



SGRM Forschungspreis 2014

Prix de la recherche SSMR 2014

ABSTRACTBOOK

Program

SGRM / SSMR Research Prize

Thursday, January 9, 2014

17.30 - 18.30 - followed by the prize award at 18.30 at the Congress get-together
Centre International de Conférences, Genève - CICG

Chair: Christian De Geyter, Paul Bischof

17.30 - 17.45 *incl. discussion*

CLINICAL OUTCOME AFTER IMSI PROCEDURE IN AN UNSELECTED INFERTILE POPULATION
RÉSULTATS CLINIQUES DE TRAITEMENTS PAR IMSI DANS UNE POPULATION NON SELECTIONNÉE DE PATIENTS
INFERTILES

Fabien Murisier

17.45 - 18.00 *incl. discussion*

ISOLATION OF SPERMATOZOA WITH LOW LEVELS OF FRAGMENTED DNA USING FLOW
CYTOMETRY AND SORTING (FACS) AS A NEW STRATEGY TO IMPROVE THE OUTCOME OF
ASSISTED REPRODUCTION TECHNIQUES.

DIE GEWINNUNG VON SAMENZELLEN MIT GERINGER FRAGMENTIERUNG DES GENETISCHEN MATERIALS
(DNS) DURCH DIE SORTIERUNG MITTELS DURCHFLUSSZYTOMETRIE (FACS) FÜR DIE VERBESSERUNG DER
ERGEBNISSE DER ASSISTIERTEN REPRODUKTION.

Sofia C. Ribeiro

18.00 - 18.15 *incl. discussion*

GONADOTROPIN STIMULATION PROTOCOLS IN IN VITRO FERTILIZATION SIGNIFICANTLY
ALTER THE HORMONAL MILIEU IN FOLLICULAR FLUID

GONADOTROPIN-STIMULATIONSPROTOKOLLE BEI DER IN VITRO FERTILIZATION VERAENDERN SIGNIFIKANT
DAS HORMONELLE MILIEU IN DER FOLLIKELFLUESSIGKEIT

Michael von Wolff

18.15 - 18.30 *incl. discussion*

SPECIES-SPECIFIC DIFFERENCES IN FOLLICULAR ANTRAL SIZES RESULT FROM
DIFFUSION-BASED LIMITATIONS ON THE THICKNESS OF THE GRANULOSA CELL LAYER.

ARTSPEZIFISCHE UNTERSCHIEDE BEI DER GRÖÖÖE DES FOLLIKULÄREN ANTRUMS ALS RESULTAT VON
DIFFUSIONSABHÄNGIGEN BESCHRÄNKUNGEN DER DICKE DER GRANULOSAZELLSCHICHT

Dagmar Iber

Prize Jury

- * Professor Anna Glasier, Edinburgh - Scotland
- * Professor Niels E. Skakkebaek, Copenhagen - Denmark
- * Professor Paul Bischof, Geneva - Switzerland

Die Gewinnung von Samenzellen mit geringer Fragmentierung des genetischen Materials (DNS) durch die Sortierung mittels Durchflusszytometrie (FACS) für die Verbesserung der Ergebnisse der assistierten Reproduktion.

Sofia C. Ribeiro¹, Gideon Sartorius¹, Flurina Pletscher², Maria De Geyter¹, Hong Zhang², Christian De Geyter^{1,2}

¹ Klinik für gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin, Universität Basel

² Department für Biomedizin, Universität Basel

Einleitung:

Obwohl seit der Einführung der assistierten Reproduktionsmedizin viele Aspekte des Behandlungsverfahrens nach und nach verbessert wurden, blieben die Methoden für die Aufbereitung der Samenzellen seit den Anfängen im Wesentlichen unverändert. Bis heute basiert die konventionelle Aufbereitung der Samenproben auf der Fortwärtsbeweglichkeit der geeigneten Samenzellen (wie bei der swim-up Methode) oder auf Unterschiede in der Zelldichte (wie bei der Dichtegradientenzentrifugierung). Rezente Studien haben jedoch gezeigt, dass das genetische Material einer signifikanten Subpopulation von Samenzellen, welche für die assistierte Reproduktion aufbereitet wurden, im Sinne einer Apoptose fragmentiert ist und dass diese Fragmentierung der DNS der Entwicklung des Embryos schädigt und auch die Häufigkeit der Fehlgeburt erhöhen kann. Da mit den konventionellen Methoden der Samenaufbereitung diese Apoptose in den Samenzellen nicht identifiziert bzw. nicht vermieden werden kann, haben wir mit der Durchflusszytometrie eine neue Methode evaluiert, mit der nicht-apoptotische Samenzellen von apoptotischen Samenzellen getrennt werden können.

Material und Methoden:

Elf Samenproben wurden zunächst dazu verwendet, eine geeignete Färbetechnik für Samenzellen zu entwickeln, mit der die apoptotischen und/oder toten Samenzellen identifiziert und von den nicht-apoptotischen Samenzellen getrennt werden können. Vierunddreissig weitere Samenproben wurden dazu verwendet um die Wirksamkeit der neuen Separierungsmethode (FACS) mit der konventionellen Swim-up Methode zu vergleichen. Hierbei wurde das Ausmass der DNS-Fragmentierung nach beiden Aufbereitungen mit der TUNEL-Messmethode quantifiziert.

Ergebnisse:

Der erstmals für diese Indikation verwendete Farbstoff YO-PRO 1 erwies sich als am besten geeignet um apoptotische Samenzellen und nicht-apoptotischen Samenzellen zu identifizieren. Durch den Sortiervorgang der FACS-Apparatur gelang es, eine gegenüber der konventionellen swim-up Methode signifikante Reduktion im Anteil der Samenzellen mit fragmentierter DNS zu erzielen.

Schlussfolgerungen:

Mit der YO-PRO 1-Färbetechnik und der nachfolgenden Sortierung der Samenzellen steht nun eine neue Methode zur Verfügung, mit der Samenzellen mit einer niedrigen DNS-Fragmentierungsrate für die assistierte Reproduktion eingesetzt werden können. Besonders bei infertilen Männern mit einer verminderten Spermienqualität könnte diese Methode dazu beitragen, die Ergebnisse der assistierten Reproduktion zu verbessern. Zu diesem Zweck wurde inzwischen eine prospektiv-randomisierte Studie gestartet, in dem die Ergebnisse der assistierten Reproduktionsmedizin nach konventioneller Aufbereitung mit der jetzigen, neuen Methode verglichen werden.

Isolation of spermatozoa with low levels of fragmented DNA using flow cytometry and sorting (FACS) as a new strategy to improve the outcome of assisted reproduction techniques.

Sofia C. Ribeiro¹, Gideon Sartorius¹, Flurina Pletscher², Maria De Geyter¹, Hong Zhang², Christian De Geyter^{1,2}

¹ Clinic of Gynecological Endocrinology and Reproductive Medicine, University of Basel, Switzerland

² Department of Biomedicine, University of Basel, Switzerland

Introduction:

Semen preparation for assisted reproduction technologies (ART) has essentially remained unchanged since many years, being the conventional methods based either on the progressive motility of the viable spermatozoa or on the differences in cell density. In recent years it was recognized that the DNA of a substantial number of viable spermatozoa is fragmented as caused by variable degrees of apoptosis and that DNA fragmentation is detrimental for embryo development and for the progression of pregnancy. Since the conventional methods are unable to detect the presence apoptotic spermatozoa, new methodologies such as fluorescence activated cell sorting (FACS) are promising for the selection of viable spermatozoa to use in ART.

Methods:

Eleven semen samples were used for testing the staining strategy of apoptotic and dead spermatozoa and 34 semen samples were prepared in parallel with swim-up and FACS. The percentage of DNA fragmentation was determined for both methods using the TUNEL assay.

Results:

The dye YO-PRO 1 has proved to selectively label dead and apoptotic spermatozoa without entering the vital spermatozoa. The sorted vital population showed, on average, a 4-fold decrease in the percentage of spermatozoa with fragmented DNA when compared with the conventional swim up method.

Conclusions:

We have developed a novel method to select spermatozoa for ART with lower levels of DNA fragmentation using spermatozoa staining with a dye specific for dead and apoptotic spermatozoa and FACS. This technology revealed to be particularly useful in cases of severe male infertility, in which the numbers of spermatozoa with fragmented DNA are higher in the swim-up than in those of normal men. To test the efficacy of this new semen preparation method on the outcome of ICSI we have recently started a single-center prospective randomized study comparing our protocol with the swim up preparation.

CLINICAL OUTCOME AFTER IMSI PROCEDURE IN AN UNSELECTED INFERTILE POPULATION

Murisier F. 1) 2) 3), Chanson A. 1) 3), Germond M. 1) 3), Lo Monte G. 4), Soave I. 4), Marci R. 4) and Urner F. 1) 3)

- 1) CPMA, Centre de Procréation Médicalement Assistée, Lausanne
- 2) Fertas, Laboratoire d'andrologie, Lausanne
- 3) Fondation FABER, Lausanne
- 4) Department of Morphology, Surgery and Experimental Medicine, University of Ferrara

Introduction:

In the early days of ICSI the morphology of the sperm selected for injection was considered of secondary importance. Every IVF laboratory has experienced that even sperm samples with low percentages of normal forms were able to fertilize and produce viable embryos. However, together with the widespread use of ICSI, several authors raised concerns about a possible negative influence of the paternal heritage on embryo development and implantation. In 2001, a study on a series of ICSI procedures, in which sperm was selected on the basis of a high magnification morphology evaluation, was published (Bartoov et al., N Engl J Med, 2001). The new technique was named IMSI (Intracytoplasmic Morphologically selected Sperm Injection). The results showed a significant benefit of the selection procedure on the ongoing pregnancies rates. The demands for the use of IMSI became more outspoken, mainly among patients who were informed about this new technique through Internet, but also among IVF clinicians who were confronted to a lack of alternatives in cases of repeated treatment failures. 10 years later, the superiority of the IMSI method over standard ICSI is still a controversial issue in the literature. The aim of this study was to evaluate the potential benefit of IMSI in terms of treatment outcomes in a cohort of unselected infertile couples who underwent ICSI.

Methods:

332 couples were included: 281 couples underwent conventional ICSI procedure and 51 were offered IMSI. The only exclusion criteria were women aged over 40 and sperm from testicular biopsy. Sperm selection was performed under 960X magnification according to the criteria proposed by Bartoov et al.. In both groups, sperm injections were performed under standard magnification with identical procedures.

Results:

No statistically significant differences were found for fertilization rates (ICSI: 77,3%; IMSI: 80,0%), implantation rates (ICSI: 16,8%; IMSI: 16,7%) and pregnancy rates (ICSI: 31.0%; IMSI: 33.3%). A trend toward lower miscarriage rates was observed (ICSI: 17,8%; IMSI: 5,3%). In subgroups analysis, IMSI showed no benefit in male factor infertility subgroup nor in patients with more than one previous failed ICSI attempt.

Conclusion:

Our results show that sperm selection under high magnification does not significantly improve ICSI outcomes in an unselected infertile population. This technique should thus not be applied to all ICSI cycles. Further studies are needed to assess the potential benefit of IMSI for specific indications such as recurrent miscarriage or sperm DNA fragmentation.

RÉSULTATS CLINIQUES DE TRAITEMENTS PAR IMSI DANS UNE POPULATION NON SÉLECTIONNÉE DE PATIENTS INFERTILES

Murisier F. 1) 2) 3), Chanson A. 1) 3), Germond M. 1) 3), Lo Monte G. 4), Soave I. 4), Marci R. 4) and Urner F. 1) 3)

- 1) CPMA, Centre de Procréation Médicalement Assistée, Lausanne
- 2) Fertas, Laboratoire d'andrologie, Lausanne
- 3) Fondation FABER, Lausanne
- 4) Département de morphologie, chirurgie et médecine expérimentale, Université de Ferrara

Introduction:

Durant les premières années qui ont suivi la révolution de l'ICSI, la morphologie du spermatozoïde injecté dans l'ovocyte était considérée comme peu importante. On observe quotidiennement dans les laboratoires de fécondation in vitro que des échantillons de sperme présentant des taux très bas de formes normales conduisent à une fécondation normale et produisent des embryons viables. Toutefois, avec l'essor mondial de l'ICSI, plusieurs auteurs ont alerté la communauté scientifique sur les possibles effets délétères de l'héritage paternel tant sur le développement embryonnaire que sur l'implantation et le développement fœtal. En 2001, une étude sur une série de cycles d'ICSI, pour lesquels les spermatozoïdes ont été sélectionnés sur la base d'une évaluation morphologique par microscopie à fort grossissement, a été publiée (Bartoov et al., N Engl J Med, 2001). Les résultats obtenus avec cette nouvelle technique nommée IMSI (Intracytoplasmic Morphologically selected Sperm Injection) ont montré une augmentation significative des taux de grossesse. Suite à ces résultats, la demande pour ce type de traitement est devenue fréquente, notamment parmi les patients au travers de recherches sur internet, mais également parmi les cliniciens confrontés à des échecs récurrents des traitements par FIV/ICSI chez certains couples. Dix ans plus tard, la supériorité de l'IMSI par rapport à l'ICSI standard est toujours sujette à controverse dans la littérature scientifique. L'objectif de l'étude présentée ici est d'évaluer le bénéfice potentiel de l'IMSI en terme de résultats cliniques dans une cohorte de couples infertiles non sélectionnés traités par ICSI.

Matériel et méthodes:

332 couples ont été inclus: 281 couples ont été traités par ICSI conventionnelle et 51 par IMSI. Les seuls critères d'exclusion étaient un âge maternel supérieur à 40 ans et les traitements avec spermatozoïdes issus de biopsies testiculaires. La sélection des spermatozoïdes a été réalisée à un grossissement de 960x en utilisant les critères proposés par Bartoov et al. en 2001. Dans les deux groupes, l'injection des spermatozoïdes a été réalisée sous un grossissement standard avec des procédures identiques.

Résultats:

Aucune différence statistiquement significative n'a été observée pour les taux de fécondation (ICSI: 77,3%; IMSI: 80,0%), les taux d'implantation (ICSI: 16,8%; IMSI: 16,7%), et les taux de grossesse (ICSI: 31,0%; IMSI: 33,3%). Une tendance vers une diminution des taux de fausse-couche a été observée (ICSI: 17,8%; IMSI: 5,3%). L'analyse statistique n'a pas montré de bénéfice de l'IMSI pour le sous-groupe facteur masculin ou pour les patients avec un antécédent de plus d'un cycle infructueux d'ICSI.

Conclusion:

Nos résultats montrent que la sélection de spermatozoïde par microscopie à fort grossissement ne permet pas d'améliorer significativement les résultats cliniques de l'ICSI dans une population de patients infertiles non sélectionnés. Cette technique ne doit donc pas être appliquée pour tous les cycles d'ICSI. D'autres études sont nécessaires afin d'évaluer le bénéfice de l'IMSI pour des indications spécifiques telles que les fausses-couches répétées ou la fragmentation de l'ADN du spermatozoïde.

SPECIES-SPECIFIC DIFFERENCES IN FOLLICULAR ANTRAL SIZES RESULT FROM DIFFUSION-BASED LIMITATIONS ON THE THICKNESS OF THE GRANULOSA CELL LAYER.

Iber D. 1,2), Bächler M.1), Menshykau D.1,2), De Geyter Ch.3)

1) Department for Biosystems, Science, and Engineering (D-BSSE), ETH Zürich

2) Swiss Institute of Bioinformatics, Switzerland

3) Clinic of Gynecological Endocrinology and Reproductive Medicine, Women's Hospital, University of Basel, Switzerland

Introduction:

The size of mature oocytes is similar across mammalian species, yet the size of ovarian follicles increases with species size, with some ovarian follicles reaching diameters more than 1000-fold the size of the enclosed oocyte. As a result the size of the fluid-filled antrum increases massively. The role of the fluid-filled antrum has so far remained elusive. We sought to address the role of such an increase in follicular and antral size by using computational approaches.

Materials and Methods:

Experimental Data is available that records the number of human granulosa cells and the diameter of human follicles during follicular development, and that reports the abundance of signalling receptors in the different tissue layers, and the binding constants with their ligands. We used computational methods to analyse the data, and to integrate it into a consistent, dynamic 3D model of the growing ovarian follicles.

Results:

By analysing published data on human follicular growth and granulosa cell expansion during follicular maturation, we find that the 4-fold increase of the antral human follicle diameter is entirely driven by an increase in the follicular fluid volume, while the thickness of the surrounding granulosa cell layer remains constant at about $45 \pm 10 \mu\text{m}$. Based on the measured kinetic constants and published gene expression domains, we developed a spatio-temporal model of the regulatory networks (including FSH, LH, androgens, estradiol, and their receptors) for the bovine and human follicle maturation process that is consistent with the published data. The spatio-temporal model of the hormonal regulatory network in the ovarian follicle reveals that the measured fall in the gonadotropin concentration from peripheral blood circulation to the follicular antrum is a result of hormone sequestration in the granulosa. Larger animals (with a larger blood volume) require the production of more estradiol in the ovaries to achieve the same estradiol concentration in the blood, and thus downregulation of FSH-secretion in the pituitary. The model shows that, as a result of hormone sequestration in the granulosa cell layer, an increased granulosa thickness cannot substantially increase estradiol production, but rather deprives the oocyte from gonadotropins. An increase in estradiol production can only be achieved by increasing the surface area of the follicle (at constant granulosa layer thickness), which necessitates an increase in the diameter of the follicle. We show that the reported increase in follicle size in larger species indeed results in a linear correlation between the follicular surface area (and thus estradiol output) and the species mass.

Conclusion:

Transport by diffusion severely limits the maximal thickness of the granulosa cell layer, and larger animals (with a larger blood volume) therefore need to increase the volume of the granulosa cell layer (and thus hormone production) by increasing the surface area of the follicle. This is achieved by having larger follicles with a larger antrum in larger species. We thus propose a structural role for the antrum in that it determines the volume of the granulosa layer and thus the level of estrogen production.

ARTSPEZIFISCHE UNTERSCHIEDE BEI DER GRÖÖE DES FOLLIKULÄREN ANTRUMS ALS RESULTAT VON DIFFUSIONSABHÄNGIGEN BESCHRÄNKUNGEN DER DICKE DER GRANULOSAZELLSCHICHT

Iber D. 1,2), Bächler M 1), Menshykau D. 1,2), De Geyter Ch. 3)

1) Department für Biosysteme (D -BSSE), ETH Zürich

2) Schweizer Institut für Bioinformatik, Schweiz

3) Klinik für Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin, Frauenklinik, Universität Basel, Schweiz

Einführung:

Die Größe der reifen Eizellen ähnelt sich in verschiedenen Säugetierarten, aber die Eibläschen sind in größeren Säugetierarten deutlich größer, wobei einige Eibläschen einen 1000-mal größeren Durchmesser erreichen als die eingeschlossene Eizelle. Dadurch wird die Größe des fluidgefüllten Antrums massiv erhöht. Die Rolle des Antrums ist bisher unbekannt. Wir haben computergestützte Ansätze verfolgt, um die Rolle einer solchen Zunahme in der Follikel- und Antrum- Größe zu erklären.

Material und Methoden:

Experimentelle Daten zur Anzahl der menschlichen Granulosazellen und zum Durchmesser eines menschlichen Follikels während der Follikelreifung sind vorhanden. Zudem gibt es Daten zur Verteilung von Signalrezeptoren in den verschiedenen Gewebeschichten und die Bindungskonstanten von Rezeptoren und Liganden sind gemessen worden. Wir haben die Daten mit mathematische Verfahren analysiert und in ein konsistentes, dynamische 3D-Modell der wachsenden Eibläschen integriert.

Ergebnisse:

Durch Analyse veröffentlichter Daten zum menschlichen Follikelwachstum und zur Expansion der Granulosazellen während der Follikelreifung finden wir, daß die vierfache Vergrößerung des menschlichen antralen Follikeldurchmesser vollständig durch einen Anstieg im Volumen der Follikelflüssigkeit zustande kommt, während die Dicke der Granulosazellschicht konstant bei etwa 45 ± 10 μm bleibt. Basierend auf den gemessenen kinetischen Konstanten und den veröffentlichten Genexpressionsdomänen haben wir ein mathematisches Modell für die räumliche und zeitliche hormonelle Regulierung der ovariellen Follikelentwicklung (basierend auf FSH, LH, Androgenen, Östrogenen und deren Rezeptoren) für die bovinen und humanen Follikelreifung entwickelt. Das Modell wurde umfangreich getestet und reproduziert alle relevanten veröffentlichten Daten. Das Modell zeigt, daß der gemessene Abfall der Gonadotropin- Konzentration zwischen den Blutgefäßen und dem folliculären Antrum mit der Hormonsequestrierung in den Granulosazellen erklärt werden kann. Größere Tiere (mit einem größeren Blutvolumen) benötigen die Produktion von mehr Östrogen in den Eierstöcken, um die gleiche Östrogenkonzentration im Blut und damit die Herunterregulierung der FSH - Sekretion in der Hypophyse zu erreichen. Das Modell zeigt, daß, aufgrund der Hormonsequestrierung in der Granulosazellschicht, eine erhöhte Dicke der Granulosazellschicht nicht zu einer wesentlich höheren Estradiolproduktion führen würde; die Gonadotropine würden allerdings von einer dickeren Granulosazellschicht daran gehindert, die Oozyte zu erreichen. Das Modell zeigt weiter, daß eine Erhöhung der Östrogenproduktion nur durch eine Vergrößerung der Follikeloberfläche bei konstanter Granulosazellschichtdicke erreicht werden kann. Wenn wir die Follikelgröße mit dem Gewicht der Säugetierarten vergleichen, stellen wir in der Tat fest, daß es eine lineare Korrelation zwischen der folliculären Oberfläche (und damit der Östrogenproduktion) und dem Gewicht der Säugetierart gibt.

Schlussfolgerungen:

Transport durch Diffusion beschränkt die maximale Dicke der Granulosazellschicht. Größere Tiere (mit einem größeren Blutvolumen) müssen daher eine Erhöhung des Volumens der Granulosazellschicht (und damit der Hormonproduktion) durch eine Vergrößerung der Follikeloberfläche erreichen. Dies wird durch ein größeres Antrum erreicht. Wir schlagen daher eine strukturelle Rolle für das Antrum vor, in der Form, daß die Größe des Antrums das Volumen der Granulosazellschicht und damit die Höhe der Östrogenproduktion bestimmt.

GONADOTROPIN STIMULATION PROTOCOLS IN IN VITRO FERTILIZATION SIGNIFICANTLY ALTER THE HORMONAL MILIEU IN FOLLICULAR FLUID

von Wolff M.¹, Kollmann Z.¹, Flück CE.², Bersinger N.A.¹

¹ University Women's Hospital, Division of Gynaecological Endocrinology and Reproductive Medicine, Berne

² University Pediatric's Hospital, Division of Pediatric Endocrinology, Diabetology and Metabolism, Berne

Introduction

The implantation rate of unselected embryos in conventional, gonadotropin stimulated In vitro fertilization (cIVF) is lower than in Natural Cycle-IVF (NC-IVF), which is possibly due to negative effects of high dosages of gonadotropins or LH downregulation on the follicular hormonal metabolism. Intrafollicular Anti mullerian hormone (AMH), as part of the follicular metabolism, has been shown to be a marker of the implantation potential of oocytes in cIVF. AMH and its regulation in naturally matured follicles (NC-IVF) therefore seem to be an ideal model to analyse the follicular hormonal alterations induced by stimulation protocols in cIVF.

Materials and Methods

Cross-sectional study involving 37 NC-IVF and 39 cIVF cycles performed in 2011 and 2012. Thirteen women within this population underwent both treatments. cIVF was performed by controlled ovarian stimulation with HMG and GnRH antagonists. Follicular fluid (FF) was collected from the leading follicles. Testosterone (T), Androstenedione (A2), Dehydroepiandrosterone (DHEA) and Estradiol (E2) were determined by immunoassays. Aromatase activity in granulosa cells was analysed by tritiated water release assay. For statistical analysis the non-parametric Mann-Whitney U or Wilcoxon tests were used.

Results

Mean age was 35.3 ± 4.6 (SD) and 34.2 ± 3.7 years in the NC-IVF and cIVF groups (ns). Hormone analysis in serum excluded relevant impact of serum concentration on FF hormone concentrations. In FF, median levels of AMH were 32.8 in NC-IVF and 10.7pmol/L in cIVF ($p < 0.0001$), of T 47.2 and 18.8 μ mol/L ($p < 0.0001$), of A2 290 and 206nmol/L ($p = 0.0035$), of DHEA 6.7 and 5.6pg/ml (n.s.), of E2 3292 and 1225nmol/L ($p < 0.0001$), of FSH 4.9 and 7.2mU/ml ($p < 0.05$) and of LH 14.4 and 0.9mU/ml ($p < 0.0001$) respectively. Median serum concentrations of LH were 29.4 and 0.9mU/ml ($p < 0.0001$) respectively. FF-AMH correlated positively with FF-T ($r = 0.35$, $p = 0.0002$), FF-T with FF-LH ($r = 0.48$, $p < 0.0001$) and FF-E2 with FF-T ($r = 0.75$, $p < 0.0001$). Significant differences in concentrations for AMH, E2 and LH were also found in the 13 women who underwent both NC-IVF and cIVF when they were analysed separately in pairs. Analysis of aromatase activity (dpm/min.) was not statistically different in granulosa cells from NC-IVF and from cIVF-follicles.

Accordingly, the concentration of putative markers of oocyte quality such as AMH and T were significantly reduced in cIVF. The low LH concentrations in NC-IVF, the correlation analysis of LH and T and the equal aromatase activity in both treatments suggest LH to be the cause of reduced T production and thereby the cause of the reduced concentration of AMH in cIVF follicles.

Conclusion

The alterations of the endocrine milieu by gonadotropin stimulation protocols in cIVF could be a cause for the suggested lower oocyte quality in cIVF compared to naturally matured oocytes as in NC-IVF. The reasons for the reduced AMH concentration seem to be low serum and follicular fluid LH concentrations due to LH downregulation, leading to low follicular androgen concentrations and thereby to low follicular AMH production. According to these results cIVF stimulation protocols should be modified towards a more natural follicular physiology either by supplementing LH and testosterone or by reducing the intensity of LH downregulation in cIVF.

GONADOTROPIN-STIMULATIONSPROTOKOLLE BEI DER IN VITRO FERTILIZATION VERAENDERN SIGNIFIKANT DAS HORMONELLE MILIEU IN DER FOLLIKELFLUESSIGKEIT

von Wolff M.¹, Kollmann Z.¹, Flück CE.², Bersinger N.A.¹

¹ Universitäts-Frauenklinik, Abteilung Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin, Bern

² Universitäts-Kinderklinik, Abteilung Pädiatrische Endokrinologie, Diabetologie und Metabolismus, Bern

Einführung

Bei der konventionellen Gonadotropin-stimulierten In vitro Fertilisation (cIVF) ist die Implantationsrate von unselektionierten Embryonen niedriger als bei der Natural Cycle-IVF (NC-IVF). Dies ist möglicherweise auf negative Effekte der Stimulationsprotokolle zurückzuführen. Intrafollikuläres Anti-Müller-Hormon (AMH), als Teil des follikulären Metabolismus, gilt als Marker für das Implantationspotential der Oozyten bei der cIVF. Deswegen sind follikuläre Untersuchungen von AMH und seiner Regulation in natürlich gereiften Follikeln (NC-IVF) ein ideales Modell für die Untersuchung intrafollikulärer hormoneller Veränderungen, die durch IVF-Stimulationsprotokolle induziert werden.

Material und Methoden

Durchgeführt wurde eine Cross-sectional-Studie von 37 NC-IVF- und 39 cIVF-Zyklen. 13 Frauen der untersuchten Population führten beide Therapieformen durch. Die cIVF erfolgte nach einer HMG-Stimulation im Antagonistenprotokoll. Follikelflüssigkeit (FF) wurde aus dem dominanten Follikel gewonnen. Analysiert wurde die Konzentration von Testosteron (T), Androstenedion (A2), Dehydroepiandrosteron (DHEA) und Estradiol (E2) mit Hilfe von Immunassays. Die Aromataseaktivität wurde untersucht per „triated water release assay“. Die statistische Auswertung erfolgte unter Anwendung der nicht-parametrischen Mann-Whitney U- und Wilcoxon-Tests.

Ergebnisse

Das mittlere Alter der Probandinnen betrug 35.3 ± 4.6 (SD) in der NC-IVF-Gruppe und 34.2 ± 3.7 Jahre in der cIVF-Gruppe. Ein Einfluss der Serumhormonkonzentrationen wurde durch Serumbestimmungen ausgeschlossen. In der FF betrug die Konzentrationen (Median) jeweils bei der NC-IVF und bei der cIVF von AMH 32.8 und 10.7 pmol/L ($p < 0.0001$), von T 47.2 und 18.8 $\mu\text{mol/L}$ ($p < 0.0001$), von A2 290 und 206 nmol/L ($p = 0.0035$), von DHEA 6.7 und 5.6 pg/ml (n.s.), von E2 3292 und 1225 nmol/L ($p < 0.0001$), von FSH 4.9 und 7.2 mU/ml ($p < 0.05$) und von LH 14.4 und 0.9 mU/ml ($p < 0.0001$). Die Serumkonzentration von LH betrug 29.4 bzw. 0.9 mU/ml ($p < 0.0001$). Positiv korrelierten miteinander FF-AMH mit FF-T ($r = 0.35$, $p = 0.0002$), FF-T mit FF-LH ($r = 0.48$, $p < 0.0001$) und FF-E2 mit FF-T ($r = 0.75$, $p < 0.0001$). Signifikante Unterschiede von AMH, E2 und LH fanden sich auch bei dem intraindividuellen Vergleich der 13 Frauen, die beide Therapien durchführten. Die Analyse der Aromataseaktivität (dpm/Minute) in den Granulosazellen beider Gruppen war statistisch nicht unterschiedlich.

Somit waren die Konzentrationen der Marker AMH und T signifikant niedriger bei der cIVF als bei der NC-IVF. Die ermittelten erniedrigten LH-Konzentrationen in der cIVF und die Korrelationsanalysen sowie die in beiden Gruppen gleiche Aromataseaktivität lassen vermuten, dass die niedrigere LH-Konzentration die Ursache für die der erniedrigten AMH-Konzentrationen bei der cIVF sind.

Schlussfolgerung

Die Konzentration des Oozyten-Qualitätsmarkers AMH war signifikant verringert in Follikeln nach einer klassischen IVF-Stimulation im Vergleich zu natürlich gereiften Follikeln. Die weiteren Studienergebnisse lassen vermuten, dass diese Reduktion auf geringeren LH-Konzentrationen zurückzuführen ist, die zu geringeren Testosteronkonzentrationen im Follikel führt und somit zu geringeren AMH-Konzentrationen.

Die Veränderung des hormonellen Milieus durch die IVF-Stimulation könnte somit der Grund für die geringere Oozytenqualität sein. Entsprechend sollten Stimulationsprotokolle so modifiziert werden, dass die follikuläre Hormonregulation mehr den natürlich gereiften Follikeln entspricht. Denkbar sind eine reduzierte LH-Downregulation, eine LH-Stimulation oder eine Behandlung mit Androgenen.

NOTIZEN - BLOC NOTES

Schweizerische Gesellschaft für Reproduktionsmedizin SGRM
Société Suisse de Médecine de la Reproduction SSMR
Società Svizzera di Medicina della Riproduzione SSMR

Präsident: Ch. De Geyter, Basel - **Vize-Präsident/Kontrazeption:** R. Draths, Luzern - **Sekretär:** M. De Geyter, Basel -
Kassier: E. Berger, Bern - **FertiForum:** D. Besse, Lausanne - **FertiSave:** D. Wunder, Lausanne
FIVNAT: P. Bischof, Genève - **SWICE:** F. Urner, Lausanne - **Working group:** G. de Candolle, Genève
Vorstand: A. Müller, Zürich - I. Streuli, Genève, S. - Ch. Renteria, Lausanne

Administration SGRM
Frau M. Weder, Postfach 754, CH-3076 Worb
Tel. +41 (0)31-819-76-02 / Fax. +41(0)31-819-89-20
E-mail: administration.sgrm@bluewin.ch
Website: www.sgrm.org