

Hormon- und Kinderwunschzentrum
Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Klinikum
der LMU München Grosshadern
Marchioninistrasse 15
81377 München
www.kinderwunsch-uni-muenchen.de

Prof. Dr. med. Christian J. Thaler (Thaler@med.lmu.de)

PD Dr. med. Bettina Toth T (Bettina.Toth@med.uni-muenchen.de)

Dr. med. Robert Ochsenkühn (Robert.Ochsenkuehn@med.uni-muenchen.de)

Dr. rer. nat. Viktoria von Schönfeldt (Viktoria.Schoenfeld@med.uni-muenchen.de)

Dr. med. Nina Rogenhofer (Nina.Rogenhofer@med.uni-muenchen.de)

Dr. med. Stephanie Hecht (Stephanie.Hecht@med.uni-muenchen.de)

Roman Pavlik (Roman.Pavli@med.uni-muenchen.de)

Das Hormon- und Kinderwunschzentrum der LMU München – Grosshadern nimmt intensiv an der Betreuung von Paaren mit unerfülltem Kinderwunsch teil. Hierzu wird nachfolgendes Leistungsspektrum vorgehalten:

- **Klinisches Leistungsspektrum**

- Klinisch

- alle Maßnahmen der assistierten Fortpflanzung, einschließlich
 - IUI
 - IVF
 - ICSI
 - TESE (interdisziplinär mit Urologie)
 - Fertilitätsprotektion bei onkologischer Therapie (interdisziplinär mit Urologie)
 - Spezielle Diagnostik und Therapie bei rezidivierenden Spontanaborten und Implantationsversagen

- Embryologie

- In vitro Fertilisation
- intrazytoplasmatische Spermieninjektion
- Blastozystenkultur

- Interdisziplinäre Kryoanlage (Gynäkologie-Urologie)

- Kryokonservierung von
 - 2-Pronucleus-Oozyten (fertilisiert)
 - Metaphase II- Oozyten
 - Fertilitätsprotektion bei onkologischer Therapie
 - Spermatozoen

Es liegt die Zulassung des Bayerischen Staatsministeriums für Arbeit und Sozialordnung, Familien, Frauen und Gesundheit für die Durchführung von

Maßnahmen der künstlichen Befruchtung vor. Alle Behandlungszyklen werden zur Qualitätssicherung bei der Bayerischen Landesärztekammer sowie beim Deutschen IVF-Register (D.I.R) hinterlegt. Das Qualitätsmanagement des Hormon- und Kinderwunschzentrums ist zertifiziert nach DIN EN ISO 9001:2000.

Die **wissenschaftlichen Aktivitäten** des Hormon- und Kinderwunschzentrums gliedern sich in folgende Teilbereiche:

1) Bedeutung von Mikropartikeln im Rahmen von Menstruationszyklus und Schwangerschaft (Toth)

Der Nachweis von MP gelingt mit Hilfe der Durchflußzytometrie, am Besten sind hierbei von Thrombozyten gebildete MP (TMP) bekannt. Es gelang uns erstmals, signifikante Unterschiede in der Konzentration an zirkulierenden TMP bei Männern und Frauen festzustellen. Hierbei zeigten Frauen signifikant höhere TMP Konzentrationen wie Männer, insbesondere in der zweiten Zyklushälfte. Ebenso zeigten sich signifikante Unterschiede in der Expression von TMP und endothelialen MP (EMP) bei Patientinnen unter kontrollierter ovarieller Stimulationsbehandlung. Derzeit beschäftigen wir uns mit der weiteren Untersuchung des Einflusses weiblicher Sexualsteroiden auf das Gerinnungssystem.

2) Ursachen rezidivierender Spontanaborte (RSA) (Rogenhofer, Toth)

Im Rahmen unserer Arbeiten zur Ursachenklärung von RSA, stehen uns mehrere hundert komplette Datensätze betroffener Paare zur Verfügung. Ergänzend verfügen wir über eine umfangreiche Sammlung korrespondierender DNA- und Plasma-Proben. Anhand dieses klinischen Materials gelang es uns, die Bedeutung mehrerer thrombophiler Mutationen für die RSA-Ätiologie zu identifizieren. Ganz aktuell konnten wir zeigen, dass Patientinnen mit wiederholten Fehlgeburten gegenüber gesunden Schwangeren eine signifikant intensivere anti-Trophoblast-Antikörper Aktivität zeigen. Dieser Nachweis gelingt durchflusszytometrisch mittels der Chorionkarzinomzelllinie JEG-3. Betroffene Patientinnen weisen eine erhöhte JEG-3-Aktivität auf, welche mittels gepoolter - Immunglobulinen in vitro signifikant dosisabhängig reduziert werden kann.

Zudem gelang es uns wesentliche Grundlagenarbeiten zur Expression von PPAR, Leptin und Insulinrezeptoren in der Plazenta von Abortpatientinnen im Vergleich zu gesunden Kontrollen zu erarbeiten. Im Rahmen dessen wurde eine Datenbank an Plazentagewebe von Abortpatientinnen und gesunden Kontrollen angelegt. Darüber hinaus untersuchen

wir den Einfluss von Gen Polymorphismen (sowohl im Bereich von hereditären Thrombophilien als auch bei nukleären Hormonrezeptoren) auf das Abortgeschehen.

Derzeit laufen Untersuchungen auf Chlamydien-Antikörper bei RSA-Patientinnen und infertilen Patientinnen im Vergleich zu unproblematisch schwangeren Frauen. Die bisherigen Ergebnisse zeigen eine deutlich erhöhte Prävalenz an Chlamydien Antikörpern bei infertilen Patientinnen im Vergleich zur Gruppe der unproblematisch Schwangeren. In Planung ist die Erforschung paternalen Ursachen wiederholter Fehlgeburten in Form von genetischen Untersuchungen an Spermien in Kooperation mit dem Institut für Humangenetik der LMU München (Direktorin Frau Prof. Steinlein).

3) **Interaktion Endometrium – Seminaes Plasma (Ochsenkühn):**

Unter der Vorstellung, einer Induktion rezeptiver Eigenschaften durch Bestandteile des Seminales Plasma (SP) wird anhand primärer Zellkulturen humaner Endometriumszellen der Einfluss von SP-Bestandteilen auf die Expression endometrialer Adhäsionsmoleküle sowie die Expression pro-Inflammatorischer Zytokine untersucht.

4) **Experimentelle Embryologie (von Schönfeldt):**

Bisherige Forschungsschwerpunkte:

- Isolierung und Charakterisierung testikulärer Stammzellen am Nager- und Primatenmodell (Institut für Reproduktionsmedizin der Westfälischen Wilhelmsuniversität Münster, damaliger Direktor: Prof. Dr. E. Nieschlag)
- Kryokonservierung und Grafting von adultem und präpubertärem Primatenovargewebe zur Gewinnung befruchtungsfähiger Oozyten als Modell zum Fertilitätsverlust nach Radio- oder Chemotherapie (Förderung durch die Mildred-Scheel-Stiftung/Deutsche Krebshilfe)

Angestrebtes Arbeitsgebiet nach Wechsel an die LMU:

- Optimierung von *in-vitro*-Bedingungen für den Embryo in der ART-Behandlung – Idealerweise am geeigneten Tiermodell: Ein früheres und sichereres Erkennen des entwicklungsfähigsten Embryos innerhalb der Möglichkeiten des deutschen Embryonenschutzgesetzes ermöglicht den Transfer lediglich *eines* Embryos ohne Verminderung der Schwangerschaftschance. Für die Patientinnen könnten so die Risiken von schweren Überstimulationen und Mehrlingsschwangerschaften deutlich vermindert werden.

- 5) **Reproduktionsgenetik (Hecht, Pavlik):** Die Arbeitsgruppe Reproduktionsgenetik beschäftigt sich mit den Auswirkungen genetischer Polymorphismen auf die ovarielle Funktion bei Frauen mit unerfülltem Kinderwunsch. Grundlage dieser Arbeiten waren unsere klinischen Befunde, wonach Trägerinnen 677 C>T Mutation im Gen der Methylen-Tetra-Hydro-Folat-Reduktase(MTHFR) signifikant seltener dichoriale Gemini bekommen. In weiterführenden Studien konnten wir zeigen, dass Trägerinnen der 677 C>T MTHFR Mutation im Rahmen der kontrollierten ovariellen Hyperstimulationsbehandlung signifikant mehr FSH benötigen und gleichzeitig signifikant weniger Estradiol und Metaphase II Oozyten produzieren. Ziel der aktuellen Studien ist es die ovarielle Reserve / Funktion infertiler Patientinnen vor einer Kinderwunschbehandlung besser einschätzen zu können, um die Effektivität einer kontrollierten ovariellen Überstimulationstherapie zu steigern. Für diese Arbeiten stehen uns mittlerweile klinische Daten zu über 700 IVF/ICSI-Zyklen einschließlich der Proben korrespondierender DNA- und Follikelflüssigkeiten, teilweise auch die Kulturüberstände primärer Granulosazellkulturen zur Verfügung.

Ausgewählte Literatur

Hecht S, Pavlik R, Lohse P, Noss U, Friese K, Thaler CJ. Common 677C-->T mutation of the 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase gene affects follicular estradiol synthesis. *Fertil Steril.* 2009 Jan;91(1):56-61.

Ochsenkühn R, Toth B, Nieschlag E, Artman E, Friese K, Thaler CJ. Seminal plasma stimulates cytokine production in endometrial epithelial cell cultures independently of the presence of leucocytes. *Andrologia.* 2008 Dec;40(6):364-9.

Toth B, Vocke F, Rogenhofer N, Friese K, Thaler CJ, Lohse P. Paternal thrombophilic gene mutations are not associated with recurrent miscarriage. *Am J Reprod Immunol.* 2008 Oct;60(4):325-32.

Toth B, Nieuwland R, Kern M, Rogenhofer N, Berkman R, Rank A, Lohse P, Friese K, Thaler CJ. Systemic changes in haemostatic balance are not associated with increased levels of circulating microparticles in women with recurrent spontaneous abortion. *Am J Reprod Immunol.* 2008 Feb;59(2):159-66.

Toth B, Nikolajek K, Rank A, Nieuwland R, Lohse P, Pihusch V, Friese K, Thaler CJ. Gender-specific and menstrual cycle dependent differences in circulating microparticles. *Platelets*. 2007 Nov;18(7):515-21.

Rogenhofer N, Toth B, Kiessig S, Hellstern P, Taborski U, Scholz S, Thaler CJ. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) as screening method for anti-paternal allo-antibodies in patients with recurrent pregnancy loss (RPL). *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2008 Feb;136(2):155-9. Epub 2007 Apr 24.

Thaler CJ, Budiman H, Ruebsamen H, Nagel D, Lohse P. Effects of the common 677C>T mutation of the 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene on ovarian responsiveness to recombinant follicle-stimulating hormone. *Am J Reprod Immunol*. 2006 Apr;55(4):251-8.

Buchholz T, Lohse P, Kosian E, Thaler CJ. Vasoconstrictively acting AT1R A1166C and NOS3 4/5 polymorphisms in recurrent spontaneous abortions (RSA). *Am J Reprod Immunol*. 2004 May;51(5):323-8.

Gutsche S, von Wolff M, Strowitzki T, Thaler CJ. Seminal plasma induces mRNA expression of IL-1beta, IL-6 and LIF in endometrial epithelial cells in vitro. *Mol Hum Reprod*. 2003 Dec;9(12):785-91.

Buchholz T, Lohse P, Rogenhofer N, Kosian E, Pihusch R, Thaler CJ. Polymorphisms in the ACE and PAI-1 genes are associated with recurrent spontaneous miscarriages. *Hum Reprod*. 2003 Nov;18(11):2473-7.

Buchholz T, Thaler CJ. Inherited thrombophilia: impact on human reproduction. *Am J Reprod Immunol*. 2003 Jul;50(1):20-32. Review.

von Wolff M, Stieger S, Lumpp K, Bücking J, Strowitzki T, Thaler CJ. Endometrial interleukin-6 in vitro is not regulated directly by female steroid hormones, but by pro-inflammatory cytokines and hypoxia. *Mol Hum Reprod*. 2002 Dec;8(12):1096-102.

von Wolff M, Thaler CJ, Zepf C, Becker V, Beier HM, Strowitzki T. Endometrial expression and secretion of interleukin-6 throughout the menstrual cycle. *Gynecol Endocrinol*. 2002 Apr;16(2):121-9.

von Wolff M, Strowitzki T, Becker V, Zepf C, Tabibzadeh S, Thaler CJ. Endometrial osteopontin, a ligand of beta3-integrin, is maximally expressed around the time of the "implantation window". *Fertil Steril*. 2001 Oct;76(4):775-81.

Pihusch R, Buchholz T, Lohse P, Rübsamen H, Rogenhofer N, Hasbargen U, Hiller E, Thaler CJ. Thrombophilic gene mutations and recurrent spontaneous abortion: prothrombin mutation increases the risk in the first trimester. *Am J Reprod Immunol*. 2001 Aug;46(2):124-31.

Sakin-Kaindl F, Wagenknecht DR, Strowitzki T, McIntyre JA, Thaler CJ. Decreased suppression of antibody-dependent cellular cytotoxicity by seminal plasma in unexplained infertility. *Fertil Steril*. 2001 Mar;75(3):581-7.

Hasbargen U, Lohse P, Thaler CJ. The number of dichorionic twin pregnancies is reduced by the common MTHFR 677C-->T mutation. *Hum Reprod*. 2000 Dec;15(12):2659-62.

von Wolff M, Thaler CJ, Strowitzki T, Broome J, Stolz W, Tabibzadeh S. Regulated expression of cytokines in human endometrium throughout the menstrual cycle: dysregulation in habitual abortion. *Mol Hum Reprod*. 2000 Jul;6(7):627-34.