mittel der Wahl. Eine Aufbereitung des Ejakulates durch Zentrifugation, Waschen, Filtration oder auch des „Swim-up“-Verfahrens führen zu einer Erhöhung der Spermatozoenkonzentration und einer Selektion normal mobiler Spermien. Das Seminalplasma mit seinen agglutinierenden Faktoren, Mikroorganismen und Begleitzellen sollte dabei durch die Waschung zum Zeitpunkt des spontanen Eisprungs oder der induzierten Ovulation entfernt werden. Dennoch ist auch der Erfolg dieser Therapie abhängig vom Ausmaß der männlichen Subfertilität. Im Falle eines OAT III-Syndroms ist die Schwangerschaftsrate nach IUI nicht höher als 6,6% pro Zyklus. Eine Spermatozoenkonzentration von 1 Million Spermien/ml, eine Motilität von 80-100%, eine progressive Motilität von >50% und eine normale Morphologie von mehr als 20% stellen dabei die Minimalanforderungen an das aufbereitete Ejakulat dar.

IVF/ET

Im Falle einer bestehenden männlichen Subfertilität erlaubt die IVF einen Kontakt von Eizelle und Samenzelle unter kontrollierten Bedingungen. Die Befruchtungsfähigkeit der Spermatozoen kann dabei unter therapeutischen, aber auch diagnostischen Gesichtspunkten überprüft werden. Die „andrologische“ Indikation zur IVF hat in den Jahren von 1981 bis 1990 von durchschnittlich 3% auf über 30% zugenommen (UFK Bonn). Nach erfolgreicher Fertilisation variiert die Schwangerschaftsrate zwischen 15 und 20% und unterscheidet sich damit nicht von den Schwangerschaftsraten bei Patienten mit Normozoospermie. Allerdings sind die Fertilisationsraten nach IVF bei einem OAT III-Syndrom schlecht. Ähnlich wie bei der IUI können Minimalanforderungen an das aufbereitete Ejakulat für die IVF definiert werden.

Assistierte Fertilisation

Unter assistierter Fertilisation versteht man die mechanische Unterstützung der Spermienpenetration, entweder in Form einer partiellen Zona Dissektion (PZD), einer subzonalen Spermieninsemination (SUZI) oder die direkte intracytoplasmatische Spermieninjektion (ICSI) (Abb. 14). Diese Techniken sind angezeigt nach einem frustanen IVF-Versuch, einem OAT III-Syndrom, einer ausgeprägten Teratozoospermie (<50%), nachgewiesenen Spermienantikörpern oder bestehender akrosomaler Defekte. Selbst in Fällen einer distalen Obstruktion des Vas deferens (Agenesie des Vas deferens oder irreparable Schädigung des Vas) können epididymale oder testikuläre Spermatozoen, mikrochirurgisch gewonnen (MESA = microsurgical epididymal sperm aspiration; TESE = testicular sperm extraction) verwendet werden. Während bei der PZD oder der SUZI eine größere Annäherung zwischen dem Oolemma und dem Spermium ermöglicht wird, wird bei der ICSI die letzte Hürde, die zelluläre Membran selbst mechanisch überwunden. Mittels einer Mikropipette wird ein einzelnes Spermium direkt in das Zytoplasma einer Metaphase II-Eizelle verbracht. Selbst in Fällen eines schweren OAT III-Syndroms werden dabei Fertilisationsraten von 65% und Schwangerschaftsraten von über 28% erzielt.

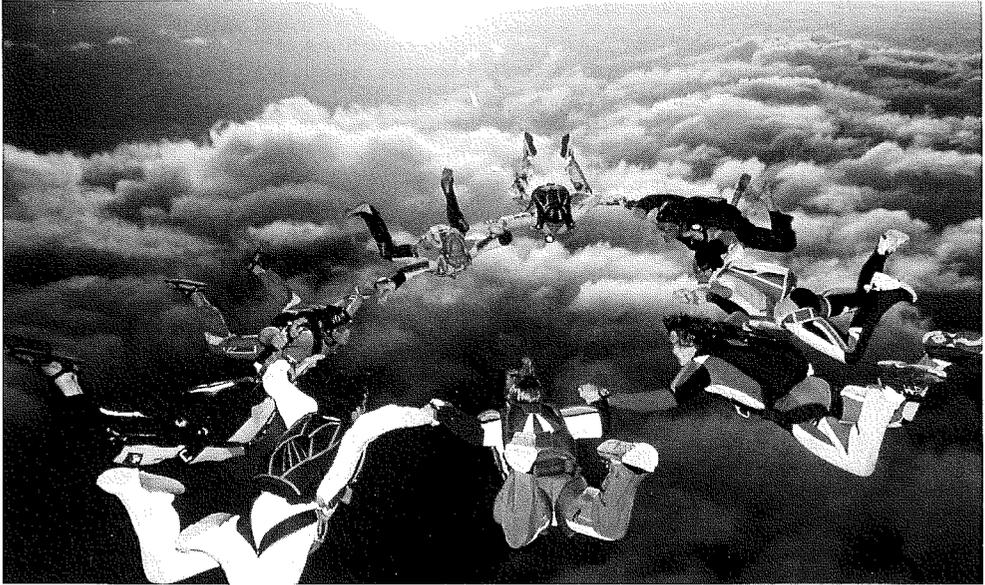
In Fällen einer bestehenden männlichen Subfertilität sollten 3-6 IUI-Versuche als initiale Therapie durchgeführt werden. Wenn die angestrebte Schwangerschaft ausbleibt, sollte ein erster IVF-Versuch durchgeführt werden. Bei erfolgreicher Fertilisation, aber ausbleibender Schwangerschaft sind weitere IUI-Versuche sicherlich gerechtfertigt. Bei ausbleibender Fertilisation kann ein weiterer IVF-Versuch vertreten werden. Ist auch dieser Versuch frustan, so sollte das Paar an ein Zentrum überwiesen werden, an dem die Technik der Intracytoplasmatischen Spermieninjektion etabliert ist und routinemäßig durchgeführt wird.

Fazit für die Praxis

Durch die Techniken der modernen Reproduktionsmedizin kann den allein in Deutschland derzeit geschätzten 1,5 Millionen ungewollt kinderlosen Paaren die Hoffnung auf ein eigenes Kind erhalten werden. Die Schwangerschaftsraten nach konventioneller In Vitro Fertilisation liegen derzeit bei ca. 20% pro Embryotransfer, die nach ICSI sogar bei ca. 30%. Die kumulativen Schwangerschaftsraten nach sechs Behandlungszyklen liegen bei 60% der behandelten Paare. Dies bedeutet, daß diese noch jungen Behandlungsmethoden für viele betroffenen Paare ein erfolgversprechender Weg zur Erfüllung des Kinderwunsches geworden sind.

Literaturverzeichnis bei den Autoren

Dräger



Der Einsatz von Informationssystemen zur Unterstützung der Organisationen ist ein Schlüsselement für ein erfolgreiches Krankenhaus.

Informationen verbinden Organisationen

Nur Lösungen, die die Anforderungen von Pflegepersonal, Medizinern und Krankenhausmanagement berücksichtigen, sorgen für eine Steigerung von Wirtschaftlichkeit und Produktivität. Als Ihr erfahrener Partner im Krankenhaus konzentrieren wir uns bewußt auf den klinischen Bereich. Mit konzeptionellen und softwaretechnischen Lösungen für Anästhesie und Chirurgie bieten wir Unterstützung auf der Station, der Intensivstation und im OP. Durch eine zentrale medizinische Datenbank (CMDB) stellen wir dem Krankenhausmanagement ein Führungsinformationssystem zur Verfügung. Dräger Medizintechnik GmbH, <http://www.draeger.com>

Dräger. Technik für das Leben.

Spermientnahmetechniken zur intracytoplasmatischen Spermieninjektion (ICSI)

J. Sandmann, P. Fornara, D. Jocham

Zusammenfassung

Aus urologischer Sicht hat sich durch die neuen reproduktionsmedizinischen Techniken das Indikationsspektrum in der Behandlung der männlichen Infertilität nachhaltig erweitert, die mikrochirurgischen Techniken erleben durch die mikrochirurgische Spermatozonenentnahme eine Renaissance, die Entnahme von Gewebe aus dem Hoden zur Diagnostik ist um die therapeutische Komponente ergänzt worden.

Somit stellen die mikrochirurgische epididymale Spermienaspiration und die testikuläre Spermienextraktion in Kombination mit der Kryokonservierung einen wichtigen Bestandteil der Behandlung des unerfüllten Kinderwunsches bei männlicher Infertilität dar. Die perkutane epididymale Spermienaspiration (PESA) sollte nicht durchgeführt werden, diese Patienten sind einer mikrochirurgischen, wenn möglich auch kausalen Therapie zuzuführen.

Einleitung

Die Einführung der intracytoplasmatischen Spermatozoneninjektion (ICSI) 1992 bedeutete zweifelsohne einen Quantensprung in der Behandlung der andrologisch bedingten ungewollten Kinderlosigkeit (8, 10). Bei männlicher Infertilität bietet diese Methode in Kombination mit den Spermientnahmetechniken die Möglichkeit, den unerfüllten Kinderwunsch trotz schlechter Parameter im Spermogramm oder Azospermie zu erfüllen. Neben der mikrochirurgischen Refertilisierung zur Ermöglichung einer Schwangerschaft auf natürlichem Wege nehmen diese Techniken ihren Platz in der operativen Therapie der männlichen Infertilität ein.

Die Aktualität der zum Teil kontrovers diskutierten Teilaspekte der modernen Reproduktionsmedizin läßt kaum dem Gedanken Raum, daß die Idee der Befruchtung mittels direkt aus Hoden oder Nebenhoden entnommener Spermatozoen nicht neu ist, sondern schon Anfang dieses Jahrhunderts Eingang in die medizinische Fachliteratur fand.

Bereits 1913 wird in der Real-Encyclopädie der gesamten Heilkunde für praktische Ärzte im Band XIII (Abb. 1) die Möglichkeit beschrieben, Hodenpunktate „zur künstlichen Befruchtung zu benutzen, wenn es sich um Patienten handelt, in dessen Hodenpunktate zahlreiche wohlgebildete, lebhaft sich bewegende Spermatozoen eingeschlossen sind. Die Idee ist aus nahen Gründen nicht unsinnig und ihre Verwertung in verzweifelten Fällen wohl auch nicht zu widerraten ...“ Auch die von Rotleder vorgeschlagene Verbesserung der Zeugungsfähigkeit durch die Zugabe von „Prostata-saft einer gesunden Person“ findet Erwähnung. Mit der intrauterinen Insemination wurde dieses Konzept erst später aufgenommen, an die intracytoplasmatische Spermatozoneninjektion und ihre Möglichkeiten wurde damals sicherlich noch nicht gedacht.

Prävalenz

Brukkert hat 1991 die Anzahl ungewollt kinderloser Paare in der Bundesrepublik Deutschland auf 1,5 Mio. geschätzt. Es wird davon ausgegangen, daß mindestens 50% dieser Paare erfolgreich therapiert werden können (15), während 4% trotz aller therapeutischen Bemühungen ungewollt kinderlos bleiben (23). Nach der

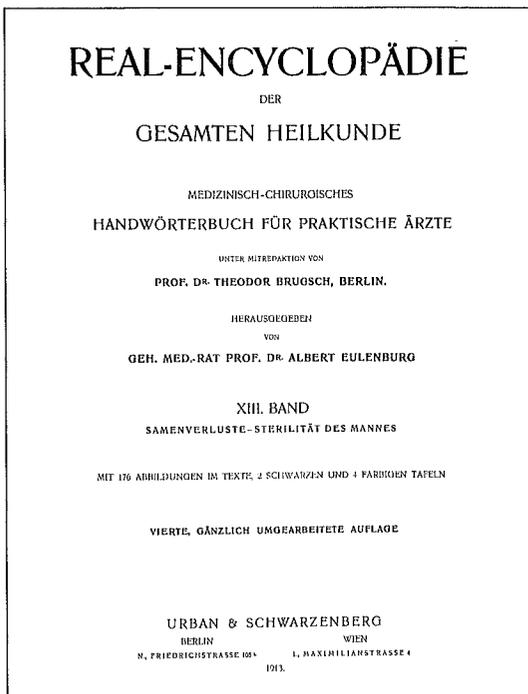


Abb. Real-Encyclopädie der gesamten Heilkunde

WHO 1987 liegt der alleinige Anteil des Mannes an der ungewollten Kinderlosigkeit bei ca. 20%, zusätzlich liegen bei weiteren 26% der infertilen Paare Störungen beider Partner zugrunde (27, 28). So beläuft sich die Anzahl der ungewollt kinderlosen Paare mit allein andrologisch oder auch kombiniert andrologisch bedingter Infertilität auf 46%.

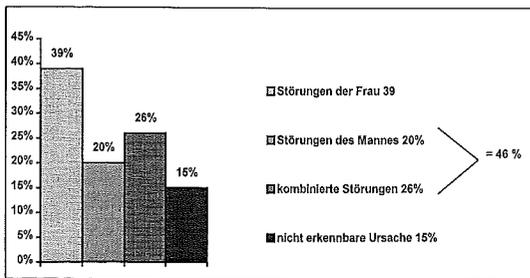


Abb. 2 Verteilung ungewollter Kinderlosigkeit (nach Nieschlag 1996)

Geht man von diesen Zahlen aus, so resultiert eine Anzahl von 750.000 Männern mit schwerer Infertilität in der Bundesrepublik Deutschland. Nieschlag geht davon aus, daß mit einer Prävalenz von 7% die andrologisch bedingte Infertilität häufiger als Diabetes mellitus auftritt (9).

Ursachen der männlichen Infertilität

Vor dem Hintergrund des anatomischen Aufbaus der männlichen Reproduktionsorgane, sowie des komplexen neuro-endokrinen Regelkreises ergeben sich eine Vielzahl unterschiedlicher Krankheitsbilder, die auf verschiedenen Ebenen wirken können. Nieschlag hat 1996 die Störungen der männlichen Fertilität systematisch nach der Lokalisation der Ursache als erstes Ordnungsprinzip und nach der Art der Ursache als zweites Ordnungsprinzip eingeteilt (9). In seinem Patientengut wird der Anteil der infertilen Patienten ohne erkennbare Ursache mit 32% angenommen.

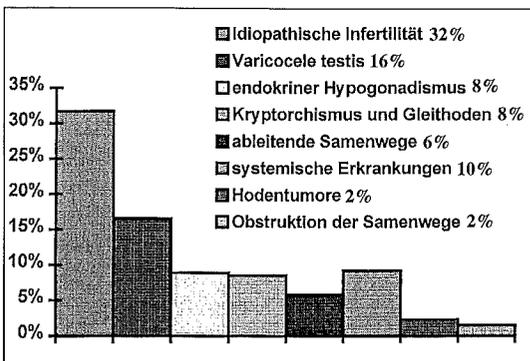


Abb. 3 Diagnosen andrologisch bedingter Infertilität (nach Nieschlag 1996)

Zur Diagnosesicherung ist eine Hodenbiopsie häufig unumgänglich. Aber erst seit 1996 können wir diesen diagnostischen Schritt mit einer therapeutischen Option verbinden, da das gewonnene Material nicht nur histologisch untersucht, sondern auch für die weitere Therapie durch die Kryokonservierung erhalten werden kann.

Operative Therapieformen

Die operative Reanastomosierung war bis zur Einführung der intracytoplasmatischen Spermieninjektion (ICSI) die einzige Möglichkeit, eine Schwangerschaft bei Verschlüssen der Samenwege zu ermöglichen. Allerdings konnten beim Ausbleiben des erhofften Operationsergebnisses keine Therapiealternativen angeboten werden, es blieb lediglich der erneute operative Versuch. Durch die Einführung der intracytoplasmatischen Spermatozoeninjektion (ICSI) haben die mikrochirurgischen Techniken zur Entnahme von Samenzellen aus dem Hoden und Nebenhoden ein neues Gewicht erlangt (10). Die Kryokonservierung eröffnete spätere weitere Optionen, so daß dem andrologisch tätigen Urologen zur Zeit eine Palette von operativen Eingriffen offenstehen, die einzeln oder kombiniert zum Einsatz kommen.

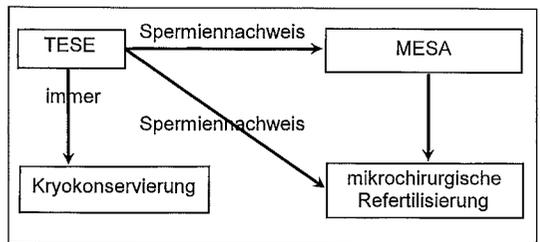


Abb. 4 Das Lübecker Modell: Kombination von kausalen und nicht-kausalen Therapieformen

Die Kombination der kausalen und nicht-kausalen Therapie, der Refertilisierung und Kryokonservierung bietet alle Möglichkeiten im Rahmen eines einzigen operativen Eingriffs (13, 14).

Spermientnahmetechniken

Testikuläre Spermatozoenextraktion (TESE)

Die testikuläre Spermatozoenextraktion gleicht operativ einer Hodenbiopsie. Die Entnahme von Hodengewebe kann durch eine Fensterbiopsie erfolgen, bei der nur ein kleiner Schnitt im Skrotum die Darstellung eines kleinen Areals der tunica albuginea ermöglicht. Diese Methode erlaubt die Durchführung des Eingriffs in Lokalanästhesie, ermöglicht aber keine makroskopische Beurteilung von Hoden und Nebenhoden.

Die Entnahme von Hodengewebe in explorativer Technik mit Hodenfreilegung erlaubt die makroskopische

Beurteilung von Hoden und Nebenhoden sowie die gezielte Entnahme aus einem gefäßfreien Areal des Hodens, um die Blutungsgefahr zu minimieren und die Versorgung des Parenchyms nicht zu gefährden. Generell wird dieser Eingriff in Allgemeinnarkose durchgeführt.

Durch die Einführung der Kryokonservierung kann die Entnahme von Hodengewebe zur Beurteilung der Spermatogenese mit dem therapeutischen Schritt verbunden werden, da das entnommene Gewebe für eine spätere Spermatozoeninjektion verwandt werden kann. Durch die intraoperative Beurteilung des Biopsats auf Spermien ist eine vorgeschaltete, zweizeitige Hodenbiopsie nicht mehr notwendig, vom intraoperativ gewonnenen mikroskopischen Befund kann das weitere Vorgehen abhängig gemacht werden. Zusätzlich kann in einem nicht voroperierten Gebiet gearbeitet werden. Bei Patienten mit rasch fortschreitender Verschlechterung der Spermatogenese entspricht ein älterer histologischer Befund nicht unbedingt dem Befund am Operationstag, so daß unter Umständen eine rekonstruktive Maßnahme trotz versiegter Spermatogenese versucht würde.

Ein großer Vorteil der Kryokonservierung liegt in der Möglichkeit, die Partnerin erst nach Kenntnis des aktuellen Befunds stimulieren zu können. Damit kommt es in unserem Patientengut nicht mehr zu einer Stimulation bei ausbleibender Fertilisierungsmöglichkeit aufgrund eines testikulären Spermatogenesearrests.

Die Kryokonservierung erlaubt die Kombination von diagnostischem und therapeutischem Eingriff. Damit stellt sich die Frage, ob bei positivem Spermatozoennachweis in einem Hoden die Biopsie des anderen Hoden notwendig ist. Mit dem Nachweis ist zwar aus reproduktionsmedizinischer Sicht der gewünschte Erfolg erreicht, wegen der hohen Inzidenz von Hodentumor und Infertilität sollte allerdings trotzdem der kontralaterale Hoden biopsiert werden, um einen nicht palpablen und sonographisch nicht sichtbaren Tumor wie ein Seminoma in situ auszuschließen.

Für die einseitige Biopsie bei Spermatozoennachweis spricht die verbleibende Unversehrtheit des Hodens, der für weitere Eingriffe optimale Operationsbedingungen bietet. Würde man nur die reproduktionsmedizinische Seite betrachten, so wäre ein einseitiges Vorgehen ausreichend. Aus den oben genannten Gründen sollte aber trotzdem beidseitig vorgegangen werden.

Die mikrochirurgischen Refertilisierungsoperationen mit hodennahen Anastomosen und die Erfahrungen der intracytoplasmatischen Spermieninjektion haben gezeigt, daß auch mit Spermien aus dem Hoden eine erfolgreiche Konzeption möglich ist (1, 12, 18), so daß sich auch für Patienten mit Azoospermie ohne Obstruktion eine Behandlungsoption, die vor Einsatz der

modernen Refertilisierungstechniken nicht denkbar war, ergibt.

Operationstechnik

Es sollte prinzipiell mit einer explorativen Hodenbiopsie in Allgemeinnarkose begonnen werden. Dazu wird der Hoden nach gefäßschonender Querinzision auf der einen Skrotalhälfte, die groß genug sein sollte, um den Hoden anschließend ohne Druck wieder zu relaxieren, freigelegt. Nun wird der Hoden nach dem Hautschnitt wieder losgelassen, nur die Schnittränder gefaßt, um ein Einschneiden in den Nebenhoden zu vermeiden. Der Schnitt darf nicht zu weit proximal liegen. Nach Eröffnung der tunica vaginalis entleert sich meist klare Flüssigkeit. Unter Sicht kann die Einschnittstelle erweitert, der Hoden nun aus dem Skrotum hervorluxiert werden. Es schließt sich die Inspektion von Hoden, Nebenhoden und Samenstrang an. Die Entnahme der Proben erfolgt vom cranialen und caudalen Ende, nicht zu nah am caudalen Ende, um die Durchblutung nicht zu gefährden. Nach dem Einschneiden der tunica albuginea mit dem spitzen Skalpell quillt das Hodenparenchym hervor, leichter Druck auf den Hoden ermöglicht die Entnahme einer gut linsengroßen Probe, die mit der Schere tangential abgetrennt wird. Anschließend wird eine subtile Blutstillung betrieben und die tunica albuginea mit Vicryl 4 x 0 verschlossen (Abb. 5).

Die Probe wird von den Branchen der Schere direkt in eine verschlossene 5 ml-Spritze ohne Stempel gegeben, ohne daß das Gewebe berührt oder gequetscht wird (no-touch-Technik). Die Reagenzgläser lassen sich auf die Spritze aufstecken, so daß die Lösung in die Spritze laufen und mit der Probe wieder in das Gefäß zurückfließen kann (Abb. 6). Auf diese Weise ist ein steriles Arbeiten und eine sichere Handhabung bei der Probenabgabe möglich. Bewährt hat sich auch die standardisierte Entnahme der Proben.

So kann man immer rechts cranial (Probe 1) beginnen und links caudal (Probe 4) enden. Diese Standardisierung hat gerade für die interdisziplinäre Arbeit von Gynäkologie, Urologie und Pathologie große Vorteile, bei der das Material durch viele Hände geht. Die intraoperative mikroskopische Beurteilung bestimmt den Fortgang der Operation. Die Teilung jeder Probe nach der von Schultze beschriebenen Technik erlaubt eine gezielte Auswahl der Proben zur weiteren Verarbeitung. Nach Schultze wird jede gewonnene Probe viergeteilt und getrennt weiterverarbeitet. Ein Teil wird in EPON eingebettet und histologisch in Semidünnschnitt-Technik begutachtet, der Spermatogenesestatus bestimmt und ein möglicher Tumor ausgeschlossen. Das zweite Stück wird zur Probe-TESE herangezogen, das dritte kryokonserviert, um nach Stimulation der Frau zur ICSI verwandt zu werden. Es bleibt noch ein Stück für

weitere Untersuchungen z.B. bei Tumorverdacht für immunhistochemische Verfahren oder zur Fertilisation (5, 7, 12, 14).

Bei einer Spermatogenesestörung wird der Eingriff nicht erweitert, ein Anhalt für eine Verschußazoospermie führt zur MESA bzw. rekonstruktiven Maßnahmen.

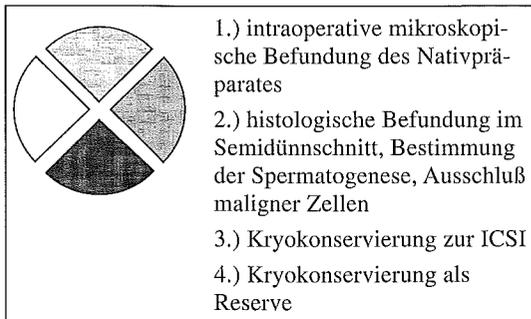


Abb. 6: Verarbeitung der Hodenbiopsie nach W. Schulze

Je nach Verlauf der Operation wird entweder sofort oder nach der anschließenden Erweiterung der Operation der Wundverschluß eingeleitet.

Die Kompression des Hodens für einen Tag durch den sogenannten Schwalbenschwanzverband, ein 60 cm langer und 10 cm breiter Klebestreifen, der an beiden Enden mittig eingerissen wird, so daß nur noch 15 cm in der Mitte zusammenhängend verbleiben, erweist sich als günstig. Die Mitte wird auf das Skrotum geklebt, die beiden oberen Enden zu den Flanken geführt, die unteren Enden um die Oberschenkel herum auch zu den Flanken. Die Urethra darf dadurch nicht eingeengt werden, die Hoden dürfen an den Seiten nicht hervorquellen und müssen ebenfalls abgeklebt werden. Patienten mit bekannter chronischer Epididymitis oder voroperierte Patienten erhalten perioperativ eine antibiotische Prophylaxe mit einem Chinolon. Unter diesen Maßnahmen sind postoperative Komplikationen äußerst selten.

Mikrochirurgische epididymale Spermatozoenaspiration (MESA)

Die Technik der mikrochirurgische Spermatozoenaspiration wurde erstmalig 1987 von Silber an der University of St. Louis, Missouri, durchgeführt und beschrieben. Sie konnte sich jedoch im Zeitalter der in vitro Fertilisation vor Einführung der mikroskopischen Injektionstechniken nicht durchsetzen, da die Schwangerschaftsrate mit 9% zu niedrig war (97, 98). Die Methode verlor an Bedeutung und geriet in Vergessenheit. Erst durch die Einführung der intracytoplasmatischen Spermatozoeninjektion (10) spielten die klassischen Parameter des Spermioграмms bei den gewonnenen Spermatozoen wie Anzahl, Motilität und Morphologie sowie die Penetrationsfähigkeit nicht mehr die ent-

scheidende Rolle. Lag die minimale Anzahl der zur IVF erforderlichen Spermien bei 1 Mio., so reicht heute ein vitales Spermium zur Befruchtung einer Eizelle durch ICSI aus. Damit waren neue Voraussetzungen für diese Methode geschaffen, neue Möglichkeiten in der Behandlung der ungewollten Kinderlosigkeit eröffnet, so daß die Methode unter anderem aufgrund der hohen Schwangerschaftsrate ihren Siegeszug begann (24).

Die mikrochirurgische Spermatozoenaspiration ist eine nicht-kausale Therapieform der männlichen Infertilität.

Die klassische Indikation ist die Aplasie des Ductus deferens. Diese tritt überzufällig häufig mit der cystischen Fibrose auf. Genetische Untersuchungen zeigen, daß die Väter häufig mindestens eine Mutation für cystische Fibrose tragen, die neue Technik also eine Schwangerschaft durch Genträger der cystischen Fibrose ermöglicht (11). Aufgrund dieser Erfahrungen ist die genetische Untersuchung Pflicht, um mögliche Mutationsträger zu erkennen.

Die mikrochirurgische Spermatozoenaspiration ermöglicht Patienten mit inoperablen Verschlüssen der Samenwege und Therapieversagern nach Vaso-Vasostomie oder Tubulo-Vasostomie eine Vaterschaft (Abb. 7). Die Kryokonservierung brachte eine weitere Erweiterung der therapeutischen Möglichkeiten, da bei den mikrochirurgischen Reanastomosierungen Aspirationen aus Samenleiter oder Nebenhoden notwendig sind, um die Stenose zu finden und die Aussicht auf Erfolg der Operation zu zeigen. Das gewonnene Material kann kryokonserviert werden.



Abb. 7

Operationstechnik

Die Serosa des Nebenhodens wird distal auf 3 mm Länge unter dem Operationsmikroskop eröffnet und ein Nebenhodentubulus so dargestellt, daß Kapillargefäße möglichst nicht eröffnet werden. Kleinere Blutungen werden bipolar koaguliert. Anschließend wird der Tubulus längs eröffnet und die herausquellende Flüssigkeit mittels eines modifizierten Periduralkatheter (Vigon 0,6 x 1 x 900 mm, gekürzt auf ca. 12 - 14 mm) angesaugt. Die angeschlossene 2 ml-Spritze enthält Ham's-F-10-Lösung. Intraoperativ wird ein Teil der Lösung auf vitale Spermatozoen untersucht, bei ausbleibendem Spermatozoennachweis gegebenenfalls auf andere, antegrad liegende Tubuli ausgewichen. Es kann dann bis zum rete testis vorgegangen werden, um Spermatozoen zu aspirieren, wobei der Vorteil gegenüber den gewonnenen testikulären Spermatozoen kritisch zu bewerten ist. Die eröffneten Tubuli werden mit Prolene 10 x 0 verschlossen, das Serosafenster mit Prolene 10 x 0.

Besteht der Verdacht auf eine Stenose des Samenleiters oder Nebenhodens, so wird zuerst versucht, diese zu beseitigen und eine Vaso-Vasostomie oder Tubulo-Vasostomie auszuführen, wobei aus der hervorquellenden Flüssigkeit ein Spermienachweis gelingen sollte. Bei großflächigen Stenosen muß der Eingriff auf eine mikrochirurgische Spermienaspiration beschränkt bleiben.

Nach Beendigung dieses Teiles der Operation wird der Hoden relaxiert und die tunica vaginalis mit Vicryl 4 x 0 verschlossen. Um die Narbenbildung zu minimieren, werden 2 ml Heparin-versetzte NaCl-Lösung peritesticulär in die tunica vaginalis eingegeben. Nach Verschluss der tunica Dartos wird die Haut mit Catgut 3 x 0 Einzelknopfnähten verschlossen.

Perkutane epididymale Spermatozoenaspiration (PESA)

Die Entnahme von Samenzellen aus dem Hoden durch die perkutane Punktion des Nebenhodens wurde auch für die Verschlussazoospermie beschrieben. Ist das alleinige Ziel die Entnahme von Spermien aus dem Nebenhoden, mißt man der Unversehrtheit des Nebenhodens keine Bedeutung bei, so könnte diese kostengünstige Methode geeignet erscheinen, da der gestaute Nebenhoden sonographisch gut sichtbar ist. Die sichtbaren Tubuli-Anschnitte dürfen aber nicht verdrängen, daß der Nebenhodenschwanz aus einem Tubulus besteht, der normalerweise 0,1 mm im Querschnitt mißt. Die Kanüle durchsticht das Kanälchen mehrfach, wodurch eine großflächige Zerstörung resultiert (Abb. 8). Erst das hervorquellen aus vielen aufgeschnittenen Tubulusabschnitten ermöglicht die Aspiration.

Im Gegensatz zur Nebenhodenfreilegung und tangentialem Anschnitt des Tubulus wird hier mit einer spitzen Kanüle ohne direkte Sicht in den Nebenhoden ge-

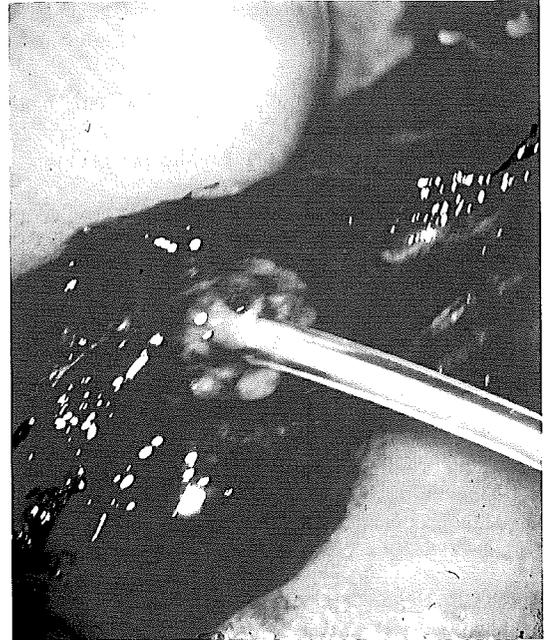


Abb. 8

stochen. Dabei wird die Nadel so vorgeschoben, daß Flüssigkeit aspiriert werden kann. Es werden unweigerlich mehrere Tubulusanteile aufgerissen, die Flüssigkeitsausbeute ist gering, der Nebenhoden für eine Reanastomosierung verloren. Aus diesem Grund ist die perkutane Nebenhodenpunktion abzulehnen. Auch hier gilt, daß primär eine Reanastomosierung anzustreben ist, bei Undurchgängigkeit der Samenleiter eine MESA durchgeführt werden sollte. Hier ist die gezielte Eröffnung und der Verschluss eines Tubulus unter direkter Sicht möglich, was die anatomische Struktur erhält und nicht den Nebenhoden zerstört. Aufgrund der kleinen Fallzahlen sind die Komplikationsraten auch noch nicht erhoben worden. Die Ergebnisse bei intracytoplasmatischer Spermieninjektion sind zudem schlechter als bei einer MESA (3).

Minilaparoskopische Hoden- und Nebenhodenpunktion

Die Laparoskopie des Skrotum ist ein nicht etabliertes Verfahren und befindet sich im experimentellen Stadium. Die weitere Entwicklung ist aber noch nicht abzusehen. Diese Methode zeichnet sich durch die geringere Traumatisierung des Gewebes und die geringere Freisetzung von Entzündungsmediatoren (4, 6) aus. Im Gegensatz zur Hodenfreilegung wird bei dieser Methode lediglich mit mehreren kleinsten Einstichen der Eingang der Mini-Laparoskopie-Instrumente bis durch die tunica vaginalis ermöglicht. Der Hoden verbleibt im

Skrotum, die Beurteilbarkeit ist gut. Im Gegensatz zur Hodenfreilegung ist eine anschließende Fibrosierung der Hodenhüllen durch das Belassen des Hodens in der tunica vaginalis nicht zu befürchten. Eine schonende Biopsierung und Beurteilung des Nebenhodens ist mit dieser Methode möglich.

Dabei werden die Mini-Trokare beim nicht voroperierten Hoden nach Stichinzision bis auf die tunica albuginea vorgebracht. Durch Anspannen des Skrotums kann ein gutes Sichtfeld erreicht werden und die Probeentnahme durchgeführt werden. Die Entnahme von Spermien aus dem Nebenhoden wurde nicht durchgeführt, da sie aufgrund der schlechteren Sichtverhältnisse der offenen Entnahme unterlegen zu sein scheint. Beim voroperierten Hoden empfiehlt sich diese Methode nicht, da präoperativ nicht beurteilt werden kann, ob die tunica vaginalis der tunica albuginea anhaftet.

Literatur

- Beintker, M., Bürger, R., Denil, J., Kliesch, S., Sandmann, J., Sperling, H., Schroeder-Printzen, I., Schwarzer, J.U., Weiske, W.H., Zumbe, I., Arbeitsgruppe MESA-TESE des AK Mikrochirurgie: MESA und TESE – Ergebnisse mit der operativen Spermatozoengewinnung bei der assistierten Fertilisation, *Urologe A Suppl 1/97*: S 18 (1997)
- Devroey, P., Liu, J., Nagy, Z., Tournaye, H., Silber, S.J., van Steirteghem, A.C.: Normal fertilization of human oocytes after testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection, *Fertil Steril* 62: 639 - 641 (1994)
- Engelmann, U.H., Deindl, F., Hertle, F., Wilbert, D., Senge, T.: Die Refertilisierungssituation in der Bundesrepublik Deutschland - Ergebnisse einer Umfrage, *Urologe B* 29: 29 - 33 (1989)
- Fornara, P., Höppner, C., Al-Hasani, S., Diedrich, K., Jocham, D.: Microepididymal sperm aspiration and testicular biopsy spermatozoa aspiration with intracytoplasmic sperm injection. In: Aburumieh A. (eds) World Congress on in vitro Fertilization and assisted reproduction, Monduzzi Editore, Bologna/Italy, pp. 667 - 670 (1995)
- Fornara, P., Doehn, C., Fricke, L., Hoyer, J., Jocham, D. (1997) Urological laparoscopy in renal transplant patients, *Urology* 49: 521 - 527 (1997)
- Fornara, P. Infertilität, *Heilberufe* 49, Heft 2: 51 - 53 (1997)
- Fornara, P., Doehn, C., Jocham, D.: Laparoscopic nephropexy: 3-year experience, *J Urol* in press Nov. 1997 (in press)
- Küpker, W., Fornara, P., Al-Hasani, S., Diedrich, K.: Die intracytoplasmatische Spermatozoeninjektion (ICSI) - Assistierte Fertilisierung bei schwerer männlicher Infertilität, *Gynäkologie* 29: 453 - 463 (1996)
- Michelmann, H.-W.: Intracytoplasmatische Spermatozoeninjektion (ICSI), in: Tinneberg, H.-R., Ottmar, C., *Moderne Fortpflanzungsmedizin*, Georg Thieme Stuttgart, pp 188 ff. (1995)
- Nieschlag, E., Behre, H.-M. (Hrsg.): *Andrologie: Grundlagen und Klinik der reproduktiven Gesundheit des Mannes*, Springer Berlin (1996)
- Palermo, G., Joris, H., Devroey, P., Steirteghem, A.C.: Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte, *Lancet* 1: 826 - 835 (1992)
- Patrizio, P., Asch, R.H., Handelin, B., Silber, S.J.: Aetiology of congenital absence of vas deferens: genetic study of three generations, *Hum Reprod* 8: 215 - 220 (1993)
- Salzbrunn, A., Benson, D.M., Holstein, A.F., Schulze, W.: A new concept for the extraction of testicular spermatozoa as a tool for assisted fertilization (ICSI), *Hum Reprod* 11: 101 - 104 (1996)
- Sandmann, J., Fornara, P., Johannisson, R., Al Hasani, S., Bals-Pratsch, M., Jocham, D., Diedrich, K.: Wertigkeit mikrochirurgischer Techniken bei der Behandlung der Verschlussazoospermie, *Wehrmed* 3: 46 (1996)
- Sandmann, J., Fornara, P., Al Hasani, S., Diedrich, K., Jocham, D.: Mikrochirurgische epididymale und testikuläre Spermienaspiration zur intracytoplasmatischen Spermieninjektion, 38. Tagung der Vereinigung Norddeutscher Urologen, 06.-08.06.96 Abstractband Berlin (1996)
- Schirren, C.: *Praktische Andrologie*, Diesbach Berlin (1995)
- Schlegel, P.N., Goldstein, M.: Microsurgical vasoepididymostomy: refinements and results, *J Urol* 150: 1165 - 1168 (1993)
- Silber, S.J.: Vasectomy and vasectomy reversal, *Fertil Steril* 29: 125 - 140 (1978)
- Silber, S.J., Rodriguez-Rigau, L.J.: Quantitative analysis of testicle biopsy: determination of partial obstruction and prediction of sperm count after surgery for obstruction. *Fertil Steril*, 36, 480 - 485 (1981)
- Silber, S.J.: Reproductive infertility microsurgery in male and female, Williams & Wilkins, Baltimore (1984)
- Silber, S.J.: Microsurgery for male infertility, *Microsurgery* 9: 251 - 257 (1988)
- Silber, S.J.: Results of microsurgical vasoepididymostomy: role of epididymis in sperm maturation, *Hum Reprod*: 4, 298 - 303 (1989)
- Silber, S.J., Nagy, Z.P., Liu, J., Godoy, H., Devroey, P., van Steirteghem, A.C.: Conventional in vitro fertilization versus intracytoplasmic sperm injection for patients requiring microsurgical sperm aspiration, *Hum Reprod* 9: 1705 - 1709 (1994)
- Templeton A.A.: The epidemiology of infertility. In: Templeton A.A., Drife J.O. (eds) *Infertility* Springer London pp 23 - 32 (1994)
- Tournaye, H., Devroey, P., Liu, J., Silber, S.J., van Steirteghem, A.C.: Microsurgical epididymal sperm aspiration and intracytoplasmic sperm injection: a new approach to infertility as a result of congenital absence of the vas deferens. *Fertil Steril* 61: 1045 - 1051 (1994)
- Weidner, *Reproduktionsmedizin: TESE auch beim kleinem Hoden und hohem FSH möglich*, *Urologische Nachrichten* 9: 1 (1997)
- Weiske, W.-H.: Pregnancy caused by sperm from vasa efferentia, *Fertil Steril* 62: 642 - 643 (1994)
- WHO Task Force on the Diagnosis and Treatment of Infertility: Towards more objectivity in diagnosis and management of male infertility, *Int J Androl (Suppl. 7)* (1987)
- Zumbe, J., Beintker, M., Denil, J., Fornara, P., Miersch, W.D., Schroeder-Printzen, I., Schwarzer, U., Sperling, H., Weiske, W.H.: MESA and TESE, Experiences of the German Section of Urological Microsurgery, *Andrologia* 28: 89 - 92 (1996)

Mikrochirurgische Refertilisierung im Zeitalter der ICSI: Überholte Prozedur oder sinnvolle Ergänzung?

P. Fornara, J. Sandmann, D. Jocham

Operative Therapieformen

Lange Zeit waren mikrochirurgische Operationen zur Refertilisierung die einzige Möglichkeit, bei Verschlüssen der samenableitenden Wege eine Schwangerschaft zu induzieren. Allerdings konnten bei Ausbleiben des erhofften Operationsergebnisses keine Therapiealternativen angeboten werden; es blieb lediglich der erneute operative Versuch. Durch die Einführung der intrazytoplasmatischen Spermatozoeninjektion (ICSI) haben die mikrochirurgischen Techniken zur Entnahme von Samenzellen aus dem Hoden und Nebenhoden einen neuen Weg zur Erfüllung des Kinderwunsches geebnet (Palermo et al. 1992). Die Kryokonservierung eröffnete weitere Möglichkeiten, so daß dem andrologisch tätigen Urologen zur Zeit diverse operative Möglichkeiten offenstehen, die im Sinne des Patienten einzeln oder kombiniert zum Einsatz kommen.

Diese Möglichkeiten unterteilen sich in kausale und nichtkausale Therapieformen. Die Durchführung einer kausalen Therapie ermöglicht dem Patienten die Vaterschaft auf natürlichem Wege und ist daher prinzipiell anzustreben. Dieses Ziel darf nicht über die Indikation zur Behandlung gestellt werden. Wenn es um die Wahl der Therapie geht, muß die Belastung durch Wartezeit, Behandlungszeit, frustrare Versuche berücksichtigt werden. Die meisten Paare haben eine längere belastende Phase der Diagnostik und Therapie hinter sich, haben darüber hinaus vielleicht die Grenze zum limitierenden Patientenalter erreicht, so daß die Toleranz zu warten erschöpft, die Indikation zu einer zügigen Therapie gegeben ist. Die Kombination von Refertilisierung und Spermatozoenentnahme mit Kryokonservierung ermöglicht es, beim Fehlschlagen der Operation auf die entnommenen Spermien zurückzugreifen und dem Patienten eine erneute Operation zu ersparen. So kann auch die alleinige nichtkausale Therapie trotz einer möglichen mikrochirurgischen Reanastomosierung indiziert sein. Eine kategorische Indikationsstellung muß vermieden werden (Sandmann et al. 1996, a, b).

Mikrochirurgische Refertilisierungstechniken

Die kausalen Refertilisierungstechniken bei Verschlüssen der samenableitenden Wege sind die Vasovasosto-

mie und die Vasoepididymostomie, besser Tubulovasostomie genannt, die unter mikrochirurgischen Bedingungen durchgeführt werden sollten, um die feinen Strukturen erkennen zu können. Nach Vasektomie ist die Vasovasostomie die Therapie der Wahl, aber auch bei anderen Ursachen des Verschlusses sollte wenn möglich die Durchgängigkeit erreicht werden. Eine mikrochirurgische Reanastomosierung ist als kausale Therapie immer anzustreben, um dem Patienten die Zeugung eines Kindes per vias naturales zu ermöglichen.

Erfahrene Autoren mit großen Patientenkollektiven berichten über Durchgängigkeitsraten nach Refertilisierungsoperationen von 75-97% bei der Vasovasostomie bzw. 70-83 % bei der Tubulovasostomie aber über Schwangerschaftsraten von nur 19-72 % bei der Vasovasostomie bzw. 31-56% bei der Tubulovasostomie (Weicher 1997), wobei der Patient mindestens ein Jahr bis zur abschließenden Betrachtung der Durchgängigkeit der Anastomose warten muß.

Vasovasostomie

Die Vasovasostomie ist bei kurzstreckigen Verschlüssen des Samenleiters oder bei Zustand nach Vasektomie indiziert. Sie erfolgt unter dem Operationsmikroskop, da so die feinen Strukturen und das Lumen erkennbar sind. Bei Zustand nach Vasektomie wird der Samenstrang aufgesucht, anschließend das proximale und distale Ende des Samenleiters präpariert und geprüft, ob eine spannungsfreie Anastomose möglich ist. Nachdem die verschlossenen Enden der Samenleiter abgetrennt worden sind, fließt meistens kurze Zeit später Samenflüssigkeit aus dem distalen Ende und zeigt die Durchgängigkeit des distalen Samenleiters an. Die früher eingesetzte Kontrastmitteldarstellung des Samenleiters kann zur Stenosierung führen, weswegen diese Methode nur im Einzelfall intraoperativ angewendet oder besser gänzlich vermieden werden sollte. Kommt es trotz leichtem intermittierendem Druck auf den Nebenhodenschwanz nicht zu einem Flüssigkeitsaustritt, so muß von einer weiteren Stenose oder einem blow-out-Phänomen des Nebenhodens ausgegangen werden. Die austretende Flüssigkeit wird auf Samenzellen untersucht und kryokonserviert. Anschließend werden die beiden Enden des Samenleiters fixiert und

zur zweischichtigen Naht zuerst die Mukosa der Samenleiter mit Prolene 10/0 adaptiert. Dabei ist besonders darauf zu achten, daß die Lumina spannungsfrei und paßgerecht aneinander zu liegen kommen, da austretende Spermien zu einer Immunreaktion mit Bildung von Autoantikörpern führen können und so die Menge der Spermien reduzieren (Silber 1978, 1984, 1988).

Autor	Jahr	Patienten (n)	Durchgängigkeit(%)	Schwangerschaft(%)
Derik	(1973)	1630	38	19
Silber	(1978)	400	94	71
Lee	(1986)	610	92	58
Belker	(1991)	1469	80	52
Weiske	(1996)	376	78	25
Gesamt		4485	76	45

Tabelle 1: Ergebnisse der Vasovastomie

Nun wird die Muskularis der beiden Samenleiter ebenfalls spannungsfrei und wasserdicht vernäht. Nach einem Monat kann das erste Spermogramm einen prognostischen Aufschluß über den Erfolg der Operation geben, ein Mißerfolg läßt sich allerdings erst nach einem Jahr feststellen. Die Durchgängigkeit hängt sehr stark von der zurückliegenden Zeit und sicherlich auch den operativen Möglichkeiten ab, weshalb Durchgängigkeits- und Schwangerschaftsraten stark differieren. So sind die Daten von Derik auf die makroskopische Technik zurückzuführen, während andere Autoren mikrochirurgisch vorgehen (Tab. 1).

Infolge der Diskussion um den männlichen Beitrag zur Empfängnisverhütung hat sich der Anteil der vaskotomierten Patienten erhöht. Aufgrund einer neuen Partnerschaft oder dem Tod eines Kindes bereuen später einige dieser Patienten die durchgeführte Unterbindung; 6 % der sterilisierten Männer wünschen eine Re-



Abb. 1: Vasovasostomie nach Vasektomie

fertilisierung, bei 1,9 % wurde dieser Eingriff durchgeführt (Engelmann et al. 1989). Es ist anzunehmen, daß dieser Anteil weiter wachsen wird, wobei auch der Wunsch nach einer alleinigen Spermienengewinnung ohne Refertilisierung vorgebracht wird. Bei der Vasektomie werden die Samenleiter durchtrennt, das Lumen elektrokoaguliert und die Enden umgeschlagen. Im Verlauf des Samenstranges ist eine Lücke zwischen dem proximalen und distalen Ende palpabel.

Die häufigste Indikation für Vasovasotomie ist der erneute Kinderwunsch bei Zustand nach Vasektomie. Die Daten der amerikanischen Vaso-Vasostomie-Study-Group, die von Belker 1991 veröffentlicht wurden, zeigten eine zeitabhängige Verschlechterung der Spermogramm-Parameter. Aufgrund dieser Daten ging man davon aus, daß eine Refertilisierung nach 15 Jahren fast aussichtslos wäre (Abb. 1).

Neue Daten der Deutschen Vaso-Vasovastomie-Gruppe, die von Weiske 1997 auf dem Kongreß der Deutschen Gesellschaft für Urologie vorgestellt wurden, zeigten diese Zeitabhängigkeit nicht. Hier konnten hohe Durchgängigkeitsraten gezeigt werden, was sicherlich auf der Tatsache beruht, daß nur mikrochirurgische Reanastomosierungen Berücksichtigung fanden.

Bei der Refertilisierung bestimmen das makroskopische Bild des Nebenhodens und der mikroskopische Befund des intraoperativ gewonnenen Spermias aus der Schnittstelle das operative Vorgehen. Ist der Ductus intakt und befinden sich lebendige Spermien im Ausstrich, so wird eine Vaso-Vasostomie durchgeführt. Gibt es einen Anhalt für ein blow-out-Phänomen des Nebenhodens, für das Zerreißen eines Tubulusabschnittes, so wird antegrad diese Ruptur eine Tubulovasostomie angeschlossen.

Das gewonnene Aspirat wird kryokonserviert und steht so für eine ICSI bei Fehlschlägen der Operation zur Verfügung. Da die Refertilisierung aber keine Aussicht auf Erfolg hat, wenn eine testikuläre Schädigung vorliegt, beginnen wir den Eingriff mit einer TESE. Erst der Nachweis von Spermien erlaubt die Refertilisierung. Da es auch Patienten gibt, die sich ohne Vaterschaft einer Vasektomie unterzogen haben, ist dieser Schritt obligat. Gerade hier muß der Nachweis der Zeugungsfähigkeit erst einmal geführt werden. Bei den Patienten nach Vaterschaft muß lediglich der Nachweis geführt werden, ob noch eine Zeugungsfähigkeit vorliegt.

Vasoe epididymostomie (Tubulovasostomie)

Die zweite kausale Therapieform ist die Tubulovasostomie. Sie ist technisch aufwendiger, da zwei unterschiedlich große Lumina anastomosiert werden müssen. Bei Stenosen im Nebenhodenschwanzbereich

kann es zu einer Aufweitung des Lumens des Nebenhodenkanälchens kommen, so daß eine Anastomose zwischen diesem und dem Samenleiter erfolversprechend erscheint. Die Erfolgsraten sind aufgrund der schwierigen anatomischen Verhältnisse und des hohen Anspruchs an die operativen Fertigkeiten etwas geringer als bei der Vasovasostomie.

Zu unterscheiden sind die End-zu-End-Anastomosierung und die End-zu-Seit-Anastomosierung am Nebenhoden. Während bei der End-zu-End-Anastomosierung ein Nebenhodenkanälchen quer abgeschnitten wird, erfolgt bei der End-zu-Seit-Anastomosierung eine tangentiale Auftrennung eines Nebenhodenkanälchens. Bei beiden Verfahren wird zuerst geprüft, ob sich Samenflüssigkeit entleert. Anschließend wird unter Spannungsfreiheit der Tubulus mit der Mukosa des Samenleiters verbunden. Danach wird die Tunica des Nebenhodens mit der Muskularis des Samenleiters verbunden. Ein Ausreißen der dünnen Tubulusnähte läßt sich durch Vorlegen und Knüpfen der Muskularisnähte auf der unten liegenden Seite von Samenleiter und Nebenhoden vermeiden. Auch hier kann nach einem Monat eine Erfolgskontrolle durch ein Spermogramm erfolgen, eine abschließende Beurteilung erst nach einem Jahr.

Von den meisten Autoren werden Schwangerschaftsraten bis 50% angegeben (Schlegel u. Goldstein 1993; Silber 1988; Weiske 1994). Weit höhere Schwangerschaftsraten werden in Kombination mit der intracytoplasmatischen Spermieninjektion (ICSI) beschrieben, die trotz erfolgreicher mikrochirurgischer Refertilisierung prinzipiell und bei ausbleibender Schwangerschaft immer angeschlossen werden soll (Silber 1989). Allerdings muß hier die Frage gestellt werden, welchen Stellenwert die Operation bei Durchführung einer ICSI hat (Tab. 2.).

Ein Mißerfolg der Operation ist auf eine Sklerosierung der Anastomose, Spermienantikörper, eine epididymale Dysfunktion oder unerkannte Extravasationen am Nebenhoden mit nachfolgender Obstruktion zurückführbar. Durch die Unterbindung der Samenleiter kann die produzierte Samenflüssigkeit nicht abfließen, so daß es zu einem Spermagranulom oder einem Reißen von Nebenhodenkanälchen, dem sog. „blow out“ kommen kann (Silber 1984, Weiske 1994). Die präoperative Bestimmung des FSH kann Aufschluß über einen möglichen Spermatogenese-arrest geben. Gerade bei lange zurückliegender Unterbindung sollte vor dem aufwendigen mikrochirurgischen Eingriff eine Hodenbiopsie vorgeschaltet sein, um eine mögliche Hodenschädigung aufzuzeigen, die von vornherein eine erfolgreiche Operation verhindert. Nach intraoperativer Befundung der Biopsie und Spermienachweis kann das Hodengewebe kryokonserviert und der mikrochir-

Autor	Jahr	Patienten (n)	Durchgängigkeit (%)	Schwangerschaft (%)
Fodgestam et al.	1986	41	85	37
Silber	1988	139	78	56
Fuchs	1991	39	60	36
Schlegel/ Goldstein	1993	107	70	31
Niederberger/Ross	1993	22	48	
Thomas	1993	153	76	42
Matsuda	1994	26	81	42
Gesamt		527	71	41

Tab 2: Ergebnisse der mikrochirurgischen Vasopidymostomie

urgische Teil begonnen werden. Ein zweizeitiges Vorgehen ist heute nicht mehr gerechtfertigt.

Zusammenfassung

Die neuen reproduktionsmedizinischen Möglichkeiten und Entwicklungen der letzten Jahre haben die Therapie der männlichen Infertilität zweifelsohne neu belebt. Es gibt jedoch einige zusätzliche Aspekte. Berechnet man z.B. die Kosten der modernen Reproduktionsmedizin und vergleicht sie mit den Kosten für einen mikrochirurgischen Eingriff, so ist die Mikrochirurgie weit überlegen. Sie bietet sich aber nicht bei jedem Patienten an. Vergleicht man die Schwangerschaftsraten nach mikrochirurgischer Refertilisierung mit denen nach ICSI, so ist diese wieder weit überlegen. Wir vergleichen hier aber ungleiche Kollektive: auf der einen Seite Patienten mit Spermatogenese-arrest, auf der anderen Seite Patienten, die keine „Produktionsstörung“, sondern lediglich ein Transportproblem haben.

Zu bedenken ist ferner, daß auch die Mikrochirurgie keine Durchgängigkeit und Schwangerschaft garantieren kann. Es gibt auch hier Mißerfolge. Eine sinnvolle Ergänzung von kausaler mikrochirurgischer Refertilisierung und nichtkausaler optionaler Therapie stellt für den Patienten ein Höchstmaß an Erfolgsaussicht und Nutzen dar. Genauso wenig wie der alleinige reproduktionsmedizinische Ansatz wünschenswert ist, so sollte die Möglichkeit einer natürlichen Vaterschaft nicht unberücksichtigt bleiben. Bei einer operativen reproduktionsmedizinischen Maßnahme zur Samengewinnung muß daher eine gleichzeitige mikrochirurgische Refertilisierungstherapie grundsätzlich mit angestrebt werden.

Psychosomatische Aspekte in der Sterilitätsbehandlung

I. Kowalcek, G. Buhrow, N. Wihstutz, K. Diedrich

Zusammenfassung

Ziel dieser Studie ist die Erfassung der Psychodynamik der Paarbeziehung bei ungewollt kinderlosen Paaren zum Zeitpunkt des Erstgesprächs im Zentrum für Reproduktionsmedizin der Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe der Medizinischen Universität Lübeck (Direktor: Prof. Dr. K. Diedrich). Aufgezeigt werden mögliche Unterschiede in der Psychodynamik der Paarbeziehung in Abhängigkeit von der Dauer des Kinderwunsches und Unterschiede in der Psychodynamik der Paarbeziehung in Abhängigkeit von bereits bestehenden reproduktionsmedizinischen Behandlungserfahrungen. Die Stichprobe umfaßt 208 ungewollt kinderlose Frauen und Männer. Als Untersuchungsmaterial diente der Giessen-Test von BECKMANN und RICHTER (1972). Das erstellte Paarprofil zeigt vor allem bei den Frauen eine narzißtische Kränkung, ein verringertes Selbstvertrauen und eine deutliche Tendenz zur Depression. Diese Beobachtung deutet darauf hin, daß die Frauen stärker von der ungewollten Kinderlosigkeit getroffen sind, als ihre Partner. Für Paare, die sich erst nach langjährigem Kinderwunsch in Behandlung begeben, läßt sich bei den Frauen eine geringere psychische Beeinträchtigung beschreiben, als für Paare, deren Kinderwunsch erst kurze Zeit besteht. Offensichtlich ist der Leidensdruck dieser Paare geringer, möglicherweise haben die Frauen die Situation bereits akzeptiert und Bewältigungsstrategien entwickelt. Bei Paaren mit reproduktionsmedizinischer Behandlungserfahrung läßt sich eine deutlich stärkere narzißtische Kränkung sowie ein größeres Maß an Depressivität bei Patientinnen und Patienten nach frustrierten INS- und IVF-Zyklen finden, verglichen mit Paaren ohne Vorbehandlung bzw. lediglich Erfahrung mit VZO.

Einleitung

Die ungewollte Kinderlosigkeit stellt für eine zunehmende Zahl von Paaren in den westlichen Industrienationen ein Problem dar. Die Anzahl der ungewollt kinderlosen Paare wird in Deutschland auf mehr als 1,5 Mio. geschätzt. Es wird davon ausgegangen, daß etwa 15-20% aller Paare unfruchtbar sind (Diedrich 1996). In unserem Jahrhundert hat sich eine Wandlung vollzogen von der ehemals schicksalhaften Natur- und Glaubenshängigkeit der Erfüllung und auch der Nichterfüllung

des Kinderwunsches zu einem weitgehend bewußten und planbaren individuellen Lebensziel „Wunschkind“. Häufig wird von einem nach Plan einsetzbaren generativen Potential ausgegangen. Sterilität ist ein komplexes Geschehen, das neben den somatischen und funktionellen Voraussetzungen auch unterschiedliche individuelle emotionale Reaktionen und Bewältigungsstrategien umfaßt. Eine unfreiwillige Kinderlosigkeit bedeutet für das betroffene Paar einen erheblichen Leidensdruck, der zu großen Teilen auf sozialen Aspekten beruht. Unfruchtbarkeit wird möglicherweise bei dem betroffenen Paar zum Auslöser einer Lebenskrise. Der Leidensdruck durch den unerfüllten Kinderwunsch ist zurückzuführen auf eine gestörte Lebensperspektive eines oder beider Partner. Im individuellen Lebenskonzept einer Frau und ähnlich in dem des Mannes bedeutet ein eigenes Kind häufig eine „Selbstverständlichkeit“ und die Bestätigung der eigenen Identität. Bei Nichterfüllung des Kinderwunsches kommen Gefühle von „Verletzung“, „Wut“, „Enttäuschung“, „Anspannung“, „Verärgerung“, „Trauer“ auf. Unfruchtbarkeit führt in der Interaktion beider Partner zu einem sozialen Symptom. In neueren Ansätzen wird der Kinderwunsch als Konstrukt aufgefaßt, das neben den individuellen Anteilen vor allem durch die Paardynamik bestimmt wird und in der Reproduktion konkret wird. So wird menschliche Reproduktion als eine komplexe Interaktion von Motiven, Gedanken, Verhalten einer Person mit den Motiven, Gedanken, Gefühlen, Verhalten einer anderen Person in bezug auf sexuelle Befriedigung, Zeugung und emotionale Bedürfnisse beschrieben (BLITZER et al. 1995, S.264). STAUBER (1979) beschreibt eine anklammernd-symbiotische Beziehungsstruktur bei ungewollt kinderlosen Paaren. Das Paar flüchte in eine nach außen abgeschirmte Beziehung. Eine Reihe von Untersuchern findet dabei ähnlich wie STAUBER, besonders bei den ungewollt kinderlosen Frauen, die Tendenz zu Depressivität, Minderwertigkeitsgefühlen, Ängstlichkeit und geringem Selbstvertrauen (NIJS, 1986; DANILUK, 1988; WRIGHT, 1991). Andere Autoren beschreiben dagegen unauffällige psychische Strukturen bei Sterilitätspatientinnen und -patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollgruppen (PAULSON, 1988; BERNT, 1985).

Seit den 80er Jahren bis heute entstanden eine Reihe von Arbeiten, die sich mit den Auswirkungen der Steri-

litätsbehandlung, insbesondere der neuen Reproduktionstechniken, auf das Befinden der Betroffenen befassten. Große Erwartungen und Hoffnungen werden von den betroffenen Paaren in die sich ständig weiterentwickelnden reproduktionsmedizinischen Techniken gesetzt. Kentenich et. al. (1991) haben in einer Untersuchung an 204 Paaren mit IVF-Behandlung die persönlichen Bewertungen der Frauen dieser Methode gegenüber zusammengestellt. So fand er nur 16 % der Frauen, die über keine Schwierigkeiten berichten. 66 % der Frauen dagegen fühlten sich seelisch deutlich beeinträchtigt; weitere 12 % berichten von neu aufgetretenen sexuellen Problemen und 7 % von Folgestörungen in der Partnerschaft.

Andere Studien befassen sich mit dem Grad der psychischen Belastung zu unterschiedlichen Zeiten der Sterilitätsbehandlung. DANLUCK (1988) findet eine signifikant erhöhte Belastung zum Zeitpunkt des Erstgesprächs sowie zum Zeitpunkt der Diagnosestellung. VISSER (1994) weist auf starke depressive Tendenzen bei Sterilitätspatientinnen nach gescheiterten IVF-Zyklen hin. LAFONT (1994) beschreibt für die IVF-Behandlung größere Auswirkungen auf das emotionale Befinden bei den betroffenen Frauen, als bei ihren Partnern.

Spezielle Fragestellung

Im Rahmen der vorliegenden Studie soll die Psychodynamik der Paarbeziehung ungewollt kinderloser Paare untersucht werden:

- A: Wie stellt sich das Selbst- und Fremdbild ungewollt kinderloser Paare zum Zeitpunkt des Erstgesprächs dar?
- B: Unterscheiden sich Selbst- und Fremdbild ungewollt kinderloser Paare in Abhängigkeit von der Dauer des Kinderwunsches?
- C: Unterscheiden sich Selbst- und Fremdbild ungewollt kinderloser Paare in Abhängigkeit von den bestehenden Behandlungserfahrungen?

Material und Methoden

1. Stichprobe

Die Studie umfaßt 208 ungewollt kinderlose Frauen und Männer, die sich in der Sterilitätssprechstunde der Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe der Medizinischen Universität Lübeck (Leiter Prof. Dr. K. Diedrich) zu einem Erstgespräch vorstellten.

2. Erfassung der abhängigen Variablen

Die Psychodynamik der Paarbeziehung

Das Selbst- und Fremdbild beider Partner wird mit dem Giessen-Test erhoben (BECKMANN und RICHTER, BRÄHLER und BRÄHLER, 1993).

Der Giessen-Test erlaubt die Erfassung von Persönlichkeitsmerkmalen und psychischen Strukturdominanten sowohl bei Einzelpersonen, als auch bei Paaren. Für diese Studie wird der Test in einer etwas abgewandelten Version genutzt, die von E. BRÄHLER und Ch. BRÄHLER (1993) speziell für die Paardiagnostik beschrieben wurde. Die 40 Items werden hier in 5 statt in der ursprünglichen Version in 6 Skalen zusammengefaßt, die folgende Bereiche der Persönlichkeit erfassen: Skala 1: Soziale Resonanz, Skala 2: Dominanz, Skala 3: Kontrolle, Skala 4: Grundstimmung und Skala 5: Durchlässigkeit.

Jeder Partner muß den Test in zwei Versionen bearbeiten, einmal für die Selbsteinschätzung und einmal für die Einschätzung seines Partners. Die 40 Fragen bzw. Aussagen sind bipolar angelegt, wobei auf einer Skala von -3 bis +3 die Zustimmung zu einer der beiden Seiten ausgedrückt werden muß.

Entsprechend den Anweisungen des Handbuches wird ein Rohwert je Skala ermittelt, der für die Einzelfalldiagnostik in ein Profilblatt eingetragen werden kann, in dem dann insgesamt vier Profile eines Paares (Selbst- und Fremdbilder beider Partner) miteinander verglichen werden können. Für den hier angestrebten Gruppenvergleich werden die Skalenrohwerte in T-Werte transformiert und deren Mittelwerte in drei Profilblätter eingetragen.

3. Statistische Auswertung

Die erhobenen Daten werden mit Hilfe des Statistikprogramms „SPSS“ (Statistical Package for social sciences) in Zusammenarbeit mit dem Institut für Medizinische Statistik und Dokumentation (PD Dr. H.-J. Friedrich) der Medizinischen Universität Lübeck ausgewertet. Zum inferenzstatistischen Gruppenvergleich werden gängige Verfahren der schließenden Statistik eingesetzt. Zur Anwendung kommen nicht-parametrische Verfahren zum Gruppenvergleich (Mann-Whitney U-Test und Wilcoxon Matched Pairs Signed-Ranks-Test). Zugrunde liegen die üblichen Signifikanzniveaus.

Ergebnisse

1. Stichprobenmerkmale

1.1. Altersverteilung

Das Alter der Frauen liegt bei 22 bis 39 Jahren, der Altersdurchschnitt bei 30 Jahren (Abb.1). Das Alter der Partner streut zwischen 25 und 54 Jahren bei einem Durchschnitt von 33 Jahren (Abb.2).

1.2. soziale Schichtung

Zur groben Einteilung nach sozialer Schichtung wurde der Schulabschluß beider Partner erhoben. Von den Frauen haben 19,2% einen Hauptschulabschluß, 52,9%

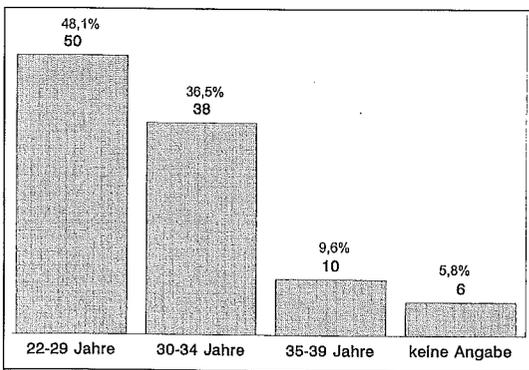


Abb. 1: Altersverteilung der Frauen

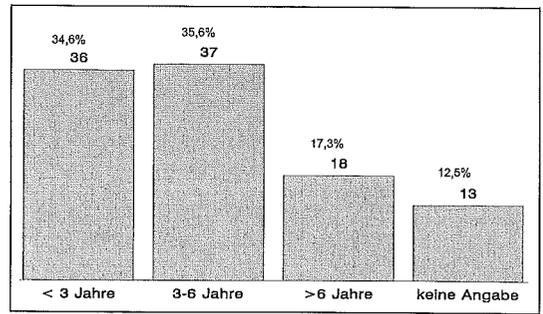


Abb. 3: Dauer des Kinderwunsches

dauer zwischen 3 und 6 Jahren, 34,6% einen Kinderwunsch seit weniger als 3 Jahren (Abb.3).

3.1.5. Vorbehandlung

Die bisherige Erfahrung der betroffenen Paare mit reproduktionsmedizinischen Interventionen (Verkehr zum optimalen Zeitpunkt (VZO), Inseminationen (INS) und In-vitro-Fertilisationen (IVF)) wurde erfragt (Tabelle 1).

53% der Paare haben bisher weder VZO praktiziert, noch Inseminationen oder IVF durchführen lassen. 18,3% der Paare haben Erfahrungen mit VZO, 12,6% hatten mindestens eine Inseminationsbehandlung. Die Anzahl der Behandlungen schwankt hier von einer bis zu 17. 14,5% der Paare haben bereits zwischen einer und vier IVF-Behandlungen erlebt. In diese Gruppe fallen besonders Paare mit andrologischer Sterilität,

	n	%
keine Vorbehandlung	55	52,9
VZO	19	18,3
INS	13	12,6
IVF	15	14,5
keine Angabe	7	6,7

Tabelle 1: Behandlungserfahrungen der Paare

die nach gescheiterten Versuchen mit der konventionellen IVF-Behandlung nun zur IVF mit Mikroinjektion nach Lübeck kommen.

2. Ergebnisse des Giessen-Tests für die Gesamtstichprobe

Die Rohwerte der 5 Skalen des Giessen-Tests werden in T-Werte laut Handbuch zur Paardiagnostik mit dem Giessen-Test (E.Brähler, Ch.Brähler, 1993) transformiert. Zur anschließenden Darstellung im Profilblatt wird jeweils der Mittelwert der T-Werte einer Skala gewählt.

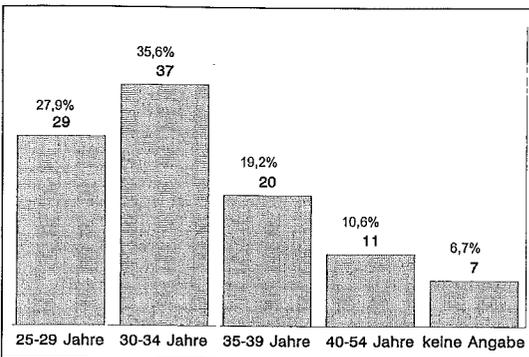


Abb. 2: Altersverteilung der Männer

die mittlere Reife und 6,7% das Abitur. 10,6% haben einen Universitäts- oder Fachhochschulabschluß, 1% eine Promotion erreicht. Bei 9,6% fehlt die Angabe zum Schulabschluß.

Bei den Männern verfügen 26% über den Hauptschulabschluß, 43,3% die mittlere Reife und 5,8% das Abitur. 14,4% besitzen einen Universitäts- oder Fachhochschulabschluß. Für 9,6% der Männer fehlt auch hier die Angabe des Schulabschlusses.

1.3. Erwerbstätigkeit der Frau

79,8% der befragten Patientinnen sind zum Zeitpunkt der Erhebung erwerbstätig, 12,5% sind Hausfrauen bzw arbeitslos. Bei 7,7% der Befragten fehlt die Angabe zur Erwerbstätigkeit. Die Partner sind ausnahmslos erwerbstätig.

1.4. Dauer des Kinderwunsches

Die Frage nach der Dauer des Kinderwunsches wird von der Frau bearbeitet. Die Bandbreite liegt hier zwischen 0,75 und 12 Jahren bei einem Mittelwert von 4,5 Jahren. 35,6% der Frauen nennen eine Kinderwunsch-

Die Benennungen der Kurven im Profilblatt gehen aus der Legende hervor. Als Abkürzungen werden verwendet:

ww	Selbstbild der Frau
mw	Fremdbild des Mannes über die Frau
mm	Selbstbild des Mannes
wm	Fremdbild der Frau über den Mann

Für die Gesamtstichprobe ergibt sich die Paarstruktur aus Abbildung 4. Die Sterilitätspatientin sieht sich (ww) nach Skala 1 eher negativ sozial resonant, also unbeliebt, mißachtet, nicht durchsetzungsfähig und unattraktiv. Die Ergebnisse in Skala 2 (Dominanz) und Skala 3 (Kontrolle) sind demgegenüber unauffällig im Vergleich zur Eichstichprobe. In Skala 4 wiederum zeigt sich ein deutlicher Ausschlag in Richtung Depression. Die Frauen halten sich damit für bekümmert, ängstlich, selbstkritisch, wenig durchsetzungsfähig. In Skala 5 tendiert das Selbstbild leicht zur Durchlässigkeit.

Das Bild, das der durchschnittliche Sterilitätspatient von seiner Frau hat (mw), weicht nur in Skala 1 deutlich von deren Selbstbild ab. Er hält sie für positiv sozial resonant, d.h. beliebt, geachtet, attraktiv. Während sich Selbst- und Fremdbild in Skala 2,4 und 5 fast genau entsprechen, weicht die Einschätzung des Mannes über seine Frau in Skala 3 etwas zur Zwanghaftigkeit hin ab.

Das Selbstbild des Partners (mm) weicht im Vergleich zu dem der Frau weniger von den Werten der Durchschnittsbevölkerung ab. Auch er hält sich eher für negativ sozial resonant. Vergleicht man seine Selbsteinschätzung mit seinem Bild von seiner Partnerin, so hält er diese für signifikant positiver sozial resonant ($p=0,05$) als sich selbst. In Skala 2,4,5 entspricht das Selbstbild des Mannes weitgehend den Normalwerten der Eichstichprobe. In Skala 3 schätzt er sich eher leicht unterkontrolliert ein.

Die Frau schätzt ihren Mann ähnlich ein, wie er sich selbst sieht (wm). Allerdings hält auch sie ihren Partner für weniger negativ sozial resonant, als er sich selbst. Die Diskrepanz zwischen Selbst- und Fremdbild ist beim Mann nicht so groß wie bei der Frau. Dennoch gilt auch hier, daß die Frau ihren Mann für signifikant positiver resonant hält, als sich selbst ($p=0,0355$). Daneben schätzt sie ihn in Skala 4 leicht depressiv ein.

Die Profile des durchschnittlichen Kinderwunsch-Paares weichen damit in Skala 4 (Grundstimmung) am deutlichsten voneinander ab. Sowohl im Vergleich der Selbsteinschätzungen (ww zu mm) und der Fremdeinschätzungen (wm zu mw) ist diese Differenz hochsignifikant ($P=$ jeweils 0,0001), als auch zwischen Selbst- und Fremdbild jedes einzelnen Partners (ww zu wm: $p=0,0001$; mm zu mw: $p=0,0001$). Die Frau tendiert demnach zu einer depressiven Grundstimmung, während der Mann sich „neutral“ sieht. Die Frau sieht ihren Partner ganz schwach zur depressiven Stimmung neigend.

3. Paarstruktur in Abhängigkeit von der Dauer des Kinderwunsches

Anhand der Dauer ihres Kinderwunsches wurden die Paare in 3 Gruppen eingeteilt. Die Abbildungen 5,6 und 7 zeigen die Profile der 3 Gruppen: Kinderwunsch seit weniger als 3 Jahren ($n=36$), Kinderwunsch seit 3 bis 6 Jahren ($n=37$) und Kinderwunsch seit 7 bis 12 Jahren ($n=18$).

Die Profile der ersten beiden Gruppen sind sehr ähnlich. Typisch ist die starke Depressivität der Frau im Selbstbild und auch im Fremdbild. Der Mann zeigt dagegen nur einen leichten Ausschlag in Richtung Depressivität im Selbstbild, einen stärkeren im Fremdbild. Außerdem sieht sich der Mann leicht unterkontrolliert. Die Frauen aus der Gruppe mit Kinderwunsch zwischen 3 und 6 Jahren sind in Selbst- und Fremdbild als zwanghaft charakterisiert.

Die schon oben als für Sterilitätspatientinnen und -patienten typisch beschriebene negativ sozial resonante Selbsteinschätzung in Skala 1 nimmt beim Vergleich aller Gruppen mit Zunahme der Kinderwunschdauer ab. Dies fällt besonders für die Frauen auf. Beim Vergleich der Selbstbilder (ww) dieser Skala von Frauen der ersten (Kinderwunsch unter 3 Jahren) und der dritten (Kinderwunsch über 6 Jahren) Gruppe erreicht der Unterschied Signifikanzniveau ($p=0,0302$).

Die Frauen aus der Gruppe mit dem längsten Kinderwunsch schätzen sich (ww) außerdem im Unterschied zu denen aus den anderen Gruppen un-

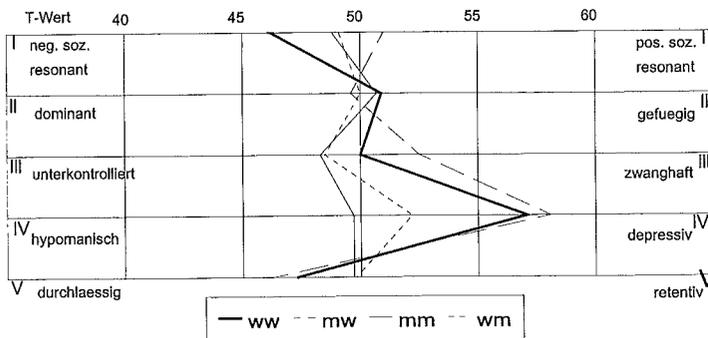


Abb. 4: Selbst- und Fremdbilder der Gesamtstichprobe

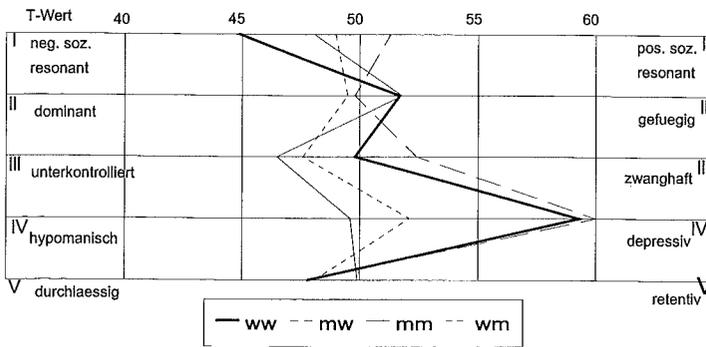


Abb. 5: Selbst- und Fremdbild der Paare mit Kinderwunsch seit weniger als 3 Jahren

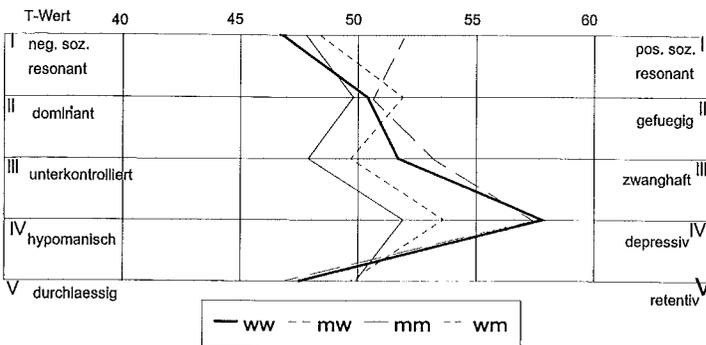


Abb. 6: Selbst- und Fremdbild der Paare mit Kinderwunsch seit 3 bis 6 Jahren

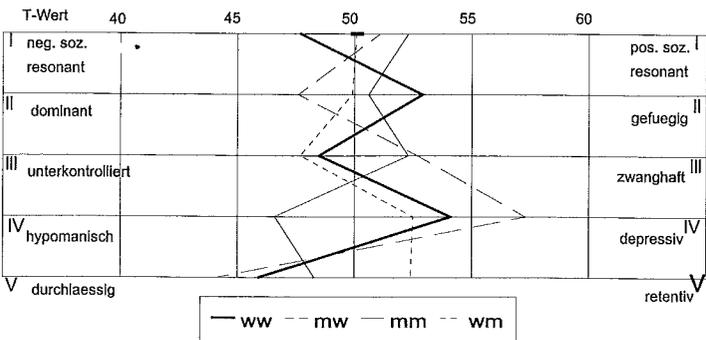


Abb. 7: Selbst- und Fremdbild der Paare mit Kinderwunsch seit über 6 Jahren

terkontrolliert und deutlicher durchlässig ein. Besonders bemerkenswert ist zusätzlich eine starke Abnahme der Depressivität im Vergleich zu den übrigen Frauen. Das Fremdbild für die Frauen aus dieser Gruppe (mw) variiert hier verglichen mit dem Selbstbild stärker als gewöhnlich. Die Partner sehen ihre Frauen positiver resonant, gefügig, eher zwanghaft als unterkontrolliert und wesentlich stärker depressiv.

Die männlichen Patienten aus der Gruppe mit langjährigem Kinderwunsch unterscheiden sich von ihren Geschlechtsgenossen aus den ersten zwei Gruppen im Selbstbild (mm) durch einen fehlenden Ausschlag in Skala 3 (Kontrolle), eine Tendenz zur Depression in Skala 4 und zur Durchlässigkeit in Skala 5. Das zugehörige Fremdbild (wm) für die Skalen 3 und 5 verhält sich praktisch spiegelbildlich.

Ergebnisse in Abhängigkeit von der Behandlungserfahrung

Die Abbildungen 8,9,10 und 11 zeigen die Paarprofile von Paaren ohne Vorbehandlung, von Paaren, die nur VZO praktiziert haben, von Paaren, die schon mindestens eine Insemination hatten und von Paaren, die schon mindestens einen IVF-Versuch gemacht haben.

Das Profil der Paare ohne Vorbehandlung (n=55) (Abb.7) unterscheidet sich kaum von dem der Gesamtstichprobe. Die Ergebnisse für Paare mit VZO-Erfahrung (n=15) (Abb.8) weichen deutlich davon ab, besonders das Selbstbild der Frau (ww) betreffend. In Skala 1 sieht sie sich weniger negativ sozial resonant. Außerdem hält sie sich für gefügig, was ihr Partner nicht bestätigt. Die Depressivität in Skala 4 ist nicht so stark wie beim Gesamtdurchschnitt. In Skala 5 beschreibt sich die Frau als ausgesprochen durchlässig.

Das Selbstbild des Mannes (mm) ist nicht auffällig gegenüber dem Gesamtdurchschnitt bis auf leichte Depressivität in Skala 4, wohl aber die Einschätzung seiner Frau über ihn (wm). Sie sieht ihn sehr dominant und zwanghaft im Gegensatz zu seiner Selbsteinschätzung.

Sowohl bei den Paaren mit INS-Erfahrung (n=10) (Abb. 10), als auch bei denen mit IVF-Erfahrung (n=14) (Abb. 11) fällt in Skala 4 des Selbstbildes der Frau (ww) eine starke Depressivität der Frau auf, die vom Partner bestätigt wird. Daneben ähneln die Profile wieder weitgehend denen der Gesamtstichprobe. Auffällig ist lediglich bei den INS-Paaren in Skala 2 die Dominanz im Selbstbild der Frau (ww) und die Gefügigkeit im Selbstbild des Mannes (mm), sowie

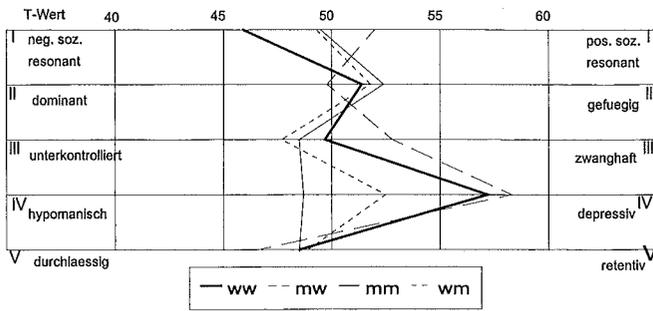


Abb. 8: Selbst- und Fremdbild der Paare ohne Vorbehandlung

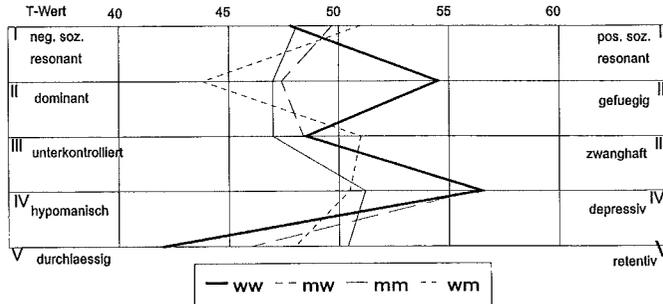


Abb. 9: Selbst- und Fremdbild der Paare mit VZO-Erfahrung

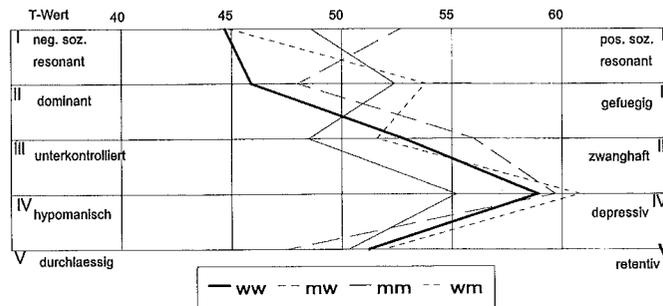


Abb. 10: Selbst- und Fremdbild der Paare mit bereits mindestens einer Insemination

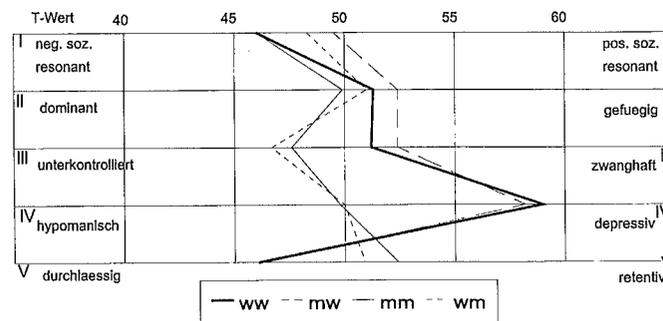


Abb. 11: Selbst- und Fremdbild der Paare mit IvF-Erfahrung

ein relativ starker Ausschlag zur Depressivität im Selbstbild des Mannes, der im Fremdbild (wm) noch wesentlich deutlicher ist.

1. Diskussion der Ergebnisse für die Gesamtstichprobe

In den Ergebnissen des Giessen-Tests fällt bei der Selbsteinschätzung der Frau besonders die negative soziale Resonanz auf, sowie die depressive Grundstimmung. Die Kinderwunschpatientin sieht sich demnach im Umgang mit ihrer Umwelt unbeliebt, kooperationsunfähig, mißachtet und unattraktiv im Vergleich zu anderen. Gleichzeitig beschreibt sie sich ängstlich, bekümmert, bedrückt, selbstkritisch und leicht beeinflussbar. Dieses Selbstbild läßt ein herabgesetztes Selbstbewußtsein, mangelnde Selbstsicherheit und narzißtische Frustration erkennen, die in der Nichterfüllung des Kinderwunsches zwar sicher nicht ihre alleinige Ursache hatten, jedoch reichlich Nahrung findet.

Der männliche Sterilitätspatient fällt demgegenüber nicht durch Depressivität auf, auch bei ihm ist aber eine negative soziale Resonanz im Selbstbild erkennbar, wenn auch nicht so deutlich, wie bei seiner Partnerin. Offensichtlich ist er durch den unerfüllten Kinderwunsch weniger frustriert und gekränkt als seine Frau bzw. verarbeitet die Situation anders.

E. BRÄHLER und CH. BRÄHLER (1993) erwähnen in ihrem Handbuch zur Paardiagnostik mit dem Giessen-Test eine repräsentative Ehepaarerhebung an 197 bundesdeutschen Ehepaaren, in der sie typische Ehepaarstrukturen beobachten, wobei die Ergebnisse zur Grundstimmung besonders interessant sind: „Die weibliche Rolle ist die der Depression. Die männliche Rolle ist die der Hypomanie. Diese Positionen entsprechen klassischen Geschlechtsstereotypen, die besonders bei weiblichen und männlichen Berufsrollen bis heute stark ausgeprägt sind.“ (S. 26). Der Mann erhält damit den Part des unbekümmerten, wenig ängstlichen und unbesorgten Partners, der weder selbstkritisch, noch leicht beeinflussbar ist, während die Frau eher sorgenvoll, bekümmert, ängstlich und depressiv ist.

Hinzuzufügen ist jedoch, daß das Ausmaß der Depressivität der Frau in Brählers

Ehepaarerhebung sowohl im Selbst- als auch im Fremdbild bei weitem nicht so ausgeprägt ist, wie es in unserer Studie für die Kinderwunschpatientinnen der Fall ist. Interessant ist aber, daß eine depressive Reaktion offensichtlich eine frauenspezifische Form der Konfliktverarbeitung darstellt. Als weitere Parallele zur Ehepaarerhebung von Brähler und Brähler ist die Konstellation der Selbst- und Fremdbilder in der Skala 1, d.h. bezüglich der sozialen Resonanz, zu erwähnen. Beide Partner stellen sich selbst negativ dar, ihren Partner aber signifikant positiver als sich selbst. In unserer Studie an den Kinderwunschaaren fällt besonders für die Frau eine große Diskrepanz zwischen ihrer Selbsteinschätzung und dem Bild, das ihr Partner von ihr zeichnet, auf. Dies deckt sich mit der von anderen Autoren bereits beschriebenen Beobachtung, daß Kinderwunschaare und dabei besonders die Frauen, zur Idealisierung der Paarbeziehung neigen. Jeder Partner stellt den anderen als „besser“ dar, als sich selbst und kann damit seine Zuneigung zum Ausdruck bringen, oder aber, im Rahmen einer Reaktion, bestehende Konflikte vor sich selbst und anderen verbergen.

STAUBER (1988) kam in seiner Untersuchung mit dem Giessen-Test ebenfalls an Kinderwunschaaren zu ganz ähnlichen Ergebnissen wie die vorliegende Untersuchung. Auch er sieht negative soziale Resonanz und Depressivität als typische Merkmale der Kinderwunschpatientin. Allerdings beobachtet er dieselben Auffälligkeiten, wenn auch abgeschwächt, bei den männlichen Patienten, was in dieser Untersuchung zumindest bezüglich der Depressivität nicht zutrifft.

Frauen sind durch das Problem der ungewollten Kinderlosigkeit offenbar stärker beeinträchtigt als ihre Partner. Die Gründe hierfür sind sicher vielfältig. Trotz der Ausweitung der Sterilitätsdiagnostik und der stärkeren Einbeziehung des Mannes als möglichem „Verantwortlichen“ für die Kinderlosigkeit, bleibt der Komplex Sterilität in vielen Köpfen noch mit der Frau verbunden. Bleibt eine Ehe kinderlos, wird die Frau ungleich häufiger darauf angesprochen und mit den Erwartungen des Umfelds an eine „richtige Familie“ konfrontiert. Von ihr wird, auch wenn sie im Beruf erfolgreich ist, immer noch zusätzlich die Geburt und das Aufziehen von Kindern erwartet, um als Frau voll und ganz akzeptiert zu sein, während für den Mann Erfolg im Beruf ausschlaggebend ist. Es ist die Frau, der die sichtbaren „Beweise“ für die „Normalität“ und „Funktionsfähigkeit“ ihres weiblichen Körpers, nämlich Schwangerschaft und Geburt, vorenthalten werden, wenn die Ehe kinderlos bleibt, egal welcher Partner im Sinne der Diagnose steril ist. Nicht die medizinische Ursache der Sterilität bewirkt das Leiden der Kinderlosen, sondern die Auswirkungen, die die Kinderlosigkeit auf ihr soziales Leben hat.

Ein weiterer Grund für die stärkere Beeinträchtigung der Frau durch die Kinderlosigkeit liegt in ihrer Therapie. Die Frau ist „Patientin“, unabhängig von der Sterilitätsursache. Besonders die Verfahren der extrakorporalen Befruchtung sind für die Frau zeitaufwendig und körperlich anstrengend. Sie ist gezwungen, ihr Leben für eine bestimmte Zeit nach ihrem Therapieplan zu richten, ihre Gedanken konzentrieren sich auf Hormonwerte und Ultraschalluntersuchungen.

Die Diskrepanz zwischen Mann und Frau bezüglich der Grundstimmung ist in unserer vorliegenden Studie wesentlich deutlicher, als Stauber es in seiner Erhebung aus den 80er Jahren beobachtet hat. Denkbare Erklärung ist die Etablierung aufwendiger Verfahren in Diagnostik und Therapie, die einerseits die Chancen der Paare auf ein eigenes Kind verbessert haben, andererseits aber für die Frau auch eine stärkere Belastung darstellen.

2. Diskussion der Ergebnisse in Abhängigkeit von der Dauer des Kinderwunsches

Bezüglich der Kinderwunschkdauer gilt für Frauen und Männer, daß die soziale Resonanz sich mit der Dauer des Kinderwunsches zum positiven hin verändert. Hierfür sind zwei Mechanismen verantwortlich zu machen. Einerseits wird die Kränkung durch den unerfüllten Kinderwunsch im Laufe der Zeit verarbeitet, andererseits tragen berufliche oder andere Erfahrungen außerhalb der Familienplanung zur Stärkung des Selbstbewußtseins bei, je deutlicher die Wahrscheinlichkeit wird, daß der Kinderwunsch unerfüllt bleibt.

Bei den Frauen nimmt auch die Depressivität mit der Dauer des Kinderwunsches erstaunlicherweise ab, während sie beim Mann zunimmt. Möglicherweise gelangt die Frau, dadurch daß sie in Diagnostik und Therapie stärker involviert ist und quasi gezwungen ist, sich ständig mit dem Problem zu befassen, schneller in einen Zustand der Akzeptanz der Situation, während dem Mann erst wesentlich später deutlich wird, daß seine Partnerschaft immer wahrscheinlicher kinderlos bleiben muß.

Diese Ergebnisse zeichnen ein recht erfreuliches Bild bezüglich des Umgangs mit der ungewollten Kinderlosigkeit, besonders durch die betroffenen Frauen. Eine Zunahme der Depressivität und der Selbstzweifel mit wachsender Dauer des Kinderwunsches wäre eigentlich erwartet worden.

Diskussion der Ergebnisse in Abhängigkeit von der Behandlungserfahrung

Bei Betrachtung der Ergebnisse in Abhängigkeit von der Vorbehandlung fällt der deutliche Unterschied zwischen den Paarprofilen von Paaren mit INS- oder IVF-Erfahrung und denen von Paaren mit lediglich VZO-

Erfahrung auf. Die starke Kränkung im Selbstbild, sowie die ausgeprägte Depressivität nicht nur bei der Frau, sind als Folge des Scheiterns der therapeutischen Maßnahmen verständlich. Trotz des Wissens um die Erfolgsraten dieser Verfahren sind die Hoffnungen der Patienten und Patientinnen besonders bei den ersten Therapieversuchen enorm hoch und die Enttäuschung bei einem Mißerfolg umso größer.

Beim Verkehr zum optimalen Zeitpunkt mit oder ohne vorangegangene Stimulation als erster Therapiemaßnahme werden Mißerfolge offensichtlich leichter verarbeitet. Das Gefühl, daß die Behandlung nun in Angriff genommen wird, verbessert zumindest bei der Frau die Stimmungslage gegenüber Paaren, die noch gar keine Behandlungserfahrung haben. Außerdem gibt das Wissen um die umfassenderen Behandlungsmöglichkeiten, die noch nicht ausgeschöpft sind, genügend Rückhalt, um Mißerfolge zu verkraften und Hoffnung aufzubauen.

Diese Ergebnisse machen deutlich, daß die aufwendigen modernen Therapieverfahren, besonders wenn sie nicht den gewünschten Erfolg bringen, auch eine große Belastung für die Paare bedeuten. Dies ist ein wichtiger Punkt, an dem psychologische Mitbetreuung der Paare ansetzen müßte.

Schlußfolgerungen

Folgende Aspekte erscheinen besonders wichtig für den Umgang mit Paaren während der Sterilitätsbehandlung:

- Die Frau leidet offensichtlich emotional stärker unter der ungewollten Kinderlosigkeit als der Mann.
- Mit der Dauer der Sterilitätsbehandlung und der steigenden Invasivität der Behandlungsmethoden steigt die emotionale Beeinträchtigung der Paare.
- Je länger der Kinderwunsch vor dem Entschluß zur Sterilitätsbehandlung besteht, desto positiver scheinen die Patienten ihre Situation zu verarbeiten, da ihr individueller Leidensdruck offensichtlich nicht so groß ist und sie in anderen Lebensbereichen bereits Bestätigung gefunden haben.
- Das breiter werdende Wissen in der Bevölkerung um die neueren, erfolgreichereren Behandlungsmethoden führt möglicherweise dazu, daß sich Paare, die sich schon auf ein Leben ohne Kinder eingestellt hatten, doch noch in Sterilitätsbehandlung begeben.

Für eine optimale Betreuung von Kinderwunschpaaren ist es wichtig zu wissen, daß Frauen und Männer unterschiedliche Reaktionen und Verarbeitungsstrategien

entwickeln. Besonders im Falle des Auftretens von Spannungen in der Beziehung im Zusammenhang mit der Sterilitätsbehandlung ist es hilfreich, diese Differenzen anzusprechen und mit dem Paar gemeinsam zu beraten, welche Konsequenzen gezogen werden müssen, um die Situation zu entspannen. Die Beobachtung, daß die psychische Beeinträchtigung bei Paaren nach erfolglosen Inseminationen und IVF-Behandlungen steigt, zeigt deutlich den Bedarf einer psychologischen Betreuung der Paare während und zwischen den Behandlungszyklen.

Literatur

1. Beckmann M., Richter H.-E. (1972): Giessen Test. Verlag Hans Huber, Bern.
2. Bernt H., Sudik R., Bernt W.-D., Scheunemann P. (1985): Psychologische Untersuchungen steriler Ehepaare im Rahmen eines In-vitro-Fertilisationsprogrammes. Zbl. Gynäkol. 110:1424-1431.
3. Blitzer J, Schwendtko A, Hösli I, Koller A (1995): Fertility consultation between birth control and wish for a child. In: Blitzer J, Stauber M (eds) Psychosomatic obstetrics and gynaecology. Monduzzi, Bologna, pp 263-267.
4. Daniluk J.C. (1988): Infertility: intrapersonal and interpersonal impact. Fertil Steril, 49: 982-990.
5. Diedrich K., Felberbaum R., Baumann P.(1996): Assistierte Reproduktion - Ein Überblick. Gynäkologe 29: 413-419 .
6. Diedrich K., Felberbaum R., Baumann P.(1996): Assistierte Reproduktion - Ein Überblick. Gynäkologe 29: 413-419.
7. Kentenich H, Wilcke M, Fuhrmann S, Stief A, Blankau A, Schmiady H (1991)
8. Ergebnisse einer Nachuntersuchung von IVF-Paaren und deren Kindern. In: Stauber M, Haselbacher G (Hrsg) Psychosomatische Gynäkologie und Geburtshilfe. Springer, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo.
9. Laffont I., Edelmann R.J.(1994): Psychological aspects of in vitro fertilization: a gender comparison. J. Psychom. Obst. Gynecol. 15: 85-92.
10. Nijs P., Demyttenaere K., Hoppengrouwers L (1986): Donor-Insemination, Adoption, In Vitro Fertilisation: Psychosoziale und Psychosexuelle Aspekte. Gynäkologe 19: 23-27.
11. Paulson J.D., Haarmann B.S., Salerno R.L., Asmar P. (1988): An investigation of the relationship between emotional maladjustment and infertility. Fertil Steril 49: 258-262.
12. Stauber M. (1979): Psychosomatik der sterilen Ehe. 1. Auflage, Grosse Verlag, Berlin.
13. Visser A. Ph., Haan G., Zalmstra H. Wouters I. (1994): Psychosocial aspects of in vitro fertilization. J. Obstet. Gynecol. 15: 34-43.
14. Wright J., Duchesne C., Sabourin S., Bissonette F., Benoit J., Girard Y. (1991): Psychosocial distress and infertility: men and women respond to infertility. Fertil Steril 55: 100-108.

Effekte von Progesteronantagonisten auf die uterinen Eosinophilen der Ratte

E. Rumpel, A.-K. Schubert und O. Schmitt

Zusammenfassung

Östrogene induzieren im Uterus von Ratten eine Invasion von eosinophilen Granulozyten, ein Effekt, der durch Progesteron antagonisiert wird. Im Uterus degranulieren die Eosinophilen, wahrscheinlich durch Vermittlung der Steroidhormone. Anhand des Ausmaßes der Eosinophileninvasion können Rückschlüsse auf die östrogene Aktivität von Substanzen gezogen werden. In der vorliegenden Studie wurde die Wirkung einer Langzeitbehandlung mit den Progesteronantagonisten Onapriston und ZK 112.993 auf die Eosinophilen im Uterus von Ratten untersucht. Die Darstellung der Eosinophilen erfolgte mit einem Antiserum gegen das in den Sekundärgranula lokalisierte Major Basic Protein (MBP). Dessen immunhistochemische Lokalisation in der extrazellulären Matrix in der Umgebung von Eosinophilen an Carnoy-fixierten Uteri war als Marker für deren Degranulierung gesehen worden (7). In unserer Studie setzten wir verschiedene Fixierlösungen ein.

Onapriston verursachte eine starke Infiltration mit Eosinophilen, die der von Östrogen-substituierten, ovariectomierten Ratten entsprach. Die Wirkung von ZK 112.993 war deutlich schwächer, womit die bei anderen Parametern beobachtete geringere antiprogesterive Wirkung dieses Antagonisten bestätigt wird. Die Immunreaktivität war nach Bouin-Fixierung am stärksten und auf die Eosinophilen beschränkt. Bei Carnoy-fixierten Uteri reagierte das Antiserum, bei deutlicher Abschwächung der zellulären Reaktion, mit der extrazellulären Matrix in der Umgebung der Eosinophilen. Wir folgern, daß im Rattenuterus in vivo keine stärkere extrazelluläre Ablagerung des MBP stattfindet, aber die Eosinophilenmembranen durch alkoholische Fixantien permeabilisiert werden können.

Summary

In the uterus of rats estrogens induce an invasion of eosinophilic granulocytes into the endometrium and the myometrium. Progesterone prevents the estrogen induced eosinophilia. The degranulation of eosinophils in the uterus is assumed to be mediated by steroid hormones. In the present study we investigated the effects of a long-term treatment with the progesterone antagonists onapristone and ZK 112.993 on the eosinophils in the uterus of rats. The extent of infiltration with eosino-

phils may allow the clinically important estimation of the estrogenic activity of such drugs. Eosinophils were visualized with an antiserum against the Major Basic Protein (MBP) of their secondary granules. The immunohistochemical demonstration of this protein in the extracellular matrix around the eosinophils in Carnoy-fixed uteri was taken as a marker for their degranulation by Duchesne and Badia (7). In our study we used uteri fixed with different solutions.

Onapristone-treated rats showed a strong infiltration by eosinophils which corresponded to that seen in ovariectomized rats treated with estrogen. The effect of ZK 112.993 was clearly weaker. This confirms the lower antiprogesterive activity of ZK 112.993 found for other parameters. After Carnoy fixation the antibody reacted with the extracellular matrix in the vicinity of the eosinophils and the staining intensity of the cells was weak. However, we got a strong immunoreactivity which was restricted to these cells in uteri fixed in Bouin's solution. Our results do not support the idea of a substantial extracellular deposition of MBP in the uterus of rats but speak in favour of a permeation of the eosinophil membranes by alcohol containing fixatives allowing granule contents to leave the cell.

Einleitung

Während des ovariellen Zyklus treten bei Ratten unter dem Einfluß der ovariellen Steroidhormone im Uterus große Schwankungen der Anzahl der eosinophilen Granulozyten auf (33). Im Proöstrus erfolgt durch ansteigende Östrogenspiegel eine Invasion von Eosinophilen, deren Zahl im Östrus das Maximum erreicht. Sie besiedeln in großer Zahl das tiefe Endometrium und das Myometrium. Mit dem Progesteronpeak im Diöstrus sinkt ihre Zahl auf ein Minimum. Elektronenmikroskopisch wurde demonstriert, daß, beginnend im Östrus, die Eosinophilen lysieren und später durch Makrophagen phagozytiert werden (30). Bei noch nicht geschlechtsreifen oder ovariectomierten Ratten, deren Uteri keine Eosinophilen enthalten, kann eine Eosinophilie durch Östrogengabe provoziert, durch gleichzeitige Progesteron- (19, 30) oder Glucocorticoidgabe (19) verhindert werden. Progesteron (10, 11), aber auch Östradiol sollen bei der Degranulation eine Rolle spielen (12). Zur Funktion der Eosinophilen im Uterus von Nagern gibt es eine Reihe von Vermutungen, aber

keine gesicherten Ergebnisse. Die Eosinophilen-Peroxidase soll an der Östrogeninaktivierung (Klebanoff 1965) und, gemeinsam mit anderen hydrolytischen Enzymen, an der Depolarisierung der extrazellulären Matrix des Uterus (14, 42) beteiligt sein.

Progesteronantagonisten binden mit hoher Affinität an Progesteronrezeptoren und hemmen Progesteronwirkungen in Target-Zellen. Ihre Entwicklung forcierte die Analyse der molekularen Mechanismen der Progesteronwirkungen. Klinische Einsatzmöglichkeiten dieser Substanzen sind beispielsweise der medikamentöse Schwangerschaftsabbruch (2, 29), die Behandlung von Mammatumoren (21, 41) und die Therapie der Endometriose (17).

Progesteron hemmt verschiedene biologische Effekte von Östrogen. Die Ausschaltung der Progesteronwirkung bei funktionstüchtigen Ovarien führt deshalb zu einer ungehemmten Wirkung von Östrogenen auf Zielorgane, zu einem funktionellen Hyperöstrogenismus. Dieser ist bei Langzeitanwendung von Progesteronantagonisten besonders für den Uterus von Bedeutung, weil dabei die Inzidenz von Endometriumkarzinomen steigt (18). Progesteronantagonisten können eine geringe Affinität zu Östrogenrezeptoren besitzen, wodurch direkte östrogene Effekte im Uterus möglich sind, wie für Onapriston demonstriert wurde (3).

In der vorliegenden Studie wurde der Einfluß einer Langzeitbehandlung mit den Progesteronantagonisten Onapriston und ZK 112.993 auf die Anzahl und Lokalisation der Eosinophilen im Uterus von intakten adulten Ratten untersucht. Damit sollte die antiprogestive Wirkung bzw. östrogene Potenz dieser Substanzen auf den Uterus anhand eines leicht quantifizierbaren Parameters geprüft werden. Für eine Quantifizierung unter kontrollierten hormonellen Bedingungen wurden ovariectomierte Ratten mit Steroidhormonen und Onapriston behandelt. Die Darstellung der Eosinophilen erfolgte mit einem Antiserum gegen das Major Basic Protein (MBP), dem Hauptbestandteil ihrer Sekundärgranula (9). MBP wurde auch extrazellulär im Rattenuterus demonstriert (6, 7). Mit Hilfe der immunhistochemischen Lokalisation von MBP bei mit Progesteronantagonisten behandelten Tieren sollte die Rolle von Progesteron bei der Degranulation der Eosinophilen weiter geklärt werden.

Material und Methoden

Die Untersuchung erfolgte an adulten weiblichen Wistar- bzw. Sprague-Dawley-Ratten (Zentralinstitut für Versuchstierzucht, Hannover) mit einem Körpergewicht (KG) von etwa 200 bzw. 300 g. Die Tiere wurden in einem 12 h Tag-Nacht-Rhythmus bei Raumtemperatur gehalten und hatten freien Zugang zu Futter und Wasser.

Uns stand Material von Ratten aus Versuchsreihen der Schering-AG, Berlin, zur Verfügung. Jede Versuchsreihe enthielt eine zyklische Kontrollgruppe. Vaginalabstriche und Uterusmorphologie dienten zur Bestimmung des Zyklusstadiums. Die Testsubstanzen Onapriston (ZK 98.299) und ZK 112.993 (13, 28) wurden in 0,1 ml eines 20 %igen Benzylbenzoat/Rizinusöl-Gemisches suspendiert und in einer Dosis von 5 bzw. 20 mg/kg/d sechsmal wöchentlich über 2 bis 6 Wochen s.c. injiziert. Den Kontrollratten wurde nur das Suspensionsmittel appliziert. Für die quantitative Untersuchung wurden die Befunde von 28 zyklischen und von 15 mit Onapriston und 13 mit ZK 112.993 behandelten Ratten ausgewertet.

Für die Quantifizierung unter kontrollierten hormonellen Bedingungen wurden ovariectomierte Wistar-Ratten, beginnend sechs Tage nach Ovariectomie, an drei aufeinander folgenden Tagen mit Östron (10 µg/kg KG), Östron plus Progesteron (10 µg + 1 mg/kg KG), Östron plus Progesteron plus Onapriston (10 µg + 1 mg + 0,1 mg/kg KG) bzw. nur dem Vehikel behandelt. Jede Gruppe umfaßte sechs Ratten.

24 h nach der letzten Behandlung wurden die Tiere unter Anästhesie dekapitiert, die Uterushörner entnommen, in mehrere Segmente geteilt, immersionsfixiert, entwässert und in Paraplast eingebettet. Als Fixantien wurden Bouin-Lösung (über Nacht), Carnoy-Flüssigkeit (Dembele-Duchesne et al. 1991) und gepufferter Formaldehyd (4%ig, über Nacht) verwendet. Von jedem Uterus wurden von mehreren Segmenten 5 µm dicke Schnitte angefertigt und mit Hämalaun/Eosin gefärbt bzw. für die Immunhistochemie ausgewählt.

Der immunhistochemische Nachweis des MBP erfolgte mit einem polyklonalen Kaninchen-Antiserum gegen Ratten-MBP (Dembele-Duchesne et al. 1991; 1 : 250 bis 1 : 750, von Frau Duchesne freundlicherweise zur Verfügung gestellt). Wir wendeten die indirekte PAP-Methode an und entwickelten den PAP-Komplex mit DAB. Die Quantifizierung der Eosinophilen erfolgte an 2-4 mit anti-MBP gefärbten Schnitten je Tier durch Auszählen unter dem Lichtmikroskop, wobei die Werte für das Endometrium und das Myometrium getrennt erhoben wurden. Die im Ergebnisteil angegebenen Zahlen beziehen sich jeweils auf einen Querschnitt durch ein Uterushorn. Zur statistischen Auswertung wurde der Kruskal-Wallis-Test eingesetzt.

Um das Verteilungsmuster der Eosinophilen genauer zu charakterisieren, wurde jeweils ein kontrastreiches (MBP, Bouin-Fixierung), typisches Präparat von östrogenen und von mit Onapriston bzw. ZK 112.993 behandelten Ratten automatisch ausgewertet. Dazu wurden die Schnitte auf dem drehbaren Objektisch eines Videomikroskopes positioniert. Mit Hilfe eines dreiaxigen Motorsystems konnte eine zuvor definierte „regi-

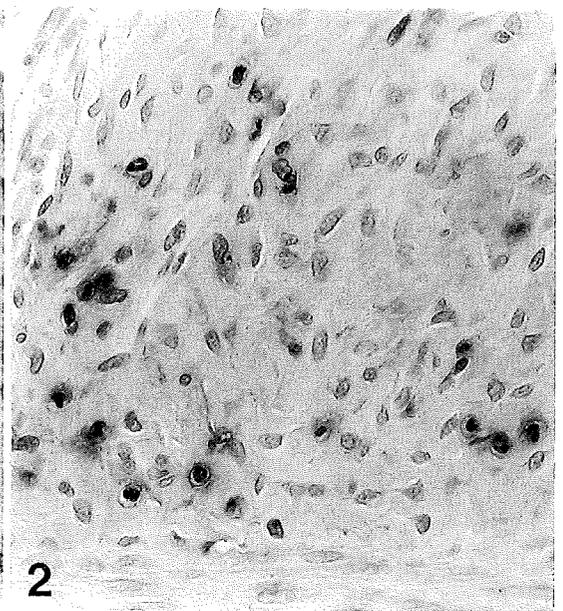
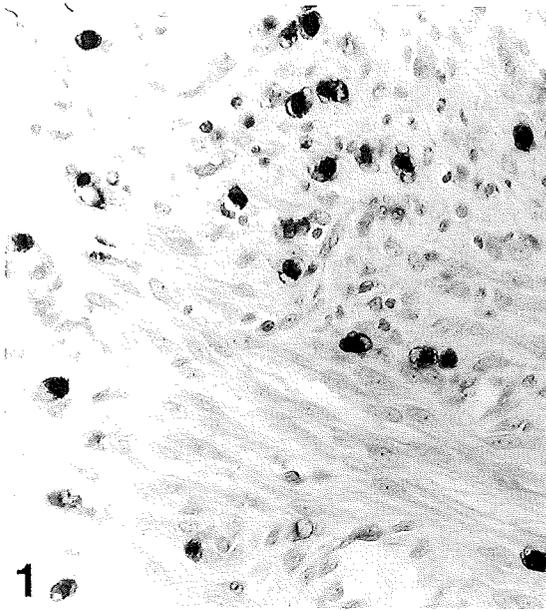


Abb. 1 und 2: Abhängigkeit der Immunreaktion gegen MBP im Uterus von Ratten von der Fixierlösung. Nach Fixierung mit Bouin-Lösung (Abb. 1) ist das Reaktionsprodukt ausschließlich zellulär lokalisiert, und die Eosinophilen sind kräftig gefärbt. Beachte die schwächere Färbung degranulierter Eosinophiler. Nach Carnoy-Fixierung (Abb. 2) kommt es zu einer Reaktion der extrazellulären Matrix bei geringerer Farbintensität der Zellen. Intakte Ratten nach Onapristonbehandlung, x 380.

of interest“ (ROI) eingestellt werden. Fokussierung und Abtastung des Schnittes wurden von dem Bildanalyse-system IBAS (Interaktives Bildanalyse-system, Version 2.5, Kontron) automatisch gesteuert. Hierzu wurden 512² große Grauwertbilder mit je 256 Intensitätswerten pro Pixel mit einer Videokamera aufgenommen. Die digitalisierten Bilder sind mit einem dynamischen Schwellwertverfahren derart bearbeitet worden, daß die projizierten Eosinophilen (Vordergrund) vom übrigen Gewebe (Hintergrund) getrennt wurden. Von den so erhaltenen Objektprofilen wurden morphometrische Maßzahlen bestimmt. Die 2D-Schwerpunkte der Objekte wurden nach Beendigung der Auswertung einem Prüfverfahren (Paarkorrelationsverfahren) (36) unterzogen, welches die Verteilung der Eosinophilen mit einer Poissonschen Zufallsverteilung (Poisson-Prozeß), einer Verteilung, in der die Objekte relativ konstante Abstände voneinander haben (Gitterprozeß oder hard core process) und einer Verteilung der lokalen Objekthäufungen (cluster process) vergleicht. Eine Randkorrektur wurde bei der Berechnung der Paarkorrelation berücksichtigt.

Ergebnisse

Fixierung und Färbbarkeit

Die Darstellbarkeit der Eosinophilen war sowohl bei der HE-Färbung als auch immunhistochemisch vom verwendeten Fixiermittel abhängig. Die beste Darstel-

lung gelang nach Bouin-Fixierung. An mit Formalin fixierten Uteri ließen sie sich mit der HE-Färbung gut darstellen, die immunhistochemische Reaktion auf MBP war hingegen schwach. Nach der Carnoy-Fixierung fiel die Färbbarkeit der Eosinophilen mit Eosin schwach aus, und die Kernform mußte für ihre Identifizierung herangezogen werden.

Beim immunhistochemischen Nachweis von MBP zeigte sich, daß die eosinophilen Granula nach Bouin-Fixierung am kräftigsten gefärbt waren und das Reaktionsprodukt ausschließlich zellulär lokalisiert war (Abb. 1). Im Gegensatz dazu war an Carnoy-fixierten Uteri (Abb. 2) eine extrazelluläre Lokalisation des MBP zu beobachten. Die Eosinophilen zeigten dabei eine deutlich schwächere Reaktion als nach Bouin-Fixierung. Die Färbung der extrazellulären Matrix war in der Umgebung von Eosinophilen-Ansammlungen im tiefen Endometrium und im Myometrium, hier vor allem im Stratum vasculare, am intensivsten. Sie erreichte nicht das luminale Epithel und korrespondierte mit dem Grad der Eosinophilie. In Uteri von unbehandelten ovariectomierten und diöstrischen Tieren, die keine bzw. wenige Eosinophile enthielten, trat nach Carnoy-Fixierung keine extrazelluläre Färbung auf; ebenso waren Negativkontrollen ungefärbt. Deshalb kann eine unspezifische Reaktion des Antiserums mit der extrazellulären Matrix ausgeschlossen werden.

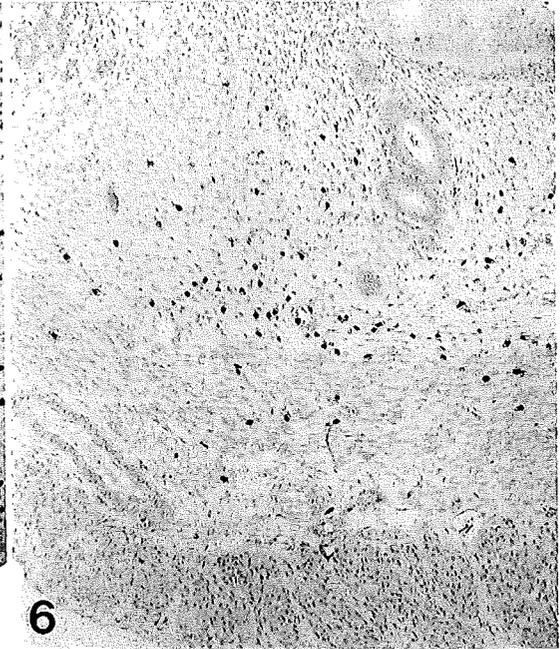
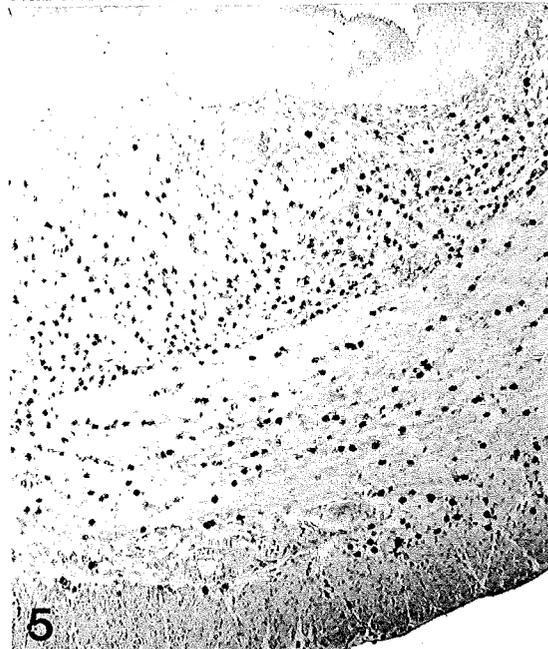
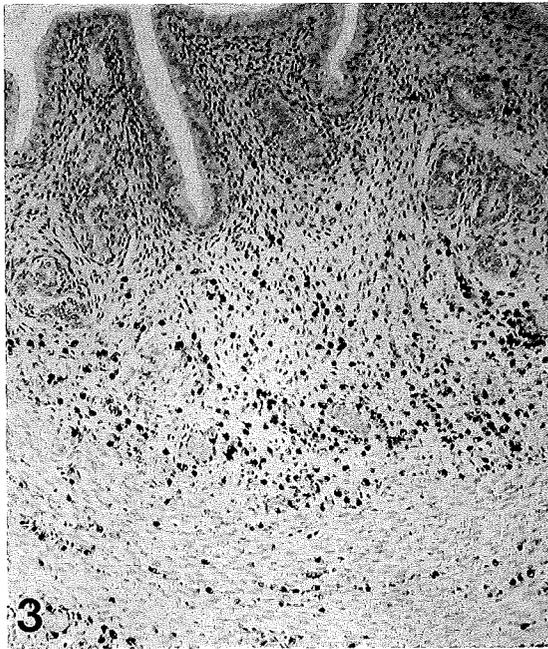


Abb. 3-6: Eosinophile im Uterus von Ratten im Östrus (Abb. 3) und nach Gabe von Progesteronantagonisten (Abb. 4-6). Eine Behandlung mit Onapriston führt bei adulten, intakten (Abb. 4) und bei ovariectomierten, mit ovariellen Steroidhormonen substituierten Ratten (Abb. 5) zu einer starken Eosinophilie. Nach Gabe von ZK 112.993 (Abb. 6) ist die Infiltration mit Eosinophilen deutlich geringer und das Myometrium kaum besiedelt. Immunreaktion gegen MBP. x 95.

In allen Versuchsgruppen wurden Eosinophile mit unterschiedlicher Intensität der MBP-Immunreaktivität gleichzeitig beobachtet (siehe Abb. 2). Bei den zyklischen Kontrolltieren war die zelluläre Reaktion im Diöstrus schwächer als im Östrus. Außerdem war sie bei östrischen Ratten und nach Gabe von Onapriston bei den im Myometrium lokalisierten Eosinophilen schwächer als bei denen des Endometriums (siehe Abb. 4).

Zyklische und ovariectomierte Ratten

Bei den unbehandelten intakten Ratten bestätigte sich die aus der Literatur bekannte Zyklusabhängigkeit der Eosinophilie. Im Diöstrus waren relativ wenig Eosinophile vor allem im tiefen Endometrium vorhanden (Median 84,8 im Endometrium, 26,8 im Myometrium). Im Proöstrus trat eine Invasion in das tiefe Endometrium, das Myometrium internum und das Stratum vasculare auf. Die Zellen lagen, wie im Östrus, vor allem in der Nähe kleiner Gefäße (Abb. 3). Die höchsten Eosinophilenzahlen wurden bei östrischen Ratten gefunden (Median 334 im Endometrium, 189 im Myometrium). Bei Ratten im Metöstrus hatte ihre Anzahl deutlich abgenommen, und sie waren gleichmäßiger im Endometrium verteilt. Im Endometrium waren stets mehr Eosinophile zu finden als im Myometrium. Die individuellen Streuungen waren in allen Stadien hoch.

Die Uteri von Wistar-Ratten enthielten, unabhängig von der Art der Behandlung, deutlich mehr Eosinophile als die von Sprague-Dawley-Ratten (Stammunterschiede in Tabelle nicht berücksichtigt) und zeigten stärkere zyklische Änderungen.

Schnitte von Uteri ovariectomierter adulter Ratten ohne bzw. mit alleiniger Progesteronbehandlung enthielten selten Eosinophile (nicht dargestellt). Nach Gabe von Östron stieg ihre Anzahl auf Werte an, die leicht über denen östrischer Ratten lagen (Tab. 1). Auch bei dieser Versuchsgruppe war die individuelle Streuung, trotz definierter hormoneller Bedingungen, groß. Bei

gleichzeitiger Gabe von Progesteron wurden in beiden uterinen Kompartimenten nur wenige Eosinophile gefunden (Tab. 1).

Onapriston

Die Behandlung von intakten (Abb. 4) und hormonsubstituierten ovariectomierten Ratten (Abb. 5) mit Onapriston induzierte regelmäßig eine massive Eosinophilie (Tab. 1). Diese war zwar quantitativ geringer als bei ovariectomierten Ratten nach Gabe von Östron, doch bestanden zwischen diesen Gruppen keine signifikanten Unterschiede.

Nach Onapriston-Gabe wanderten die Eosinophilen z. T. bis ins oberflächliche Endometrium (Abb. 4, 5). Wie in Proöstrus und Östrus waren sie oft in der Nachbarschaft von Mikrogefäßen lokalisiert. Auch das Myometrium internum, das Stratum vasculare und der subseröse Bereich enthielten zahlreiche Eosinophile, während das Myometrium externum schwach besiedelt war (Abb. 5). Die statistische Auswertung zeigte, daß signifikant mehr Eosinophile im Endometrium lagen ($p \leq 0,05$) und die Anzahl individuell stärker streute als im Myometrium. Die Dauer der Behandlung oder die Höhe der Dosierung hatten keinen Einfluß auf die Anzahl der Eosinophilen im Endometrium. Im Myometrium war ihre Anzahl positiv mit der Dosis korreliert ($r = 0,59$; $p \leq 0,05$).

Die Analyse der Verteilung der Eosinophilen erbrachte, daß nach Onapristongabe das gleiche Muster wie bei östrischen Tieren vorliegt. Sie bilden Cluster mit geringen Abständen im tiefen Endometrium und mit größeren Abständen im Myometrium (Abb. 7 und 8). Das Punktfeld (Abb. 7) zeigt, daß die Eosinophilen im Gegensatz zu östrischen Tieren auch in größerer Zahl im subepithelialen Bindegewebe erscheinen. Die Paarkorrelationsfunktion (Abb. 9) läßt eine Abweichung von der Poisson- bzw. Zufallsverteilung erkennen mit einer stärkeren Clusterung bei niedrigen Intereosinophilen-Abständen (50-1000 μm) und einer zweiten, nicht ganz

	n	Endometrium				Myometrium			
		M	SD	Min	Max	M	SD	Min	Max
ovx+E1	6	414	139	151	440	288	112	182	477
ovx+E1+P	6	1	4	0	8	2	7	0	15
ovx+E1+P+Ona	6	169	33	120	198	132	151	36	448
Onapriston	15	159	96	55	637	55	35	7	134
ZK 112.993	13	34	55	3	164	7	16	0	103

M = Median, SD = Standardabweichung, Min = Minimum, Max = Maximum, n = Versuchstierzahl, ovx = Ovariectomie, E1 = Östron, P = Progesteron, Ona = Onapriston

Tabelle 1: Anzahl der Eosinophilen pro Uterusquerschnitt bei Ratten nach Hormon- und Antihormongabe (Wistar- und Sprague-Dawley-Ratten zusammengefaßt)

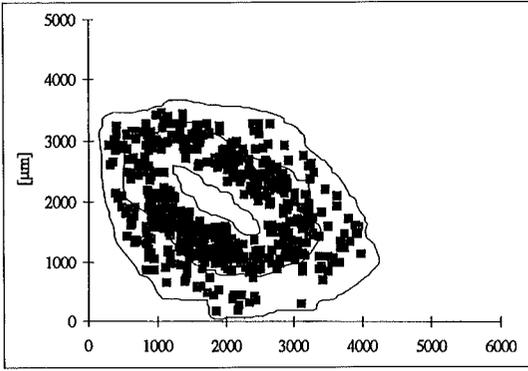


Abb. 7: Darstellung des Verteilungsmusters (Punktfeld) der uterinen Eosinophilen bei einer intakten, mit Onapriston behandelten Ratte.

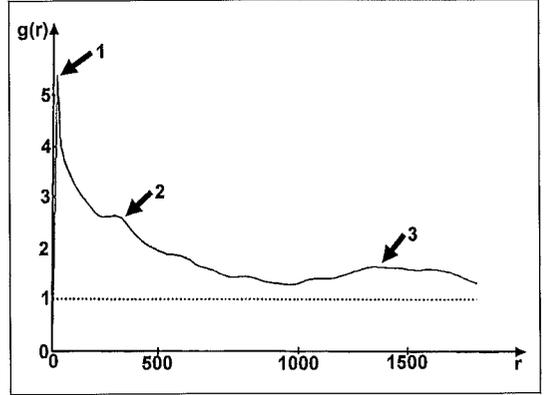


Abb. 9: Paarkorrelationsfunktion ($g(r)$), wobei r der Radius in μm ist) des Punktfeldes der Abb. 7. Pfeil 1 weist auf die starke Kumulation von dicht zusammenliegenden Eosinophilen hin. Pfeil 2 zeigt auf eine Anhäufung von Zusammenlagerungen im mittleren Nahbereich. Bei relativ großen Abständen der Eosinophilen wurde ebenfalls noch eine diskrete Clusterung gefunden (Pfeil 3).

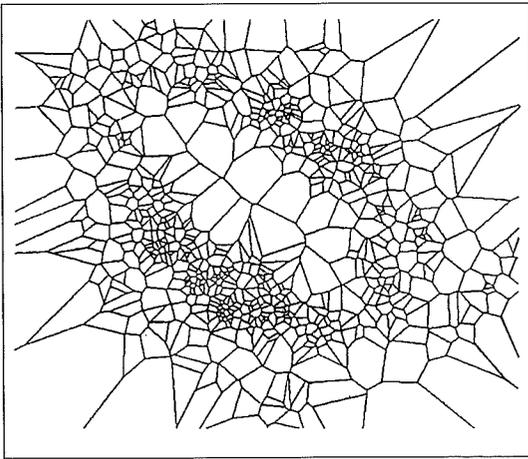


Abb. 8: Planares Voronoi-Mosaik des Punktfeldes der Abb. 7. Da es sich um ein endliches Punktfeld handelt, wurde auf eine vollständige Tessalation der Randzellen verzichtet.

so stark ausgeprägten Clusterung bei größeren Abständen (1000-1400 μm).

ZK 112.993

Die Anzahl der Eosinophilen sowohl im Endometrium als auch im Myometrium war nach Gabe von ZK 112.993 (Tab. 1, Abb. 6) signifikant geringer als nach Östrogenbehandlung von ovariectomierten Ratten ($p \leq 0,0001$). Obwohl die Mediane bei ZK 112.993 sowohl für das Endometrium als auch für das Myometrium deutlich unter denen von Onapriston lagen, waren die Differenzen zwischen diesen beiden Gruppen aufgrund der hohen Streuung nicht signifikant.

Wie nach Onapriston-Behandlung lagen die eosinophilen Granulozyten bevorzugt im tiefen Endometrium,

nur einzelne erreichten die subepitheliale Schicht. Die Gefäßnähe war nicht so offensichtlich wie bei Onapriston-behandelten Tieren. Bei Sprague-Dawley-Ratten war das Myometrium kaum besiedelt. Bei den Wistar-Ratten war die myometriale Lokalisation die gleiche wie nach Onapristongabe.

Das Paarkorrelationsdiagramm zeigte wiederum eine Clusterung der Eosinophilen mit Abständen zwischen 50 bis 1000 μm und außerdem eine schwach ausgeprägte Tendenz zur Gitterverteilung im Bereich von 1200 bis 1800 μm , so daß auch hier eine statistisch nicht als zufällig zu bewertende Abweichung von der Poisson-Verteilung vorliegt (nicht dargestellt).

Der statistische Vergleich der Eosinophilenzahlen beider Kompartimente von allen Versuchsgruppen mittels des Pearson-Rangkorrelationskoeffizienten ergab eine Korrelation zwischen Endo- und Myometrium in 58 % der Fälle ($r = 0,766$, Determinationskoeffizient $r^2 = 0,586$; $p \leq 0,001$).

Diskussion

Die der Eosinophileninvasion in den Uterus zugrunde liegenden Mechanismen sind noch nicht vollständig geklärt. Die Arbeitsgruppe um Tchernitchin (37) favorisiert einen direkten Einfluß der Östrogene im Blut und konnte ein Östrogenbindungssystem der Eosinophilen nachweisen. Sie zeigte, daß die Eosinophileninvasion wenige Minuten nach Östrogengabe beginnt (39). Der auf Eosinophile stark chemotaktisch und degranulierend wirkende Plättchen-aktivierende Faktor (22) könnte von Bedeutung sein, da seine Aktivität im

Rattenuterus durch Östrogene gesteigert wird (27). Allerdings existieren dazu bisher keine Untersuchungen. Aus dem Uterus unreifer Ratten wurde nach Östrogen-gabe ein „Eosinophilic Chemotactic Faktor“ (ECF-U) extrahiert (23), der die Chemotaxis eosinophiler Granulozyten in einem in-vitro-System, in dem Östradiol selbst keinen Effekt zeigte, signifikant erhöhte. Die Blockierung der Östrogenrezeptoren durch Tamoxifen hemmt die Bildung oder Aktivität des EGF-U (23). Progesteron antagonisiert den stimulierenden Effekt von Östradiol auf die Aktivität des ECF-U, der Progesteronantagonist RU 486 hebt die Wirkung von Progesteron auf (16, 23). Es handelt sich also auch hier um einen Rezeptor-vermittelten Effekt.

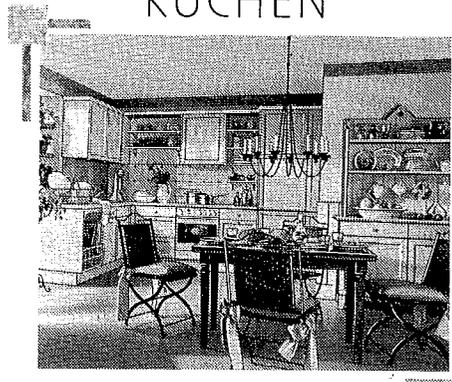
Unsere Befunde zeigen, daß auch die Progesteronantagonisten Onapriston und ZK 112.993 die hemmende Wirkung von Progesteron auf die Invasion von Eosinophilen in den Uterus antagonisieren. Dabei hatten die beiden verwendeten Antagonisten unterschiedlich starke Effekte. Die Eosinophilie war bei Onapriston-behandelten Tieren mit der von östrischen Ratten vergleichbar, während sie bei ZK 112.993 signifikant geringer als nach Östron-Gabe war. Die Unterschiede zwischen den beiden Antagonisten waren allerdings aufgrund der starken individuellen Schwankungen der Eosinophilenzahl nicht signifikant. Die Antagonisten Onapriston und ZK 112.993 unterscheiden sich auch bei anderen Effekten auf den Uterus. So ist nach Onapristongabe bei intakten Ratten der Anteil der glandulären Apoptosen signifikant größer und die Induktion von Epithelmetaplasien häufiger als nach Gabe von ZK 112.993 (31, 32). Diese Befunde sprechen, wie auch die höhere Eosinophilie, für eine stärkere antiprogestive Wirkung von Onapriston im Uterus von Ratten.

Die unterschiedlichen Wirkungen von Onapriston und ZK 112.993 könnten durch ihre verschiedene Wirkungsweise am Rezeptor (8) zustande kommen. Das herkömmliche Modell der Rezeptoraktivierung durch Liganden hat sich als zu einfach erwiesen. Steroidrezeptoren interagieren mit verschiedenen Koaktivatoren, wodurch auch verwandte Rezeptorproteine beeinflusst werden, so daß mehrere simultan aktivierte Systeme kooperieren und ungeplante Effekte verursachen können (15). So werden z.B. RU 486 und ZK 112.993, nicht aber Onapriston, bei Erhöhung der zellulären cAMP-Spiegel zu Progesteronagonisten (34). Es ist deshalb denkbar, daß eine partielle Progesteron-agonistische Aktivität von ZK 112.993 die Ursache der niedrigen Eosinophilenzahlen ist. Progesteronantagonisten können die hypophysäre und ovarielle Hormonsekretion stimulieren (25, 40). Vor allem nach Onapristongabe findet man bei intakten Ratten hohe Östrogenspiegel, die die höchsten Werte von zyklischen Tieren erreichen. Da dieses Östrogen nicht durch Progesteron antagonisiert wird, könnte es eine gesteigerte Aktivität

des ECF-U (23) und damit eine starke Eosinophileninvasion hervorrufen.

Die uterinen Effekte von Progesteronantagonisten sind von der Tierspezies und den Versuchsbedingungen abhängig (26). So waren bei unserer Untersuchung bereits deutliche Unterschiede in der Eosinophilenzahl zwischen Wistar- und Sprague-Dawley-Ratten zu registrieren. Bei ovariectomierten oder noch nicht geschlechtsreifen Nagern mit niedrigen endogenen Östrogenspiegeln kann Onapriston, nicht aber RU 486, östrogene Effekte hervorrufen (3). Diese bestanden u. a. in der Synthese von Östrogen- und Progesteronrezeptoren und konnten durch die gleichzeitige Gabe eines Antiöstrogens unterdrückt werden. Onapriston hat bei Ratten eine geringe Affinität zum Östrogenrezeptor (35). Eine Eosinophileninvasion kann durch alleinige Gabe von Onapriston bzw. RU 486 in Dosen bis zu 10 mg/kg KG bei ovariectomierten Ratten nicht ausgelöst werden, obwohl beide Antagonisten leichte östrogene Wirkungen auf den Uterus haben (eigene, unveröffentlichte Befunde). Offensichtlich aktivieren sie keine Östrogenrezeptor-abhängigen Gene, die die Migration von Eosinophilen in den Uterus induzieren. Die Eosinophileninvasion nach Gabe von Progesteronantagonisten bei intakten oder ovariectomierten, hormonsubsti-

Miele KÜCHEN



Wir beraten Sie gerne.
Ihre Wünsche und unsere Erfahrung
bringen die individuelle Lösung!

Schöppich hat 'Ihre' Küche

Bad Schwartau / Gewerbegebiet
Langenfelde 2-4 • ☎ 0451-280 880



tierten Ratten ist deshalb als eine „unopposed estrogen action“ (5) zu interpretieren.

MBP ist im kristalloiden Zentrum (Core) der Sekundärgranula der Eosinophilen enthalten (9). Eine extrazelluläre Ablagerung des Proteins in der Haut konnte bei atopischer Dermatitis immunhistochemisch demonstriert werden (24). Bei Ratten wurde das hydrophobe Protein im Uterus erstmals von Badia et al. (1) nachgewiesen, später als MBP identifiziert und immunhistochemisch dargestellt (6). Im Östrus wurde MBP vor allem extrazellulär und in gleicher Lokalisation wie die eosinophilen Granulozyten beobachtet (7). Dieser Befund wurde an Uteri erhoben, die mit Carnoy'scher Lösung fixiert waren.

Unsere Untersuchungsergebnisse zeigten zunächst einen Einfluß des Fixiermittels auf die anti-MBP-Immunreaktivität der Eosinophilen. Sie fiel nach Bouin-Fixierung am stärksten aus. Der Extrazellulärraum blieb ausgespart. Nach Carnoy-Fixierung ließ sich entsprechend den Ergebnissen von Duchesne und Badia (7) das MBP immunhistochemisch extrazellulär in der Nachbarschaft der Eosinophilen nachweisen. Gleichzeitig war die Reaktionsstärke der Zellen deutlich schwächer. Unsere Befunde nach Bouin-Fixierung sprechen gegen eine massive extrazelluläre Deposition des MBP im Uterus. Dies gilt für alle untersuchten hormonellen Bedingungen. Wir schließen deshalb, daß das MBP von intakten Eosinophilen im Uterus nur in geringen Mengen freigesetzt wird und sich dadurch dem immunhistochemischen Nachweis in der extrazellulären Matrix entzieht. Die Ergebnisse lassen auf einen chemisch bedingten Austritt von MBP aus den Eosinophilen bei Carnoy-Fixierung schließen, wodurch auch die mangelnde Färbbarkeit mit Eosin erklärt werden könnte. Unterstützt wird unsere Annahme durch die Befunde von Badua et al. (1988), die MBP im Uterus als zelluläres Protein identifizierten.

Carnoy ist ein alkoholhaltiges Fixiermittel, das z.B. beim Nachweis zellulärer Antigene an Kryostatsschnitten eingesetzt wird, da es Zellmembranen permeabilisiert und zelluläre Antigene für Antikörper zugänglich macht. Es liegt nahe anzunehmen, daß es auch intrazellulären Proteinen ermöglicht, während des Fixiervorganges die Zelle zu verlassen. Vermutlich ist das MBP für die Affinität der eosinophilen Granulozyten zu dem sauren Farbstoff Eosin von großer Bedeutung, da es mehr als 50 % der Granula-Proteine ausmacht (22). Wenn unsere Annahmen zutreffen, sollte bei Carnoy-fixierten Uteri in der Umgebung von Eosinophilen-Ansammlungen eine stärkere Färbbarkeit der extrazellulären Matrix mit Eosin auftreten. Daß diese nicht zu beobachten war, könnte an einer Verdeckung des Effektes durch die Eosinophilie der umliegenden Kollagenfasern liegen. Zu prüfen wäre, ob sich auch andere Proteine der Eosinophilen nach Carnoy-Fixierung extra-

zellulär darstellen lassen, wenn sie nach Bouin-Fixierung ausschließlich intrazellulär lokalisierbar sind. Ein anderes, mengenmäßig bedeutendes Enzym der Eosinophilen, die Peroxidase, ist in unfixierten Gefrierschnitten vom Uterus zellulär lokalisiert (19).

Auch für die Degranulation der uterinen Eosinophilen werden hormonelle Stimuli verantwortlich gemacht. Es wurde gezeigt, daß Progesteron den Anteil degranelierter Eosinophilen im Uterus erhöht (10, 11) und in vitro die Degranulation von Blut-Eosinophilen steigert (11), woraus gefolgert wurde, daß der durch Progesteron ausgelöste Eosinophilenmangel im Uterus auf einer verfrühten Degranulation und Verkürzung der Lebensspanne der Eosinophilen beruht.

Unsere Ergebnisse sind mit dieser Schlußfolgerung nicht im Einklang. Die Uteri ovariectomierter Ratten enthielten nach gleichzeitiger Gabe von Progesteron und Östrogen nur wenige Eosinophile, und diese unterschieden sich in der Reaktion mit anti-MBP nicht von denen der anderen Versuchsgruppen. Elektronenmikroskopisch werden bei diesen Tieren selten Zeichen für den Abbau von Eosinophilen beobachtet (eigene Befunde). Unsere Befunde stützen hingegen die Hemmung der Östrogen-induzierten Produktion eines Eosinophilenchemotaktischen Faktors durch Progesteron (16, 23).

Die Blockierung der Progesteronrezeptoren durch Onapriston und ZK 112.993 hemmte die Degranulation der Eosinophilen nicht signifikant, da in diesen Versuchsgruppen neben Eosinophilen mit einer starken Reaktion mit anti-MBP stets zahlreiche schwach reagierende auftraten. Dies wird durch unsere ultrastrukturellen Untersuchungen bestätigt. Falls Progesteron an der Degranulation beteiligt ist, kann es sich dabei nicht um einen durch den Progesteronrezeptor vermittelten Prozeß handeln. Damit stimmt überein, daß Progesteron durch Eosinophile nicht spezifisch gebunden wird (38). Auch bei nur mit Östron behandelten ovariectomierten Ratten war der Anteil an schwach MBP-positiven Eosinophilen hoch, sie müssen also MBP abgegeben haben. Dies unterstützt Befunde, nach denen auch Östrogene die Degranulation der Eosinophilen steigern können (12). Vielleicht liegt der Auslösung der Degranulation durch beide Hormone ein gemeinsamer Wirkmechanismus zugrunde. Denkbar wäre ein Einfluß auf die Membranen der Eosinophilen. Steroidhormone als lipophile Substanzen können nämlich in die Phospholipidbilayer von Zellmembranen eingebaut werden, deren Fluidität verändern und so Ionenkanäle blockieren. Diese nichtklassischen (nicht genomischen) Effekte der Steroidhormone sind durch rasches Auftreten charakterisiert. Sie sind für ovarielle Steroidhormone nachgewiesen und zellunspezifisch (4.).

Unsere Befunde zeigen, daß MBP, ein quantitativ bedeutendes Protein der Eosinophilen, während der De-

granulierung im Uterus nicht massiv freigesetzt wird und nicht extrazellulär akkumuliert. Die getesteten Progesteronantagonisten induzierten eine Eosinophilie, die durch die ungehemmte Östrogenwirkung erklärbar ist. Ihre unterschiedliche Effektivität ist mit ihrer verschiedenen Wirkungen auf Rezeptorebene in Einklang. Die Ergebnisse sprechen nicht für eine wichtige Rolle von Progesteron bei der Degranulation der Eosinophilen. Falls ein solcher Effekt existiert, kann er nicht durch den Progesteronrezeptor vermittelt sein.

Literatur

- Badia E, Schmidt A, Nicolas JC (1988) A 17-kDa protein induced in rat myometrium by hormonal treatment. *J Steroid Biochem* 29: 475-80
- Baulieu EE, Ulmann A (1986) Mini Review. Antiprogestone activity of RU486 and its contraceptive and other applications. *Human Reprod* 1: 107-110
- Bigsby RM, Young P (1994) Estrogenic effects of the antiprogestin onapristone (ZK 98 299) in the rodent uterus. *Am J Obstet Gynecol* 171: 188-194
- Brann DW, Hendry LB, Mahesh VB (1995) Emerging diversities in the mechanism of action of steroid hormones. *JSBMB* 52: 113-133
- Dallenbach-Hellweg G, Poulsen H (1975) Histopathology of the endometrium. Springer, Berlin Heidelberg New York
- Dembele-Duchesne MJ, Badia E, Etienne-Julan M, Capony JP (1991) Identification and tissue localization of an eosinophil 17-kDa protein accumulating in rat uterus upon estradiol treatment. *J Steroid Biochem Molec Biol* 38: 321-330
- Duchesne MJ, Badia E (1992) Immunohistochemical localization of the eosinophil Major Basic Protein in the uterus horn and cervix of the rat at term and after parturition. *Cell Tissue Res* 270: 79-86
- Edwards DP, Altmann M, DeMarzo A, Zhang Y, Weigel NL, Beck CA (1995) Progesterone receptor and the mechanism of action of progesterone antagonists. *J Steroid Biochem Molec Biol* 53: 449-458
- Gleich GJ, Loegering DA, Maldonado IE (1973) Identification of a Major Basic Protein in guinea pig eosinophil granules. *J Exp Med* 137: 1459-1471
- Grunert G, Tchernitchin AN (1982) Effect of progesterone on the non-genomic response to oestrogen in the rat. *J Endocrinol* 94: 307-315
- Grunert G, Porcia M, Neumann G, Sepulveda S, Tchernitchin AN (1984) Progesterone interaction with eosinophils and with responses already induced by oestrogen in the uterus. *J Endocrinol* 102: 295-303
- Grunert G, Neumann G, Porcia M, Tchernitchin AN (1987) The estrogenic responses to clomifene in the different cell types of the rat uterus: morphometrical evaluation. *Biol Reprod* 37: 527-538
- Henderson D (1987) Antiprogestational and antiglucocorticoid activities of some novel 11 β -aryl substituted steroids. In: Furr BJA und Wakeling AE (eds) *Pharmacology and clinical uses of inhibitors of hormone secretion and action*. Bailliere Tindall, London, pp 184-211
- Hernandez MR, Wurgaft R, Tchernitchin A (1977) Effects of estrogen on uterine stroma. *ICRS Med Sci* 5: 113-114
- Horwitz B, Tung L, Takimoto GS (1996) Progesterone, progesterone receptors and breast cancer. In: Vedeckis WV (ed) *Hormones and Cancer*. Birkhäuser, Boston Basel Berlin, pp 283-306
- Howe RS, Lee YH, Fischkoff SA, Teuscher C, Lyttle CR (1990) Glucocorticoid and progestin regulation of eosinophil chemotactic factor and complement C3 in the estrogen-treated rat uterus. *Endocrinology* 126: 3193-3199
- Kettel LM, Murphy M, Mortola MD, Liu JH, Ulmann A, Yen SSC (1991) Endocrine responses to long-term administration of antiprogestone RU486 in patients with pelvic endometriosis. *Fertil Steril* 56:402-407
- Key TJA, Pike MC (1988) The dose-effect relationship between „unopposed“ estrogens and endometrial mitotic rate: its central role in explaining and predicting endometrial cancer risk. *Br J Cancer* 57: 205 212
- King WJ, Allen TC, DeSombre ER (1981) Localization of uterine peroxidase activity in estrogen-treated rats. *Biol Reprod* 25: 859-870
- Klebanoff SJ (1965) Inactivation of estrogen by rat uterine preparations. *Endocrinology* 76: 301
- Klijn JGM, de Jong FH, Bakker GH, Rodenburg CJ, Alexieva-Figusch J (1989) Antiprogestins, a new form of endocrine therapy for human breast cancer. *Cancer Res* 49: 2851-2856
- Kroegel C, Costabel U, Matthys H, Barnes PJ (1988) Die pathogenetische Bedeutung des eosinophilen Granulozyten. *Dt med Wschr* 113: 1405-1411
- Lee YH, Howe RS, Sha SJ, Teuscher C, Sheehan DM, Lyttle CR (1989) Estrogen regulation of an eosinophil chemotactic factor in the immature rat uterus. *Endocrinology* 125: 3022-3028
- Leifermann KL, Ackermann SJ, Sampson HA, Haugen HS, Venencie PY, Gleich GJ (1985) Dermal deposition of eosinophil-granule Major Basic Protein in atopic dermatitis. *N Engl J Med* 313:282-285
- Michna H, Nishino Y, Neef G, McGuire WL, Schneider MR (1992) Progesterone antagonists: tumor-inhibiting potential and mechanisms of action. *J Steroid Biochem Molec Biol* 41: 338-348
- Michna H, Parczyk K, Schneider MR, Nishino Y (1995) Differentiation therapy with progesterone antagonists. *Ann NY Acad Sci* 761: 220-247
- Nakayama R, Yasuda K, Okumura T, Saito K (1991) Effekt of 17 β -estradiol on PAF and prostaglandin levels in oophorectomized rat uterus. *Biochim Biophys Acta* 276:235-240
- Neef G, Beier S, Elger W, Henderson D, Wlechert R (1984) New steroids with antiprogestational and antiglucocorticoid activities. *Steroids* 44: 349-372
- Philibert D, Dereedt R, Tournemine C, Mary I, Teutsch G (1982) RU 38.486: a potent antiprogestone. *J Steroid Biochem (Suppl)* 17: 204-208
- Ross R, Klebanoff S (1966) The eosinophile leukocyte. *J Exp Med* 124: 653-658
- Rumpel E, Michna H, Kühnel W (1993) Morphology of rat uterus after long-term treatment with progesterone antagonists. *Ann Anat* 175: 141-149

32. Rumpel E, Kühnel W (1995) The female genital tract under the influence of antiprogesterone. *Quaderni di Anatomica Practica, Periodico trimestrale Serie LI (Supplemento)*: 196
33. Rytömaa T (1960) Organ distribution and histochemical properties of eosinophil granulocytes in rat. *Acta Path Microbiol Scand* 50, Suppl 140: 1-112
34. Sartorius CA, Tung L, Takimoto GS, Horwitz KB (1993) Antagonist-occupied human progesterone receptors bound to DNA are functionally switched to transcriptional agonists by cAMP. *J Biol Chem* 5: 9262-9266
35. Snyder BW, Red JR, Winnecker RC, Batzhold FH, Potts GO (1989) Effects of cpostane, ZK 98.299 and ZK 98.734 on the interruption of pregnancy in the rat. *Biol Reprod* 40: 549-554
36. Stoyan D, Stoyan H (1992) *Fraktale, Formen, Punktfelder*. Akademie-Verlag, Berlin
37. Tchernitchin A (1967) Autoradiographic study of (6,7-H) oestradiol-17 β incorporation into rat uterus. *Steroids* 10: 661-668
38. Tchernitchin A (1972) Radiographic study of the effect of oestradiol-17 β , estrone, estriol, progesterone, testosterone and corticosterone on the in vitro uptake of 2,4,6,7-3H estradiol-17 β by uterine eosinophils of the rat. *Steroids* 19: 575-585
39. Tchernitchin A, Roorijck J, Tchernitchin X, Vandenhende J, Galand P (1974) Dramatic early increase in uterine eosinophils after estrogen administration. *Nature* 248: 142-143
40. van der Schoot P, Uilenbroek JTJ, Slappendel EJ (1990) Effect of the progesterone-antagonist mifepristone on the hypothalamo-hypophyseal-ovarian axis in rats. *J Endocrinol* 124: 425-432
41. Vignon F, Bardon S, Chalbos D, Derocq D, Gill P, Rochefort H (1987) Antiproliferative effect of progestins and antiprogestins in human breast cancer cells. In: Klijn JGM, Paridaens R, Foekens JA (eds) *Hormonal manipulation of cancer: Peptides, growth factors and new (anti)steroidal agents*. Raven Press, New York, pp 47-54
42. Wurgaft R, Tchernitchin A (1976) Histochemical study of rat uterus under estrogen stimulation. *ICRS Med Sci* 4: 85

Aus der Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe (Direktor: Prof. Dr. K. Dietrich) der Medizinischen Universität zu Lübeck;

Die Präimplantationsdiagnostik im Spannungsfeld von Recht und Ethik

W. Küpker, K. Diedrich

Der medizinische Fortschritt und der Ruf nach Ethik

‘Was die Krankheit angeht, würden wir nicht fast zu fragen versucht sein, ob sie uns überhaupt entbehrlich ist?’ Diese Sentenz aus der Vorrede zu Nietzsches ‘Fröhlicher Wissenschaft’ (1) konterkariert den Hintergrund, der dem Wissenschaftler der Moderne Ausgangspunkt und Ziel seiner Tätigkeit ist. Wie kann es möglich sein, ohne die Dimension von Zeit und Geschichte gewissermaßen per Dekret hier und jetzt zu entscheiden, was ethisch richtig sein soll, wenn wir die Errungenschaften der modernen Reproduktions- und Fetalmedizin beurteilen wollen. Die wissenschaftlichen Erkenntnisse über den Menschen ereilen uns mit rasanter Geschwindigkeit. In wenigen Jahren wird man den Bauplan, das menschliche Genom, komplett entschlüsselt haben. Die molekulare Genetik gibt uns fundamental neue Möglichkeiten zur Entwicklung von Strategien zur Erkennung und Behandlung von Erkrankungen. Warum geben diese Entwicklungen überhaupt Anlaß, ihre Bedeutung für unser zukünftiges Leben zu hinterfragen? Geben sie nicht vielmehr Hoffnung auf eine qualitative Verbesserung unseres Daseins? Die erste Frage ist also, warum es ein öffentliches Desiderat nach ethischer Reflexion gibt. Die Antwort liegt wohl begründet im Netz unseres soziokulturellen Kontextes, dem unser Denken verhaftet ist. Die christlich-abendländische Kultur ist die Basis unseres Selbstverständnisses und ermöglicht uns erst, in der einen oder anderen Weise Stellung zu nehmen, sei sie affirmativ oder kontrovers. Die christlich-abendländische Gesellschaft ist die konstituierende Macht von Moralvorstellungen und ethischen Vorschriften, die das westliche Europa und die anglo-amerikanische Welt durch Jahrhunderte begleitet hat. So muß sich jedwede ethische Reflexion seiner historischen Dimension bewußt sein. Normative Ethik und deontologisches Denken sind prägende Faktoren, auch der positiven Gesetzgebung und erhalten den sozialen Kontext. Immer sind es die faszinierendsten Erkenntnisse einer freidenkenden Wissenschaft gewesen, die die Akzeptanz der Gesellschaft herausgefordert haben und auf den mühsamen Weg der Integration gebracht wurden.

Was noch unlängst als medizinischer Fortschritt galt, wie beispielsweise der Einsatz der Ultrasonographie in der vorgeburtlichen Diagnostik, gehört heute bereits zum routinemäßigen Vorsorgeprogramm einer Schwangeren. Der Fortschritt der Technologie hat wieder einen Schritt weiter geführt und ermöglicht uns eine invasive Diagnostik und Therapie des heranwachsenden Feten. Mehr noch: Die moderne Reproduktionsmedizin offeriert uns die Möglichkeit einer Präimplantationsdiagnostik. Diese steht nun im Fokus kontroverser Diskussionen und fordert eine Begrifflichkeit der Menschwerdung, die zwar schon von jeher ihre Theoreme fand, die es jedoch nun zu realisieren gilt.

Das Konzept der Präimplantationsdiagnostik

Das Ziel einer Präimplantationsdiagnostik ist es, in Fällen von Paaren, die mit einem hohen Risiko belastet sind, eine schwerste, mit dem momentanen Stand der medizinischen Möglichkeiten nicht behandelbare oder zwingend letale Erkrankung an den erwünschten Konzeptus zu vererben, bereits an der Embryonalzelle diese nachzuweisen oder auszuschließen, bevor man die Einnistung der Blastozyste zuläßt. Die Idee einer derart frühen pränatalen Diagnostik ist bei weitem nicht so revolutionär oder futuristisch, wie sie dem Zeitgenossen in den Medien vorgehalten wird. Bereits 1965 veröffentlichte R. Edwards (2) ein solches Verfahren, das aus einzelnen Trophoblastenzellen eine Geschlechtsbestimmung vornehmen konnte, um X-chromosomal gebundene Erkrankungen zu diagnostizieren. Durch Bestimmung des Sex-Chromatins in Kaninchenblastozysten konnte das Geschlecht korrekt vorhergesagt werden. Die neuen Verfahren der Polymerasekettenreaktion (PCR) und der Fluoreszenz in situ Hybridisierung (FISH) ermöglichen heute die Darstellung umschriebener Genorte. Hingegen erfordert jedoch die Gewinnung von Blastozysten den Umstand einer uterinen Lavage, die sich als nicht probat herausstellte, oder aber die Konzeption im System der in vitro Fertilisierung. Eine Variante der Präimplantationsdiagnostik ist die sogenannte Präkonzeptionsdiagnostik. Hier wird in technisch aufwendiger Art vor der Syngamie beider Gameten eine Polkörperanalyse durchgeführt,

die sich zwar dadurch auszeichnet, daß der Embryo nicht traumatisiert wird, auf der anderen Seite jedoch nur bedingt eine Aussage über den genetischen Status der Eizelle möglich ist, da im Falle einer maternalen Heterozygotie die Eizelle selbst genetisch different wäre oder aber im Zuge des chromosomalen Crossing over sowohl Polkörper als auch die Eizelle selbst ein mutiertes Allel trügen. Eine weitere Variante der Präkonzeptionsdiagnostik stellt die Spermatozoenselektion mittels Durchflußzytometrie dar, die eine Trennung von Y-Chromosom und X-Chromosom tragenden Spermatozoen ermöglicht. Die bis dato vorliegenden Studien zur Validierung der Präimplantationsdiagnostik lassen vermuten, daß die Biopsie extraembryonaler Zellen nach dem Acht-Zellstadium als geeignet erscheint. Nachstehende Tabelle gibt einen Überblick über die einzelnen Krankheitsbilder, die von medizinischer Seite eine Diagnostik rechtfertigen.

- | |
|---|
| <ul style="list-style-type: none"> - Mukoviszidose - Morbus Tay Sachs - Lesch Nyhan Syndrom - Muskeldystrophie Duchenne - Hämophilie - Alpha-1 Antitrypsin Mangel - Retinitis pigmentosa - Fragile X Syndrom - Alloimmunthrombozytopenie |
|---|

Tabelle 1 Indikationen zur Präimplantationsdiagnostik

Einen besonderen Stellenwert nimmt in Westeuropa die Diagnostik der Mukoviszidose und der Muskeldystrophie Duchenne ein. Die Mukoviszidose als autosomal rezessiv vererbte Erkrankung hat eine Inzidenz von 1:2500 in der Bevölkerung. Besondere Bedeutung erlangte die Mukoviszidose in jüngster Zeit durch die Erkenntnis der Assoziation verschiedenster Mutationen im Mukoviszidosegen mit schwerer männlicher Subfertilität. Die Inzidenz beträgt etwa 1:100 in der subfertilen männlichen Population und 1:10 unter Männern mit obstruktiver Azoospermie (3). Da die schwere männliche Subfertilität durch die Methoden der assistierten Fertilisierung behandelbar wurde, vervielfacht sich die Zahl heterozygoter Träger einer Mutation als potentielle Väter erkrankter Nachkommen.

Als immanente Kritik der Methode der Präimplantationsdiagnostik und ihres erfolgreichen Einsatzes ist die Frage nach der Fehlerquote hier von besonderer Relevanz. Der Literatur folgend wurden drei Fehldiagnosen bekannt, die auf technische Unzulänglichkeiten der PCR zurückgeführt wurden. Mit der zunehmenden Verfeinerung der PCR-Technik und dem verbreiteten

Einsatz der FISH-Methode konnte jetzt eine Vorhersagesicherheit von etwa 99% erzielt werden. Somit ergibt sich eine kalkulierbare Fehlerquote, die sich im Rahmen der Treffsicherheit wiederfindet, die für da Chorionic villus sampling (CVS) und die Amniozentese in der routinemäßigen Pränataldiagnostik angegeben wird.

Eine Sonderstellung nimmt die Präimplantationsdiagnostik insofern im Rahmen vorgeburtlicher Diagnostik ein, als daß in Übereinkunft eine strengste Indikationsstellung gefordert wird. Das klar erklärte Ziel der Präimplantationsdiagnostik ist es, dem mit hohem Risiko belasteten Kinderwunschaar im Vorfeld eines potentiellen Schwangerschaftskonfliktes eine reale Entscheidungshilfe zu geben.

Die Vorbehalte

Die Präimplantationsdiagnostik als medizinisch-diagnostische Maßnahme geht zurück auf die Erkenntnisse der Reproduktionsbiologie, genauer der Embryologie. Die Embryologie selbst ist Motor zeitgenössischer juristischer und ethischer Debatten. Die Embryologie hat den Dialog der Gameten, deren Syngamie und die weitere embryonale Entwicklung zum Gegenstand der Erforschung. Mithin entfacht sie die Frage nach der menschlichen Individuation und Persönlichkeitsentwicklung. Der Embryo und sein Status gerät in ein Spannungsfeld von rechtlichen und ethischen Vorstellungen. Die Gesetzgebung will die Interessen des Embryos vertreten, die wiederum an seine vorbehaltliche Autonomie geknüpft sind. Eine positive Ethik gibt ihm diese Autonomie oder versagt sie ihm. Die Präimplantationsdiagnostik, die eng verknüpft mit der Embryonenforschung erscheint, wird an diesem Urteil gemessen.

Die Frage nach der Autonomie von Gameten und Embryonen wird kontrastiert in der Frage nach ihrer Relationalität zur Person ihres Ursprungs. Die moderne Reproduktionsmedizin hält Gameten und Embryonen vor zu multidirektionaler Bestimmung. Die Methode der in vitro Fertilisierung, die Spermatozoen, Oozyten und Embryonen generiert, ermöglicht ihre zielgerichtete Verwendung zur Erzielung einer Schwangerschaft. Ferner können sie Objekt vielseitiger Diagnostik oder Forschung sein.

Die Ethik beansprucht hier eine Anwaltschaft auf Gameten und Embryonen zur Garantie ihres Schutzes zur Sicherung des Humanum proprium. Normative Religionssysteme, die säkulare Philosophie, Soziologie und Kulturwissenschaft, und damit unablässig verknüpft die Rechtssprechung reklamieren für sich, dieses Humanum zu repräsentieren.

Angewandte Forschung und therapeutische Praxis lassen sich zwar unterscheiden, aber nicht trennen. Die

Erstmalig bundesweiter **KINDER- REHAFÜHRER** erschienen!

„WER HILFT WEITER? Einrichtungen der Vorsorge und Rehabilitation für Kinder und Jugendliche“

Herausgegeben vom Kindernetzwerk e.V.
in Kooperation mit dem Bundesverband der Betriebskrankenkassen
und der Deutschen Gesellschaft für Sozialpädiatrie und Jugendmedizin

Gesamtkoordination: Raimund Schmid

ISBN 3-7950-1907-9 · 306 Seiten · DM 36,- zzgl. Versand.

Im Buchhandel erhältlich oder beim Verlag Schmidt-Römhild, Mengstraße 16, 23552 Lübeck



- ⊕ Beschreibung von **93 Reha- und Vorsorgeeinrichtungen** für Kinder und Jugendliche
- ⊕ Einmaliger Index mit **500 Indikationsschlagworten**
- ⊕ Allgemeiner **Informationsteil** über den derzeitigen Stand der Rehabilitation für Kinder und Jugendliche
- ⊕ Mit weiterführendem **Adress- und Serviceteil**

Dieser Kinder Rehaführer wendet sich an:

- Eltern mit ihren betroffenen Kindern u. Jugendlichen
- Nichtmedizinische Therapeuten wie Psychologen
- Pädagogen, Sozialarbeiter oder Erzieherinnen
- Frühförderstellen
- Apotheken
- Ärzte in Kliniken, Praxen und Gesundheitsämtern
- Krankenkassen
- Kur- und Rehazentren / Kinderkrankenhäuser
- Organisationen und Sozialverbände
- Behörden (Jugend- und Sozialämter)

NEU!
**KINDER-
REHAFÜHRER**

Erzeugung von Embryonen impliziert im Grunde genommen Forschung, die unverzichtbare Sicherheitsanforderungen garantiert und den Erfolg der Methoden der assistierten Reproduktion verbessern soll. Sicherlich geben tierexperimentelle Untersuchungen Hinweise, lassen sich aber nicht ohne weiteres auf die Humanmedizin übertragen, so daß man die Forschung an menschlichen Embryonen, d.h. de facto überzähligen Embryonen, eigentlich als notwendige Voraussetzung zum Erfolg und zur Sicherheit der Präimplantationsdiagnostik betrachten müßte, gleichsam auch als Instrument ihrer Qualitätssicherung.

Der Genfer Theologe J.M. Thévoz (4) prägte den Begriff des 'Projet parental', was bedeutet, daß Embryonen nicht eigens zu Forschungszwecken erzeugt werden dürfen, sondern Embryonenforschung nur diskutierbar ist im Zusammenhang mit medizinisch assistierter Zeugung als Behandlung von Unfruchtbarkeit. Das heißt weiter, daß das Forschen von therapeutischem Charakter ist, und unter diesen Bedingungen nicht nur als ethisch zulässig, sondern geradezu als ethisch notwendig zu betrachten wäre. Und dies würde im ganz besonderen Fall auch für die Präimplantationsdiagnostik zutreffen. Anderenfalls müßte sich die Reproduktionsmedizin vorwerfen lassen, sie versäume auf Kosten der Patientinnen und Patienten die Verbesserung ihrer Techniken. Um den Status des menschlichen Embryos zu erfassen, gibt es nach Thévoz prinzipiell drei Argumentationsweisen: eine biologische, eine ontologische und eine relationale. Die biologisch orientierte Argumentation sucht nach Einschnitten oder Stadien der Embryonalentwicklung, die über den Anfangszustand eines Zellaggregates mit menschlichen Chromosomen hinaus mehr oder weniger spezifische Eigenschaften oder unerläßliche Fähigkeiten eines menschlichen Wesen zum Ausdruck bringen und dadurch eine besondere Würde begründen können (Verlust der Totipotenz, Individuation, Neuralfurchenbildung und Ausbildung des zentralen Nervensystems, Herzschlag und Lebensfähigkeit). Das Problem ist allerdings, abgesehen von der philosophischen Grundlage von Sein und Sollen, daß die biologischen Entwicklungsstufen kontinuierlich sind, daß sie einen Übergang von der Verfügbarkeit zur Unverfügbarkeit nicht rechtfertigen können.

Schon Aristoteles definierte das Entstehen des menschlichen Seelenlebens als fließende Übergänge: Anima vegetativa, sensualis, imaginationis und rationalis.

Auch der Warnock-Report von 1987 (5) nahm sich des Problems des beginnenden Lebens an. Das Warnock-Komitee pointierte, und hierauf gründet sich bis heute die Behandlung von Embryonen in Großbritannien, daß die letzte Möglichkeit zur Zwillingsbildung um den 14. Tag, also zum Zeitpunkt der Ausbildung des Primitivstreifens in der Primärplatte der Blastozyste,

als Zeitpunkt des Beginns der Individualentwicklung zu interpretieren sei. Nach anfänglicher Favorisierung des 40. Tages als Beginn der Neuralentwicklung war dann einheitlich diese Übereinkunft akzeptiert worden. Mit der Vereinigung von Eizelle und Spermatozoon können ja tatsächlich zwei oder mehr künftige Personen angelegt werden. Es gäbe aber auch noch andere signifikante Einschnitte in der Embryonalentwicklung. So kann das menschliche Subjekt definiert werden als ein Subjekt einer Form von Bewußtsein, das gebunden ist an das Vorhandensein des zentralen Nervensystems. A. Warren postulierte 1991 zur Frage, wann ein Präembryo, Embryo, oder Fetus Qualitäten entwickelt, daß das menschliche Wesen das ausmacht, was ihm die Fähigkeit zur Wahrnehmung verleiht. Jedoch wann ein menschlicher Embryo diese Fähigkeit entwickelt, kann nicht exakt bestimmt werden. Die ontologische Argumentation nach Thévoz orientiert sich am Beispiel des katholischen Lehramtes (*Donum vitae*) (6). Dieser Auffassung zufolge ist die menschliche Natur mit der befruchteten Eizelle in einer Weise gegeben, daß der Embryo – und das ab conceptione naturale – wie eine Person zu behandeln und zu schützen sei. Das menschliche Genom der befruchteten Eizelle erlangt eine herausragende Bedeutung als quasi-Persönlichkeit. Diese Position wird hinsichtlich ihrer Grundlagen und ihres Ergebnisses jedoch vehement verworfen. Weder läßt sich eine universale menschliche Natur aufweisen, noch läßt sich das Personsein des Menschen im Erbgut kristallisieren.

Thévoz' dritte Argumentationsweise ist die relationale. Er sagt, wenn wir dem Embryo einen Status zuschreiben wollen, handelt es sich weniger darum, seine eigene Wirklichkeit zu definieren, von der wir wissen, daß sie objektiv unbeschreibbar ist, als vielmehr darum, uns selbst als Person, Elternteil, Arzt oder Forscher ihm gegenüber zu definieren. Der Status des Embryos ist eine ihm verliehene Würde, die nicht auf eine ihm inhärente Qualität, und das wäre die Gemeinsamkeit vom biologischen und ontologischen Modell, sondern auf eine Haltung autonomer Subjekte ihm gegenüber beruht.

Eine andere Argumentation stützt sich auf die Hirntoddiskussion und definiert die beginnende Persönlichkeit durch erste postmitotische stationäre Neurone nach dem 54. Tag post conceptionem (brainlife I) bzw. die beginnende synaptische Verschaltung nach dem 70. Tag post conceptionem (brainlife II). Dies seien signifikante Schritte auf dem Weg zur sich entwickelnden Persönlichkeit eines Embryos oder Feten. Von diesem Zeitpunkt an sei menschliches Leben zu schützen. Die reine Potentialität, daß heißt die bloße Möglichkeit eines Embryos, sich zu einer Persönlichkeit zu entwickeln und daraus entsprechende Rechte abzuleiten, ist ein weiterer Denkansatz, der im vorstehenden Konzept aber abgelehnt wird.

THEMEN

der Kinderheilkunde

Band 1

Präventive Pädiatrie

hrsg. von Wilhelm Kosenow

1986, 179 Seiten

ISBN 3-87302-007-6

DM 48,-/ öS 350,-/ sFr 44,50

Band 2

Ernährungsvorschläge für Kinder und Jugendliche für Diabetes Mellitus und Übergewicht

von Agnes van Teefelen-Heithoff und Renate

Horstmeier

1986, 132 Seiten, farbige Abbildungen

ISBN 3-87302-009-2

DM 19,80/ öS 145,-/ sFr 19,-

Band 3

Aktuelle Fragen der Pädiatrie

von Heinrich Rodeck und Wilhelm Kosenow

1987, 125 Seiten, div. Abbildungen

ISBN 3-87302-046-7

DM 48,-/ öS 350,-/ sFr 44,50

Band 4

Kindesmißhandlung und -vernachlässigung

Prävention und therapeutische Intervention

von Ute Thyen

1987, 195 Seiten, div. z. T. farb. Abbildungen

ISBN 3-87302-036-0

DM 64,-/ öS 467,-/ sFr 58,-

Band 5

Säuglingsernährung heute - unter besonderer Berücksichtigung der Selbstherstellung im Haushalt

hrsg. von Rolf Grüttnert und Ortrun Schneider

2. Auflage, 1991, 70 Seiten, farb. Abb.

ISBN 3-87302-069-6

DM 14,80/ öS 108,-/ sFr 14,-

Band 6

Plötzlicher Säuglingstod

hrsg. von Klaus Kruse und Manfred Oehmichen

1993, 114 Seiten

ISBN 3-87302-075-0

DM 48,-/ öS 350,-/ sFr 44,50

Band 7

Pioniere der Kinderheilkunde

von Johannes Oehme

1993, 96 Seiten, div. Abbildungen

ISBN 3-87302-076-9

DM 24,-/ öS 175,-/ sFr 22,-

Band 8

Vergiftungen im Kindesalter

hrsg. von Klaus Kruse und Manfred Oehmichen

1994, 107 Seiten, div. Abbildungen

ISBN 3-87302-080-7

DM 48,- / öS 350,-/ sFr 44,50

Band 9

Rechtsfragen in der Kinderheilkunde

von Klaus Kruse und Manfred Oehmichen

1995, 80 Seiten, div. Abb.

ISBN 3-87302-085-8

DM 14,80/ öS 108,-/ sFr 14,-

Band 10

Blickdiagnosen

von Helmut Moll

1996, 142 Seiten, 168 Abbildungen

ISBN 3-87302-087-4

DM 44,80/ öS 327,-/ sFr 41,50

Band 11

Das behinderte Kind

hrsg. von Klaus Kruse und Manfred Oehmichen

1996, 104 Seiten

ISBN 3-87302-088-2

DM 19,80/ öS 145,-/ sFr 44,50

Band 12

Drogen bei Kindern und Jugendlichen

hrsg. von Klaus Kruse und Manfred Oehmichen

1997, 90 Seiten, div. Tabellen

ISBN 3-87302-090-4

DM 24,80/ öS 181,-/ sFr 23,-

neu

Zu bestellen über:

Hansisches Verlagskontor, 23547 Lübeck

Telefon: 04 51/ 70 31-2 67 oder

Telefax: 04 51/ 70 31-2 81



Hansisches Verlagskontor Lübeck

P. Singer (7) und M. Thooley (8) fordern, daß das Wesentliche des Menschen als Person seine Selbstbewußtheit in seiner Stellung in der Zeit, also Gegenwart, Vergangenheit und Zukunft, sei. Hiermit wären aber jedoch auch Feten und Neugeborene nicht Personen in diesem Sinne und es könnte vertreten werden, daß auch ein später Schwangerschaftsabbruch ebenso wie die Tötung von Neugeborenen, ethisch vertretbar sei. Hier zeigt sich die Nähe einer solchen Diskussion zum Problem des Schwangerschaftsabbruchs, besonders brisant im Hinblick auf die Neufassung des § 218 in der deutschen Gesetzgebung.

Wer strikt gegen den Schwangerschaftsabbruch votiert, pflegt auch ebenso strikt gegen die Präimplantationsdiagnostik und das Verwerfen von Embryonen Stellung zu nehmen. Wer einen Schwangerschaftsabbruch nicht in jedem Fall für ethisch völlig unverantwortbar hält und dennoch strikt gegen eine Präimplantationsdiagnostik eingestellt ist, sieht sich mit der Frage konfrontiert, ob er nicht mit zweierlei Maß messe.

Eine weitere Frage ist die der genetischen Einzigartigkeit des menschlichen Embryos. Hier fragt sich, warum denn nicht auch Oozyten und Spermatozoen einen ähnlichen Status haben. Sie haben ebenfalls einen einzigartig genetischen Status. Was ist also, wenn man Eizelle und Spermatozoen verwirft. Wird so argumentiert, erinnert man sich an Positionen der Sakralisierung von Gameten.

In Deutschland hat der Gesetzgeber mit dem Embryonenschutzgesetz (9) jegliche Embryonenforschung untersagt. So verbietet § 2 Abs. 1 jegliche Maßnahme an einem Embryo, die nicht seiner Erhaltung dienen. § 2 Abs. 2 bestimmt darüberhinaus, daß Embryonen nur zur Herbeiführung einer Schwangerschaft *in vitro* gehalten werden dürfen, sowie, daß die *in vitro* Fertilisierung nur zur Erzielung einer Schwangerschaft erlaubt ist und dies nach § 1 Abs. 1 Nr. 2 auch nur bei der von der betreffenden Frau stammenden Eizelle. Auch die Gewinnung von Embryonen aus dem Uterus, die *in vivo* gezeugt wurden, ist verboten, wenn das Verfahren nicht zu einem dem Erhalt des Embryos dienenden Zweck führt. Somit ist jegliche verbrauchende Embryonenforschung in jedem Falle unterbunden. Überzählige Embryonen existieren *qua legem* sowieso nicht. Die Präimplantationsdiagnostik *per se* wird *expressis verbis* gar nicht erwähnt.

Wenngleich auch ein solch restriktives Gesetz wie das deutsche erstaunlicherweise jetzt auch die französische und amerikanische Gesundheitspolitik zum Nachdenken gebracht hat, bietet es jedoch nicht mehr als einen gesetzlich zementierten Anachronismus, der angesichts insbesondere gentechnologischer Errungenschaften neueren Datums mehr als hinterfragt werden muß.

Der Diskurs

Nicht klerikale noch säkulare Deontologie, nicht Streben nach normativem Universalismus kann hilfreich sein, in einer Zeit medizinischen Wandels, dem Embryo zu seinem guten Recht zu verhelfen. Nicht die unreflektierte verbrauchende Embryonenforschung, nicht der uneingeschränkte Infantizid sind das Ziel eines zukünftigen Konsenses, der positives Recht zu werden beanspruchen kann. Hingegen ist die kontinuierliche Reflexion gegenwärtigen und zukünftigen Handelns, der praktische Diskurs, zu fordern. Nur so kann den Erfordernissen Rechnung getragen und die Interessen der uns anvertrauten Patienten gewahrt werden und schließlich auch Recht werden.

Literatur

1. Nietzsche F, Die fröhliche Wissenschaft. Vorrede zur 2. Auflage. S. 486 Hanser-Verlag, Band 1, München 1978.
2. Edwards RG (1965) Maturation *in vitro* of human ovarian. *Lancet* II:926.
3. Mak V, Jarvi KA (1996) The genetics of male infertility. (Review) *J Urol* 156:1245.
4. Thévoz JM (1990) Entre nos mains L' embryon. Coll. Le champ éthique 17:352.
5. Warnock A (1985) A question of life. The Warnock Report on Human Fertilisation and Embryology. Blackwell. Oxford. New York.
6. Instruktion der Kongregation für die Glaubenslehre über die Achtung vor dem beginnenden menschlichen Leben und die Würde der Fortpflanzung. Deutsche Bischofskonferenz, Köln, 1987.
7. Singer P, Huhse H (1987) Ethics of embryo research. *Law, Medicine and Health Care*. 14:133.
8. Thooley M (1983) Abortion and infanticide. Oxford Clarendon Press, 347.
9. Keller R, Günther HL, Kaiser P (1992) Embryonenschutzgesetz. Kohlhammer Kommentare. Kohlhammer Verlag, Stuttgart.

KONGRESS

ORGANISATION

- Anmietung geeigneter Räumlichkeiten
- Hotelbuchungen
- Tagungsbüro

- Industrieausstellung
- Teilnehmerverwaltung
- Referentenbetreuung

Ihr leistungsstarker Partner mit über 30jähriger Erfahrung.

■
Kompetent bei der Durchführung von

KONGRESSEN TAGUNGEN SEMINAREN SYMPOSIEN (auch via Satellit)

im gesamten Bundesgebiet und dem benachbarten Ausland.

■
Lassen Sie sich von uns beraten!

- Bereitstellen modernster Technik und Kommunikationssysteme
- Drucksachen, Herstellung und Versand
- Rahmenprogramm
- Finanzplanung/ Abrechnung
- PR unterstützende Aktivitäten



Hansisches Verlagskontor
Mengstraße 16
23552 Lübeck
Tel. 04 51 / 70 31-205
Fax. 04 51 / 70 31-281

All-In-One - Lösungen von **Clintec**[®] : Mehr Sicherheit in weniger Zeit

Compounding-Systeme



Dual Bag-Konzept



Das All-In-One - Konzept:

- senkt das Kontaminationsrisiko
- erhöht die Arzneimittelsicherheit
- optimiert die Patientencompliance
- verringert den Zeitaufwand
- reduziert den Materialeinsatz
- verbessert die Kosteneffektivität

Baxter

Baxter Deutschland GmbH · Bereich Clintec Parenterale Ernährung
Edisonstraße 3 - 4 · 85719 Unterschleißheim · Tel.: (089) 31701-683 / - 682 / - 225